

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA DE PLANTAS

RAFAELA ANDREZA DE SOUZA SOARES

Impactos e potencialidades de nanopartículas de óxido de ferro, óxido de cobre e óxido de grafeno na agricultura: Avaliação sobre plantas de soja e outras plantas cultivadas

Maringá
2023

RAFAELA ANDREZA DE SOUZA SOARES

Impactos e potencialidades de nanopartículas de óxido de ferro, óxido de cobre e óxido de grafeno na agricultura: Avaliação sobre plantas de soja e outras plantas cultivadas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Marchiosi
Coorientadora: Profa. Dra. Ana Paula Ferro

Maringá
2023

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

S676i

Soares, Rafaela Andreza de Souza

Impactos e potencialidades de nanopartículas de óxido de ferro, óxido de cobre e óxido de grafeno na agricultura : avaliação sobre plantas de soja e outras plantas cultivadas / Rafaela Andreza de Souza Soares. -- Maringá, PR, 2023.

77 f.: il., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Marchiosi.

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Paula Ferro.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular), 2023.

1. Nanopartículas. 2. Agricultura. 3. Soja. 4. Plantas cultivadas. I. Marchiosi, Rogério, orient. II. Ferro, Ana Paula, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Biológicas. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular). IV. Título.

CDD 23.ed. 631.5

Elaine Cristina Soares Lira - CRB-9/1202

FOLHA DE APROVAÇÃO

RAFAELA ANDREZA DE SOUZA SOARES

Impactos e potencialidades de nanopartículas de óxido de ferro, óxido de cobre e óxido de grafeno na agricultura: Avaliação sobre plantas de soja e outras plantas cultivadas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas. pela Banca Examinadora composta pelos membros: Prof. Dr. Rogério Marchiosi, Prof. Dr. Rodrigo Polimeni Constantin e Prof. Dr. Paulo Vinicius Moreira da Costa Menezes
Aprovado em: 28 de julho de 2023.

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Rogério Marchiosi
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof. Dr. Rodrigo Polimeni Constantin
Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Paulo Vinicius Moreira da Costa Menezes
Universidade Estadual de Maringá

DEDICATÓRIAS

Às minhas famílias. Tanto a de sangue, quanto as de coração.

AGRADECIMENTOS

À oportunidade de obter mais um título em uma Universidade pública, gratuita e de qualidade. Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ao professor Dr. Rogério Marchiosi, que há alguns anos me deu oportunidade e, desde então, me orientou durante minha trajetória. Agradeço pelo professor, pesquisador e pessoa que é.

Aos tantos integrantes do BIOPLAN que conheci, colaborei e convivi. Especialmente aos que me acompanharam e foram essenciais na pesquisa e na minha vida: Breno e Luiz. Obrigada por tudo, sobretudo pela nossa amizade.

Aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado. Com muito amor a cada um deles.

Maysa e Yudi, que estiveram desde o início desse processo. Vocês são essenciais na minha vida. Obrigada por me apoiar em todos os cenários possíveis. Minhas noites com vocês e a Isa me salvaram inúmeras vezes. Vocês e nossa amizade foram (e são) acolhimento, consolo e motivação. Amo vocês.

À minha amada família: vó, mãe, pai e Gusto. Aos meus nenéns amados Jorge e Luiz, minhas fiéis companhias.

Ao Guilherme, que desde que chegou em minha vida foi imprescindível a tudo (e mais um pouco).

EPÍGRAFE

*“Cause there were pages turned with the
bridges burned. Everything you lose is a
step you take.”*
Taylor Swift

RESUMO

A nanotecnologia é um campo em expansão com aplicações na medicina, indústria farmacêutica e agricultura. No entanto, a crescente liberação de nanopartículas (NPs) no ambiente durante sua produção e uso levanta preocupações sobre seus impactos nos organismos vivos e no ecossistema. Este estudo aborda o impacto das NPs de óxido de cobre (CuO) e ferro (FeO) nas plantas cultivadas e examina suas possíveis aplicações na agricultura.

Além disso, o óxido de grafeno, um nanomaterial com propriedades mecânicas e hidrofílicas únicas, é investigado em relação ao crescimento e fotossíntese de plantas de soja. Os resultados revelam que concentrações específicas de óxido de grafeno afetam significativamente o crescimento das plantas de soja, causando reduções no comprimento radicular, biomassa fresca e seca, bem como impactos negativos nos parâmetros fotossintéticos e índice SPAD. Em conjunto, esta pesquisa ressalta a necessidade de controle rigoroso na liberação de NPs no ambiente e destaca tanto os desafios quanto às oportunidades de utilizar NPs, como o CuO, FeO e óxido de grafeno, na agricultura moderna, buscando um equilíbrio entre os benefícios potenciais e os impactos ambientais.

Palavras-chave: Nanopartículas; Óxido de cobre; Óxido de ferro; Óxido de grafeno.

ABSTRACT

Nanotechnology is an expanding field with applications in medicine, pharmaceuticals and agriculture. However, the increasing release of nanoparticles (NPs) into the environment during their production and use raises concerns about their impacts on living organisms and the ecosystem. This study addresses the impact of copper oxide (CuO) and iron (FeO) NPs on crop plants and examines their potential applications in agriculture. Furthermore, graphene oxide, a nanomaterial with unique mechanical and hydrophilic properties, is investigated in relation to the growth and photosynthesis of soybean plants. The results reveal that specific concentrations of graphene oxide significantly affect the growth of soybean plants, causing reductions in root length, fresh and dry biomass, as well as negative impacts on photosynthetic parameters and SPAD index. Taken together, this research highlights the need for strict control over the release of NPs into the environment and highlights both the challenges and opportunities of using NPs, such as CuO, FeO and graphene oxide, in modern agriculture, seeking a balance between the potential benefits and environmental impacts.

Keywords: Nanoparticles; Copper oxide; Iron oxide; Graphene oxide.

Sumário

Apresentação.....	11
Capítulo I.....	12
Nanopartículas de óxido de ferro e cobre: possibilidades de aplicações na agricultura e impactos sobre plantas cultivadas	
Resumo.....	14
Introdução.....	15
Interações entre nanopartículas e plantas.....	18
Nanopartículas de óxido de cobre e ferro.....	20
Impactos de nanopartículas de Óxido de cobre (CuO) sobre plantas cultivadas.....	21
Possibilidades de aplicações de nanopartículas de óxido de cobre (CuO) na agricultura.....	28
Impactos de nanopartículas de Óxido de ferro (FeO) sobre plantas cultivadas.....	31
Possibilidades de aplicações de nanopartículas de óxido de ferro (FeO) na agricultura.....	37
Conclusões e futuras perspectivas.....	40
Referências.....	41
Capítulo II.....	51
Impactos de nanopartículas de óxido de grafeno sobre o crescimento e fotossíntese de plantas de soja	
Resumo.....	53
Introdução.....	54
Materiais e métodos.....	56

Resultados e discussão.....	60
Conclusões.....	64
Referências.....	66
Tabelas.....	70
Legendas das figuras.....	73
Figuras.....	74

Apresentação

Esta Dissertação é composta por dois capítulos. O capítulo I compreende um artigo de revisão sobre os impactos de nanopartículas de óxido de ferro e cobre sobre plantas cultivadas e possibilidades de aplicações na agricultura. Este capítulo foi intitulado “**Nanopartículas de óxido de ferro e cobre: possibilidades de aplicações na agricultura e impactos sobre plantas cultivadas**”. O capítulo II reúne os efeitos de nanopartículas de óxido de grafeno no crescimento e desenvolvimento de plantas de soja, com avaliação dos parâmetros biométricos, do teor de clorofila nas folhas e aspectos do aparelho fotossintético e seu funcionamento. O título do artigo é “**Impactos de nanopartículas de óxido de grafeno sobre o crescimento e fotossíntese de plantas de soja**”. Os artigos foram redigidos seguindo as normas das revistas as quais serão submetidas, conforme descrito abaixo:

Capítulo I – Soares, R. A. S.; Marchiosi, R. e colaboradores. Nanopartículas de óxido de ferro e cobre: possibilidades de aplicações na agricultura e impactos sobre plantas cultivadas. Será submetido ao Periódico *Plant Physiology and Biochemistry* (www.journals.elsevier.com/plant-physiology-and-biochemistry).

Capítulo II – Soares, R. A. S.; Marchiosi, R. e colaboradores. Impactos de nanopartículas de óxido de grafeno sobre o crescimento e fotossíntese de plantas de soja. Será submetido ao Periódico *Plant Physiology and Biochemistry* (www.journals.elsevier.com/plant-physiology-and-biochemistry).

CAPÍTULO I

Nanopartículas de óxido de ferro e cobre: possibilidades de aplicações na agricultura e impactos sobre plantas cultivadas

Rafaela Andreza de Souza Soares^a, Ana Paula Ferro^a, Breno Miguel Joia, Tawany Aparecida Valerio dos Santos, Guilherme Henrique Zavaski, Rodrigo Polimeni Constantin, Wanderley Dantas dos Santos, Osvaldo Ferrarese-Filho e Rogério Marchiosi*

Laboratório de Bioquímica de Plantas, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900, Maringá-PR

^aEstes autores contribuíram igualmente para esse artigo.

*Autor para correspondência:

Rogério Marchiosi

rmarchiosi@uem.br

Resumo

A nanotecnologia é um campo de pesquisa em plena expansão, tendo seu início há cerca de um século. Sua matéria prima são as nanopartículas (NPs) que, por definição, são substâncias que possuem pelo menos uma de suas dimensões menor do que 100 nm. Elas podem ser de ocorrência natural ou sintética, neste último caso sendo também denominadas nanomateriais (NMs) ou NMs de engenharia (ENMs), com inúmeras aplicações na medicina, na indústria farmacêutica e na agricultura. Atualmente, quantidades crescentes de NPs são liberadas no meio ambiente durante sua síntese, transporte, armazenamento e utilização, levantando questões sobre seus possíveis impactos sobre os organismos vivos e o meio ambiente. As plantas, sendo seres produtores nas cadeias alimentares, são portas de entrada de NPs para os diferentes níveis tróficos. Isto sugere que o controle da liberação de NPs para o meio ambiente bem como o monitoramento de seus possíveis efeitos adversos sobre os organismos vivos são questões cruciais para o desenvolvimento sustentável de tecnologias baseadas na utilização de NPs. As NPs de óxido de cobre (CuO) e ferro (FeO) estão entre as mais amplamente utilizadas. Tem sido proposto que essas NPs podem atuar como substitutos para os fertilizantes e pesticidas convencionais utilizados na agricultura. Em contraste, estudos sugerem que elas podem afetar processos fisiológicos e bioquímicos e impactar negativamente o crescimento e desenvolvimento de várias espécies de plantas. Quando absorvidas pelas plantas, elas podem, por exemplo, gerar espécies reativas de oxigênio (EROs) e desencadear estresse oxidativo. Neste trabalho, revisaremos os impactos de nanopartículas de CuO e FeO sobre plantas cultivadas, bem como suas possibilidades de aplicações na agricultura moderna.

Palavras-chave: Nanopartículas; Nanomateriais; Nanofertilizantes; Óxido de cobre; Óxido de ferro.

1. Introdução

O conceito de nanopartícula (NP) abrange uma gama de substâncias cujo tamanho é menor que 100 nanômetros (10^{-7} cm) em pelo menos uma dimensão. Estes materiais ganharam relevância quando pesquisas revelaram que suas propriedades físico-químicas, como o tamanho reduzido (área de superfície e distribuição de tamanho), composição química (pureza, cristalinidade) estrutura de superfície (reatividade, grupos orgânicos ou inorgânicos, revestimentos), solubilidade, forma e agregação, e também propriedades morfológicas e biológicas, podem ser influenciadas por suas dimensões (Khan et al., 2019; Nel, 2006; Nowack and Bucheli, 2007). De fato, em escala nanométrica estas propriedades diferem das observadas em macroescala (Hernández-Díaz et al., 2021). As propriedades singulares das NPs permitem sua aplicação em diferentes campos da ciência (Landa et al., 2017).

As NPs podem ter origem natural ou sintética. Elas são abundantes na natureza como produtos de diversos processos naturais, como erupções vulcânicas, erosão e incêndios florestais. As plantas e os animais também podem ser fontes de emissão de NPs, como na queda de cabelo em humanos (Buzea et al., 2007). As NPs sintéticas podem ser oriundas de três técnicas de síntese: 1) química, 2) física e 3) biológica ou verde. A primeira utiliza diversas técnicas, como eletroquímica e método com fluido supercrítico; a segunda usa deposição de fase gasosa, por exemplo, e a terceira emprega extrato de plantas, bactérias, fungos ou vírus (Ali et al., 2016; Hernández-Díaz et al., 2021). A classificação das NPs depende do aspecto a ser observado, tal como morfologia, tamanho e propriedades químicas. Dentre as mais empregadas, está aquela que classifica as NPs de acordo com suas propriedades físico-químicas em seis categorias: 1) NPs de carbono, 2) NPs metálicas, 3) NPs de cerâmica, 4) NPs condutoras, 5) NPs poliméricas e 6) NPs lipídicas (Khan et al., 2019).

Embora muitos avanços tenham sido alcançados apenas recentemente, a nanotecnologia é uma área conhecida desde o século passado (Khan et al., 2019). As pesquisas envolvendo NPs estão em constante expansão e investimento (Jeevanandam et al., 2018). Atualmente, as NPs são globalmente e massivamente utilizadas em áreas como agricultura, indústria de alimentos e biomedicina (Rizwan et al., 2017). Pode-se citar algumas aplicações mais específicas como, para fins terapêuticos e em diagnósticos (Singh et al., 2021), na captura de CO₂ (Ganesh et al., 2017), na detecção de gás (Ullah et al., 2017) e na melhoria das propriedades mecânicas em revestimentos, lubrificantes e adesivos (Kot et al., 2016), entre outras (Shalan et al., 2016). De acordo com inúmeros trabalhos, as NPs metálicas mostram várias aplicações potenciais, como na engenharia agrícola (Prasad, 2014;

Rizwan et al., 2017), nas ciências biomédicas (Singh et al., 2021), e nas ciências ambientais, para a remoção de poluentes perigosos, por exemplo (Zhao et al., 2021).

Atualmente, NPs também têm sido empregadas na agricultura em formulações de fertilizantes e pesticidas. Como o uso generalizado não significa atoxicidade, uma análise cuidadosa da concentração, destino e comportamento de NPs em sistemas naturais complexos é aconselhável (Giese et al., 2018) e essencial para prever impactos ambientais futuros e estabelecer legislação regulatória relevante (Dale et al., 2015). Modelos matemáticos são particularmente importantes para isso, porque a determinação experimental de NPs em meios naturais complexos é difícil e métodos analíticos estão em desenvolvimento (Dale et al., 2015; Gottschalk et al., 2013; von der Kammer et al., 2012). Em geral, esses modelos são baseados em 1) análise experimental da liberação de uma NP específica de vários produtos, 2) desenvolvimento de modelos de liberação de Nanomateriais de Engenharia (ENMs) específicos para aplicativos e 3) construção de modelos que exploram o ciclo de vida completo de NPs de uma variedade de aplicações, que compreende fabricação, incorporação de ENMs em produtos, uso dos mesmos, sua dispersão e transformações (Keller et al., 2013).

Estima-se que a população mundial pode atingir 9,6 bilhões de pessoas em 2050. Assim, é previsto um aumento na quantidade de alimentos produzidos e, conseqüentemente, uma elevação na utilização de agroquímicos, acompanhando o aumento da produtividade das plantações (Rai et al., 2018). Esse fato é comprovado pela alta produção global de fertilizantes inorgânicos, que alcançou valores próximos de 190 milhões de toneladas em 2019, segundo a (*World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2021*, 2021). Adicionalmente, alguns estudos mostram que percentuais maiores de 50% dos fertilizantes empregados no campo, são perdidos no ambiente e não atingem seu sítio específico de ação, fato decorrente de vários fatores, como lixiviação, imobilização, fotólise, hidrólise e degradação microbiana. Esse fato reforça o aumento da quantidade de agroquímicos utilizados (Green and Beestman, 2007).

Os fertilizantes químicos sintéticos, tradicionalmente utilizados, fornecem às plantas nutrientes adequados para o seu crescimento e desenvolvimento, promovendo aumento de produtividade. Dessa maneira, a produtividade das culturas depende, dentre outros fatores, do uso dessas substâncias. Em contrapartida, há riscos ambientais associados ao seu uso prolongado e em altas concentrações, como poluição atmosférica e de lençóis freáticos, eutrofização da água e degradação do solo (Seleiman et al., 2021). O uso de pesticidas na agricultura também é um tema recorrentemente discutido, principalmente em relação à magnificação trófica, que traz impactos diretos nas cadeias tróficas (Singh et al., 2021).

Nanofertilizantes (NFs) são formulados com NPs que contém macro e micronutrientes e são fornecidos às culturas de forma controlada (Shang et al., 2019). NFs apresentam características que os tornam altamente propícios para o uso na agricultura moderna, como grande área de superfície, maior capacidade de infiltração, liberação lenta e constante de nutrientes (Kottegoda et al., 2017). De acordo com essas especificidades, os NFs são usados para aumentar a biodisponibilidade de nutrientes para as plantas e, conseqüentemente, agregar na fertilidade do solo e na produtividade vegetal (Pitambará and Shukla, 2019). O uso de NFs enquadra-se como uma excelente alternativa para superar o impacto negativo dos fertilizantes químicos tradicionais, devido ao mecanismo de entrega inteligente de nutrientes para as plantas (Okey-Onyesolu et al., 2021; Raliya et al., 2018), fato comprovadamente visível pela sua eficácia em termos de produtividade das culturas e sustentabilidade ambiental, em relação aos fertilizantes utilizados na agricultura tradicional, quando utilizados em concentrações ideais (Seleiman et al., 2020). Os inúmeros benefícios dos NFs lançam boas perspectivas para a agricultura sustentável e a mitigação das mudanças climáticas (Babu et al., 2022).

Os nanoherbicidas, nome dado aos herbicidas constituídos por NPs, também podem ser ferramentas promissoras no controle de plantas indesejáveis, sendo ecologicamente menos danoso ao ambiente, assim, mostra-se uma boa opção para substituir os herbicidas tradicionais, pois tem potencial iminente para reformar o sistema agrícola resiliente (Pérez-de-Luque, 2017). Alguns exemplos utilizados são as: 1) nanocápsulas como carreadores para o herbicida atrazina (Oliveira et al., 2015); 2) NPs de quitosana ligadas ao herbicida diuron, para sua entrega controlada (Yu et al., 2015).

Considerando que as NPs podem causar impactos positivos, negativos ou neutros, depois da acumulação em plantas cultivadas (Rai et al., 2018), e, além da maior eficiência de pesticidas, herbicidas e fertilizantes formulados com NPs, em comparação com os agroquímicos tradicionalmente utilizados, uma vez que as NPs empregadas são alvos específicos de ação (Singh et al., 2021), a nanotecnologia tem sido apontada ser uma promissora escolha para a agricultura moderna, mostrando-se uma alternativa potente para substituir os agroquímicos convencionais e contribuir para a revolução agrotecnológica (Seleiman et al., 2021). Ela auxiliaria na resolução dos conflitos agrícolas e ambientais, elevando a produção global de alimentos, concomitantemente com a proteção/conservação dos ambientes e recursos naturais (Arora, 2018).

Para considerar este novo e promissor caminho para a agricultura, é imprescindível conhecer a captação e o movimento das NPs do solo para a planta (Seleiman et al., 2021) e, além disso, os efeitos nos organismos e no ambiente, pensando em segurança ambiental (Landa,

2021). Por exemplo, os efeitos sobre comunidades microbianas do solo, microrganismos suscetíveis à NPs, como as micorrizas, que são benéficas para as culturas (Dimkpa, 2014; Landa, 2021).

O campo da ciência que busca investigar os efeitos adversos das NPs sobre os organismos vivos é a nanotoxicologia. Muitos trabalhos têm sido publicados nos últimos anos nesta área, os quais mostram que as NPs podem ser tóxicas para comunidades de bactérias do solo, micro-organismos, plantas, fungos e animais, especialmente em doses elevadas. Em contraste, uma variedade de formulações baseadas em NPs, incluindo pesticidas, herbicidas, fungicidas, fertilizantes e sensores, vêm sendo amplamente investigadas para o incremento de nutrientes disponíveis para as plantas e melhoria do solo (Chhipa, 2017; Mittal et al., 2020; Singh Meena et al., 2017).

Neste artigo, revisaremos os impactos de nanopartículas de CuO e FeO sobre plantas cultivadas, bem como suas possibilidades de aplicações tecnológicas na agricultura moderna e potenciais efeitos adversos.

2. Interações entre nanopartículas e plantas

As plantas são seres autotróficos, produtores nas cadeias tróficas. São fontes primárias de alimento para herbívoros e onívoros nas cadeias alimentares. Dessa forma, as plantas são rotas primárias para o transporte de NPs a níveis tróficos superiores (Yusefi-Tanha et al., 2020). A interação entre plantas e NPs pode resultar em absorção e, conseqüente acúmulo nos vegetais, podendo ocasionar algumas alterações (Hossain et al., 2015).

De acordo com alguns critérios relacionados às NPs, como propriedades físico-químicas, tamanho, carga superficial, forma e potencial de interação com as plantas, elas podem ser absorvidas, alcançando o interior celular e serem transformadas (Pérez-de-Luque, 2017). O primeiro critério considerado é o tamanho, o qual é muito importante para entender o processo de absorção pelas plantas. Em geral, NPs menores que 50 nm em média podem ser penetrantes.

Aquelas de tamanho entre 4 e 100 nm podem romper a camada de cera da cutícula que recobre as folhas, além do que, NPs maiores que 50 nm podem ser acumuladas na epiderme, sob a cutícula. NPs menores do que 5 nm são capazes de atravessar livremente a parede celular, uma vez que essa estrutura apresenta uma faixa de tamanho de 3,5-20 nm, tendo frequentemente um tamanho de 5 nm. As NPs também podem atravessar livremente as folhas em virtude da presença de estômatos inseridos em determinados locais da área foliar, entrando via fenda estomática, uma vez que ela transpassa a lâmina foliar e têm dimensões de aproximadamente,

3-12 μm de largura e 10-30 μm de comprimento durante sua abertura para trocas gasosas. A interação entre NMs e plantas depende da carga de superfície e energia da NP, que determinam como ela poderá interagir com os receptores de superfície, transportadores e proteínas específicas de membrana (Mittal et al., 2020).

Após a transposição da parede celular, a translocação pode ocorrer tanto pela via simplástica quanto pela via apoplástica (Hatami et al., 2016; R. P. Singh et al., 2021). As NPs alcançam o interior da planta através do córtex e do periciclo, entram no tecido vascular xilema, o qual promove o transporte no interior da planta, para todas as suas regiões (Rizwan et al., 2017). Levando em consideração que as NPs estão disponíveis principalmente na solução do solo, a qual faz contato direto com o sistema radicular, as NPs são absorvidas principalmente do solo pelas raízes, fato esse comprovado em estudos que demonstram que a maior parte das NPs são acumuladas nas raízes, enquanto uma menor quantidade acumula-se nas folhas (Ma et al., 2010).

Os efeitos das NPs nas plantas dependem do seu tipo, tamanho e concentração, além da fonte (Rizwan et al., 2017). No interior da célula, as NPs interagem com os diversos componentes intracelulares, como organelas e outras estruturas citoplasmáticas. As interações mais estudadas são aquelas que ocorrem com as organelas mitocôndrias e cloroplastos, nas quais ocorrem mudanças químicas e/ou físicas (Hatami et al., 2016).

As NPs metálicas ou de óxido de metais são mais tóxicas para plantações do que as partículas de metais (Rizwan et al., 2017). Elas podem induzir ao estresse oxidativo e causar danos celulares (Yusefi-Tanha et al., 2020). O estresse oxidativo é o efeito negativo de NPs mencionado com maior frequência em estudos nanotoxicológicos (Landa, 2021). Muitos estudos também sugerem uma diminuição no número de mitoses, prejudicando a divisão celular no ápice radicular de muitas plantas (Rizwan et al., 2017). Trabalhos também apontaram para a diminuição no conteúdo de pigmentos absorvedores de luz como clorofilas e carotenoides, redução da eficiência do fotossistema II e da fotofosforilação (Hatami et al., 2016). Em contrapartida, alguns estudos demonstram que NPs de dióxido de titânio (TiO_2), em concentrações apropriadas, aumentaram a eficiência da fotossíntese em tomates sob estresse térmico, por exemplo (Qi et al., 2013).

3. Nanopartículas de óxido de cobre e ferro

Dentre as NPs metálicas, as de óxido de ferro (FeO) e óxido de cobre (CuO) têm sido destacadas na literatura especializada e merecem maior atenção dos pesquisadores. Deste modo, ambas

foram escolhidas nesta revisão bibliográfica. A busca referencial foi efetuada com base na pesquisa de termos-chaves como “*CuO nanoparticles plants effects*”, “*FeO nanoparticles plants effects*”, “*Copper oxide nanoparticles*”, “*Iron oxide nanoparticles*”, “*CuO in plants*”, “*FeO in plants*”, “*Copper oxide in agriculture*” e “*Iron oxide in agriculture*” no Google Acadêmico. Então, uma cuidadosa seleção foi realizada e os artigos escolhidos passaram por leitura crítica.

O elemento cobre (Cu) é um micronutriente vital, e é primordial em processos como a cadeia transportadora de elétrons fotossintética, respiração celular, sinalização hormonal, ou seja, em processos relacionados ao crescimento e desenvolvimento da planta. No entanto, em altas concentrações, ele é tóxico, podendo causar clorose, necrose e atrofia das plantas (Shaw and Hossain, 2013). O cobre pode ser encontrado em duas formas: Cu^{1+} e Cu^{2+} , logo, pode funcionar como agente redutor ou agente oxidante nas reações (V. D. Rajput et al., 2018).

O ferro (Fe) é um dos elementos mais comuns da crosta terrestre e é vital aos organismos vivos. Aproximadamente, os dezesseis óxidos de ferro conhecidos resultam da combinação química dos elementos ferro e oxigênio. As formas mais comuns encontradas na natureza são a magnetita (Fe_3O_4), maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) (Ali et al., 2016). A magnetita contém átomos de ferro II e ferro III, já a hematita tem apenas átomos de ferro III (Silva et al., 2015). A magnetita e a maghemita ocorrem naturalmente como cristais de dimensões nanométricas, provenientes de fontes como vulcões e incêndios (Alidoust and Isoda, 2013).

A biodisponibilidade do ferro para as plantas é baixa, portanto, sua deficiência é comum nos cultivos. Sua ausência ou diminuição causa clorose nas folhas, reduz a produtividade e a qualidade nutricional da cultura. O ferro é componente de cofatores de enzimas envolvidas no transporte de oxigênio e estudos têm mostrado muitos efeitos positivos nos vegetais, como retardo na senescência, elevação das trocas gasosas e, conseqüentemente, aumento da taxa de assimilação de CO_2 , devido à atuação na abertura estomática (Landa, 2021).

Recentemente, alguns estudos toxicológicos têm sido realizados com o objetivo de verificar os possíveis impactos de NPs de FeO e CuO sobre uma variedade de espécies vegetais. Entretanto, até o momento, nenhuma revisão de seus efeitos sobre plantas cultivadas está disponível na literatura, o que nos motivou na realização deste trabalho. Além disso, como algumas aplicações para estas NPs também foram sugeridas na agricultura, este projeto também pretende compilar tais informações tornando-as mais acessíveis aos pesquisadores da área.

4. Impactos de nanopartículas de Óxido de cobre (CuO) sobre plantas cultivadas

Em comparação às outras NPs, as de cobre (CuO) estão dentre as mais amplamente utilizadas (Landa et al., 2017). Comercialmente, são utilizadas como sensores de gás, nanofluidos de transferência de calor, revestimentos antimicrobianos, cosméticos, surfactantes e também em plásticos (Landa et al., 2017; Wang et al., 2012). E, de acordo com os autores (Gao et al., 2018; Rajput et al., 2020; V. Rajput et al., 2018), juntamente com os trabalhos citados neste parágrafo, as NPs de CuO apresentam toxicidade na saúde humana, nas plantas e no meio ambiente.

Em relação às plantas, estudos experimentais com arroz em sistema hidropônico demonstraram que as NPs de CuO são captadas pelas raízes, transportadas, biotransformadas e movidas para o estelo. No entanto, elas têm dificuldade de atravessar as estrias de Caspary localizadas na endoderme (Peng et al., 2015). Estudos mostram que o efeito da exposição de NPs de CuO são a geração de EROs e alterações morfológicas das plantas (Prakash et al., 2015). Espécimes de *Arabidopsis thaliana* expostas a estas NPs demonstraram redução do caule e do crescimento de raízes, lignificação de células radiculares, morte celular e peroxidação lipídica (Nair and Chung, 2014a).

Na agricultura, as NPs de CuO são amplamente utilizadas como fungicida de amplo espectro, pois apresentam alta eficiência para essa atividade (Chen, 2018). Além das propriedades antimicrobianas que somam os efeitos positivos, as NPs de CuO podem ser fitotóxicas, com respostas variadas em diferentes espécies, doses e aplicações, o que traz a possibilidade de uso como herbicida (Dimkpa et al., 2012), pesticidas, fertilizantes, remediação de solos e para controle de crescimento (Xiong et al., 2017).

Muitos estudos disponíveis sugerem que NPs de CuO têm alta toxicidade para vários organismos, com destaque para plantas. Em relação à germinação, que reflete o início do desenvolvimento e processos fisiológicos de uma planta, alterações foram observadas. Sementes de alface expostas às concentrações entre 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de NPs de CuO tiveram seu índice de germinação diminuído. Houve também diminuição na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), com consequente diminuição na capacidade antioxidante. Em contrapartida, houve aumento da germinação e crescimento radicular em sementes expostas à concentração de 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Pelegriño et al., 2020). Sementes de quiabo expostas às concentrações entre 100 mg L^{-1} e 1000 mg L^{-1} apresentaram diminuição dose-dependente no teor de clorofila. Na concentração máxima verificou-se acúmulo de malondialdeído (MDA), e houve produção dose-dependente de EROs, além da diminuição da capacidade antioxidante (Baskar et al., 2021). Experimentos utilizando sementes de feijão-mungo expostas à 1000 mg L^{-1} de NPs de CuO demonstram redução de 27% na germinação das sementes e retardo no crescimento das mudas. Ainda, o teor de proteínas foi reduzido em 44% e o teor de açúcares

em 46% (Singh et al., 2017). Esses dados demonstram claramente que as NPs podem influenciar significativamente a qualidade nutricional dos alimentos (Rajput et al., 2020).

Experimentos com hidroponia envolvendo a suspensão das NPs na solução nutritiva, demonstraram resultados como redução de 38.4%, 62.7% e 72.8% em plantas de arroz, cultivadas em concentrações de 62.5, 125 e 250 mg kg⁻¹. Também foi apresentado aumento na concentração de MDA e diminuição na atividade das enzimas catalase (CAT) e peroxidase (POD), sugerindo um possível estresse oxidativo. Em relação aos pigmentos, houve redução na concentração de clorofila e carotenóides, além de um aumento na atividade dos genes CHLD, CHLG, CHLM e CAO, associados à síntese de clorofila (X. Yang et al., 2020). Plantas de cevada cultivadas em hidroponia, sob 17, 35 e 70 mg L⁻¹ de NPs de CuO, apresentaram redução no tamanho das raízes e caules e aumento nos níveis de miRNA, cuja função é relacionada à resistência a infecções (Petrova et al., 2021). O trabalho de Wang et al., (2012), utiliza análises com Microscópio Eletrônico de Transmissão [*Transmission Electron Microscopy* (TEM)] e Espectroscopia Dispersiva de Energia [*Energy Dispersive Spectroscopy* (EDS)], e demonstra que em plantas de milho, as NPs de CuO são transportadas da raiz para outras partes da planta por meio do xilema e são translocadas de volta para a raiz através do floema. Além disso, observou-se a inibição do crescimento dessas plântulas na concentração de 100 mg L⁻¹, muito embora a germinação não tenha sido afetada. Os resultados do trabalho apontam diretamente para uma bioacumulação nos tecidos vegetais de milho expostos a NPs de CuO, assim como uma biotransformação destas NPs. Contudo, evidências apontam para um possível risco ambiental e na segurança deste alimento.

Considerando como semi-hidropônicos aqueles experimentos que utilizam areia como substrato, o trabalho de Adams et al., (2017), utiliza areia úmida esterilizada como substrato e NPs de CuO (10, 30 e 300 mg Kg⁻¹) como tratamento sobre plantas de trigo, demonstrou inibição do alongamento das raízes, além de aumento no número dos pelos radiculares e diminuição das zonas de divisão.

O trabalho de Yusefi-Tanha et al., (2020), testou sementes de soja em solo sob diferentes tamanhos de NPs de CuO (25, 50 e 250 nm), além de diferentes concentrações (50, 100, 200 e 500 mg Kg⁻¹). Verificou-se que a peroxidação lipídica e a medida de marcadores antioxidantes na folha de soja aos 120 dias após o plantio, sofreram influência dependente do tamanho e da concentração das NPs de CuO, sendo maiores com NPs de 25 nm. Além disso, o rendimento das sementes de soja foi afetado, refletindo inibição dependente do tamanho e da concentração das NPs, mostrando diminuição significativamente maior sob tratamento com NPs de 25 nm.

Testes utilizando milho em substrato, com NPs de CuO em 800 ppm, demonstraram aumento de 21% do comprimento das raízes e um aumento geral de crescimento do broto de 25%. Houve também grande aumento no conteúdo de clorofila *a* e *b*. Apesar disso, houve dano oxidativo e redução repentina nas atividades das enzimas CAT, POD e SOD (Toqeer et al., 2020). Plantas de trigo sob tratamento com NPs de CuO aplicadas no substrato (500 mg kg⁻¹ de solo) apresentaram diminuição de aproximadamente 6,6 cm no crescimento da raiz (Gao et al., 2018). Da mesma forma, experimentos utilizando cevada com 10 g L⁻¹ de NPs de CuO aplicadas no substrato, demonstraram redução no crescimento de raízes e caules, diminuição dos pelos radiculares, do número e tamanho dos estômatos e cloroplastos (V. Rajput et al., 2018). O trabalho de le Van et al., (2016) demonstraram efeitos prejudiciais de NPs de CuO sobre plantas transgênicas de algodão. Houve diminuição do crescimento e desenvolvimento nas plantas tratadas com concentrações de 10, 200 e 1000 mg L⁻¹, com redução da altura das plantas, comprimento, número e biomassa de raízes. A absorção dos nutrientes boro, molibdênio, manganês, magnésio, zinco e ferro também foi afetada. Além disso, foi verificada diminuição nas concentrações dos fitormônios ácido indol-3-acético (AIA) e ácido abscísico (ABA), responsáveis pela regulação do crescimento e desenvolvimento em plantas.

Em contrapartida, resultados com batata-doce cultivadas em substrato contendo 25 mg kg⁻¹ de NPs de CuO demonstraram aumento no comprimento das raízes. Essa produção de raízes de armazenamento mais longas não apresentou prejuízo nos teores de açúcares e proteínas (Bonilla-Bird et al., 2020). Grãos de cevada também tiveram aumento em seu rendimento, sem prejuízos na qualidade nutricional, quando submetidos a tratamento com NPs de CuO (0.01g por hectare) em conjunto com íons de cobre (Seregina et al., 2020). Plantas de alface sob tratamento com 50 µg L⁻¹ de NPs de CuO, em conjunto com 100 µg L⁻¹ de *S*-nitrosoglutaciona por aspersão foliar, aumentaram em três vezes sua biomassa seca. Também se verificou aumento nos níveis de potássio (K), sódio (Na), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) nas folhas (Pelegriño et al., 2021). Experimento com plantas de trigo sob placas de Petri com tratamento de NPs de CuO em concentração de 0.01 g L⁻¹, demonstraram aumento de 14,5% na capacidade de germinação e aumento de duas vezes no comprimento da raiz e caule (Zakharova et al., 2019). Já o trabalho de (Nair and Chung, 2014b), utilizando meio de cultura contendo NPs de CuO para avaliar o efeito em plantas de soja, demonstrou redução no crescimento das plantas, consequentemente na biomassa fresca, juntamente com redução na concentração de clorofila. Além disso, foi observado aumento na geração de EROs, apontando um estresse oxidativo.

Experimentos com a planta modelo *Arabidopsis thaliana* foram realizados em busca de compreender os mecanismos envolvidos na toxicidade das NPs de CuO sobre plantas. A translocação das raízes para o caule foi baixa, portanto, a toxicidade afeta principalmente as raízes. Comprovadamente, foram visualizadas alterações na morfologia celular, visto que as NPs afetaram os filamentos de actina do citoesqueleto e as células do ápice da raiz tiveram um desenvolvimento e crescimento anormal (Jia et al., 2020).

Tabela 1 – Efeitos de nanopartículas (NPs) de óxido de cobre (CuO) sobre plantas cultivadas.

NPs	Tamanho (nm)	Concentração	Meio de cultivo	Modo de exposição	Espécie	Efeitos fisiológicos e bioquímicos	Referência
CuO	<50	3, 10, 30 e 300 mg kg ⁻¹ de areia	Areia úmida esterilizada	Aplicação na areia	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	Inibição do alongamento das raízes (10, 30 e 300 mg kg ⁻¹); Aumento no número dos pelos radiculares e redução das zonas de divisão.	(Adams et al., 2017)
CuO	25-55	100, 250, 500 e 1000 mg L ⁻¹	Substrato	Exposição das sementes	<i>Abelmoschus esculentus</i> (quiabo)	Diminuição dose-dependente do teor de clorofila; Acúmulo de malondialdeído (1000 mg L ⁻¹); Aumento da concentração de antocianina (500 mg L ⁻¹); Redução da concentração de DPPH (para determinação de antioxidantes total); Produção dose-dependente de EROs.	(Baskar et al., 2021)
CuO	<50	25, 75 e 125 mg kg ⁻¹	Substrato	Aplicação no substrato, suspensão em solução	<i>Ipomea batatas</i> (batata-doce) (2 variedades: COV e B14)	Promoção do comprimento das raízes (variedade COV - 25 mg kg ⁻¹); Aumento de Mg na periderme (variedade B-14 - 125 mg kg ⁻¹); Produção de raízes mais longas, sem afetar o conteúdo de açúcares e proteínas nas raízes de armazenamento.	(Bonilla-Bird et al., 2020)
CuO	~40	500 mg kg ⁻¹ de solo	Substrato	Aplicação no substrato	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	Diminuição do crescimento da raiz (6,6 cm).	(Gao et al., 2018)
CuO	<50	5, 10, 20 e 40 mg L ⁻¹	Dispersão de uma gota de NP por capilaridade (evaporada com etanol) e, em seguida, pulverizada com ouro	Exposição de mudas	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Alteração dos filamentos de actina do citoesqueleto e da morfologia celular; Desenvolvimento anormal de células no ápice radicular; Danos secundários por inibição do transporte de auxina.	(Jia et al., 2020)

CuO	50	0, 50, 100, 200, 400 e 500 mg L ⁻¹	Meio de Cultura	Aplicação no meio de cultura	<i>Glycine max</i> (soja)	Redução no crescimento, biomassa fresca e teores de clorofila (500 mg L ⁻¹); Estresse oxidativo dose-dependente.	(Nair and Chung, 2014b)
CuO	~6.6	0.2, 2, 20, 80, 150 e 300 µg mL ⁻¹	Partículas dispersas em solução de crescimento. Placa de Petri, papel filtro umedecido com solução	Exposição das sementes	<i>Lactuca sativa</i> (alface)	Promoção da germinação das sementes e crescimento radicular (20 µg mL ⁻¹); Aumento da fitotoxicidade a partir de 80 µg mL ⁻¹ , com queda do índice de germinação; Aumento dose-dependente da concentração de nitrito; Redução da atividade da SOD e da capacidade antioxidante.	(Pelegriño et al., 2020)
CuO (+ S-nitrosoglutatona)	183.8 ± 2.9	50 µg L ⁻¹ (S-nitrosoglutatona: 100 µg L ⁻¹)	Substrato	Foliar	<i>Lactuca sativa</i> (alface)	Aumento de três vezes na biomassa seca; Transpiração da planta não foi afetada; Elevação nos níveis de K, Na, Ca, Mg e S nas folhas.	(Pelegriño et al., 2021)
CuO e Fe ₃ O ₄	25	17, 35 e 70 mg L ⁻¹	Hidroponia	Suspensão em solução	<i>Hordeum vulgare</i> (cevada)	CuO reduziu o comprimento das raízes e caule; Fe ₃ O ₄ aumentou o comprimento do caule e a biomassa fresca; CuO elevou os níveis de miRNA.	(Petrova et al., 2021)
CuO	30-50	10 g L ⁻¹	Substrato	Aplicação no substrato	<i>Hordeum vulgare</i> (cevada)	Inibição do crescimento em alta concentração; Afetou o crescimento de raízes e caules; Redução dos pelos radiculares; Queda do número e tamanho dos estômatos e cloroplastos.	(V. Rajput et al., 2018)
CuO (+ Cu)	40 - 60	0.01 g hectare ⁻¹	Substrato	Partículas em suspensão	<i>Hordeum vulgare</i> (cevada)	Ganho no rendimento dos grãos, sem prejuízo na qualidade nutricional.	(Seregina et al., 2020)
CuO	20-40	1, 10, 100, 500 e 1000 mg L ⁻¹	Placa de Petri	Aplicação nas sementes	<i>Vigna radiata</i> (feijão-mungo)	Redução significativa (27%) na germinação das sementes; Retardo no crescimento das mudas em altas concentrações (1000 mg L ⁻¹);	(Singh et al., 2017)

						Decréscimo significativo nos teores de proteínas e açúcar (44% e 46%, respectivamente, a 1000 mg L ⁻¹).	
CuO	20 - 26	550 e 800 ppm	Substrato (75% de solo fresco normal e 25% de solo composto)	Aplicação no substrato	<i>Zea mays</i> (milho)	Promoção do crescimento do broto (25%) e da raiz (21%) a 800 ppm; Forte resposta antioxidante, queda repentina das atividades da CAT, SOD e POD a 800 ppm; Dano oxidativo; Elevação do comprimento das raízes a 800 ppm; Aumento, em altas concentrações, dos conteúdos de clorofila <i>a</i> e <i>b</i> .	(Toqeer et al., 2020)
CuO	30 ± 10	0, 10, 200 e 1000 mg.L ⁻¹	Substrato	Aplicação no substrato	<i>Gossypium</i> sp. (algodão)	Inibição do crescimento (> 10 mg L ⁻¹); Diminuição da concentração dos hormônios AIA e ABA; Redução da absorção de nutrientes (B, Mo, Mn, Mg, Zn e Fe).	(le Van et al., 2016)
CuO	20 - 40	2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100 mg L ⁻¹	Hidroponia	Partículas em suspensão	<i>Zea mays</i> (milho)	Inibição do crescimento de plântulas; Evidências de bioacumulação.	(Wang et al., 2012)
CuO	<50	62.5, 125 e 250 mg L ⁻¹	Hidroponia	Aplicação na solução nutritiva, suspensão em solução	<i>Oryza sativa</i> (arroz)	Redução do peso das raízes (38,4% a 62.5 mg L ⁻¹ ; 62,7% a 125 mg L ⁻¹ ; 72,8% a 250 mg L ⁻¹); Destruição da integridade da membrana; Aumento na concentração de malondialdeído (69,7% a 125 mg L ⁻¹ e 83,4% a 250 mg L ⁻¹); Elevação da condutividade elétrica; Redução da atividade da CAT e POD (250 mg L ⁻¹); Queda da concentração de clorofilas e carotenoides; Ativação na expressão dos genes de síntese de clorofila (CHLD, CHLG, CHLM e CAO).	(Z. Yang et al., 2020)
CuO	25, 50 e 250	50, 100, 200 e 500 mg kg ⁻¹ de solo	Substrato	Aplicação no substrato	<i>Glycine max</i> (soja)	Aumento da peroxidação lipídica, da medida de biomarcadores antioxidantes e redução do rendimento das sementes dose-dependente e tamanho-dependente; Indicação de toxicidade.	(Yusefi-Tanha et al., 2020)

CuO	50	0.1 e 0.01 g L ⁻¹	Placa de Petri	Aplicação nas sementes	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	Ativação de 14,5% na capacidade de germinação (0.01 g L ⁻¹); Aumento de duas vezes no comprimento de raízes e caules (0.01 g L ⁻¹).	(Zakharova et al., 2019)
-----	----	------------------------------	----------------	------------------------	----------------------------------	---	--------------------------

5. Possibilidades de aplicações de nanopartículas de óxido de cobre (CuO) na agricultura

As NPs baseadas em cobre são conhecidas pela potencial ação fungicida na agricultura, especialmente pela efetividade contra uma variedade de fungos fitopatogênicos (Singh et al., 2021). O trabalho de Consolo et al., (2020) trouxe resultados indicando ação antifúngica *in vitro* de NPs de CuO (5, 10 e 20 ppm) sobre as espécies *Alternaria alternata*, *Pyricularia oryzae* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Os dados também demonstraram que a ação foi dose-dependente. Da mesma forma, NPs de CuO também demonstraram atividade antifúngica contra fungos das espécies *Alternaria mali*, *Diplodia seriata* e *Botryosphaeria dothidea* nas concentrações 0.1, 1 e 2.5 mg mL⁻¹. Houve aumento de 20 a 30% na atividade fungicida (Ahmad et al., 2020). Foi demonstrado que, em comparação com sais solúveis de cobre (Cu), o uso de NPs de CuO como fungicida é menos tóxico para as plantas (Pu et al., 2019).

Além da atividade antifúngica, também foi verificada atividade antibacteriana. O trabalho de Chen et al., (2019) demonstrou, *in vitro*, atividade bacteriostática dose-dependente (50, 125, 250 µg mL⁻¹) sobre o fitopatógeno *Ralstonia solanacearum*, com morte celular na concentração de 250 µg mL⁻¹. Todavia, também há trabalhos que demonstram riscos potenciais às comunidades microbianas benéficas do solo. De acordo com Concha-Guerrero et al., (2014), cujo trabalho utilizou bactérias isoladas de um fragmento de solo agrícola, as NPs de CuO foram tóxicas para as bactérias nativas. A citotoxicidade foi observada em diversas partes da célula, como por exemplo desnaturação proteica da membrana celular e, por conseguinte, sua desorganização, levando à modificação da morfologia e função, danos no material genético e estresse oxidativo. De maneira similar, riscos ao ecossistema microbiano foram demonstrados em trabalho por (Xu et al., 2015). Em comparação a NPs de TiO₂, as NPs de CuO afetaram o ecossistema microbiano de solos de arroz, o que levou à indisponibilidade de nutrientes, indicando um possível risco ambiental.

A possibilidade de aplicação como fertilizante também foi demonstrada. Experimentos com NPs de CuO (50 mg Kg⁻¹) aplicadas sobre substrato com plantas de trigo levou a uma comunidade microbiana mais especializada na fixação de nitrogênio, diminuiu processos de desnitrificação e aumentou a saúde da comunidade microbiana da rizosfera de trigo (Guan et al., 2020). O trabalho de Liu et al., (2021) apresentou aumento da riqueza e diversidade das comunidades de bactérias e fungos do solo em baixas dosagens (250 mg kg⁻¹) de NPs de CuO. Experimentos com plantas da espécie *Allium fistulosum* (popularmente conhecida como cebolinha) demonstraram um aumento na qualidade nutricional da planta. Houve aumento da concentração de elementos essenciais, como cálcio (86%), ferro (76%), magnésio (108%),

manganês e níquel, quando comparados com o controle. Além disso, houve diminuição nos níveis da enzima catalase (CAT), associada ao estresse oxidativo (Wang et al., 2020).

Tabela 2 – Aplicações de nanopartículas (NPs) de óxido de cobre (CuO) na agricultura.

NPs	Tamanho (nm)	Concentração	Modo de aplicação	Aplicação	Efeitos fisiológicos e bioquímicos	Referência
CuO	80 ± 15	0.1, 1 e 2.5 mg mL ⁻¹	Meio de cultura	Fungicida	Aumento de 20-30% na atividade antifúngica (<i>Alternaria mali</i> , <i>Diplodia seriata</i> e <i>Botryosphaeria dothidea</i>) do extrato de <i>Azadirachta indica</i> .	(Ahmad et al., 2020)
CuO	40 - 80	50, 125, 250 µg mL ⁻¹	Meio de cultura	Bactericida (<i>Ralstonia solanacearum</i>)	Atividade bacteriostática dose-dependente; Morte das bactérias em altas concentrações (250 µm mL ⁻¹).	(Chen et al., 2019)
CuO	276.43 ± 76.77 e 58.87±10.00	5, 10 e 20 ppm	Meio de cultura	Antimicrobiano	Controle dose-dependente dos fungos <i>Alternaria alternata</i> , <i>Pyricularia oryzae</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .	(Consolo et al., 2020)
CuO	28 ± 14	50 mg Kg ⁻¹	Substrato	Fertilizante	Maior especialização na fixação de nitrogênio de uma comunidade microbiana; Queda de processos de desnitrificação; Promoção da saúde da comunidade microbiana da rizosfera de trigo.	(Guan et al., 2020)
CuO (+ ZnO)	40	250, 500 e 1000 mg kg ⁻¹	Substrato	Fertilizante	Aumento da riqueza e diversidade das comunidades de bactérias e fungos do solo (em baixas dosagens).	(Liu et al., 2021)
CuO	50	500 mg kg ⁻¹ de solo	Substrato	Fungicida	Em comparação aos sais solúveis de Cu, foi menos tóxico para as plantas.	(Pu et al., 2019)
CuO	10	5, 150, 300, e 600 mg kg ⁻¹ de solo	Hidroponia	Fertilizante	Ganho na qualidade nutricional; Aumento de elementos essenciais (Ca, Fe, Mg, Mn e Ni).	(Wang et al., 2020)

6. Impactos de nanopartículas de óxido de ferro (FeO) sobre plantas cultivadas

As NPs de FeO têm propriedades magnéticas fortes, o que desperta grande interesse na sua utilização na área biomédica (Ali et al., 2016). Assim, NPs de FeO superparamagnéticas – com revestimento biocompatível e não-tóxico – podem ser usadas *in vivo* em processos como reparação de tecidos, imunoenensaio e ligação a substâncias químicas para levá-las a um tecido específico, por exemplo (Laurent et al., 2008).

Enquanto doses baixas de NPs de ferro podem trazer benefícios como estímulo da germinação, altas doses podem diminuir o crescimento das plantas e gerar EROs. Como resposta, há aumento nos níveis de enzimas antioxidantes na planta para reduzir os danos. As NPs de FeO ficam acumuladas e agregadas na superfície das raízes, interferindo no processo de absorção de água e nutrientes. A membrana e a parede celular das células radiculares sofrem ruptura mecânica (Cunha Lopes et al., 2018).

Além disso, estudos demonstram que as NPs de FeO causam um aumento significativo no conteúdo de lignina nas raízes de plantas de soja (Cunha Lopes et al., 2018). O aumento da lignina é associado a estresses abióticos, simbolizando um mecanismo de defesa da planta. Também há indicativos da possibilidade de NPs de FeO protegerem contra o estresse, eliminando o estresse oxidativo ocasionado pela falta de água, por exemplo. Ainda, promove aumento nos níveis de carboidratos e podem prevenir acúmulo de metais pesados nas plantas (Landa, 2021).

O trabalho de Pariona et al., (2017), utilizou NPs de Fe₂O₃ sobre sementes de milho (1, 2, 4 e 6 g L⁻¹) e mostrou aumento do crescimento e dos níveis de clorofila, porém, a concentração de 6 g L⁻¹ causou uma pequena inibição na germinação das sementes. Em contraste, sementes de milho germinadas em papel Germitest[®] sob tratamento com 20, 40, 80 e 160 mg L⁻¹ de NPs de Fe₃O₄, apresentaram inibição no crescimento radicular e a concentração de 160 mg L⁻¹ foi fitotóxica (Esper Neto et al., 2021). O trabalho de Lau et al., (2020), o qual utiliza NPs de Fe₃O₄ sobre sementes de tomate, exibiu resultados neutros. Não houve nenhuma alteração significativa no crescimento inicial. A aplicação de 10, 15 e 20 mg L⁻¹ de NPs de Fe₂O₃ sobre sementes de trigo gerou aumento significativo dos parâmetros fotossintéticos, como teor dos pigmentos absorvedores de luz, como clorofila *a* e *b*, e carotenoides, assim como a fotossíntese líquida (P_n). Juntamente, houve aumento de 35% no crescimento das plantas, aumento de 49% na altura das espigas, aumento da biomassa seca da parte aérea (58%), raízes (61%), espigas (79%) e grãos (70%) no tratamento com 20 mg L⁻¹ (Rizwan et al., 2019a).

Plantas de soja expostas a NPs de γ -Fe₂O₃ demonstraram aumento no conteúdo de clorofila, na biomassa vegetal, no índice do desenvolvimento das raízes e também na captação de manganês pelos brotos, nas concentrações de 15, 30 e 60 mg por vaso, com aplicação no substrato. Com aplicação foliar de 15 mg por vaso, houve redução de 23,1% na captação de molibdênio, um cofator para a enzima nitrogenase, aumento na biomassa do caule (54%) e raiz (52,3%) (Yang et al., 2020).

Experimentos hidropônicos utilizando plantas de trigo, com aplicação de NPs de Fe₂O₃ na superfície foliar, resultaram em estresse oxidativo, com aumento de radicais hidroxila (\bullet OH), além da diminuição nos níveis de clorofila, com consequente redução fotossintética. O trabalho demonstrou que houve entrada das NPs pelos estômatos e translocação para os órgãos vegetativos: caule e raízes. Ainda, houve acumulação das NPs nas plantas (Lu et al., 2020). O trabalho de Elizabeth et al., (2017) também utilizou aplicação foliar. Neste estudo, o tratamento de plantas de cenoura com 50 ppm de NPs de FeO em associação com 100 ppm de ZnO, aumentou em 4,78% o crescimento da planta, em 16,24% a área foliar, em 47,08% o diâmetro da raiz, em 35,35% o comprimento da raiz e em 24,28% o rendimento das raízes por hectare. Em plantas de milho cultivadas em solução nutritiva contendo γ -Fe₂O₃ observou-se na concentração de 20 mg L⁻¹ destas NPs, uma promoção significativa no alongamento da raiz (11,5%), aumento no índice de germinação em 27,1% e no índice de vigor em 39,6%. Em contrapartida, concentrações maiores da NP, como 50 e 100 mg L⁻¹, diminuiram o comprimento da raiz (13,5% e 12,5%, respectivamente). As NPs de γ -Fe₂O₃ também induziram estresse oxidativo radicular, evidenciado pelos altos níveis de MDA encontrados nesses órgãos. Os níveis de clorofila também demonstraram uma redução (Li et al., 2016).

Interessantemente, as NPs de FeO parecem aliviar a toxicidade de metais pesados. Por exemplo, a aplicação foliar de NPs de óxido de ferro II e III (10, 15 e 20 mg L⁻¹) sobre plantas de arroz crescidas em substrato contaminado com traços de cádmio (Cd), resultou em aumento da biomassa fresca. Na concentração de 30 mg L⁻¹, houve aumento de 68% na concentração de clorofila *a* e de 58% na concentração de clorofila *b*. A taxa fotossintética (*P_n*) aumentou 44%, a condutância estomática em 61% e a transpiração em 26%. O acúmulo de Cd nas folhas diminuiu, mas nas raízes houve aumento. A concentração de ferro na parte aérea e nas raízes também aumentou (Rizwan et al., 2019b).

O trabalho de Al-Amri et al., (2020), cujos experimentos foram realizados utilizando plantas de trigo em sistema hidropônico contendo 500 mg L⁻¹ de NPs de Fe₂O₃ de diferentes tamanhos, demonstrou que as NPs de tamanho entre 20 e 40 nm foram translocadas com maior eficiência. Nessa faixa de dimensão, as plantas também apresentaram aumento do crescimento. O aumento

no conteúdo de clorofila e de biomassa foi tamanho dependente, demonstrando menores valores com NPs entre 8 e 10 nm e maiores valores com NPs entre 30 e 50 nm. Da mesma forma, experimentos hidropônicos com plantas de cevada tratadas com NPs de Fe_3O_4 , apresentaram aumento nos comprimentos das raízes e caules das plantas, além de aumento na biomassa fresca (Petrova et al., 2021).

Experimentos utilizando NPs de Fe_3O_4 sobre plantas de milho (50 e 500 mg kg^{-1} de substrato) manifestaram aumento no comprimento radicular, reprogramação metabólica, diminuição do metabolismo de nitrogênio e inibição das vias relacionadas à defesa antioxidante (Yan et al., 2020). O trabalho de Youssef et al., (2020) apresentou diferentes resultados em diferentes concentrações de NPs de Fe_2O_3 . Utilizando a concentração de 500 mg L^{-1} no substrato, houve aumento no crescimento do milho. Em contrapartida, plantas sob tratamento com as concentrações 4000 e 8000 mg L^{-1} , apresentaram redução no crescimento e no estresse oxidativo, demonstrado pelo aumento nos níveis de MDA e da atividade da SOD. A concentração de 4000 mg L^{-1} apresentou ainda aumento na atividade da enzima CAT. Todas as concentrações utilizadas no trabalho (500, 1000, 2000, 4000 e 8000 mg L^{-1}) resultaram na diminuição da atividade da enzima glutathione redutase (GR).

Tabela 3 – Efeitos de nanopartículas (NPs) de óxido de ferro (FeO) sobre plantas.

NPs	Tamanho (nm)	Concentração	Meio de cultivo	Modo de exposição	Espécie	Efeitos fisiológicos e bioquímicos	Referência
Fe ₂ O ₃	8-10, 20 - 40, 30 - 50	500 mg L ⁻¹	Hidroponia	Aplicação na solução nutritiva, suspensão em solução	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	Ativação do crescimento (20-40 nm); Aumento do conteúdo de clorofila e biomassa (efeito tamanho-dependente); NPs de 20-40 nm translocadas com maior eficiência.	(Al-Amri et al., 2020)
FeO (+ ZnO)	-	50, 100 e 150 ppm	Substrato	Aplicação foliar	<i>Daucus carota</i> (cenoura)	Aumento de: 4,78% no crescimento da planta; 16,24% na área foliar; 47,08% no diâmetro da raiz; 35,35% no comprimento da raiz; 24,28% no rendimento das raízes por hectare (50 ppm FeO + 100 ppm ZnO).	(Elizabeth et al., 2017)
Fe ₃ O ₄	30	20, 40, 80 e 160 mg L ⁻¹	Papel “Germitest”	Aplicação nas sementes	<i>Zea mays</i> (milho)	Inibição do crescimento radicular com o aumento da concentração; Efeito tóxico (160 mg L ⁻¹).	(Esper Neto et al., 2021)
Fe ₃ O ₄	10 - 18	5, 10, 15 e 20 mg L ⁻¹	Hidroponia	Partículas em suspensão	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	Ausência de fitotoxicidade nestas condições.	(Iannone et al., 2016)
Fe ₃ O ₄	6 - 13	0.25, 2.5 e 5 mg mL ⁻¹	Placa de Petri	Aplicação nas sementes	<i>Solanum lycopersicum</i> (tomate)	Crescimento inicial não afetado.	(Lau et al., 2020)
γ-Fe ₂ O ₃	17.7 ± 3.9	20, 50 e 100 mg L ⁻¹	Hidroponia	Partículas em suspensão	<i>Zea mays</i> (milho)	Alongamento da raiz (11,5%), aumento do índice de germinação (27,2%) e índice de vigor (39,6%) com 20 mg L ⁻¹ ; Diminuição do comprimento da raiz (13,5% e 12,5% com 50 e 100 mg L ⁻¹ respectivamente); Estresse oxidativo; Redução no teor de clorofila.	(Li et al., 2016)

Fe ₂ O ₃	10 - 50	60 e 180 µg por planta	Hidroponia	Aplicação foliar	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	Acúmulo nas plantas; Captação pelos estômatos e translocação para caules e raízes; Estresse oxidativo (aumento de •OH); Queda dos níveis de clorofila e da fotossíntese.	(Lu et al., 2020)
Fe ₂ O ₃	100	1, 2, 4 e 6 g L ⁻¹	Placa de Petri	Aplicação nas sementes	<i>Zea mays</i> (milho)	Aumento do crescimento e dos níveis de clorofila; Pequena inibição na germinação (6 g L ⁻¹).	(Pariona et al., 2017)
Fe ₂ O ₃ e óxido de ferro II e III	50 - 100	5, 10, 15 e 20 mg L ⁻¹	Substrato	Aplicação nas sementes	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	Aumento de 35% no crescimento das plantas e 49% na altura das espigas; Elevação de 58% na biomassa seca da parte aérea, 61% das raízes, 79% das espigas e 70% dos grãos (20 mg L ⁻¹); Elevação significativa nos parâmetros fotossintéticos, como clorofila <i>a</i> , <i>b</i> , carotenoides e fotossíntese líquida (Pn) com 10, 15 e 20 mg L ⁻¹ .	(Rizwan et al., 2019a)
Óxido de ferro II e III	50 - 100	10, 20 e 30 mg L ⁻¹	Substrato (contaminado com traços de Cd)	Aplicação foliar	<i>Oryza Sativa</i> (arroz)	Com 30 mg L ⁻¹ - aumento da: Biomassa fresca; Concentração de clorofila <i>a</i> (68%) e clorofila <i>b</i> (58%); Taxa fotossintética (44%); Condutância estomática (61%) e transpiração (26%); Em todas as concentrações utilizadas: Redução do acúmulo de Cd nas folhas, mas aumento nas raízes e Elevação da concentração de Fe na parte aérea e radicular.	(Rizwan et al., 2019b)
Fe ₃ O ₄	30	50 e 500 mg Kg ⁻¹	Substrato	Aplicação no substrato	<i>Zea mays</i> (milho)	Promoção do comprimento radicular; Reprogramação metabólica;	(Yan et al., 2020)

						Redução do metabolismo de nitrogênio; Inibição de vias relacionadas à defesa antioxidante.	
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	5	15, 30 e 60 mg por vaso	Substrato	Aplicação no substrato e foliar	<i>Glycine max</i> (soja)	<p>Elevação do conteúdo de clorofila, na biomassa vegetal e no índice de desenvolvimento das raízes (em todas as concentrações);</p> <p>Aumento na captação de Mn pelos brotos (60 mg vaso⁻¹);</p> <p>Redução da captação de Mo (23,1%);</p> <p>Promoção da biomassa dos caules (54%) e raízes (52,3%) (15 mg vaso⁻¹).</p>	(X. Yang et al., 2020)
Fe_2O_3	32 - 35, 78	500, 1000, 2000, 4000 e 8000 mg L ⁻¹	Substrato	Mistura no substrato	<i>Zea mays</i> (milho)	<p>Promoção do crescimento em baixa concentração (500 mg L⁻¹);</p> <p>Inibição do crescimento em altas concentrações (4000 e 8000 mg L⁻¹);</p> <p>Aumento no total de Fe;</p> <p>Elevação dos níveis de malondialdeído;</p> <p>Promoção da atividade da SOD nas raízes (4000 e 8000 mg L⁻¹);</p> <p>Ativação da CAT nas raízes (4000 mg L⁻¹);</p> <p>Diminuição da atividade da GR nas raízes (1000, 4000 e 8000 mg L⁻¹).</p>	(Youssef et al., 2020)

7. Possibilidades de aplicações de nanopartículas de óxido de ferro (FeO) na agricultura

As NPs de FeO são utilizadas frequentemente na agricultura como substitutas de fertilizantes tradicionais para deficiências de ferro (R. P. Singh et al., 2021). O trabalho de Sundaria et al., (2019) demonstrou uma possível aplicação de NPs de γ -Fe₂O₃ na biofortificação de plantas de trigo, com interesse em uma possível estratégia para inserção de ferro na dieta diária e combate de deficiências deste nutriente. Na concentração de 25 ppm, houve aumento significativo do teor de ferro nos grãos para 45,7% nos genótipos IITR26 (genótipo com maior teor de ferro) e 26,8% nos genótipos WL711 (genótipo com baixo teor de ferro).

Mas, além das aplicações como fertilizante, NPs de óxido de ferro apresentaram atividade fungicida. O uso de NPs de Fe₂O₃ *in vitro* causou morte celular dos fungos *Alternaria mali*, *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, no tratamento com as concentrações de 10, 25, 50 e 100 ppm (Ahmad et al., 2017). O trabalho de Bilesky-José et al., (2021) apontou que NPs de α -Fe₂O₃ foram capazes de aumentar, *in vitro*, a atividade biológica do fungo *Trichoderma* sp. contra o fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum*. Além da capacidade antifúngica, trabalhos também demonstraram capacidade bactericida de NPs de FeO. Por exemplo, o trabalho de Alam et al., (2019) apresentou resultados corroborando a capacidade de NPs de Fe₂O₃ (1, 3 e 6 mg mL⁻¹) controlarem o crescimento *in vitro* de bactérias *Ralstonia solanacearum*, uma espécie patogênica de plantas.

Tabela 4 – Aplicações de nanopartículas (NPs) de óxido de ferro (FeO) na agricultura.

NPs	Tamanho (nm)	Concentração	Modo de aplicação	Aplicação	Efeitos fisiológicos e bioquímicos	Referência
Fe ₂ O ₃	20 - 80	10, 25, 50 e 100 ppm	Meio de cultura	Fungicida (<i>Alternaria mali</i> , <i>Botryosphaeria dothidea</i> e <i>Diplodia seriata</i>)	Morte celular.	(Ahmad et al., 2017)
Fe ₂ O ₃	34 ± 0.37 nm	1, 3 e 6 mg mL ⁻¹	Meio de cultura	Bactericida (<i>Ralstonia solanacearum</i>)	Controle de crescimento.	(Alam et al., 2019)
α-Fe ₂ O ₃	304 ± 8	5 × 10 ⁷ NPs mL ⁻¹	Meio de cultura	Fungicida	Aumento da atividade biológica do fungo <i>Trichoderma</i> sp. contra o fungo fitopatogênico <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .	(Bilesky-José et al., 2021)
Fe ₂ O ₃	20	0, 2, 10, 50, 250 e 1000 mg kg ⁻¹	No substrato	Fertilizante	Promoção do crescimento de plantas de amendoim (1000 mg kg ⁻¹); Aumento na concentração de clorofila; Aumento na concentração de Fe.	(Rui et al., 2016)
Fe ₃ O ₄	20 - 30	100 ppm	Hidroponia	Fertilizante	Promoção da altura, número de folhas, teor de clorofila e de carotenoides, teor de proteína e de Fe em plantas de gengibre (<i>Zingiber officinale</i>).	(Siva and Benita, 2016)

$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	80	25, 50, 100, 200, 300, 400, 500 e 600 ppm	Nas sementes	Biofortificação (trigo)	Promoção do índice de vigor da semente; Acúmulo de Fe nos grãos para 45,7% nos genótipos ITR26 e 26,8% nos genótipos WL711 (25 ppm).	(Sundaria et al., 2019)
--------------------------------	----	---	--------------	-------------------------	--	-------------------------

4. Conclusões e futuras perspectivas

De acordo com a literatura consultada, é possível inferir que os efeitos das NPs de CuO e FeO sobre cultivares dependem de diversos fatores, como o tamanho da NPs, a concentração utilizada, modo de exposição e da espécie utilizada nos experimentos. Foram encontrados trabalhos descrevendo efeitos negativos, positivos ou negligenciáveis do uso destas NPs. Sendo assim, conclui-se que os efeitos das NPs de óxido de cobre (CuO) e ferro (FeO) sobre plantas são diversos, e podem afetar processos fisiológicos e bioquímicos, impactando então em seu crescimento e desenvolvimento.

Apesar da diversidade de trabalhos encontrados e consultados, ainda há muitas questões pouco exploradas, com possibilidade de estudos futuros. Como a nanotecnologia é uma área de estudo recente, o conhecimento acerca dos efeitos e implicações de NPs sobre plantas está em constante expansão. Por exemplo, quais as consequências da contaminação ambiental com NPs e sobre a qualidade nutricional dos alimentos? Além disso, ainda não foram estabelecidas concentrações limiares de NPs para a segurança de plantas, animais e humanos, assim como para o ambiente, abrangendo litosfera, hidrosfera e atmosfera.

REFERÊNCIAS

- Adams, J., Wright, M., Wagner, H., Valiente, J., Britt, D., Anderson, A., 2017. Cu from dissolution of CuO nanoparticles signals changes in root morphology. **Plant Physiology and Biochemistry** 110, 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.08.005>
- Ahmad, H., Rajagopal, K., Shah, A.H., Bhat, A.H., Venugopal, K., 2017. Study of bio-fabrication of iron nanoparticles and their fungicidal property against phytopathogens of apple orchards. **IET Nanobiotechnology** 11, 230–235. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2015.0061>
- Ahmad, H., Venugopal, K., Bhat, A.H., Kavitha, K., Ramanan, A., Rajagopal, K., Srinivasan, R., Manikandan, E., 2020. Enhanced biosynthesis synthesis of copper oxide nanoparticles (CuO-NPs) for their antifungal activity toxicity against major phyto-pathogens of apple orchards. **Pharmaceutical Research** 37. <https://doi.org/10.1007/s11095-020-02966-x>
- Alam, T., Khan, R.A.A., Ali, A., Sher, H., Ullah, Z., Ali, M., 2019. Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles via *Skimmia laureola* and their antibacterial efficacy against bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. **Materials Science and Engineering C** 98, 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.117>
- Al-Amri, N., Tombuloglu, H., Slimani, Y., Akhtar, S., Barghouthi, M., Almessiere, M., Alshammari, T., Baykal, A., Sabit, H., Ercan, I., Ozcelik, S., 2020. Size effect of iron (III) oxide nanomaterials on the growth, and their uptake and translocation in common wheat (*Triticum aestivum* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety** 194. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110377>
- Ali, A., Zafar, H., Zia, M., ul Haq, I., Phull, A.R., Ali, J.S., Hussain, A., 2016. Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. **Nanotechnology, Science and Applications**. <https://doi.org/10.2147/NSA.S99986>
- Alidoust, D., Isoda, A., 2013. Effect of $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ nanoparticles on photosynthetic characteristic of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.): Foliar spray versus soil amendment. **Acta Physiologiae Plantarum** 35, 3365–3375. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1369-8>
- Arora, N.K., 2018. Agricultural sustainability and food security. **Environmental Sustainability** 1, 217–219. <https://doi.org/10.1007/s42398-018-00032-2>
- Babu, S., Singh, R., Yadav, D., Rathore, S.S., Raj, R., Avasthe, R., Yadav, S.K., Das, A., Yadav, V., Yadav, B., Shekhawat, K., Upadhyay, P.K., Yadav, D.K., Singh, V.K., 2022. Nanofertilizers for agricultural and environmental sustainability. **Chemosphere** 292. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133451>
- Baskar, V., Safia, N., Sree Preethy, K., Dhivya, S., Thiruvengadam, M., Sathishkumar, R., 2021. A comparative study of phytotoxic effects of metal oxide (CuO, ZnO and NiO) nanoparticles on in-vitro grown *Abelmoschus esculentus*. **Plant Biosystems** 155, 374–383. <https://doi.org/10.1080/11263504.2020.1753843>
- Bilesky-José, N., Maruyama, C., Germano-Costa, T., Campos, E., Carvalho, L., Grillo, R., Fraceto, L.F., de Lima, R., 2021. Biogenic $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanoparticles enhance the biological

activity of trichoderma against the plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering** 9, 1669–1683. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c07349>

Bonilla-Bird, N.J., Ye, Y., Akter, T., Valdes-Bracamontes, C., Darrouzet-Nardi, A.J., Saupe, G.B., Flores-Marges, J.P., Ma, L., Hernandez-Viezcas, J.A., Peralta-Videa, J.R., Gardea-Torresdey, J.L., 2020. Effect of copper oxide nanoparticles on two varieties of sweetpotato plants. **Plant Physiology and Biochemistry** 154, 277–286. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.06.009>

Bundschuh, M., Filser, J., Lüderwald, S., McKee, M.S., Metreveli, G., Schaumann, G.E., Schulz, R., Wagner, S., 2018. Nanoparticles in the environment: where do we come from, where do we go to? **Environmental Sciences Europe**. <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0132-6>

Buzea, C., Pacheco, I.I., Robbie, K., 2007. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. **Biointerphases** 2, MR17–MR71. <https://doi.org/10.1116/1.2815690>

Cecchin, I., Reddy, K.R., Thomé, A., Tessaro, E.F., Schnaid, F., 2017. Nanobioremediation: Integration of nanoparticles and bioremediation for sustainable remediation of chlorinated organic contaminants in soils. **International Biodeterioration and Biodegradation** 119, 419–428. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.09.027>

Chen, H., 2018. Metal based nanoparticles in agricultural system: Behavior, transport, and interaction with plants. **Chemical Speciation and Bioavailability** 30, 123–134. <https://doi.org/10.1080/09542299.2018.1520050>

Chen, J., Mao, S., Xu, Z., Ding, W., 2019. Various antibacterial mechanisms of biosynthesized copper oxide nanoparticles against soilborne *Ralstonia solanacearum*. **RSC Advances** 9, 3788–3799. <https://doi.org/10.1039/c8ra09186b>

Chhipa, H., 2017. Nanofertilizers and nanopesticides for agriculture. **Environmental Chemistry Letters**. <https://doi.org/10.1007/s10311-016-0600-4>

Concha-Guerrero, S.I., Brito, E.M.S., Piñón-Castillo, H.A., Tarango-Rivero, S.H., Caretta, C.A., Luna-Velasco, A., Duran, R., Orrantia-Borunda, E., 2014. Effect of CuO nanoparticles over isolated bacterial strains from agricultural soil. **Journal of Nanomaterials** 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/148743>

Consolo, V.F., Torres-Nicolini, A., Alvarez, V.A., 2020. Mycosynthetized Ag, CuO and ZnO nanoparticles from a promising *Trichoderma harzianum* strain and their antifungal potential against important phytopathogens. **Scientific Reports** 10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77294-6>

Cunha Lopes, T.L., de Cássia Siqueira-Soares, R., Gonçalves de Almeida, G.H., Romano de Melo, G.S., Barreto, G.E., de Oliveira, D.M., dos Santos, W.D., Ferrarese-Filho, O., Marchiosi, R., 2018. Lignin-induced growth inhibition in soybean exposed to iron oxide nanoparticles. **Chemosphere** 211, 226–234. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.143>

Dale, A.L., Casman, E.A., Lowry, G. v., Lead, J.R., Viparelli, E., Baalousha, M., 2015. Modeling nanomaterial environmental fate in aquatic systems. **Environmental Science and Technology** 49, 2587–2593. <https://doi.org/10.1021/es505076w>

Dimkpa, C.O., 2014. Can nanotechnology deliver the promised benefits without negatively impacting soil microbial life? **Journal of Basic Microbiology**. <https://doi.org/10.1002/jobm.201400298>

Dimkpa, C.O., McLean, J.E., Latta, D.E., Manangón, E., Britt, D.W., Johnson, W.P., Boyanov, M.I., Anderson, A.J., 2012. CuO and ZnO nanoparticles: Phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat. **Journal of Nanoparticle Research** 14. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-1125-9>

Doran, J., Ryan, G., 2019. Does nanotechnology research generate an innovation premium over other types of research? Evidence from Ireland. **Technology in Society** 59. <https://doi.org/10.1016/j.techsoc.2019.101183>

Elizabeth, A., Bahadur, V., Misra, P., Mashii Prasad, V., Thomas, T., Ambily Elizabeth, C., 2017. Effect of different concentrations of iron oxide and zinc oxide nanoparticles on growth and yield of carrot (*Daucus carota* L.). ~ 1266 ~ **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry** 6, 1266–1269.

Esper Neto, M., Britt, D.W., Jackson, K.A., Coneglian, C.F., Inoue, T.T., Batista, M.A., 2021. Early growth of corn seedlings after seed priming with magnetite nanoparticles synthesised in easy way. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science* 71, 91–97. <https://doi.org/10.1080/09064710.2020.1852304>

Ganesh, M., Hemalatha, P., Peng, M.M., Jang, H.T., 2017. One pot synthesized Li, Zr doped porous silica nanoparticle for low temperature CO₂ adsorption. **Arabian Journal of Chemistry** 10, S1501–S1505. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.04.031>

Gao, X., Avellan, A., Laughton, S., Vaidya, R., Rodrigues, S.M., Casman, E.A., Lowry, G. v., 2018. CuO nanoparticle dissolution and toxicity to wheat (*Triticum aestivum*) in rhizosphere soil. **Environmental Science and Technology** 52, 2888–2897. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05816>

Giese, B., Klaessig, F., Park, B., Kaegi, R., Steinfeldt, M., Wigger, H., von Gleich, A., Gottschalk, F., 2018. Risks, release and concentrations of engineered nanomaterial in the environment. **Scientific Reports** 8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19275-4>

Gottschalk, F., Sun, T., Nowack, B., 2013. Environmental concentrations of engineered nanomaterials: Review of modeling and analytical studies. **Environmental Pollution**. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.06.003>

Green, J.M., Beestman, G.B., 2007. Recently patented and commercialized formulation and adjuvant technology. **Crop Protection** 26, 320–327. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.04.018>

Guan, X., Gao, X., Avellan, A., Spielman-Sun, E., Xu, J., Laughton, S., Yun, J., Zhang, Yilin, Bland, G.D., Zhang, Ying, Zhang, R., Wang, X., Casman, E.A., Lowry, G. v., 2020. CuO nanoparticles alter the rhizospheric bacterial community and local nitrogen cycling for wheat grown in a calcareous soil. **Environmental Science and Technology** 54, 8699–8709. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c0003>

Hatami, M., Kariman, K., Ghorbanpour, M., 2016. Engineered nanomaterial-mediated changes in the metabolism of terrestrial plants. **Science of the Total Environment**. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.184>

Hernández-Díaz, J.A., Garza-García, J.J.O., Zamudio-Ojeda, A., León-Morales, J.M., López-Velázquez, J.C., García-Morales, S., 2021. Plant-mediated synthesis of nanoparticles and their antimicrobial activity against phytopathogens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10767>

Hossain, Z., Mustafa, G., Komatsu, S., 2015. Plant responses to nanoparticle stress. **International Journal of Molecular Sciences**. <https://doi.org/10.3390/ijms161125980>

Iannone, M.F., Groppa, M.D., de Sousa, M.E., Fernández van Raap, M.B., Benavides, M.P., 2016. Impact of magnetite iron oxide nanoparticles on wheat (*Triticum aestivum* L.) development: Evaluation of oxidative damage. **Environmental and Experimental Botany** 131, 77–88. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.07.004>

Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y.S., Dufresne, A., Danquah, M.K., 2018. Review on nanoparticles and nanostructured materials: History, sources, toxicity and regulations. **Beilstein Journal of Nanotechnology**. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>

Jia, H., Chen, S., Wang, X., Shi, C., Liu, K., Zhang, S., Li, J., 2020. Copper oxide nanoparticles alter cellular morphology via disturbing the actin cytoskeleton dynamics in *Arabidopsis* roots. **Nanotoxicology** 14, 127–144. <https://doi.org/10.1080/17435390.2019.1678693>

Keller, A.A., McFerran, S., Lazareva, A., Suh, S., 2013. Global life cycle releases of engineered nanomaterials. **Journal of Nanoparticle Research** 15. <https://doi.org/10.1007/s11051-013-1692-4>

Khan, Ibrahim, Saeed, K., Khan, Idrees, 2019. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian Journal of Chemistry**. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>

Kot, M., Major, Lackner, J.M., Chronowska-Przywara, K., Janusz, M., Rakowski, W., 2016. Mechanical and tribological properties of carbon-based graded coatings. **Journal of Nanomaterials** 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/8306345>

Kottegoda, N., Sandaruwan, C., Priyadarshana, G., Siriwardhana, A., Rathnayake, U.A., Berugoda Arachchige, D.M., Kumarasinghe, A.R., Dahanayake, D., Karunaratne, V., Amaratunga, G.A.J., 2017. Urea-hydroxyapatite nanohybrids for slow release of nitrogen. **ACS Nano** 11, 1214–1221. <https://doi.org/10.1021/acs.nano.6b07781>

Landa, P., 2021. Positive effects of metallic nanoparticles on plants: Overview of involved mechanisms. **Plant Physiology and Biochemistry**. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.01.039>

Landa, P., Dytrych, P., Prerostova, S., Petrova, S., Vankova, R., Vanek, T., 2017. Transcriptomic response of *Arabidopsis thaliana* exposed to CuO nanoparticles, bulk material, and ionic copper. **Environmental Science and Technology** 51, 10814–10824. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b0226>

Lau, E.C.H.T., Carvalho, L.B., Pereira, A.E.S., Montanha, G.S., Corrêa, C.G., Carvalho, H.W.P., Ganin, A.Y., Fraceto, L.F., Yiu, H.H.P., 2020. Localization of coated iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles on tomato seeds and their effects on growth.

Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., vander Elst, L., Muller, R.N., 2008. Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations and biological applications. **Chemical Reviews** 108, 2064–2110. <https://doi.org/10.1021/cr068445e>

le Van, N., Ma, C., Shang, J., Rui, Y., Liu, S., Xing, B., 2016. Effects of CuO nanoparticles on insecticidal activity and phytotoxicity in conventional and transgenic cotton. **Chemosphere** 144, 661–670. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.09.028>

Li, J., Hu, J., Ma, C., Wang, Y., Wu, C., Huang, J., Xing, B., 2016. Uptake, translocation and physiological effects of magnetic iron oxide (γ -Fe₂O₃) nanoparticles in corn (*Zea mays* L.). **Chemosphere** 159, 326–334. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.083>

Liu, Y., Li, Y., Pan, B., Zhang, X., Zhang, H., Steinberg, C.E.W., Qiu, H., Vijver, M.G., Peijnenburg, W.J.G.M., 2021. Application of low dosage of copper oxide and zinc oxide nanoparticles boosts bacterial and fungal communities in soil. **Science of the Total Environment** 757. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143807>

Lu, K., Shen, D., Liu, X., Dong, S., Jing, X., Wu, W., Tong, Y., Gao, S., Mao, L., 2020. Uptake of iron oxide nanoparticles inhibits the photosynthesis of the wheat after foliar exposure. **Chemosphere** 259. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127445>

Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., Kolmakov, A., 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. **Science of the Total Environment**. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.03.031>

Mittal, D., Kaur, G., Singh, P., Yadav, K., Ali, S.A., 2020. Nanoparticle-based sustainable agriculture and food science: Recent advances and future outlook. **Frontiers in Nanotechnology** 2. <https://doi.org/10.3389/fnano.2020.579954>

Nair, P.M.G., Chung, I.M., 2014a. Impact of copper oxide nanoparticles exposure on *Arabidopsis thaliana* growth, root system development, root lignification, and molecular level changes. **Environmental Science and Pollution Research** 21, 12709–12722. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3210-3>

Nair, P.M.G., Chung, I.M., 2014b. A mechanistic study on the toxic effect of copper oxide nanoparticles in soybean (*Glycine max* L.) root development and lignification of root cells. **Biological Trace Element Research** 162, 342–352. <https://doi.org/10.1007/s12011-014-0106-5>

Nowack, B., Bucheli, T.D., 2007. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. **Environmental Pollution**. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.06.006>

Okey-Onyesolu, C.F., Hassanisaadi, M., Bilal, M., Barani, M., Rahdar, A., Iqbal, J., Kyzas, G.Z., 2021. Nanomaterials as nanofertilizers and nanopesticides: An overview. **ChemistrySelect**. <https://doi.org/10.1002/slct.20210237>

Oliveira, H.C., Stolf-Moreira, R., Martinez, C.B.R., Grillo, R., de Jesus, M.B., Fraceto, L.F., 2015. Nanoencapsulation enhances the post-emergence herbicidal activity of atrazine against mustard plants. **PLoS ONE** 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132971>

Pariona, N., Martinez, A.I., Hdz-García, H.M., Cruz, L.A., Hernandez-Valdes, A., 2017. Effects of hematite and ferrihydrite nanoparticles on germination and growth of maize seedlings. **Saudi Journal of Biological Sciences** 24, 1547–1554. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.06.004>

Pelegriño, M.T., Kohatsu, M.Y., Seabra, A.B., Monteiro, L.R., Gomes, D.G., Oliveira, H.C., Rolim, W.R., de Jesus, T.A., Batista, B.L., Lange, C.N., 2020. Effects of copper oxide nanoparticles on growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings and possible implications of nitric oxide in their antioxidative defense. **Environmental Monitoring and Assessment** 192. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-8188-3>

Pelegriño, M.T., Pieretti, J.C., Lange, C.N., Kohatsu, M.Y., Freire, B.M., Batista, B.L., Fincheira, P., Tortella, G.R., Rubilar, O., Seabra, A.B., 2021. Foliar spray application of CuO nanoparticles (NPs) and S-nitrosoglutathione enhances productivity, physiological and biochemical parameters of lettuce plants. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology** 96, 2185–2196. <https://doi.org/10.1002/jctb.6677>

Peng, C., Duan, D., Xu, C., Chen, Yongsheng, Sun, L., Zhang, H., Yuan, X., Zheng, L., Yang, Y., Yang, J., Zhen, X., Chen, Yingxu, Shi, J., 2015. Translocation and biotransformation of CuO nanoparticles in rice (*Oryza sativa* L.) plants. **Environmental Pollution** 197, 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.12.008>

Pérez-de-Luque, A., 2017. Interaction of nanomaterials with plants: What do we need for real applications in agriculture? **Frontiers in Environmental Science** 5. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2017.00012>

Petrova, A., Plaksenkova, I., Kokina, I., Jermaļonoka, M., 2021. Effect of Fe₃O₄ and CuO nanoparticles on morphology, genotoxicity, and miRNA expression on different barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes. **Scientific World Journal** 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6644689>

Pitambará, A., Shukla, Y.M., 2019. Nanofertilizers: A recent approach in crop production, in: Panpatte, D.G., Jhala, Y.K. (Eds.), *Nanotechnology for Agriculture: Crop Production & Protection*. pp. 25–58. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-981-32-9374-8_2

Prakash, M., Nair, G., Chung, I.M., 2015. Study on the correlation between copper oxide nanoparticles induced growth suppression and enhanced lignification in Indian mustard (*Brassica juncea* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety** 113, 302–313. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.013>

Prasad, R., 2014. Synthesis of silver nanoparticles in photosynthetic plants. **Journal of Nanoparticles** 2014, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2014/963961>

Pu, S., Yan, C., Huang, H., Liu, S., Deng, D., 2019. Toxicity of nano-CuO particles to maize and microbial community largely depends on its bioavailable fractions. **Environmental Pollution** 255. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.11324>

- Qi, M., Liu, Y., Li, T., 2013. Nano-TiO₂ improve the photosynthesis of tomato leaves under mild heat stress. **Biological Trace Element Research** 156, 323–328. <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9833-2>
- R. P. Singh, R. Handa, G. Manchanda, 2021. Nanoparticles in sustainable agriculture: An emerging opportunity. **Journal of Controlled Release**. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.10.051>
- Rai, P.K., Kumar, V., Lee, S.S., Raza, N., Kim, K.H., Ok, Y.S., Tsang, D.C.W., 2018. Nanoparticle-plant interaction: Implications in energy, environment, and agriculture. **Environment International**. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.06.012>
- Rajput, V., Minkina, T., Fedorenko, A., Sushkova, S., Mandzhieva, S., Lysenko, V., Duplii, N., Fedorenko, G., Dvadenko, K., Ghazaryan, K., 2018. Toxicity of copper oxide nanoparticles on spring barley (*Hordeum sativum* distichum). **Science of the Total Environment** 645, 1103–1113. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.211>
- Rajput, V., Minkina, T., Sushkova, S., Behal, A., Maksimov, A., Blicharska, E., Ghazaryan, K., Movsesyan, H., Barsova, N., 2020. ZnO and CuO nanoparticles: a threat to soil organisms, plants, and human health. **Environmental Geochemistry and Health** 42, 147–158. <https://doi.org/10.1007/s10653-019-00317-3>
- Rajput, V.D., Minkina, T., Suskova, S., Mandzhieva, S., Tsitsuashvili, V., Chaplgin, V., Fedorenko, A., 2018. Effects of copper nanoparticles (CuO NPs) on crop plants: a mini review. **Bionanoscience**. <https://doi.org/10.1007/s12668-017-0466-3>
- Raliya, R., Saharan, V., Dimkpa, C., Biswas, P., 2018. Nanofertilizer for precision and sustainable agriculture: Current state and future perspectives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02178>
- Rizwan, M., Ali, S., Ali, B., Adrees, M., Arshad, M., Hussain, A., Zia ur Rehman, M., Waris, A.A., 2019a. Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat. **Chemosphere** 214, 269–277. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.120>
- Rizwan, M., Ali, S., Qayyum, M.F., Ok, Y.S., Adrees, M., Ibrahim, M., Zia-ur-Rehman, M., Farid, M., Abbas, F., 2017. Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: A critical review. **Journal of Hazardous Materials** 322, 2–16. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.061>
- Rizwan, M., Noureen, S., Ali, S., Anwar, S., Rehman, M.Z. ur, Qayyum, M.F., Hussain, A., 2019b. Influence of biochar amendment and foliar application of iron oxide nanoparticles on growth, photosynthesis, and cadmium accumulation in rice biomass. **Journal of Soils and Sediments** 19, 3749–3759. <https://doi.org/10.1007/s11368-019-02327-1>
- Rui, M., Ma, C., Hao, Y., Guo, J., Rui, Y., Tang, X., Zhao, Q., Fan, X., Zhang, Z., Hou, T., Zhu, S., 2016. Iron oxide nanoparticles as a potential iron fertilizer for peanut (*Arachis hypogaea*). **Frontiers in Plant Science** 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00815>

Seleiman, M.F., Almutairi, K.F., Alotaibi, M., Shami, A., Alhammad, B.A., Battaglia, M.L., 2021. Nano-fertilization as an emerging fertilization technique: Why can modern agriculture benefit from its use? **Plants**. <https://doi.org/10.3390/plants10010002>

Seleiman, M.F., Alotaibi, M.A., Alhammad, B.A., Alharbi, B.M., Refay, Y., Badawy, S.A., 2020. Effects of ZnO nanoparticles and biochar of rice straw and cow manure on characteristics of contaminated soil and sunflower productivity, oil quality, and heavy metals uptake. **Agronomy** 10. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060790>

Seregina, T., Chernikova, O., Mazhaysky, Y., Ampleeva, L., 2020. Features of the influence of copper nanoparticles and copper oxide on the formation of barley crop. **Agronomy Research** 18, 1010–1017. <https://doi.org/10.15159/AR.20.025>

Shaalán, M., Saleh, M., El-Mahdy, M., El-Matbouli, M., 2016. Recent progress in applications of nanoparticles in fish medicine: A review. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.005>

Shang, Y., Kamrul Hasan, M., Ahammed, G.J., Li, M., Yin, H., Zhou, J., 2019. Applications of nanotechnology in plant growth and crop protection: A review. **Molecules**. <https://doi.org/10.3390/molecules24142558>

Shaw, A.K., Hossain, Z., 2013. Impact of nano-CuO stress on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. **Chemosphere** 93, 906–915. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.044>

Silva, M.F., Pineda, E.A.G., Bergamasco, R., 2015. Aplicação de óxidos de ferro nanoestruturados como adsorventes e fotocatalisadores na remoção de poluentes de águas residuais. **Química Nova**. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140311>

Singh, A., Singh, N.B., Hussain, I., Singh, H., Yadav, V., 2017. Synthesis and characterization of copper oxide nanoparticles and its impact on germination of *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek. **Tropical Plant Research** 4, 246–253. <https://doi.org/10.22271/tpr.2017.v4.i2.034>

Singh, K.R., Nayak, V., Singh, J., Singh, A.K., Singh, R.P., 2021. Potentialities of bioinspired metal and metal oxide nanoparticles in biomedical sciences. **RSC Advances**. <https://doi.org/10.1039/d1ra04273d>

Singh Meena, D., Kumar Baburaj Nagesh, A., Dharam Singh, M., Aravinda Kumar, B.N., 2017. Bio efficacy of nano zinc sulphide (ZnS) on growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) and nutrient status in the soil. **International Journal of Agriculture Sciences** 9, 3795–3798.

Singh, R.P., Handa, R., Manchanda, G., 2021. Nanoparticles in sustainable agriculture: An emerging opportunity. **Journal of Controlled Release**. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.10.051>

Siva, G.V., Benita, L.F.J., 2016. International journal of advanced research in biological sciences iron oxide nanoparticles promotes agronomic traits of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). **Int. J. Adv. Res. Biol. Sci** 3, 230–237.

Sundaria, N., Singh, M., Upreti, P., Chauhan, R.P., Jaiswal, J.P., Kumar, A., 2019. Seed priming with iron oxide nanoparticles triggers iron acquisition and biofortification in wheat (*Triticum aestivum* L.) grains. **Journal of Plant Growth Regulation** 38, 122–131. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9818-7>

Toqeer, I., Raza, A., Naz, M.Y., Ghaffar, A., Hussain, Z., Ghuffar, A., 2020. Synthesis and application of controlled size copper oxide nanoparticles for improving biochemical and growth parameters of maize seedling. **Journal of Plant Nutrition** 2622–2632. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1793182>

Ullah, H., Khan, I., Yamani, Z.H., Qurashi, A., 2017. Sonochemical-driven ultrafast facile synthesis of SnO₂ nanoparticles: Growth mechanism structural electrical and hydrogen gas sensing properties. **Ultrasonics Sonochemistry** 34, 484–490. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.025>

von der Kammer, F., Ferguson, P.L., Holden, P.A., Masion, A., Rogers, K.R., Klaine, S.J., Koelmans, A.A., Horne, N., Unrine, J.M., 2012. Analysis of engineered nanomaterials in complex matrices (environment and biota): General considerations and conceptual case studies. **Environmental Toxicology and Chemistry**. <https://doi.org/10.1002/etc.723>

Wang, Y., Deng, C., Cota-Ruiz, K., Peralta-Videa, J.R., Sun, Y., Rawat, S., Tan, W., Reyes, A., Hernandez-Viezcas, J.A., Niu, G., Li, C., Gardea-Torresdey, J.L., 2020. Improvement of nutrient elements and allicin content in green onion (*Allium fistulosum*) plants exposed to CuO nanoparticles. **Science of the Total Environment** 725. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138387>

Wang, Z., Xie, X., Zhao, J., Liu, X., Feng, W., White, J.C., Xing, B., 2012. Xylem- and phloem-based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). **Environmental Science and Technology** 46, 4434–4441. <https://doi.org/10.1021/es204212z>

World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2021, 2021. , World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2021. FAO. <https://doi.org/10.4060/cb4477en>

Xiong, T., Dumat, C., Dappe, V., Vezin, H., Schreck, E., Shahid, M., Pierart, A., Sobanska, S., 2017. Copper oxide nanoparticle foliar uptake, phytotoxicity, and consequences for sustainable urban agriculture. **Environmental Science and Technology** 51, 5242–5251. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05546>

Xu, C., Peng, C., Sun, L., Zhang, S., Huang, H., Chen, Y., Shi, J., 2015. Distinctive effects of TiO₂ and CuO nanoparticles on soil microbes and their community structures in flooded paddy soil. **Soil Biology and Biochemistry** 86, 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.03.011>

Yan, L., Li, P., Zhao, X., Ji, R., Zhao, L., 2020. Physiological and metabolic responses of maize (*Zea mays*) plants to Fe₃O₄ nanoparticles. **Science of the Total Environment** 718. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137400>

Yang, X., Alidoust, D., Wang, C., 2020. Effects of iron oxide nanoparticles on the mineral composition and growth of soybean (*Glycine max* L.) plants. **Acta Physiologiae Plantarum** 42. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03104-4>

Yang, Z., Xiao, Y., Jiao, T., Zhang, Y., Chen, J., Gao, Y., 2020. Effects of copper oxide nanoparticles on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings and the relevant physiological responses. **International Journal of Environmental Research and Public Health** 17. <https://doi.org/10.3390/ijerph17041260>

Youssef, O.A., Tammam, A.A., Bakatoushi, R.F., Elframawy, A.M., Emar, M.M., El-Sadek, L.M., 2020. Hematite nanoparticles influence ultrastructure, antioxidant defenses, gene expression, and alleviate cadmium toxicity in *Zea mays*. **Journal of Plant Interactions** 15, 54–74. <https://doi.org/10.1080/17429145.2020.1745307>

Yu, Z., Sun, X., Song, H., Wang, W., Ye, Z., Shi, L., Ding, K., 2015. Glutathione-responsive carboxymethyl chitosan nanoparticles for controlled release of herbicides. **Materials Sciences and Applications** 06, 591–604. <https://doi.org/10.4236/msa.2015.66062>

Yusefi-Tanha, E., Fallah, S., Rostamnejadi, A., Pokhrel, L.R., 2020. Particle size and concentration dependent toxicity of copper oxide nanoparticles (CuONPs) on seed yield and antioxidant defense system in soil grown soybean (*Glycine max* cv. Kowsar). **Science of the Total Environment** 715. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136994>

Zakharova, O., Kolesnikov, E., Shatrova, N., Gusev, A., 2019. The effects of CuO nanoparticles on wheat seeds and seedlings and *Alternaria solani* fungi: In vitro study, in: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. **Institute of Physics Publishing**. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/226/1/012036>

Zhao, Y., Qamar, S.A., Qamar, M., Bilal, M., Iqbal, H.M.N., 2021. Sustainable remediation of hazardous environmental pollutants using biochar-based nanohybrid materials. **Journal of Environmental Management**. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113762>

CAPÍTULO II

Impactos de nanopartículas de óxido de grafeno sobre o crescimento e fotossíntese de plantas de soja

Rafaela Andreza de Souza Soares, Breno Miguel Joia, Luiz Henryque Escher Grizza, Ana Paula Ferro, Osvaldo Ferrarese-Filho e Rogério Marchiosi*

Laboratório de Bioquímica de Plantas, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900, Maringá-PR

*Autor para correspondência:

Rogério Marchiosi

rmarchiosi@uem.br

Resumo

A nanotecnologia é um campo de pesquisa em expansão contínua, cujo surgimento remonta a aproximadamente um século atrás. As nanopartículas (NPs) são o objeto de estudo desse campo, sendo caracterizadas por terem pelo menos uma dimensão inferior a 100 nm, e possuem uma vasta gama de aplicações na medicina, indústria farmacêutica e agricultura. Na atualidade, consideráveis quantidades de NPs são liberadas no ambiente durante os processos de síntese, transporte, armazenamento e utilização, o que gera indagações acerca de seus possíveis impactos sobre os organismos vivos e o meio ambiente. O óxido de grafeno é um nanomaterial com excelentes propriedades mecânicas e hidrofílicas e é altamente flexível e capaz de formar ductos. Os efeitos do óxido de grafeno sobre plantas e sua interação com as células vegetais são pouco conhecidos. Assim como ocorre com outras nanopartículas de interesse, os efeitos variam de acordo com a concentração utilizada e avaliada. O trabalho teve como objetivo investigar efeitos do óxido de grafeno, com destaque para o crescimento e parâmetros fotossintéticos, em plantas de soja cultivadas em sua presença durante 18 dias. Foi verificado que na concentração de 750 mg L⁻¹ o crescimento de plantas de soja foi alterado, apresentando redução nos parâmetros biométricos, sendo eles: comprimento radicular (35%) e suas biomassas fresca (48%) e seca (63%); comprimento da parte aérea (35%) e suas biomassas fresca (38%) e seca (45%). A redução também foi vista no Índice SPAD (16%) e em parâmetros importantes na avaliação da fotossíntese, sendo eles: Fv'/Fm' (11%), qP (18%), ETR (26%), Amax (34%), Φ (13%), Vcmax (35%), J (21%) e g (67%).

Palavras-chave: Nanopartículas; óxido de grafeno; Crescimento; Fotossíntese.

1. Introdução

O conceito de nanopartícula (NP) abrange uma gama de substâncias cujo tamanho é menor que 100 nanômetros (10^{-7} cm) em pelo menos uma dimensão. Estes materiais começaram a ter mais relevância quando pesquisas apontaram que o tamanho tem influência nas propriedades de uma substância (Nowack e Bucheli, 2007; Khan, Saeed e Khan, 2017). Em escala nanométrica as propriedades físico-químicas, como o tamanho reduzido, composição química, estrutura de superfície, solubilidade, forma e agregação, e também propriedades morfológicas e biológicas diferem das observadas em macroescala (Hernández-Díaz et al., 2021). As propriedades singulares das NPs podem resultar da penetração, acúmulo ou não, e anexação nos organismos vivos (Landa et al., 2017).

Apesar da nanotecnologia ser uma área conhecida desde o século passado, muitos avanços têm sido alcançados recentemente (Khan, Saeed e Khan, 2017). As pesquisas envolvendo NPs estão em constante expansão e investimento (Jeevanadam et al., 2018). Atualmente, as NPs são global e massivamente utilizadas em áreas como agricultura, indústria de alimentos, cosméticos, eletrônicos e biomedicina (Yusuf et al., 2023). Como o uso generalizado não significa atoxicidade, uma análise cuidadosa da concentração, destino e comportamento de NPs em sistemas naturais complexos é aconselhável (Giese et al., 2018) e essencial para prever impactos ambientais futuros e estabelecer legislação regulatória relevante (Dale et al., 2015).

A interação entre plantas e NPs pode resultar em absorção e, conseqüentemente, acúmulo nos vegetais, podendo ocasionar algumas alterações (Hossain et al., 2015). As células vegetais apresentam parede celular, estrutura diretamente relacionada com a proteção das plantas. No entanto, algumas NPs são capazes de atravessá-la, dependendo de alguns critérios. O primeiro deles é o tamanho. Em geral, NPs menores que 50 nm em média podem ser penetrantes. Outros dois importantes critérios são a morfologia e a composição química. A interação entre nanomateriais e plantas depende da carga de superfície e energia da nanopartícula, que determina como ela poderá modificar os receptores da superfície, transportadores e proteínas específicas de membrana (Mittal et al., 2020).

Levando em consideração que as NPs estão disponíveis na solução do solo, a qual faz contato direto com o sistema radicular, as NPs são absorvidas do solo principalmente pelas raízes, fato esse comprovado em estudos que demonstram que a maior parte das NPs são acumuladas nas raízes, enquanto uma menor quantidade acumula-se nas folhas (Ma et al., 2010).

As NPs podem causar impactos positivos, negativos ou neutros, depois da acumulação em plantas cultivadas (Rai et al., 2018). Os efeitos das NPs nas plantas dependem do seu tipo, tamanho e concentração, além da fonte (Rizwan et al., 2017). No interior da célula, as NPs interagem com os diversos componentes intracelulares, como organelas e outras estruturas citoplasmáticas. As interações mais estudadas são aquelas que ocorrem com as organelas mitocôndrias e cloroplastos, nas quais ocorrem mudanças químicas e/ou físicas (Hatami et al., 2016).

NPs de carbono são amplamente utilizadas em diversas áreas, como energética, eletrônica e indústrias farmacêuticas (Novoselov et al., 2012; Zheng et al., 2013), com destaque crescente na agricultura (Monreal et al., 2016). O grafeno é um nanomaterial versátil, composto por uma única camada de átomos de carbono, a qual é conectada por hibridização de átomos de carbono sp^2 , os quais se ligam formando estruturas hexagonais bidimensionais (2D) (Chae et al., 2020). O óxido de grafeno (OG) é um material derivado de grafeno que possui muitos grupos carboxila, hidroxila e carbonila em sua superfície (Zhao et al., 2020). Esta presença de grupos funcionais de oxigênio em sua estrutura o torna muito hidrofílico (Barroso-Bujans et al., 2010). Consequentemente, é ideal para ser utilizado em solução aquosa, o que amplia suas aplicações. O OG é um nanomaterial com excelentes propriedades mecânicas e hidrofílicas e é altamente flexível e capaz de formar ductos. Consequentemente essas propriedades permitem que as nanopartículas de óxido de grafeno sejam aderidas em superfícies (Hu et al., 2014).

Os efeitos do óxido de grafeno sobre plantas e sua interação com as células vegetais são pouco conhecidos. Em relação aos estudos sobre efeitos nanotoxicológicos, as plantas são negligenciadas quando comparadas com os trabalhos disponíveis sobre efeitos em animais e células humanas (Hu et al., 2014). Assim como ocorre com outras nanopartículas de interesse, os efeitos podem ser benéficos, neutros ou maléficos, dependendo da concentração utilizada e avaliada. Pequenas concentrações podem gerar um efeito positivo no crescimento de *Arabidopsis thaliana*, como demonstrado no trabalho de Park e colaboradores (2020). Em contrapartida, altas concentrações podem ser tóxicas e causar danos, conforme apontado no trabalho envolvendo plantas de arroz de Chen, Mu e Tian, (2019). Quando plantas são expostas a altas concentrações de nanopartículas de óxido de grafeno, elas podem apresentar redução no crescimento e alterações nas propriedades fisiológicas e bioquímicas. As nanopartículas de OG são acumuladas nas raízes, caules e folhas das plantas, o que pode afetar a absorção de nutrientes e a fotossíntese. Com isso, há diminuição na biomassa geral e no rendimento das plantas (Tripathi et al., 2017; Sánchez-López et al., 2018).

Tendo em vista as lacunas existentes sobre os efeitos nanotoxicológicos do OG, este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos das nanopartículas de óxido de grafeno em plantas de soja, averiguando a toxicidade e efeitos na estrutura e fisiologia relacionados à fotossíntese.

2. Materiais e métodos

2.1 Síntese e caracterização do óxido de grafeno

O método de Hummers (1958) é o mais comum para produção do óxido de grafeno. Consiste na esfoliação do grafite utilizando agentes oxidantes. Utilizando-o como base, o método melhorado foi proposto por Marcano (2010) visando aumentar a eficiência do processo de oxidação e a segurança durante o procedimento.

Foram adicionados 3 g de grafite (*Sigma-Aldrich*[®]) em 400 mL da mistura de H₂SO₄ e H₃PO₄ apresentando proporção de 9:1. Após homogeneização, a mistura foi resfriada e levada ao banho de gelo. Então, o KMnO₄ foi adicionado lentamente, em pequenas porções, totalizando ao final 18 g. A mistura foi agitada para solubilização durante 30 minutos. Em seguida, a solução foi retirada do banho frio e aquecida até 50 °C, com aquecimento mantido durante 12 h. Ao final desta etapa com aquecimento, a solução resfriou até a temperatura ambiente e, então, foi vertida em 40 mL de água gelada. Três mL de H₂O₂ (30%) foram adicionados. Após ser agitada a amostra foi mantida na geladeira.

Para sua purificação, a amostra foi homogeneizada novamente e, em seguida, filtrada utilizando fibra de poliéster. Após decantação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado passou por sucessivas lavagens (cada uma delas com descarte do sobrenadante e ressuspensão do precipitado e filtração em fibra de poliéster). Na primeira lavagem utilizou-se 200 mL de água, na segunda 200 mL de HCl (30%) e na terceira e quarta lavagem utilizou-se 200 mL de etanol.

Para caracterização do produto foram realizadas Espectroscopia Raman, Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A Espectroscopia Raman foi realizada no Grupo de Espectroscopia Óptica e Propriedades Termofísicas (GEOPT-UEM) utilizando microscópio Raman confocal modelo Senterra (Bruker Optik GmbH, DEU), laser de excitação em 532 nm e potência nominal de 20 mW. Os dados obtidos foram corrigidos por linha de base e normalizados pelo vetor normalização utilizando o software OPUS versão 8.5 (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, DEU). A Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi realizada utilizando

um espectrômetro Bruker modelo Vertex 70v (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, DEU) equipado com o acessório de refletância total atenuada (ATR) com cristal de diamante. A Microscopia Eletrônica de Varredura foi realizada no Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP), utilizando o Microscópio Eletrônico de Varredura do modelo FEI - QUANTA 250.

2.2 Cultivo de plantas de soja na presença de óxido de grafeno

Sementes de *Glycine max*, cv. 95R90IPRO, foram sanitizadas com hipoclorito de sódio 2%, lavadas com água deionizada e distribuídas uniformemente entre duas folhas de papel de germinação (Germitest®) umedecido com água deionizada. Após a confecção de rolos e acondicionamento em tubos de PVC, as sementes foram postas a germinar em câmara de germinação a 25 °C por 72 h.

Para determinar os efeitos do óxido de grafeno sobre o crescimento em cultivo hidropônico, plântulas viáveis foram selecionadas, medidas, e transferidas para recipientes transparentes de plástico contendo 150 mL de solução nutritiva de Hoagland (pH 6,0) (Hoagland e Arnon, 1950) com ou sem óxido de grafeno nas concentrações 50 e 750 mg L⁻¹. As trocas de solução ocorreram a cada 48 h. Após 18 dias de incubação a 25°C, fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro) com irradiância média de 300 μmol m⁻² s⁻¹ e oxigenação constante, as medidas utilizadas nos experimentos foram obtidas.

2.3 Crescimento e parâmetros biométricos

Ao final do cultivo de 18 dias na presença ou não de OG, as raízes e a parte aérea das plantas foram medidas, em centímetros (cm), com auxílio de uma régua milimetrada. Considerou-se o comprimento da raiz principal. Na parte aérea mediu-se da área de início da raiz até o ápice do caule. As biomassas frescas da parte aérea e das raízes foram aferidas com balança analítica, em gramas (g). Os pesos frescos foram determinados imediatamente após a retirada dos sistemas hidropônicos. Os pesos secos foram aferidos após a desidratação, que ocorreu em estufa a 70 °C por 72 h. Foram utilizadas 8 plantas, em média, por cada tratamento.

2.4 Índice SPAD, medidas pontuais de fluorescência da clorofila a e trocas gasosas

O índice SPAD, que foi utilizado para estimar o teor de clorofila nas folhas, foi aferido utilizando o SPAD-502 (Konica Minolta, Ramsey, NJ, EUA), valendo-se da região média do primeiro trifólio totalmente expandido. A fluorescência emitida pela clorofila a foi verificada pelo fluorômetro de pulso modulado (PAM) do sistema portátil de fotossíntese LI-6800-F2 (Li-Cor, Lincoln, NE, EUA). A região média do primeiro trifólio totalmente expandido, das plantas adaptadas por cerca de 10 horas à ausência completa da luz, foi eclipsada pela câmara de 2 mm² do aparelho. A fluorescência mínima (F_0) foi registrada na ausência de luz e utilizada como referência para as outras variáveis relacionadas. A fluorescência máxima (F_m) foi adquirida após um flash multifásico de luz de alta intensidade (8000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) nestas plantas. A eficiência fotoquímica máxima ($F_m - F_0 / F_m$) das plantas foi calculada a partir destas medidas. Foram utilizadas, em média, 17 plantas de cada tratamento para obtenção dos parâmetros.

Estas mesmas regiões das plantas foram adaptadas em ambiente de luz (irradiância de 1400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e concentração de CO_2 fixada em 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e serviram de base para registros da emissão da fluorescência e das trocas gasosas em plantas, com a utilização combinada do fluorômetro PAM e do IRGA (*Infrared gas analyzer*) do LI-6800. Levando em consideração recomendações de Long e Bernacchi (2003), foi aguardado por aproximadamente 5 minutos estabilidade dos valores de assimilação (variação inferior a 2%).

Foram registrados os valores relacionados a assimilação (A), condutância estomática (Gs), eficiência fotoquímica máxima efetiva (F_v'/F_m'), rendimento quântico do Fotossistema II (ΦPSII), taxa de transporte de elétrons (ETR), rendimento quântico a partir da assimilação de CO_2 (ΦCO_2), quenching fotoquímico (qP) e quenching não fotoquímico (qN e NPQ) (Baker, 2008; Murchie e Lawson, 2013). Para aferir estes parâmetros descritos, foram fixados os fatores: temperatura da câmara do aparelho a 27 °C, umidade relativa em 60%, fluxo de ar de 700 $\mu\text{mol s}^{-1}$, concentração de CO_2 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de 1400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e flash de luz saturante multifásico de 8000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Os valores pontuais foram registrados a partir de pontos redundantes obtidos da construção da curva de luz e da curva A/Ci descritos no trabalho. Estes valores foram registrados com tempo para adaptação de 60 a 120 segundos, ponto a ponto, após a variação do parâmetro referente a curva (luz ou dióxido de carbono). As medidas foram realizadas em 4 plantas, em média, por tratamento.

2.5 Curva de assimilação em resposta à variação da radiação fotossinteticamente ativa

Plantas adaptadas as condições de CO₂ ambiente (400 μmol mol⁻¹) e radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de 2000 μmol m⁻² s⁻¹, primeiramente em estado estável foram registrados parâmetros relacionados às trocas gasosas: assimilação (A), concentração intercelular de CO₂ (C_i), condutância estomática (g_s), transpiração (E), e então dado início ao programa automático do LI-6800 para a construção da curva de luz. As taxas de assimilação referentes às variações da PAR foram registradas em ordem decrescente: 2000, 1750, 1500, 1250, 750, 500, 250, 200, 150, 100, 75, 50, 25, 0 μmol m⁻² s⁻¹, com tempo de adaptação para o registro de cada ponto entre 60 a 90 segundos cada. Os dados de assimilação e radiação fotossinteticamente ativa foram então ajustados segundo a equação de hipérbole retangular (1) baseada na equação de Michaelis-Menten (Lobo et al., 2013).

$$Y = \frac{a \cdot x}{b + x} - c \quad (1)$$

2.6 Curva de assimilação em resposta à variação da concentração ambiente de CO₂

Plantas adaptadas a 400 μmol mol⁻¹ de CO₂ e 1200 μmol m⁻² s⁻¹ de PAR, tiveram os parâmetros de assimilação (A), concentração intercelular de CO₂ (C_i), condutância estomática (g_s) e transpiração (E). Após o registro, passaram pela construção automática de curva de CO₂ pelo equipamento, com tempo de adaptação de 60 a 90 segundos entre cada registro. Seguiram as recomendações de Long e Bernacchi (2003), partindo da medida na concentração ambiente de CO₂ para as menores concentrações, e após as medidas próximas a zero, os registros foram feitos aumentando a concentração disponível até a máxima possível fornecida pelo aparelho. Os pontos registrados foram os seguintes e em tal ordem: 400, 300, 200, 120, 100, 80, 60, 40, 400, 400, 500, 650, 850, 1050, 1300, 1500, 1600. Os dados registrados foram ajustados usando o pacote “plantecophys” no software R.

2.7 Dosagem de proteínas

A determinação do conteúdo de proteínas foi realizada pelo método de Bradford. Para isso, uma curva padrão de soroalbumina bovina (BSA) foi construída utilizando concentrações que variaram de 0,05 a 0,5 mg mL⁻¹. As amostras foram apropriadamente diluídas antes da reação com Bradford. As leituras foram realizadas a 595 nm em espectrofotômetro (Bradford 1976).

2.8 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os dados obtidos de forma direta foram submetidos à ANOVA. As diferenças significativas (valor de $p \leq 0,05$) tiveram suas médias comparadas pelo teste de Dunnett. Os dados referentes às curvas A/PAR e A/C_i foram ajustados de acordo com a planilha do Microsoft Excel disponibilizada por Lobo e colaboradores (2013) e Zhou, Akcay e Helliker, (2019) e os parâmetros resultantes submetidos à ANOVA e ao teste de Dunnett. Todos os testes estatísticos foram realizados com o programa GraphPad Prism, versão 8 (La Jolla, CA, EUA).

3. Resultados e discussão

3.1 Caracterização das nanopartículas de óxido de grafeno

A espectroscopia Raman tem sido amplamente utilizada para a caracterização do óxido de grafeno (GO), podendo fornecer informações estruturais importantes. A banda G está diretamente associada às ligações entre átomos de carbono (C–C) e, portanto, é a única encontrada quando se avalia uma amostra de grafeno puro. Já a banda D aparece quando a estrutura gráfica sofre algum defeito ou desordem em sua estrutura. Esses defeitos estruturais são introduzidos pela presença de grupos funcionais no esqueleto de carbono incluindo –O–, –OH e –COOH, evidenciando relação com a desordem da estrutura hexagonal do grafite. A razão entre a intensidade dessas bandas (Banda D/Banda G) fornece uma medida aproximada dos defeitos presentes na estrutura do grafeno, de forma que, quanto maior a razão, maior é o defeito presente na estrutura.

Nos experimentos realizados obteve-se picos característicos tanto para a amostra sólida quanto para a amostra líquida. Banda G: 1592 cm^{-1} (amostra sólida) e 1606 cm^{-1} (amostra líquida; banda D: 1345 cm^{-1} (amostra sólida) e 1349 cm^{-1} (amostra líquida). Estes valores encontram-se de acordo com o levantamento bibliográfico na literatura, que apresentam os seguintes valores: Pico G: 1576; 1581; 1585; 1589; 1590; 1605 cm^{-1} e Pico D: 1328; 1343; 1348; 1350; 1358 cm^{-1} (Komurasaki et al., 2012; Yang et al., 2018). Portanto, pode-se verificar que apesar de ocorrer uma desordem estrutural, a amostra é óxido de grafeno, tendo os valores encontrados condizentes com os valores presentes na literatura. Isto também é verificado ao avaliar os espectros de FTIR (figura 1).

As imagens resultantes da microscopia eletrônica de varredura (figura 2) demonstraram as estruturas em folhas e chapas, características do óxido de grafeno. Além disso, observa-se a formação de estruturas rugosas pouco esfoliadas. As microscopias realizadas tiveram aspecto condizente com o de outros estudos, como o de Kumar e Srivastava (2018) e Guo e colaboradores (2021).

3.2 Efeitos das nanopartículas de óxido de grafeno no crescimento de plantas de soja

As plantas de soja expostas ao OG tiveram seu crescimento significativamente alterado (Fig. 3). Após os 18 dias de cultivo, foi verificada uma redução de 35% no comprimento da raiz principal de plantas tratadas com 750 mg L⁻¹ de OG, em relação às plantas controle. As biomassas fresca e seca das raízes também reduziram em 48% e 63%, respectivamente. Da mesma forma, o comprimento da parte aérea foi reduzido em 35% no comprimento, quando comparado com o controle. Por sua vez, as biomassas fresca e seca dos caules foram reduzidas em 38% e 45%, respectivamente. As plantas tratadas com 50 mg L⁻¹ de OG não tiveram seu crescimento afetado. O trabalho de Anjuum e colaboradores (2014) demonstrou que houve diminuição no comprimento radicular em plantas de feijão-faba submetidas a 1600 mg L⁻¹ de OG. De forma parecida, plantas de trigo cultivadas em hidroponia na presença de 500, 1000 e 2000 µg mL⁻¹ de OG também apresentaram diminuição na raiz dose-dependente (Chen et al., 2018).

3.3 Índice SPAD, medidas pontuais de fluorescência da clorofila a e trocas gasosas

O SPAD-502 é um medidor portátil que avalia quantitativamente a intensidade do verde da folha. Para isso, mede as transmissões de luz a 650 nm, onde ocorre absorção de luz pela molécula de clorofila, e a 940 nm, onde não ocorre absorção (Gil et al., 2002; Ferreira et al., 2006). A partir destes dois valores, é possível calcular o índice SPAD (*Soil Plant Analysis Development*), que é altamente correlacionado com o teor de clorofila da folha e pode identificar deficiência de nitrogênio (N), elemento presente na molécula de clorofila. O N é um elemento essencial e exigido em alta quantidade para a cultura da soja (Gil et al., 2002; Yokoyama et al., 2018).

Foi verificado um aumento de 16% na média do índice SPAD no primeiro trifólio das plantas cultivadas na concentração de 750 mg L⁻¹ de OG (38,4) em relação às plantas do controle (33,2) (Fig. 3). Possivelmente, esse aumento na quantidade de clorofila nas folhas foi em resposta ao estresse causado pela presença do OG, uma tentativa de aumentar a taxa de

fotossíntese para neutralizar o impacto do menor crescimento destas plantas. O aumento no valor também indica uma maior quantidade de nitrogênio nas folhas, que também se relaciona com a concentração de proteínas, já que o nitrogênio é um elemento essencial para síntese proteica. Foi verificado um aumento de 20% no teor de proteínas nas folhas de plantas tratadas com 750 mg L⁻¹ de OG quando comparadas com folhas de plantas controle (Fig. 3).

Resultados semelhantes foram encontrados no trabalho de Chen e colaboradores (2019), que descreveram aumento de 18 a 46% no conteúdo de clorofila em plântulas de arroz cujas sementes foram tratadas com 2-10 µg L⁻¹ de OG. Estas também apresentaram outros sinais de fitotoxicidade, como diminuição do crescimento da raiz e aumento de enzimas ligadas ao estresse oxidativo.

Nas medidas de trocas gasosas realizadas sob luz, obtidas a partir das curvas de resposta à luz e ao CO₂, nos pontos em que a luz incidente sobre as folhas era de 1400 µmol m⁻² s⁻¹ e a concentração de CO₂ na câmara de 400 µmol mol⁻¹, houve parâmetros que sofreram alteração em plantas cultivadas em 750 mg L⁻¹ de OG. A fixação de carbono, demonstrada pela assimilação líquida (A), é um indicativo direto da capacidade de crescimento da planta no momento da medição.

O parâmetro de Genty (Fv'/Fm'), conhecido como eficiência fotoquímica máxima efetiva, difere do cálculo de Fv/Fm, pois não depende da emissão de fluorescência de plantas adaptadas ao escuro. Em vez disso, expressa a eficiência real do aparato fotossintético em funcionamento (Genty, Briantais e Baker, 1989). Neste estudo, observou-se uma diminuição de 11,8% nesse parâmetro para o cultivo em concentração de 750 mg L⁻¹ de OG sob incidência de 1400 µmol m⁻² s⁻¹.

A análise da extinção da fluorescência após o flash multifásico revelou alterações nos caminhos percorridos pela luz na incidência de 1400 µmol m⁻² s⁻¹. Observou-se uma redução de 18% no quenching fotoquímico (qP) e um aumento significativo de 18% na extinção não fotoquímica (qN) a uma concentração de 750 mg L⁻¹ de OG. O quenching fotoquímico reduzido indica uma menor taxa de reoxidação das Qa reduzidas pelo flash de luz, ou seja, uma diminuição da energia direcionada para a fixação de carbono. Por outro lado, o aumento do quenching não fotoquímico demonstra a falta de ação de sistemas secundários para lidar com o excesso de luz não aproveitado.

O rendimento quântico do fotossistema II é um parâmetro essencial para o cálculo da taxa de transporte de elétrons (ETR). Cada fóton capturado pelas moléculas de clorofila é responsável por excitar um elétron e direcioná-lo para a redução do NADPH durante a etapa fotoquímica. Com base no conhecimento do fluxo de fótons (1400 µmol m⁻² s⁻¹) e do

rendimento quântico do fotossistema II (Φ_{PSII}), é possível calcular a taxa de transporte de elétrons (ETR). Nesse cálculo, considera-se que 85% da luz é absorvida pelas moléculas de clorofila, e 50% dessa energia é direcionada para o fotossistema II (CAMPOSTRINI, 1997). No entanto, é importante ressaltar que o cálculo da ETR pressupõe constantes que podem ser alteradas na presença do composto em estudo. Portanto, neste estudo, optou-se por manter ambos os parâmetros de rendimento quântico do fotossistema II e ETR, a fim de avaliar adequadamente os efeitos do composto em questão. O ETR foi reduzido em 26% na concentração de 750 mg L⁻¹ de OG sob incidência de 1400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

3.4 Assimilação em resposta a variação fotossinteticamente ativa

A relação A/PAR diz respeito à relação entre a taxa de assimilação de CO₂ (A) com a intensidade da radiação fotossinteticamente ativa (PAR). Com isso, é possível quantificar a eficiência da fotossíntese em relação à disponibilidade de luz.

A assimilação líquida máxima (A_{max}), parâmetro calculado de acordo com Lobo et al. (2003) quando o PAR incidente for teoricamente infinito, foi reduzida em 34,2% na concentração de 750 mg L⁻¹.

O parâmetro de rendimento quântico aparente (Φ) se relaciona com a inclinação inicial e representa o número de moléculas de CO₂ fixadas por μmol de fótons, levando-se em consideração que há desvios com a realidade como, por exemplo, os dispêndios com fotorrespiração e respiração, estresses que estejam afetando as trocas gasosas, captura, e transporte da energia (LOBO et al., 2013). Para as plantas controle são necessários, aproximadamente, 0,044 μmol de fótons para fixar 1 μmol CO₂ e de 0,038 μmol de fótons para o tratamento de 750 mg L⁻¹. A eficiência foi reduzida em 13,6%. Parte maior da energia absorvida na forma de luz está sendo dissipada na forma de calor, um indicativo de dano ao longo das reações fotossintéticas (tabela 1).

3.5 A assimilação em resposta ao CO₂ (A/Ci)

A relação A/Ci, entre a taxa de assimilação do CO₂ (A) e a concentração interna de CO₂ (Ci), é utilizada para avaliação da eficiência fotossintética e a resposta da planta à disponibilidade de CO₂, em diferentes níveis de concentração. Em geral, a curva de assimilação líquida (A) em função da concentração de carbono intracelular (Ci) relaciona parâmetros mais específicos da atividade de uma enzima.

A velocidade máxima de fixação de carbono pela Rubisco ($V_{C_{max}}$) foi afetada na concentração de 750 mg L^{-1} , apresentando redução de 35% na atividade desta enzima. Com a atividade de fixação prejudicada, a curva de assimilação é afetada. A regeneração da Ribulose 1,5-bifosfato (RuBP) é um grande fator limitante (Evans e von Caemmerer, 1996). A fixação de carbono segue aumentando linearmente com o aumento de CO_2 fornecido, até que ocorra falta do RuBP, substrato da Rubisco. Logo, supõe-se que a atividade envolvida na regeneração da RuBP sofreu redução da atividade. A cadeia de transporte de elétrons assume o comando da regeneração da RuBP, fazendo uso do ATP e NADPH. Com a taxa máxima de transporte de elétrons (J) também experimentando uma diminuição de 21%, é plausível argumentar que uma parcela do impacto nessa enzima do ciclo carboxilativo pode ser atribuída à redução energética direcionada à fase bioquímica. Embora o valor da condutância estomática (g_s) tenha sido reduzido em 67% com 750 mg L^{-1} de OG, a concentração de carbono intercelular não apresentou diferença. De acordo com Long (2003), reduções na condutância estomática são comuns sempre que observadas outras reduções em fatores envolvidos na fotossíntese. Então, apesar da dificuldade da entrada do CO_2 nos estômatos, sua concentração no interior da câmara subestomática permaneceu constante. Corroborando com a sugestão de que o OG interfira diretamente no transporte de elétrons fotossintético e nas reações de assimilação do carbono, já que não há limitação estomática (tabela 3).

4. Conclusões

Os resultados obtidos nesta pesquisa destacam a influência significativa do óxido de grafeno no crescimento das plantas de soja, bem como nos parâmetros fisiológicos mensurados. Foi verificado que na concentração de 750 mg L^{-1} o crescimento de plantas de soja foi alterado, apresentando redução nos parâmetros biométricos, sendo eles: comprimento radicular (35%) e suas biomassas fresca (48%) e seca (63%); comprimento da parte aérea (35%) e suas biomassas fresca (38%) e seca (45%). O Índice SPAD mostrou um aumento de 16% em plantas tratadas na maior concentração de OG. De forma relacionada, foi verificado aumento de 20% no teor de proteína das folhas. Parâmetros importantes na avaliação da fotossíntese foram reduzidos, sendo eles: F_v'/F_m' (11%), qP (18%), ETR (26%), A_{max} (34%), Φ (13%), V_{cmax} (35%), J (21%) e g (67%). O qN teve um aumento (18%), conforme o esperado.

Essas descobertas destacam a necessidade de pesquisas adicionais para compreender melhor os mecanismos subjacentes a esses efeitos para avaliação dos riscos associados à aplicação de nanomateriais na agricultura e sua presença no solo, principalmente quando

utilizados em escala comercial. É fundamental estabelecer diretrizes regulatórias adequadas para o uso seguro e responsável desses materiais, garantindo a proteção do meio ambiente e da segurança alimentar.

REFERÊNCIAS

- Anjum, N. A. et al. Single-bilayer graphene oxide sheet impacts and underlying potential mechanism assessment in germinating faba bean (*Vicia faba* L.). **Science of The Total Environment**, v. 472, p. 834–841, 2014. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.11.018.
- Baker, N. R. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, n. 1, p. 89–113, 2008. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759>.
- Barroso-Bujans, F. et al. Permanent adsorption of organic solvents in graphite oxide and its effect on the thermal exfoliation. **Carbon**, v. 48, p. 1079-1087, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2009.11.029>.
- Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Crop Journal**, v. 5, p. 407-415, 1976. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003>.
- Campostrini. Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas. 1997. Disponível em: <[http://www.uenf.br/Uenf/ Downloads/CENTRO_pdf](http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/CENTRO_pdf)>. Acesso em: maio de 2023.
- Chae, S. et al. Anomalous restoration of sp² hybridization in graphene functionalization. **Nanoscale**, v. 12, n. 22, p. 13351–13359, 2020. <https://doi.org/10.1039/d0nr02028c>.
- Chen, J. et al. Various Physiological Response to Graphene Oxide and Amine-Functionalized Graphene Oxide in Wheat (*Triticum aestivum*). **Molecules**, v. 23, v. 5, p. 1104, 2018. doi:10.3390/molecules23051104.
- Chen, J.; Mu, Q.; Tian, X. Phytotoxicity of graphene oxide on rice plants is concentration-dependent. **Materials Express**, v. 9, n. 6, p. 635–640, 2019. doi:10.1166/mex.2019.1538.
- Dale, A. L. et al. Modeling nanomaterial environmental fate in aquatic systems. **Environmental Science and Technology**, v. 49, p. 2587-2593, 2015. <https://doi.org/10.1021/es505076w>.
- Evans, J. R.; Von Caemmerer, S. Carbon Dioxide Diffusion inside Leaves. **Plant Physiology**. v. 110, n. 2, p. 339-346, 1996. <https://doi.org/10.1104/pp.110.2.339>.
- Ferreira, M. et al. Índice SPAD e teor de clorofila no limbo foliar do tomateiro em função de doses de nitrogênio e da adubação orgânica, em duas épocas de cultivo. **Revista Ceres**, v. 53, p. 83-92, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2006000100011>.
- Genty, B.; Briantais, J.-M.; Baker, N. R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 990, n. 1, p. 87–92, 1989. <https://doi.org/10.1007/BF00032982>.

Giese, B. et al. Risks, release and concentrations of engineered nanomaterial in the environment. **Scientific Reports**, v. 8, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19275-4>.

Gil, P. et al. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio e para o prognóstico da produtividade de batata. **Horticultura Brasileira**, v. 20, p. 611-615, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362002000400013>.

Guo, X. et al. Effects of graphene oxide on tomato growth in different stages. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 162, p. 447-455, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.03.013>.

Hatami, M.; Kariman, K.; Ghorbanpour, M. Engineered nanomaterial-mediated changes in the metabolism of terrestrial plants. **Science of the Total Environment**, v. 573, p. 947-957, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.184>.

Hoagland, D.R.; Arnon, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. 2nd ed. Circular. California Agricultural Experiment Station, p. 347. Berkeley: University of California, 1950.

Hossain, Z.; Mustafa, G.; Komatsu, S. Plant Responses to Nanoparticle Stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 11, p. 26644–26653, 2015. <https://doi.org/10.3390/ijms161125982>.

Hu, X. et al. Interactions between graphene oxide and plant cells: Regulation of cell morphology, uptake, organelle damage, oxidative effects and metabolic disorders. **Carbon**, v. 80, p. 665-676, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2014.09.010>.

Hummers, J. R. S.; Offeman, R. E. Preparation of graphitic oxide. **Journal of the American Chemical Society**, v. 80, n. 6, p. 1339-1339, 1958. <https://doi.org/10.1021/ja01539a017>.

Jeevanandam, J. et al. Review on nanoparticles and nanostructures materials: history, sources, toxicity and regulation. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 9, p. 1050-1074, 2018. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>

Khan, I.; Saeed, K.; Khan, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 7, p. 908-931, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.07.005>.

Komurasaki, H. et al. Layered structures of interfacial water and their effects on Raman spectra in graphene-on-sapphire systems. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 116, n. 18, p. 10084-10089, 2012. <https://doi.org/10.1021/jp212160j>.

Kumar, N.; Srivastava, V. C. Simple Synthesis of Large Graphene Oxide Sheets via Electrochemical Method Coupled with Oxidation Process. **ACS Omega**, v. 3, n. 8, p. 10233-10242, 2018. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b01283>.

Landa, P. et al. Transcriptomic Response of Arabidopsis thaliana Exposed to CuO Nanoparticles, Bulk Material, and Ionic Copper. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 18, p. 10814-10824, 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03340>.

Lobo, F. et al. Fitting net photosynthetic light-response curves with Microsoft Excel — a critical look at the models. **Photosynthetica**, v. 51, n. 3, p. 45–456, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11099-013-0042-1>.

Long, S. P. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 392, p. 2393–2401, 2003. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg262>.

Ma, X. M. et al. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. **Science of The Total Environment**, v. 408, p. 3053–3061, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.03.031>.

Marcano, D. C. et al. Improved synthesis of graphene oxide. **ACS nano**, v. 4, n. 8, p. 4806–4814, 2010. <https://doi.org/10.1021/nn1006368>.

Mittal, D. et al. Nanoparticle-Based Sustainable Agriculture and Food Science: Recent Advances and Future Outlook. **Frontiers in Nanotechnology**, v. 2, n. 2, p. 01–38, 2020. <https://doi.org/10.3389/fnano.2020.00002>.

Monreal, C. M. et al. Nanotechnologies for increasing the crop use efficiency of fertilizer-micronutrients. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, p. 423–437, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00374-015-1038-9>.

Murchie, E. H.; Lawson, T. Chlorophyll fluorescence analysis: A guide to good practice and understanding some new applications. **J Exp Bot**, v. 64, p. 3983–3998, 2013. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert208>.

Novoselov, K. S. et al. A roadmap for graphene. **Nature**, v. 490, n. 7419, p. 192–200, 2012. <https://doi.org/10.1038/nature11458>.

Nowack, B.; Bucheli, T. D. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. **Environmental Pollution**, v. 150, n. 1, p. 5–22, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.06.006>.

Park, S. et al. Graphene Oxide-Assisted Promotion of Plant Growth and Stability. **Nanomaterials**, v. 10, n. 4, p. 758, 2020. <https://doi.org/10.3390/nano10040758>.

Rai, P. K. et al. Nanoparticle-plant interaction: Implications in energy, environment, and agriculture. **Environment International**, v. 119, p. 1–19, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.06.025>.

Rizwan, M. et al. Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: A critical review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 322, p. 2–16, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.03.050>.

Sánchez-López, R. et al. Graphene oxide and graphene quantum dots in plant systems: synthesis, interaction with plants, and toxicological responses. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 637, 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00637>.

Tripathi, D. K. et al. An overview on manufactured nanoparticles in plants: uptake, translocation, accumulation and phytotoxicity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 110, p. 2-12, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.06.037>.

Yang, Z. et al. Roles of sliding-induced defects and dissociated water molecules on low friction of graphene. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-13, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26887-4>.

Yokoyama, A. H. et al. Índices de área foliar e SPAD da soja em função de culturas de entressafra e nitrogênio e sua relação com a produtividade. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 4, p. 953-962, 2018. <http://dx.doi.org/10.19084/RCA18153>.

Yusuf, A. et al. Nanoparticles as Drug Delivery Systems: A Review of the Implication of Nanoparticles' Physicochemical Properties on Responses in Biological Systems. **Polymers**, v. 15, p. 1596, 2023. <https://doi.org/10.3390/polym15071596>.

Zhang, Y. et al. Environmental Transformation of Graphene Oxide in the Aquatic Environment. **Chemosphere**, v. 254, p. 127885, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127885>.

Zhao, Y. et al. Environmental transformation of graphene oxide in the aquatic environment. **Chemosphere**, v. 256, p. 127885, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127885>.

Zheng, G. et al. Nanostructured paper for flexible energy and electronic devices. **MRS Bulletin**, v. 38, n. 4, p. 320-325, 2013. <https://doi.org/10.1557/mrs.2013.70>.

Zhou, H.; Akçay, E.; Helliker, B. R. Estimating C4 photosynthesis parameters by fitting intensive A/Ci curves. **Photosynthesis Research**, v. 141, n. 2, p. 181–194, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11120-019-00602-2>.

TABELAS

Tabela 1: Efeitos do óxido de grafeno (OG) na curva A/PAR de plantas de soja cultivadas durante 18 dias em 0, 50 e 750 mg L⁻¹ de OG. Condutância estomática (**g_s**), transpiração (**E**), Concentração intercelular de CO₂ (**c_i**), taxa de assimilação líquida máxima (**A_{máx}**), rendimento quântico aparente (**φ**) e (**Q₅₀**). Valor da média ± erro padrão da média. O asterisco indica diferença significativa em relação ao controle (P ≤ 0.05; Teste de comparação múltipla de Dunnett). n= 3-4.

Óxido de grafeno (mg L ⁻¹)	g _s	E	C _i	A _{max}	φ	Q ₅₀
	mol (H ₂ O) m ⁻² s ⁻¹	mmol (H ₂ O) m ⁻² s ⁻¹	μmol (CO ₂) mol ⁻¹	μmol (CO ₂) m ⁻² s ⁻¹	μmol (CO ₂) μmol ⁻¹ (photons)	μmol (photons) m ⁻² s ⁻¹
0	0,154 ± 0,004	2,59 ± 0,08	271,6 ± 5,4	20,38 ± 0,50	0,044 ± 0,005	235,94 ± 25,89
50	0,270 ± 0,051	3,32 ± 0,64	292,2 ± 11,3	19,62 ± 0,90	0,038 ± 0,002	185,40 ± 35,79
750	0,130 ± 0,018	2,24 ± 0,25	277,3 ± 7,7	13,40 ± 0,72**	0,031 ± 0,002**	142,88 ± 30,17

Tabela 2: Efeitos do óxido de grafeno (OG) em plantas de soja sob incidência de fótons de 1400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Eficiência fotoquímica máxima efetiva (F_v/F_m), eficiência fotoquímica máxima efetiva (F_v'/F_m'), taxa de transporte de elétrons (**ETR**), *quenching* fotoquímico (**qP**), e *quenching* não fotoquímico (**NPQ**). Valor da média \pm erro padrão da média. O asterisco indica diferença significativa em relação ao controle ($P \leq 0.05$; Teste de comparação múltipla de Dunnett). n= 3-4.

Óxido de grafeno (mg L^{-1})	F_v/F_m	1400 $\mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$				2000 $\mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$			
		F_v'/F_m'	ETR $\frac{\mu\text{mol}}{\text{l m}^{-2} \text{s}^{-1}}$	qP	NPQ	F_v'/F_m'	ETR $\frac{\mu\text{mol}}{\text{ol m}^{-2} \text{s}^{-1}}$	qP	NPQ
0	$0,830 \pm 0,001$	$0,498 \pm 0,006$	$125,5 \pm 2,6$	$0,5 \pm 0,01$	$1,88 \pm 0,03$	$0,406 \pm 0,004$	$101,4 \pm 4,2$	$0,3 \pm 0,01$	$2,33 \pm 0,05$
50	$0,834 \pm 0,002$	$0,487 \pm 0,010$	$113,1 \pm 6,8$	$0,46 \pm 0,02$	$1,89 \pm 0,05$	$0,420 \pm 0,006$	$91,5 \pm 5,6$	$0,27 \pm 0,01$	$2,32 \pm 0,04$
750	$0,823 \pm 0,002^{**}$	$0,439 \pm 0,002^{**}$	$91,9 \pm 6,7^{**}$	$0,41 \pm 0,03^{**}$	$2,22 \pm 0,05^{**}$	$0,416 \pm 0,002$	$98,0 \pm 6,1$	$0,27 \pm 0,02$	$2,39 \pm 0,05$

Tabela 3: Efeitos do óxido de grafeno (OG) na curva A/Ci de plantas de soja cultivadas durante 18 dias em 0, 50 e 750 mg L⁻¹ de OG. Condutância estomática (**g_s**), transpiração (**E**), Concentração intercelular de CO₂ (**c_i**), velocidade de carboxilação da Rubisco (**V_{C_{max}}**) e taxa de transporte de elétrons (**J**). Valor da média ± erro padrão da média. O asterisco indica diferença significativa em relação ao controle (P ≤ 0.05; Teste de comparação múltipla de Dunnett). n= 4.

Óxido de grafeno (mg L ⁻¹)	g _s	E	C _i	V _{C_{max}}	J
	mol (H ₂ O) m ⁻² s ⁻¹	mmol (H ₂ O) m ⁻² s ⁻¹	μmol (CO ₂) mol ⁻¹	μmol (CO ₂) m ⁻² s ⁻¹	μmol (e ⁻) m ⁻² s ⁻¹
0	0,283 ± 0,022	4,64 ± 0,37	398,33 ± 21,29	61,91 ± 0,92	123,10 ± 6,17
50	0,251 ± 0,044	4,24 ± 0,67	389,11 ± 26,48	56,31 ± 2,23	112,09 ± 3,03
750	0,094 ± 0,016**	1,82 ± 0,30**	347,32 ± 7,62	40,18 ± 5,10**	96,76 ± 11,95*

LEGENDAS DAS FIGURAS

Fig. 1. Gráfico de espectroscopia Raman obtido a partir de amostra do óxido de grafeno (OG) sintetizado, apresentando valores da banda G e D característicos (a). Gráfico de espectros de FTIR obtido a partir de amostra do OG sintetizado (b).

Fig. 2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) do óxido de grafeno (OG). Imagens com magnificação de 100 (a), 201 (b), 686 (c) e 759 (d) \times 1000.

Fig. 3. Efeitos do óxido de grafeno (OG) no crescimento de plantas de soja. Comprimento da parte aérea (a), biomassa fresca da parte aérea (b), biomassa seca da parte aérea (c), índice SPAD do 1^o trifólio (d), comprimento da raiz (e), biomassa fresca da raiz (f), biomassa seca da raiz (g) e teor de proteína das folhas (h) de plantas de soja expostas ao OG nas concentrações de 50 ou 750 mg L⁻¹ por 18 dias. *Valor da média \pm erro padrão da média. O asterisco indica diferença significativa em relação ao controle ($P \leq 0.05$; Teste de comparação múltipla de Dunnett). n= 6-8.

FIGURAS

Figura 1

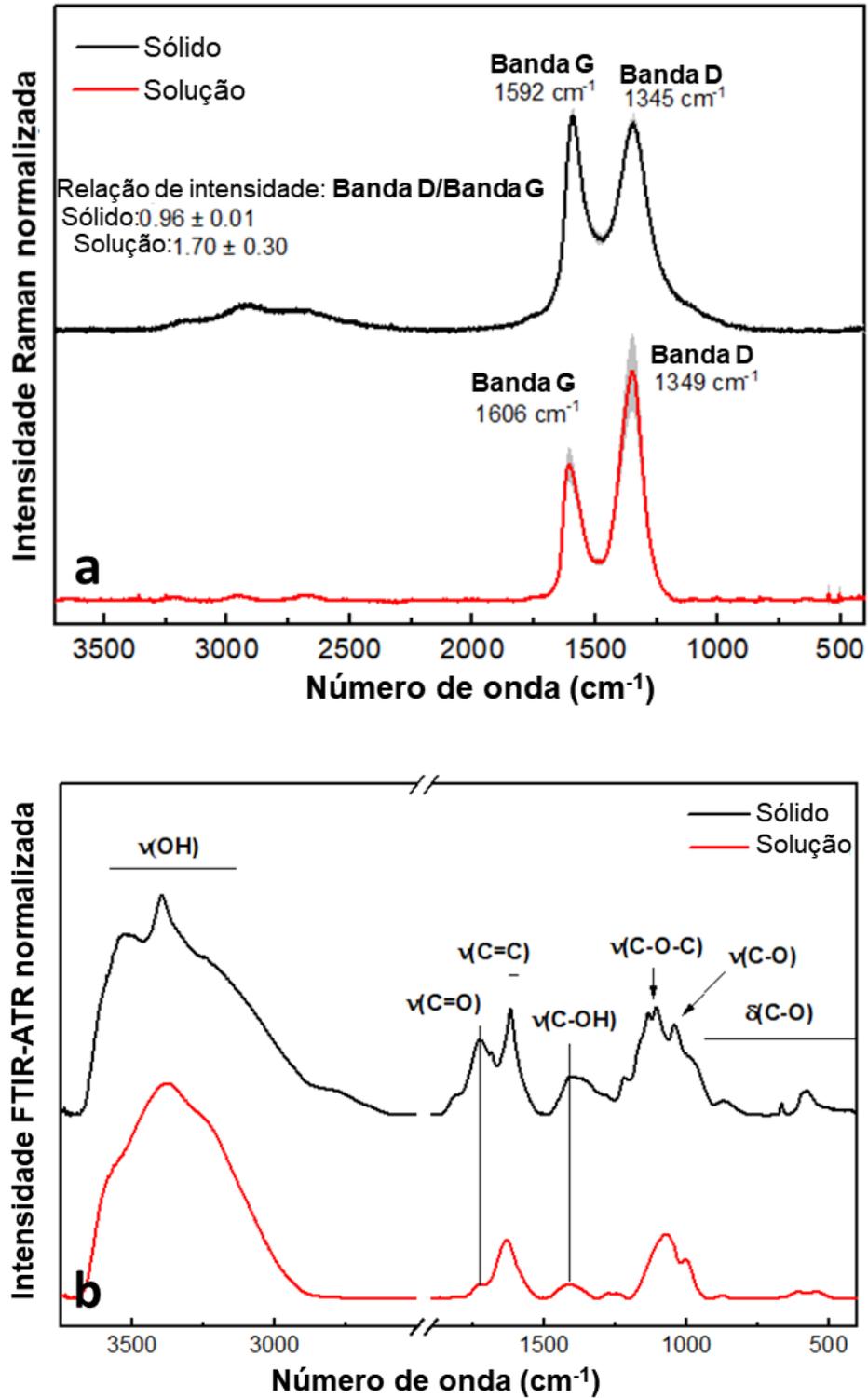


Figura 2

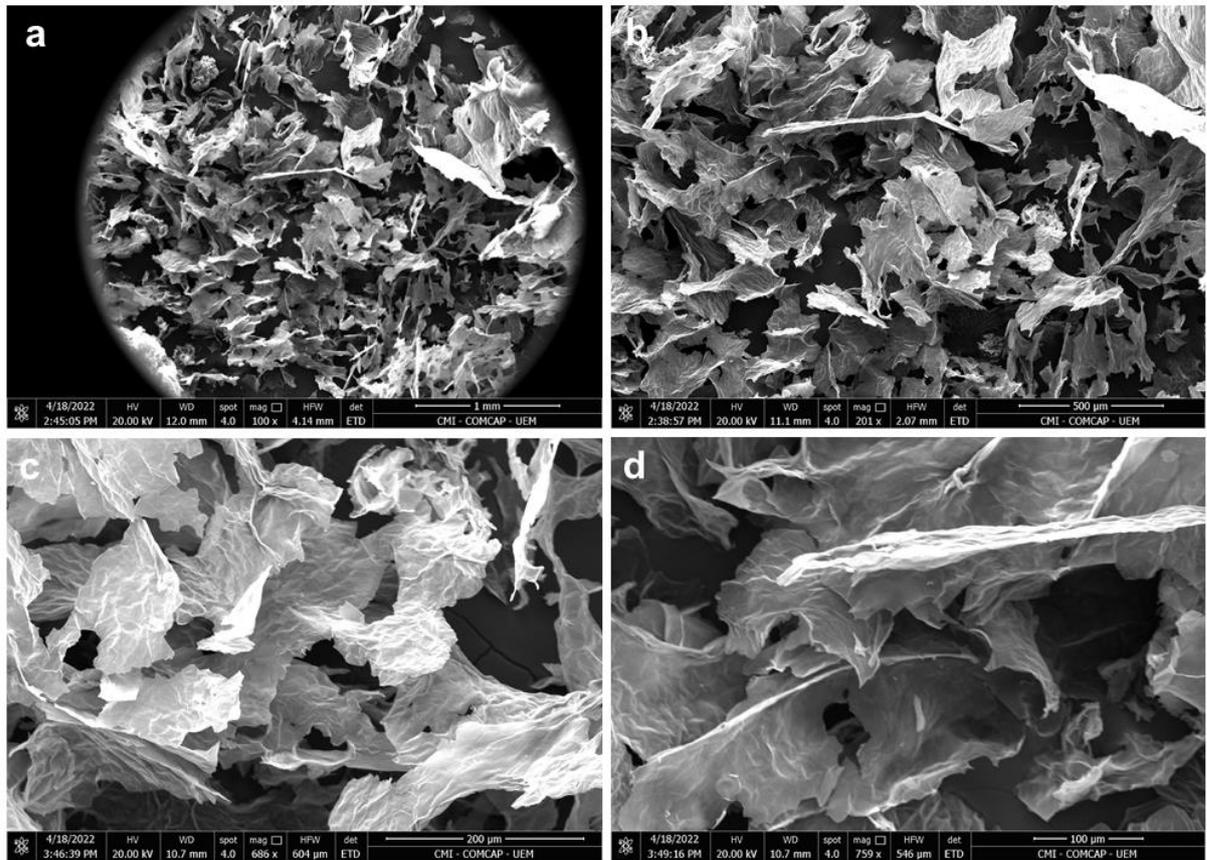


Figura 3

