



CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL  
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA

AVALIAÇÃO DO EFEITO FITOTÓXICO DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA  
NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE  
*PENNISETUM GLAUCUM* (L.) R. BR.

JÉSSICA MARCONDES LOPES

Belo Horizonte

2017

JÉSSICA MARCONDES LOPES

AVALIAÇÃO DO EFEITO FITOTÓXICO DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO  
DESENVOLVIMENTO DE PLÁNTULAS DE *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.

CEFET-MG  
2017

JÉSSICA MARCONDES LOPES

AVALIAÇÃO DO EFEITO FITOTÓXICO DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA  
NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE  
*PENNISETUM GLAUCUM* (L.) R. BR.

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado ao Centro Federal de  
Educação Tecnológica de Minas Gerais  
como requisito parcial para obtenção  
do título de Engenheiro Ambiental e  
Sanitarista.

Orientador:

Profa. Dra. Andréa Rodrigues Marques Guimarães

Co-orientador:

Profa. Dra. Angela de Mello Ferreira

Belo Horizonte

2017

Lopes, Jéssica Marcondes

Avaliação do efeito fitotóxico de nanopartículas de magnetita na germinação de sementes e no desenvolvimento de plântulas de *Pennisetum glaucum* (L.)  
R. Br./ Jéssica Marcondes Lopes. -2017.

41 f.:il.

Andréa Rodrigues Marques

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, 2017

1.Nanopartículas de magnetita 2.Fitotoxicidade de nanopartículas de magnetita 3. Efeitos na germinação e desenvolvimento do milho. I. Andréa Rodrigues Marques. II. Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais. III. Título.

JÉSSICA MARCONDES LOPES

AVALIAÇÃO DO EFEITO FITOTÓXICO DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA  
NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE  
*PENNISETUM GLAUCUM* (L.) R. BR.

Trabalho de conclusão de curso apresentado  
ao Centro Federal de Educação Tecnológica  
de Minas Gerais como requisito parcial para  
obtenção do título de Engenheiro Ambiental  
e Sanitarista.

Data de aprovação: \_\_\_\_/ \_\_\_\_/ \_\_\_\_

Banca Examinadora:

---

Andréa Rodrigues Marques Guimarães – Presidente da Banca Examinadora  
Profa. Dra. Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais – CEFET-MG –  
Orientadora

---

Ângela de Mello Ferreira  
Profa. Dra. Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais – CEFET-MG –  
Co-Orientadora

---

Alexandre Aparecido Duarte  
Me. Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

---

Gabriela Cordeiro Silva  
Profa. Dra. Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais – CEFET-MG

*Dedico este trabalho, em especial, à minha professora Andréa, pela paciência na orientação e incentivo que tornaram possível a conclusão desta monografia, e aos meus colegas e família pela força e motivação.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida e iluminar o meu caminho durante esta caminhada.

À minha professora orientadora Andréa, pela paciência, dedicação, ajuda e amizade, tanto na criação deste trabalho quanto na iniciação científica.

Agradeço também a todos os que me acompanharam e contribuíram durante a execução desta pesquisa, em especial à Alessandra e profa. Vera Lúcia do laboratório de Microbiologia da UFMG, profa. Angela, Alexandre e Gabriela.

À minha família, por sempre acreditar e investir em mim. Mãe, o seu cuidado e dedicação foram essenciais para que eu chegasse até aqui.

Ao meu namorado Leandro, por em muitos momentos de fraqueza nessa caminhada me aliviar e motivar com palavras sábias, carinho e atenção.

À todos os professores deste curso, que foram tão importantes nesta etapa de minha vida e me proporcionaram conhecimento e sabedoria.

Ao Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - CEFET-MG, pela oportunidade de realizar o curso de Engenharia Ambiental e Sanitária.

Não há nada bom nem mau a não ser  
essas duas coisas: a sabedoria que é um  
bem e a ignorância que é um mal.

Platão

## RESUMO

LOPES, JM. *Avaliação do efeito fitotóxico de nanopartículas de magnetita na germinação de sementes e no desenvolvimento de plântulas de Pennisetum glaucum (L.) R. Br.* 2017. 39f. Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária) – Departamento de Ciência e Tecnologia Ambiental, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

Uma variedade de nanopartículas (NPs), produzidas em escala industrial, estão sendo desenvolvidas e incorporadas em produtos comerciais devido às suas propriedades físico-químicas únicas em comparação com materiais de maiores dimensões. Com a geração de NPs de magnetita cada vez maior devido aos seus diferentes fins, fazem-se necessários mais estudos sobre os seus efeitos em diferentes espécies de plantas e culturas. O presente estudo pretende, portanto, avaliar os efeitos fitotóxicos das NPs de magnetita por meio de seus efeitos na germinação das sementes, crescimento das raízes e partes aéreas das plântulas, conteúdo de pigmentos cloroplastídeos e a eficiência fotossintética do fotossistema II (Fv/Fm) da espécie *Pennisetum glaucum (L.) R. Br.* (milheto). Observou-se que a porcentagem de germinação, o conteúdo de clorofilas totais, caratenóides e xantofilas e a eficiência fotoquímica (Fv/Fm) não foram afetados significativamente pelas diferentes concentrações de NPs de magnetita, em relação ao controle, porém o alongamento das raízes e folhas e a taxa de transporte de elétrons foi inibido à medida que se aumentou a concentração de nanopartículas de magnetita.

**Palavras-Chave:** Nanotecnologia. Nanopartículas de magnetita. Fitotoxicidade. *Pennisetum glaucum*.

## ABSTRACT

LOPES, JM. *Phytotoxic effect of magnetite nanoparticles on seed germination and seedling development of Pennisetum glaucum (L.) R. Br.* 2017. 39f. Monography (Graduate in Environmental and Sanitary Engineering) - Department of Environmental Science and Technology, Federal Center of Technological Education of Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

A variety of nanoparticles (NPs), produced on an industrial scale, are being developed and incorporated into commercial products because of their unique physical-chemical properties compared to larger materials. With the generation of increasing magnetite NPs due to their different purposes, further studies on their effects on different species of plants and crops are needed. The present study therefore aims to evaluate the phytotoxic effects of magnetite NPs through their effects on seed germination, seedling root and aerial part growth, chloroplast pigment content and quantum yield of photosynthesis of the species *Pennisetum glaucum (L.) R. Br.* (pearl millet). It was observed that the percentage of germination, total chlorophyll content, carotenoids and xanthophylls and photochemical efficiency (Fv/Fm) were not significantly affected by the different concentrations of magnetite NPs in relation to the control, but the elongation of the roots and leaves and the rate of electron transport were inhibited as the concentration of magnetite nanoparticles increased.

Keywords: Nanotechnology. Magnetite nanoparticles. Phytotoxicity. *Pennisetum glaucum*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Dimensões de algumas estruturas moleculares e materiais expressos em nanômetros. Fonte: Pereira (2014). .....	3
Figura 2 - Categorias dos métodos de produção de nanopartículas. Fonte: Dias (2015). .....	5
Figura 3 – Representação da estrutura cristalina da magnetita. Fonte: Salvino (2014). .....	8
Figura 4 - Esboço do fluxo de nanomateriais no ambiente para produzir potencialmente efeitos fitotóxicos. Fonte: Adaptado de Yadav et al. (2014). .....	9
Figura 5 - Imagem de MET das NPs de magnetita. Fonte: (Fiuza, 2017).....	12
Figura 6 – Difractogramas das NPs de magnetita. Fonte : Fiuza (2017). .....	13
Figura 7 - Porcentagem de germinação de sementes de <i>Pennisetum glaucum</i> (L.) R. Br. após cinco dias em diferentes concentrações de NP-magnetita. Para comparações as letras mostram os resultados da ANOVA-oneway e teste Tukey. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ). .....	16
Figura 8 - Comprimento das raízes de <i>Pennisetum glaucum</i> (L.) R.Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita. Para comparações as letras mostram os resultados da análise do teste Kruskal-Wallis. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ). .....	17
Figura 9 - Comprimento da parte aérea de <i>Pennisetum glaucum</i> (L.) R.Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita. Para comparações as letras mostram os resultados da análise do teste Kruskal-Wallis. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ). .....	18
Figura 10 - Comprimento das raízes e parte aérea de <i>Pennisetum glaucum</i> (L.) R.Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita, sendo elas: Controle (A), 400mg/L (B), 2000mg/L (C) e 4000mg/L (D). .....	19
Figura 11 – Conteúdo de caratenóides e xantofilas das folhas de <i>Pennisetum glaucum</i> (L.) R. Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita. Para comparações as letras mostram os resultados da ANOVA-oneway e teste Tukey. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ). .....	20
Figura 12 - Conteúdo de clorofila totais das folhas de <i>Pennisetum glaucum</i> (L.) R. Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita. Para comparações as letras mostram os resultados da ANOVA-oneway e teste Tukey. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ). .....	20
Figura 13 - Rendimento quântico potencial ( $F_v/F_m$ ) do fotossistema II (PSII) das folhas de <i>Pennisetum glaucum</i> (L.) R.Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita. Para comparações as letras mostram os resultados da ANOVA-oneway e teste Tukey. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ). .....	21
Figura 14- Taxa de transporte de elétrons (ETR) das folhas de <i>Pennisetum glaucum</i> (L.) R. Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita. Radiação Fotossintética Ativa (RFA) para 90% de transporte de elétrons (barras). Para comparações as letras mostram os resultados da ANOVA-oneway e teste Tukey. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ). .....	22

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 - Campo de aplicação de algumas nanopartículas fabricadas.....	6
---	---

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ETR – Taxa de transporte de elétrons

FSII – Fotossistema II

F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> – Eficiência fotossintética do fotossistema II

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

nAl<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – Nanopartículas de óxido de alumínio

nCeO<sub>2</sub> – Nanopartículas de óxido de cério

nCuO – Nanopartículas de óxido de cobre

nFe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> – Nanopartículas de magnetita

NP – Nanopartícula

NPs – Nanopartículas

NPs-SPMs – Nanopartículas superparamagnéticas

nTiO<sub>2</sub> – Nanopartículas de óxido de titânio

nZnO – Nanopartícula de óxido de zinco

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	OBJETIVOS.....	2
3.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	3
3.1	Definição de nanopartículas e nanotecnologia .....	3
3.1.1.	Produção de nanomateriais.....	4
3.1.2.	Aplicações de nanopartículas .....	6
3.1.3.	Magnetita .....	7
3.2	Nanopartículas e meio ambiente.....	8
3.2.1.	Os efeitos das nanopartículas em plantas .....	10
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
4.1	Obtenção das nanopartículas de magnetita.....	11
4.2	Desinfecção das sementes .....	13
4.3	Preparação do meio .....	13
4.4	Experimento de germinação das sementes .....	14
4.5	Experimento de crescimento .....	14
4.6	Parâmetros fotossintéticos e dosagem de pigmentos cloroplastídeos .....	14
4.7	Análises estatísticas .....	15
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	15
5.1	Efeitos da NP-magnetita na germinação e no crescimento .....	15
5.2	Efeitos da NP-magnetita no conteúdo de pigmentos e rendimento quântico da fotossíntese .....	19
6.	CONCLUSÃO.....	22
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	23

## 1. INTRODUÇÃO

Uma variedade de nanopartículas (NPs), produzidas em escala industrial, estão sendo desenvolvidas e incorporadas em produtos comerciais devido às suas propriedades físico-químicas únicas em comparação com materiais de maiores dimensões (Zhang et al., 2015). Atualmente, alguns nanomateriais magnéticos vêm sendo amplamente aplicados em diversas áreas, por exemplo, o óxido de ferro, e em especial a magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), são os mais empregados (Hannickel, 2011). As NPs de magnetita, por exemplo, podem ser aplicadas em ferrofluidos, tomografia de ressonância magnética, carreador de fármacos, separação magnética, agente de vedação (Blaney, 2007), biomedicina (Diniz et al., 2015) entre outros.

O uso extensivo de NPs metálicas e de óxido de metal em diferentes campos e a possibilidade das mesmas entrarem na cadeia alimentar através de plantas, devido à liberação acidental para ambientes terrestres, aquáticos e atmosféricos, podem comprometer o crescimento e o rendimento de culturas (Rizwanet al., 2016; Nair et al., 2016). Uma variedade de NPs de óxidos metálicos ( $n\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $n\text{CeO}_2$ ,  $n\text{ZnO}$ ,  $n\text{CuO}$ ,  $n\text{TiO}_2$ ,  $n\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) influenciam negativamente a germinação e desenvolvimento das plantas (Siddiqi et al., 2017). NPs de  $\text{CuO}$ , por exemplo, podem reduzir significativamente o percentual de germinação, comprimento das raízes e o nível de carotenóides do arroz (Shaw et al., 2013). Os limites de concentração das NPs são importantes para determinar se a mesma é um nutriente ou uma toxina, por exemplo, NPs em baixas concentrações, podem ser usadas como transportadoras e fornecedoras de nutrientes às plantas para aumentar seu crescimento (Liu et al., 2016), porém, em concentrações mais elevadas a maioria dos estudos envolvendo NPs indicam certo grau de fitotoxicidade (Ma et al., 2010).

Existem vários estudos sobre os efeitos das NPs de magnetita nas plantas, principalmente em relação à fitotoxicidade e alteração de suas funções metabólicas. Nanopartículas superparamagnéticas (NPs-SPMs) de óxido de ferro em plantas *Lemna gibba* causaram toxicidade, indicada pela diminuição do teor de clorofila, deterioração das funções do fotossistema II (FSII), forte produção de espécies reativas de oxigênio e inibição da taxa de crescimento (Barhoumi et al., 2015). Ao Contrário, NPs-SPMs de magnetita possuem propriedades que são eficazes para as culturas (El-Nasr et al., 2015), como a da soja, aumentando os níveis de clorofila, sem vestígios de toxicidade (Ghafariyan et al., 2013), e mudas de melancia, incrementando a porcentagem de germinação e melhorando os

parâmetros de crescimento (Pariona et al., 2016). Além disso, o campo magnético da magnetita pode afetar positivamente os fatores fisiológicos (taxa de regeneração em termos de biomassa e altura das plantas) e bioquímicos (proteína total, clorofila, superóxido dismutase, catalase, peroxidase e peroxidase de ascorbato) (Alikamanoglu et al., 2011). No entanto, em alguns casos as NPs de magnetita não provocam um efeito evidente na taxa de germinação e no crescimento da planta, como consequência, não se observa um estresse oxidativo, mantendo os mesmos níveis de clorofila e de  $O_2^-$  ou  $H_2O_2$  em relação às plantas de controle (Iannone et al., 2016).

Alguns parâmetros fotossintéticos são utilizados para avaliar o stress ou danos causados nas plantas pelas NPs, tais como a intensidade de emissão de fluorescência dos pigmentos cloroplastídeos, a eficiência máxima do fotossistema II (FSII) ou Fv/Fm e a taxa de transporte de elétrons (ETR) sob o ponto de saturação (Du et al., 2016). Os efeitos das NPs de magnetita variam dependendo das concentrações e dimensões das partículas testadas, bem como as espécies de plantas utilizadas, podendo apresentar efeitos inibitórios (Ren et al., 2011; Mushtaq et al., 2011), incremento da germinação (Ren et al., 2011, Lebedev et al., 2014; Shankramma et al., 2016) ou não apresentar qualquer efeito (Iannone et al., 2016; Lee et al., 2010; López-Luna et al., 2016; Wang et al., 2011; Ghafariyan et al., 2013).

Com a geração de NPs de magnetita cada vez maior devido aos seus diferentes fins, fazem-se necessários mais estudos sobre os seus efeitos em diferentes espécies de plantas e culturas. Isto porque, as aplicações dessas NPs em cultivo de plantas determinam diferentes efeitos, que podem ser tóxicos ou benéficos.

## **2. OBJETIVOS**

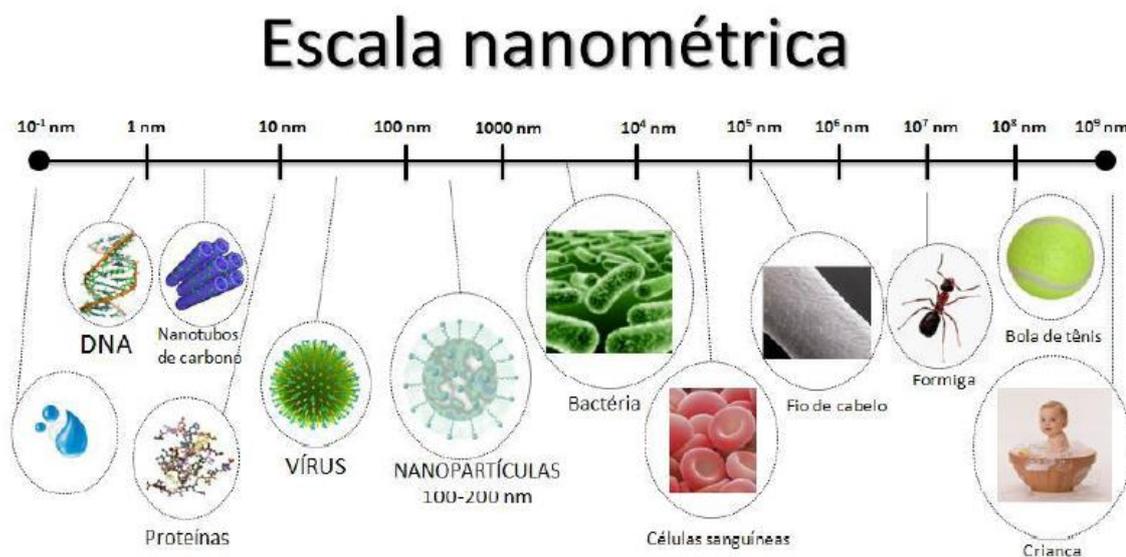
Avaliar os efeitos fitotóxicos das NPs de magnetita por meio de seus efeitos na germinação das sementes, crescimento das raízes e partes aéreas das plântulas, conteúdo de pigmentos cloroplastídeos e parâmetros fotossintéticos (Fv/Fm e ETR) da espécie *Pennisetum glaucum* (L.) R.Br. (milheto).

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Definição de nanopartículas e nanotecnologia

A nanotecnologia é definida como o design, caracterização, produção e aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas de controle de forma e tamanho em nano-escala (Latif, 2006). O tamanho (extremamente pequeno), a estrutura e características de superfície das NPs resultam em propriedades físico-químicas únicas que não são observadas com partículas maiores do mesmo material (Stampoulis et al., 2009). A nanociência é a ciência que desenvolve materiais à escala nanométrica, ou seja, na escala de 1-100 nanômetros, em que 1nm equivale a  $10^{-9}$  m. A figura 1 apresenta esquematicamente a dimensão de alguns objetos expressa em nanômetros (Pereira, 2014).

Devido as propriedades físico-químicas dos nanomateriais e o seu amplo potencial de aplicação, eles oferecem diversificadas oportunidades de inovação para os setores de materiais, eletrônica e biotecnologias (Silva et al., 2014). No entanto, as mesmas propriedades que tornam os nanomateriais tão atrativos, como pequeno tamanho, forma variada e alta área superficial, podem também ser responsáveis por desequilíbrios ambientais e efeitos nocivos aos organismos vivos e ao homem (Nogueira et al., 2013).



**Figura 1** - Dimensões de algumas estruturas moleculares e materiais expressos em nanômetros. Fonte: Pereira (2014).

As NPs podem ser de origem natural ou de origem antropogênica. Estas partículas podem ser ainda categorizadas em materiais à base de carbono, como fulerenos e nanotubos de carbono, polímeros orgânicos (dendrímeros, poliestireno) e ainda NPs inorgânicas, incluindo as NPs de óxidos metálicos (óxido de zinco, óxido de ferro, dióxido de titânio e óxido de cério), de metais (ouro, prata e ferro), e compostos como o óxido de Cu-Zn-Fe (Teixeira, 2013).

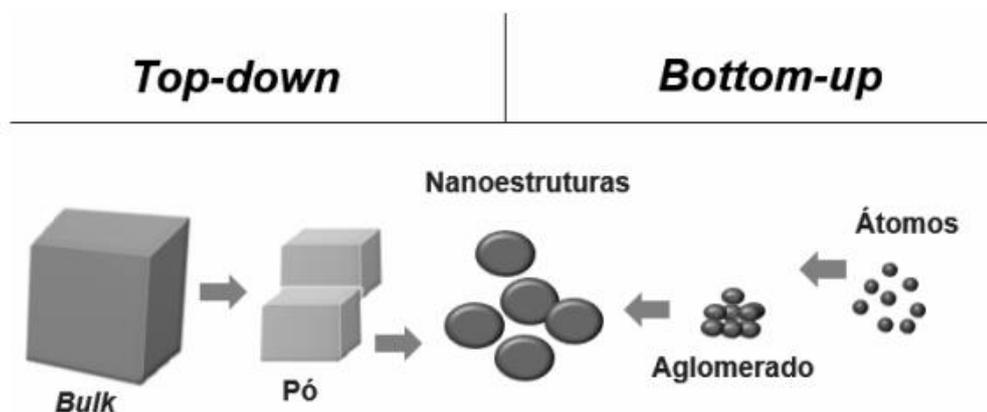
As NPs existem na natureza desde o início da história da Terra e são encontradas no ambiente sob a forma de pó vulcânico, poeira lunar, compostos minerais e outros, porém, essas NPs naturais estão presentes em concentrações muito baixas e, portanto, não apresentam impacto significativo (Yadav et al., 2014). Outros exemplos de fonte natural de NPs são o sal marinho e algumas moléculas como a magnetita biogênica e a proteína ferritina, de aproximadamente 12 nm, que são encontradas no interior de organismos primitivos (Paschoalino et al., 2010). As NPs antropogênicas podem ser formadas como um subproduto de um determinado processo, por exemplo, durante a combustão de determinados materiais, ou produzidas intencionalmente devido às suas características particulares (Teixeira, 2013).

As NPs artificiais são atualmente utilizadas em diferentes áreas devido a seu caráter multidisciplinar de aplicações como a eletrônica, óptica, têxteis, aplicações médicas, cosméticos, embalagens de alimentos, tecnologia de tratamento de água, células de combustível, catalisadores, e biossensores para remediação ambiental (Anjum et al., 2013). A crescente utilização das NPs se deve a relativa facilidade com que estas podem ser preparadas e manipuladas, a sua elevada reatividade e área de superfície e a natureza ajustável das suas propriedades óticas entre outras (Teixeira, 2013). No entanto, a produção, utilização e eliminação de NPs fabricadas podem desencadear inevitavelmente descargas para a atmosfera, solos e sistemas aquáticos, portanto, é crucial investigar o seu transporte através do ambiente e seus possíveis impactos no meio ambiente e na saúde, tanto para a proteção ambiental tanto para assegurar a sustentabilidade em longo prazo da indústria nanotecnologia, com seus benefícios associados (Ju-nam et al., 2008).

#### *Produção de nanomateriais*

Os métodos de produção das nanopartículas são divididos em duas categorias fundamentais: *bottom-up* e *top-down* (Fig. 2) (Dias, 2015). A técnica *top-down* corresponde à fabricação de estruturas em nanoescala, a partir de outras de maior tamanho, geralmente, por meio de processos físicos. Já nas estratégias *bottom-up* o material é sintetizado “montando” a substância átomo por átomo ou molécula por molécula, através de processos químicos e

físicos (Oliveira et al., 2015). Exemplos de métodos top-down de produção de nanopartículas são a litografia, moagem de alta energia e moagem em moinho de bolas rotativas (Biondo, 2010). Exemplos de rotas *bottom-up* são os processos de síntese hidrotermal, o CVD (chemical vapour deposition), Sol-Gel, entre outras (Schenkel, 2015).



**Figura 2** - Categorias dos métodos de produção de nanopartículas. Fonte: Dias (2015).

Atualmente os nanomateriais podem ser organizados em quatro tipos:

#### 1) Nanomateriais a base de carbono

Nanotubos de carbono são folhas de grafeno enroladas que formam tubos estendidos. Existem dois tipos de nanotubos de carbono: *Single-walled* (um tubo) ou *multi-walled* (vários tubos concêntricos). Nanotubos de carbono têm assumido um papel importante no contexto de nanomateriais devido às suas novas propriedades químicas e físicas, pois são mecanicamente muito fortes, flexíveis, e podem conduzir extremamente bem a eletricidade. Os nanotubos de carbono podem ser aplicados, por exemplo, em reforço de compósitos, sensores, nanoeletrônica e exibição de dispositivos (The Royal Society, 2004).

#### 2) Nanocompósitos

Nanocompósitos são materiais que combinam um ou mais componentes separados e que quando projetados expõem as melhores propriedades de cada componente. (The Royal Society, 2004). São obtidos pela incorporação do reforço nanométrico, tais como argila, sílica, nanotubos de carbono, entre outras, de dimensões nanométricas, numa matriz. Podem ser

aplicadas na microinformática, medicina, preparação de fármacos, dentária, indústria automobilística, petroquímica, indústria aeronáutica e indústria de embalagens. (Oliveira et al., 2015).

### 3) Dendrímeros

Os dendrímeros são moléculas poliméricas esféricas, formadas através de uma auto-montagem hierárquica do processo de nanoescala. Podem ser aplicados em revestimentos, tintas, moléculas transportadoras (carreamento de fármacos) e remediação do meio ambiente (The Royal Society, 2004).

### 4) Nanomateriais a base de metais

Nanopartículas a base de óxidos de metais são usados extensivamente em um considerável número de aplicações, por exemplo, em produtos comerciais tais como cosméticos e protetores solares ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  e  $\text{ZnO}$ ), enchimentos em obturações dentárias ( $\text{SiO}_2$ ), na catálise ( $\text{TiO}_2$ ) e como aditivos para combustíveis ( $\text{CeO}_2$ ) (Ju-Nam et al., 2008).

#### *Aplicações de nanopartículas*

É bastante vasta a gama de aplicações que as NPs apresentam. No Quadro 1 se encontra alguns exemplos de aplicações de algumas NPs fabricadas.

**Quadro 1** - Campo de aplicação de algumas nanopartículas fabricadas.

<b>NANOPARTÍCULAS</b>	<b>CAMPO DE APLICAÇÃO</b>
$\text{TiO}_2$	Cosméticos, produtos para a pele, protetores solares, células solares, tintas e revestimentos.
$\text{ZnO}$	Produtos para a pele, revestimentos de garrafas, etc.
$\text{CeO}_2$	Catalisador de combustão dos combustíveis diesel para melhorar a qualidade de emissão, gás sensores, células solares e bombas de oxigênio.
NPs de Prata	Desinfetantes, curativos, roupas antibacterianas e pulverização.
NPs de Ouro	Terapia do cancro, sensores, catalisadores, tintas condutoras

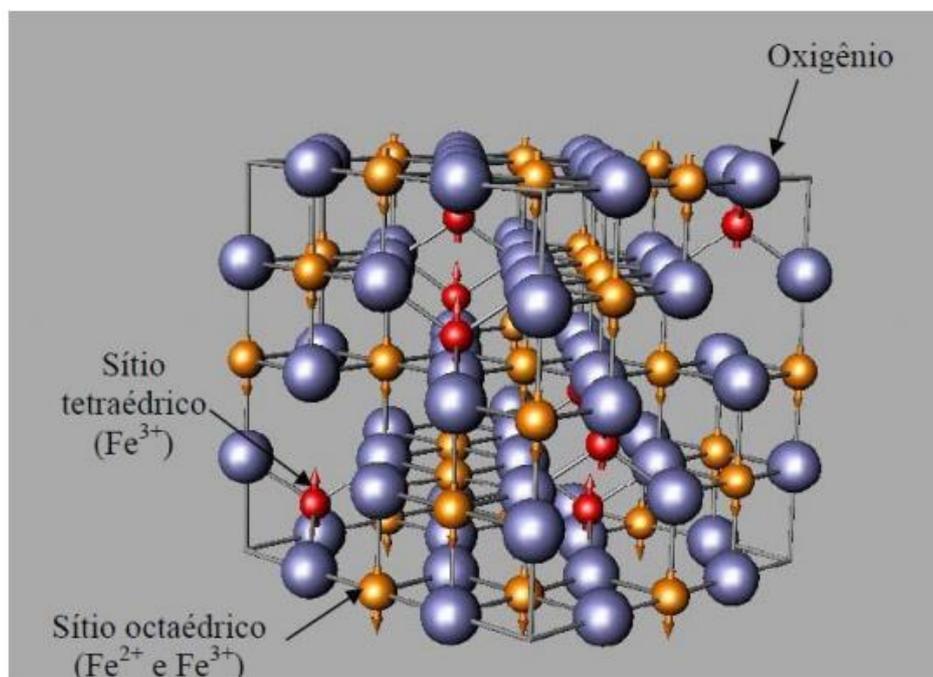
	flexíveis e filmes.
Ferro e Óxido de Ferro	Medicina de imagem e remediação de águas subterrâneas in situ.
Sílica	Isoladores térmicos e elétricos, carregamento de fármacos, etc.
NPs de Magnetita	Carreadores de drogas, genes e radionuclídeos, agentes de contraste em imagem por ressonância magnética (ferrofluidos), adsorção e posterior separação magnética de DNA/RNA, proteínas, bactérias, vírus e outras biomoléculas e Indústria eletrônica (produção de cabeça reprodutora de som e vídeo e de disquetes).

Fonte: Adaptado de Yadav et al. (2014).

### *Magnetita*

Atualmente, alguns nanomateriais magnéticos vêm sendo amplamente aplicados em diversas áreas. O óxido de ferro, e em especial a magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), são os mais empregados (Hannickel, 2011). A magnetita é um óxido de ferro natural, que geralmente apresenta como composição 31,0% de  $\text{FeO}$ , 69% de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (Andrade, 2009). Nas últimas décadas inúmeros pesquisadores tem dedicado seus estudos na magnetita em função do crescente número de aplicações tecnológicas resultantes do seu comportamento superparamagnético, não toxicidade, a elevada biocompatibilidade, e eficiente capacidade de adsorção de cátions e ânions dispersos em meio aquosos (Salvino, 2014).

A magnetita é um material cerâmico com propriedades magnéticas que possui uma estrutura cristalina do tipo espinélio inverso contendo íons  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{O}^{2-}$  em um arranjo cúbico denso de face centrada. Em sua estrutura cristalina (Fig. 3) os íons  $\text{O}^{2-}$  estão dispostos no arranjo cúbico gerando dois tipos de sítios de coordenação. Os sítios de coordenação tetraédrica são compostos por quatro íons oxigênio, e os sítios de coordenação octaédrica por seis íons oxigênio. Nesta estrutura, os íons  $\text{Fe}^{3+}$  estão dispostos nos interstícios tetraédricos e nos interstícios octaédricos posicionam-se os íons  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{2+}$  em quantidades exatamente iguais resultando em 24 cátions, sendo 16 íons  $\text{Fe}^{3+}$  e 8 íons  $\text{Fe}^{2+}$  (Salvino 2014).

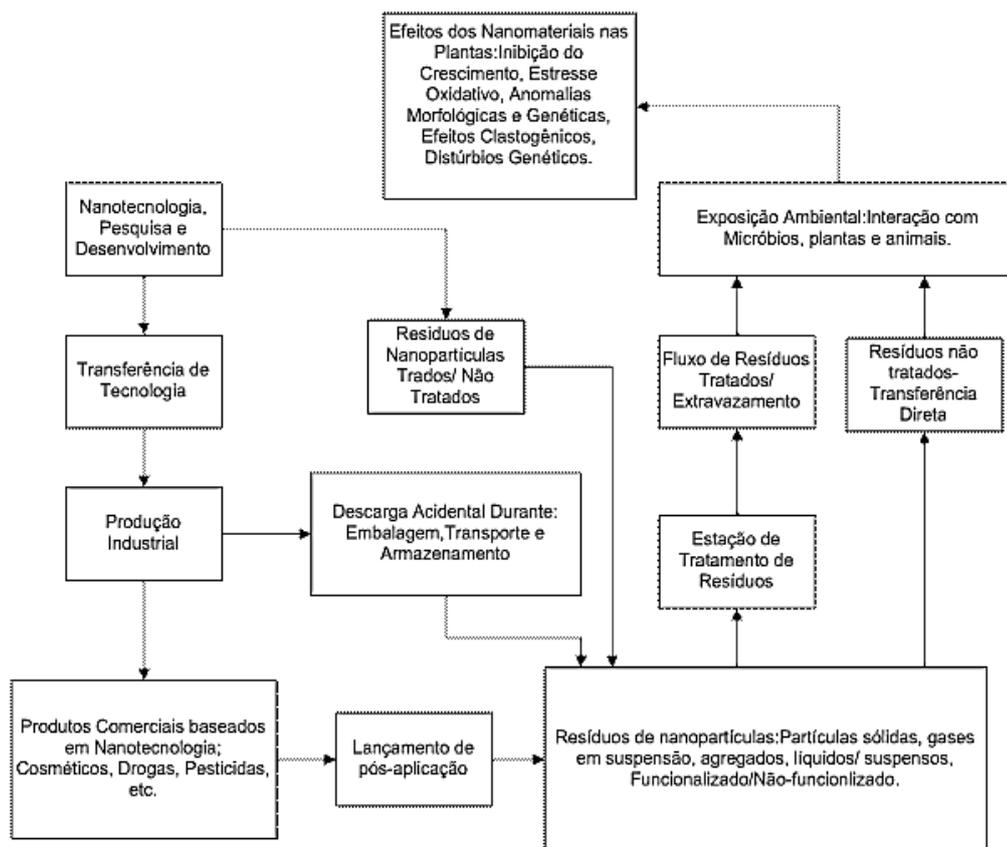


**Figura 3** – Representação da estrutura cristalina da magnetita. Fonte: Salvino (2014).

Dentre as rotas de síntese mais citadas na literatura para obtenção de nanopartículas de magnetita estão os métodos de co-precipitação, decomposição térmica e precursores poliméricos e pelo método hidrotérmico (Costa, 2013).

### 3.2 Nanopartículas e meio ambiente

A variada exposição de NPs para o meio ambiente e seres humanos vem tornando-se cada vez mais generalizada, aumentando assim a preocupação com os riscos das mesmas alcançarem os diferentes compartimentos ambientais e se tornarem disponíveis causando certo grau de toxicidade (Anjum et al., 2013; Paschoalino et al., 2010). Essa preocupação com os riscos derivados de nanotecnologia deu origem a um novo campo de estudo chamado nanotoxicidade, que aborda a toxicidade de nanomateriais sob várias formas de vida e ao meio ambiente (Yadav et al., 2014). Os efeitos tóxicos dependem do tipo de NP, por exemplo, NPs metálicas geralmente são mais tóxicas do que nanopartículas orgânicas (Simonin et al., 2015). A figura 4 mostra alguns dos potenciais efeitos fitotóxicos das NPs no ambiente.



**Figura 4** - Esboço do fluxo de nanomateriais no ambiente para produzir potencialmente efeitos fitotóxicos. Fonte: Adaptado de Yadav et al. (2014).

As fontes de emissão de NPs para o ambiente podem ser variadas, por exemplo, através de derrames industriais, aterros sanitários, lamas de depuração utilizadas como fertilizante e biorremediação (Simonin et al., 2015), e devido às suas características particulares, as NPs podem induzir potenciais impactos tóxicos significativos na saúde ambiental (Teixeira, 2013). NPs em ecossistemas terrestres, por exemplo, podem alterar o perfil dos sistemas de solo de plantas (Du et al., 2016; Zhu et al., 2008).

Atualmente, os nanomateriais industrializados podem ser considerados a principal fonte de aporte de NPs no ambiente, aumentando os riscos de se tornarem biodisponíveis e causarem toxicidade e desequilíbrio ambiental (Nogueira et al., 2013). As comunidades bióticas interagem com ambiente através de variados compartimentos, e fontes potencialmente contaminadas com NPs podem provocar bioacumulação, onde haverá exposição subsequente de NPs para organismos de nível superior por meio da cadeia alimentar (Anjum et al., 2013).

O destino de NPs lançadas no solo pode variar dependendo de suas características físicas e químicas, podendo ser fortemente retidas na matriz sólida, tornando-se imóveis. As propriedades do solo, por exemplo, as partículas de argila e substâncias húmicas, e a presença de microrganismos também podem afetar o comportamento e a mobilidade das NPs. (Teixeira, 2013).

#### *Os efeitos das nanopartículas em plantas*

NPs com diferentes composições, tamanhos, concentrações, e propriedades físico-químicas têm sido relatadas como influenciadoras no crescimento e desenvolvimento de várias espécies de plantas podendo apresentar efeitos positivos e negativos (Hossain et al., 2015). A toxicidade de metais e NPs de óxido de metal podem ser causadas pela sua dissolução e posterior liberação de íons metálicos tóxicos, metais pesado, por exemplo, são amplamente reconhecidos para inibir a germinação das sementes, crescimento e desenvolvimento das plantas, e perturbar a sua bioquímica e processos fisiológicos (Lee et al., 2010). A maioria dos estudos envolvendo NPs indica certo grau de fitotoxicidade, especialmente em concentrações elevadas, sendo a fitotoxicidade, portanto uma importante consideração para entender os potenciais impactos ambientais das NPs (Ma et al., 2010; Lee et al., 2010).

Condições ambientais extremas influenciam o crescimento das plantas, portanto, a exposição das plantas a determinadas substâncias naturais ou xenobióticas, acima de uma concentração ótima, pode causar toxicidade, causando acumulação nos tecidos vegetais, com potenciais efeitos letais para as espécies não tolerantes (Yadav et al., 2014).

Alguns dos efeitos negativos dos materiais em escalas nanos sobre o crescimento de plantas identificados em alguns estudos foram a inibição do crescimento da raiz e germinação de sementes; que varia muito, dependendo da composição da NP o tamanho, a concentração e também a espécie de planta (Riahi-Madvar et al., 2012). Por exemplo, NPs de alumínio inibiram o alongamento de raiz de várias plantas (milho, pepino, soja, couve, e cenoura) (Zhu et al., 2008) e NPs de óxido de zinco inibiram significativamente a germinação da semente (Lee et al. 2010). Ao contrário, nanotubos de carbono podem ter um efeito positivo sobre a germinação, uma vez que as NPs podem penetrar a espessura de revestimento da semente e auxiliar na captação de água em seu interior, ativando a absorção de água e tornando as taxas de germinação mais rápidas (Khodakovskaya et al., 2009). Os efeitos das NPs de magnetita na germinação dependem da concentração e do tamanho testados, por exemplo, nanopartículas de magnetita, 9-18 nm, em menores concentrações, apresentaram efeitos inibitórios na

germinação (Ren et al., 2011), enquanto em maiores concentrações, essas mesmas NPs apresentaram um aumento na germinação (Ren et al., 2011, Shankamma et al., 2016). No entanto, o contrário ocorreu com NPs de magnetita maiores, de 50-80nm, que apresentaram um efeito inibitório na germinação em maiores concentrações (Mushtaq, 2011) e à medida que a concentração foi reduzida causaram um incremento na germinação (Lebedev et al., 2014).

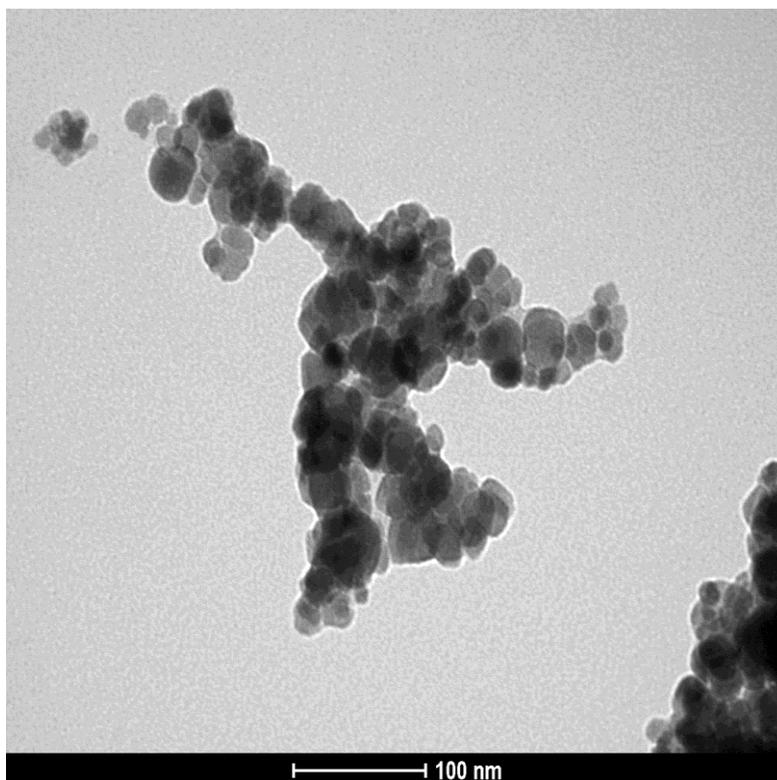
A absorção e translocação de NPs de óxidos de metais nos sistemas de plantas podem ser realizadas via aplicação foliar, na qual as NPs vão ser absorvidas através das folhas e redistribuídas para raízes ou outros tecidos vegetais através dos vasos de floema e por meio do solo ou meio contendo as NPs que serão absorvidas pelas raízes e serão redistribuídas para as folhas (Ma et al., 2015). A absorção, translocação e acumulação de NPs dependem das espécies de plantas e do tamanho, tipo, composição química, concentração e estabilidade das NPs (Rico et al., 2011). Estudos mostram que NPs de magnetita, 8-10nm, não afetaram a parte aérea das plantas de *Triticum aestivum* L. (Iannone et al., 2016) e não causaram diferenças visuais no crescimento da *Cucurbita maxima* (Zhu et al., 2008), porém outros estudos apresentam efeitos de incremento do alongamento das raízes utilizando NPs de magnetita, de 10-25nm, nas plantas de *Lolium perenne* L., *Cucurbita mixta* cv. white cushaw (Wang et al., 2011) e *Triticum aestivum* L. (Iannone et al., 2016).

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

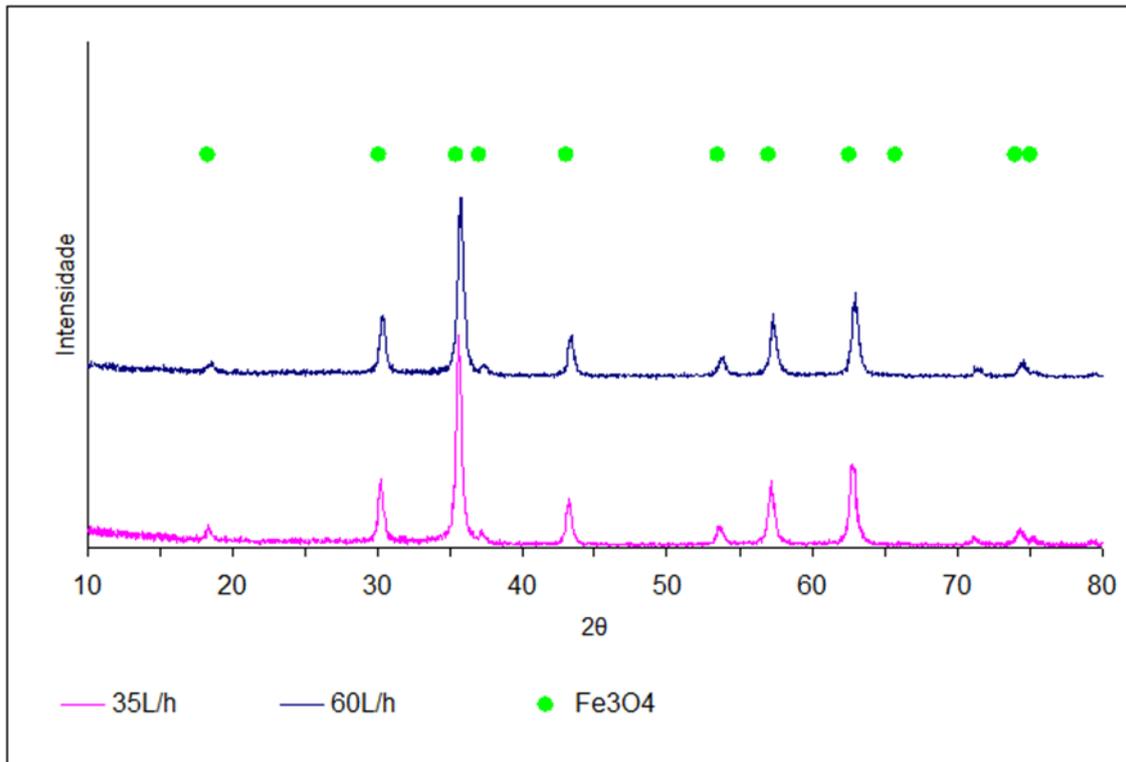
### **4.1 Obtenção das nanopartículas de magnetita**

As NPs de magnetita utilizadas neste estudo foram obtidas em estudo prévio (Lucas, 2017) por meio de um processo de eletrocoagulação, a partir da passagem de corrente através de eletrodos de aço mergulhados em eletrólito consistindo de uma solução de cloreto de sódio. Para confirmar a presença de uma única fase nas NPs foram realizadas medidas de Difração de raios-X pelo método de pó (equipamento Shimadzu 7000) nas seguintes condições de operação: Radiação Cu K $\alpha$  (35 KV/ 40 mA), velocidade do goniômetro 0,02° 2 $\theta$  por passo, com tempo de contagem de 0,6 segundo por passo e coletados no intervalo 2 $\theta$  de 10° a 80°. Para analisar a morfologia e dimensão das NPs foram obtidas imagens de Microscopia eletrônica de transmissão (equipamento Tecnai G2-12- Spirit Biotwin FEI - 120 kV).

As imagens permitiram a identificação de nanopartículas com diâmetros variando de 5 a 50 nm, apresentando distribuição granulométrica heterogênea e morfologia esférica (Figura 5). Os difratogramas das NPs mostram a presença de uma fase única, consistindo nos planos característicos da estrutura cristalina cúbica de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) (Figura 6).



**Figura 5** - Imagem de MET das NPs de magnetita. Fonte: (Fiuza, 2017)



**Figura 6** – Difratogramas das NPs de magnetita. Fonte : Fiuza (2017).

## 4.2 Desinfecção das sementes

As sementes de milho (BR1501) foram adquiridas da EMPRAPA Milho e Sorgo. Um lote de sementes foi desinfetado em etanol 70% por 5 minutos e hipoclorito 2% por 30 minutos (Devi et al., 2000). Lavagens consecutivas em água estéril foram realizadas e todo o processo de desinfecção foi feito com agitação contínua.

## 4.3 Preparação do meio

As nanopartículas foram dispersas em meio MS (Murashige e Skoog 1962). Segundo Lee et al. (2008) este meio foi selecionado para evitar a agregação e precipitação. O meio ½ MS Basal, adquirido pelo Sigma-Aldrich, foi suplementado com 7 g de ágar com o pH ajustado em 5,8, sem adição de sacarose. Foram selecionados três tratamentos com as seguintes concentrações de NPs de magnetita: 400, 2.000 e 4.000 mg/L (Lee et al., 2010). Todos os tratamentos, incluindo o controle, foram realizados em cinco repetições. Para os testes de germinação foram usadas em cada repetição lotes de 20 sementes previamente desinfetadas e placas de Petri com 20 mL de meio MS; para os testes de crescimento foram usadas lotes de 16 sementes previamente desinfetadas e germinadas por 48h no escuro a 25°C. O cultivo foi realizado em frascos com 30 mL de meio MS. Para os tratamentos, o valor

de massa (mg) de magnetita equivalente à concentração de NP do tratamento foi calculado individualmente para o volume usado de meio MS, tanto para os testes de germinação e crescimento.

#### **4.4 Experimento de germinação das sementes**

Para o teste de germinação as sementes foram colocadas na superfície do ágar e a montagem foi conduzida dentro do fluxo laminar para evitar contaminação. As placas estéreis contendo as sementes foram embrulhadas com papel alumínio (germinação no escuro) e colocadas dentro da incubadora com temperatura constante de 25°C. A germinação foi registrada após cinco dias (Jain et al., 2017). A semente foi considerada germinada quando houve a protrusão da radícula e a porcentagem da germinação foi estimada para cada lote e tratamento.

#### **4.5 Experimento de crescimento**

Após a germinação por dois dias no escuro, as sementes de milho foram colocadas com a radícula em contato com a superfície do meio dentro dos potes para avaliar o crescimento da raiz e parte aérea. Toda a montagem foi realizada dentro do fluxo laminar para evitar contaminação. Após cinco dias de incubação em uma câmara de crescimento com foto período de 12h de luz (densidade do fluxo de fóton para fotossíntese – 30  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) e temperatura de 25°C, foram realizadas medições da raiz e parte aérea com o auxílio de uma régua de precisão.

#### **4.6 Parâmetros fotossintéticos e dosagem de pigmentos cloroplastídeos**

Para a obtenção do rendimento quântico potencial ( $F_v/F_m$ ) do FSII foi utilizado um medidor de fluorescência modulada (Mini-PAM- Modelo Heinz Walz, Germany). Para medidas instantâneas do  $F_v/F_m$  as folhas foram adaptadas a condição de escuro por 30 minutos em seguida foi aplicado um pulso de saturação de luz para obter o  $F_m$  (máximo de fluorescência) e  $F_v/F_m = F_m - F_o$ , sendo  $F_o$  o mínimo de fluorescência da folha submetida ao escuro e  $F_v$  a fluorescência estacionária. Valores de  $F_v/F_m < 0,80$  indicam fotoinibição (Bjorkman e Demmig, 1987). O programa de curva de luz do Mini-PAM foi aplicado onde a intensidade da luz actínica foi aumentada durante 4 minutos por oito pulsos de luz seguidos um do outro em intervalos de 30 segundos. Os parâmetros extraídos da curva de luz foram: a quantidade saturante de RFA (Radiação Fotossintética Ativa) e a taxa de transporte de

elétrons (ETR) sob o ponto de saturação de luz (Scaramo et al., 2001,2005; Duarte et al., 2005).

Os valores de  $F_v/F_v$  e ETR foram determinados para três plântulas do milho, selecionadas randomicamente de cada tratamento e controle. As intensidades luminosas variaram de 35 a 1400  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Os pigmentos cloroplastídeos foram extraídos com acetona 80% da massa fresca da parte aérea das plântulas e quantificados essencialmente como descrito por Wellburn (1994).

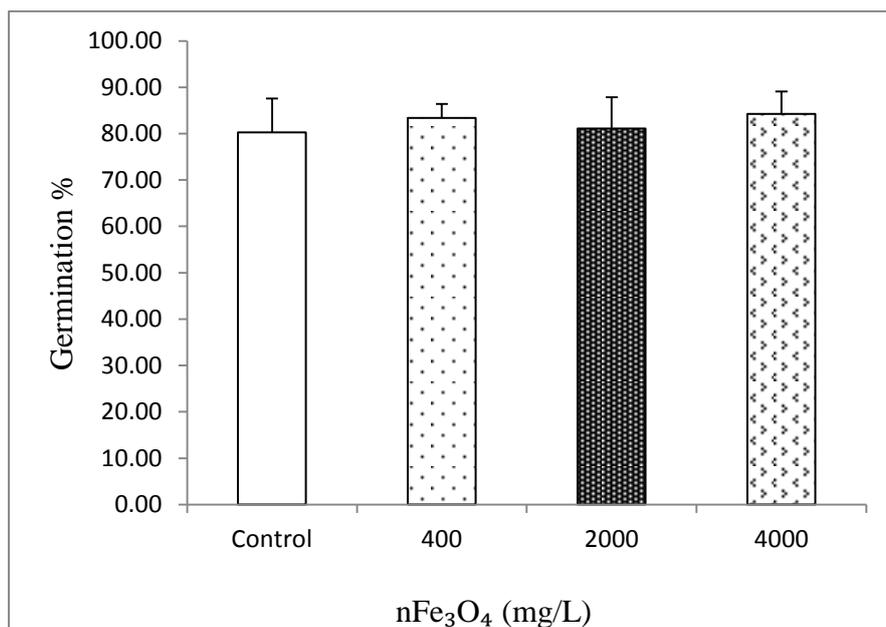
#### 4.7 Análises estatísticas

Os dados foram primeiramente verificados quanto a sua distribuição paramétrica usando o teste de Kolmogorov-Smirnoff, seguido pelo teste de Bartlett. Os valores expressos como porcentagens germinação de sementes (G%) foram transformadas ( $x = \text{arc-seno } \sqrt{G\%}$ ) antes da análise estatística. Para os dados paramétricos (germinação, pigmentos cloroplastídeos e parâmetros fotossintéticos) os valores médios obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA one-way) seguida de teste de Tukey com nível de significância  $p < 0,05$ . Para os dados não paramétricos (comprimento da raiz e parte aérea) todos os valores obtidos por tratamento foram plotados no Box-Plot e os valores médios submetidos à análise estatística através do teste Kruskal-Wallis com nível de significância  $p < 0,05$ . Todas as análises foram realizadas utilizando o software Statistica 6,0.

### 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.1 Efeitos da NP-magnetita na germinação e no crescimento

Observou-se que a porcentagem de germinação das sementes de milho não foi afetada significativamente pelas diferentes concentrações de NPs de magnetita em relação ao controle ( $P = 0,81$ ) (Fig. 7). Resultados similares, nos quais a porcentagem de germinação não foi afetada, já foram encontrados para sementes de *Triticum aestivum* var. *waxwing* (López-Luna et al. 2016), *Cucurbita mixta* cv. *white cushaw* e *Lolium perenne* L. (Wang et al. 2011). Lee et al. (2010) mostraram que as mesmas concentrações testadas de NPs de magnetita no presente estudo também não afetaram significativamente a germinação de sementes de *Arabidopsis thaliana* em relação ao controle como foi demonstrado acima com *P. glaucum*.



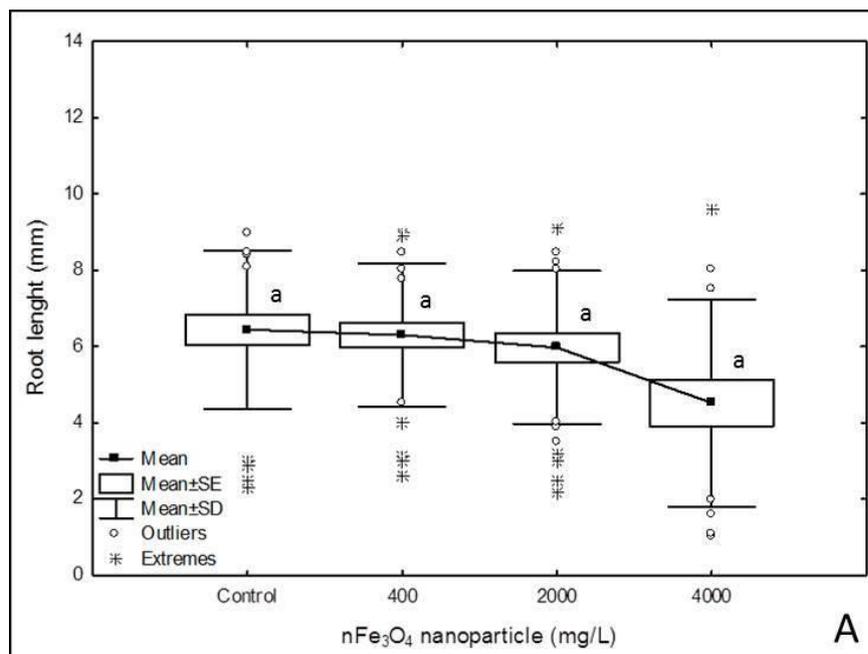
**Figura 7** - Porcentagem de germinação de sementes de *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. após cinco dias em diferentes concentrações de NP-magnetita. Para comparações as letras mostram os resultados da ANOVA-oneway e teste Tukey. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ).

Além dos fatores como concentração, e tipo de NP, a espécie de planta e a seletividade da casca de sua semente podem influenciar na germinação, por exemplo, as espécies de plantas podem apresentar cascas de semente impermeáveis, cascas semipermeáveis e cascas altamente permeáveis (Wierzbicka et al., 1998). Algumas NPs podem penetrar o revestimento de semente e ativar o processo de absorção de água dentro das sementes, incrementando assim, a taxa de germinação (Khodakovskaya et al., 2009), já outras NPs não afetam a taxa de germinação, o que pode ser o resultado de uma permeabilidade seletiva das cascas das sementes, que não permitem que as nanopartículas atravessassem (Riahi-Madvar et al., 2012).

Foram observadas diferenças significativas no alongamento das raízes (Fig. 8) e folhas (Fig. 9). A inibição do crescimento das raízes, assim como a parte aérea, ocorreu à medida que se aumentou a concentração de NPs de magnetita (Fig. 10). Resultados semelhantes foram encontrados com NPs de magnetita 30-50nm, que apresentaram efeitos inibitórios no comprimento das raízes de *Arabidopsis thaliana* (Lee et al., 2010) e *Cucumis sativus* (Mushtaq et al., 2011) à medida que se aumentou a concentração. Os parâmetros morfológicos da planta tais como a parte aérea foliar e comprimento das raízes são indicadores de saúde vegetal (Rizwan et al., 2016).

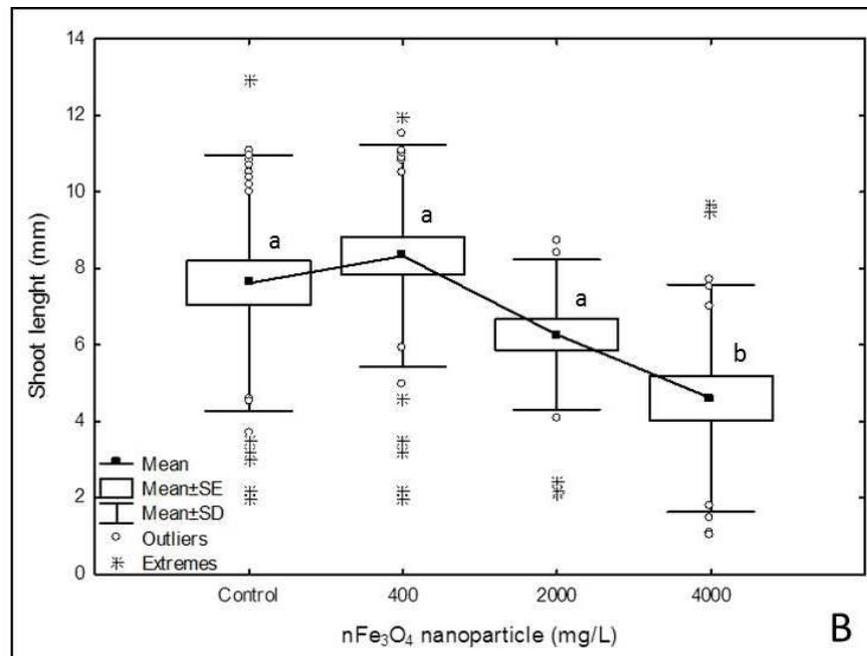
Um fator que pode ter afetado o crescimento da parte aérea é à formação de uma crosta de óxido férrico em torno das raízes, denominada “placa de ferro”. Essas placas de ferro na superfície radicular podem ser consideradas parte do mecanismo de tolerância a altos níveis de Fe, por outro, elas podem determinar um desequilíbrio nutricional, em razão da elevada capacidade dos grupos funcionais de hidróxido de Fe em imobilizar nutrientes e metais por adsorção e/ou coprecipitação, inibindo a absorção, transporte e/ou utilização de vários minerais (Jucosky, 2011). As desordens nutricionais associadas à toxidez de Fe podem ser classificadas em toxidez direta, quando causada pela excessiva absorção do elemento pela planta, e em toxidez indireta, causada pela deficiência generalizada de outros nutrientes, geralmente provocada por altos teores de Fe<sup>2+</sup>. A concentração alta de Fe<sup>2+</sup> na solução inibe a formação de raízes novas e a camada de óxidos depositada sobre as raízes existentes diminui a capacidade de absorção de nutrientes, acarretando deficiências de P, K, Ca e Mg na parte aérea do vegetal (Nava et al., 2002).

Fageria et al. (1981) verificou que os níveis críticos tóxicos de ferro na parte aérea com 20 e 40 dias de crescimento das plantas de *Oriza sativa* L. foram 680ppm e 850ppm. Duas das concentrações testadas de magnetita no presente estudo (2000 e 4000mg/L) foram bem superiores aos níveis testados críticos de Fe estudados por Fageria et al. (1981), o que pode ter causado a inibição do crescimento das raízes e parte aérea.

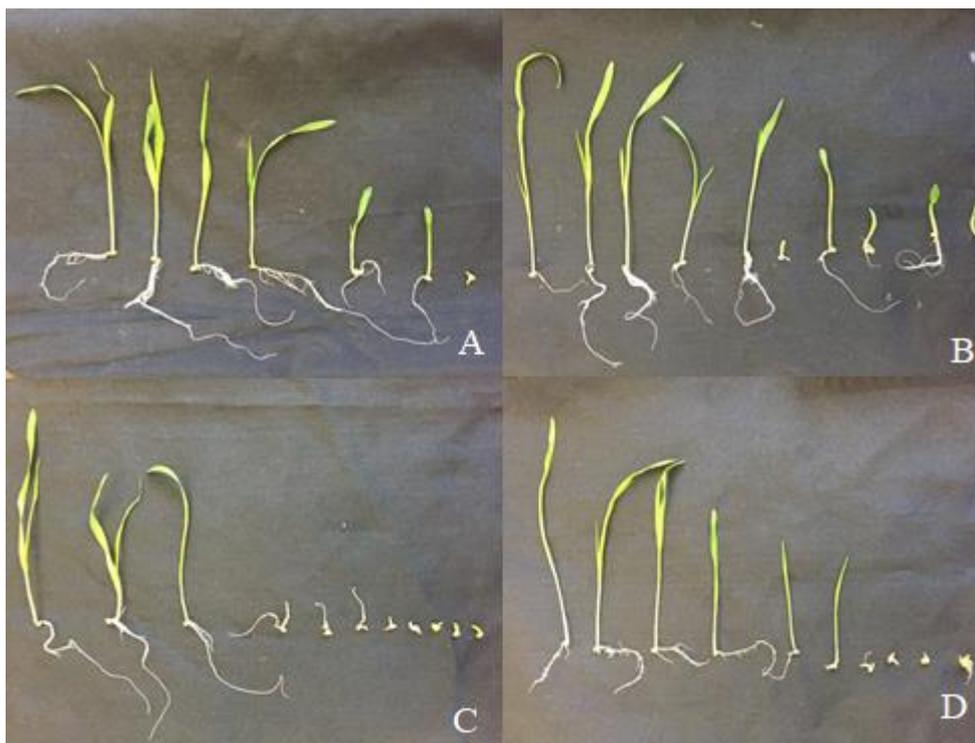


**Figura 8** - Comprimento das raízes de *Pennisetum glaucum* (L.) R.Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita. Para comparações as letras mostram os

resultados da análise do teste Kruskal-Wallis. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ).



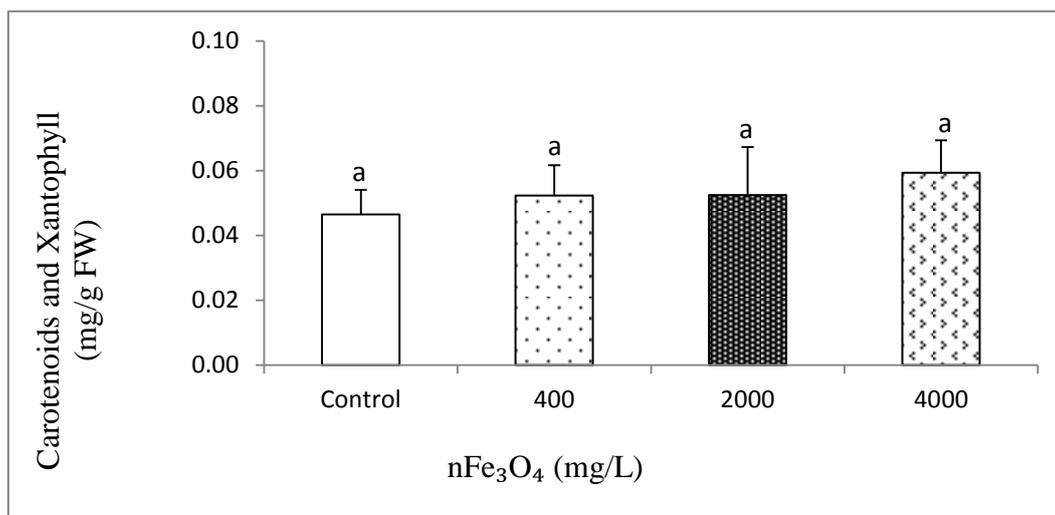
**Figura 9** - Comprimento da parte aérea de *Pennisetum glaucum* (L.) R.Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita. Para comparações as letras mostram os resultados da análise do teste Kruskal-Wallis. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ).



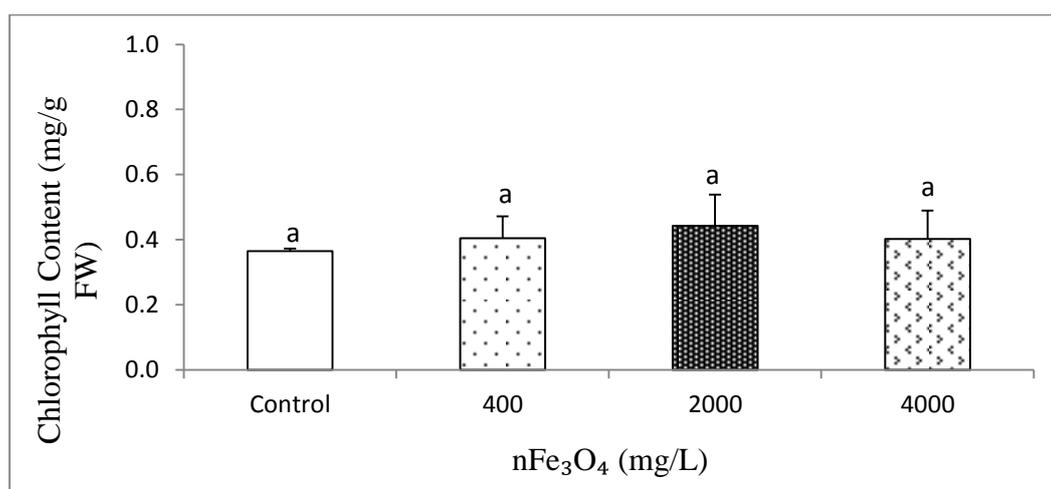
**Figura 10** - Comprimento das raízes e parte aérea de *Pennisetum glaucum* (L.) R.Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita, sendo elas: Controle (A), 400mg/L (B), 2000mg/L (C) e 4000mg/L (D).

## **5.2 Efeitos da NP-magnetita no conteúdo de pigmentos e rendimento quântico da fotossíntese**

Um dos efeitos da fitotoxicidade das NPs de magnetita é a alteração do conteúdo de pigmentos cloroplástídeos (Barhoumi et al., 2015; Li et al., 2013; Chen et al., 2013). Observou-se para o milho que não houve diferença significativa entre o controle e os tratamentos no conteúdo de clorofilas totais (Fig. 10,  $P = 0,79$ ) e no de caratenóides e xantofilas (Fig. 11,  $P=0,80$ ).



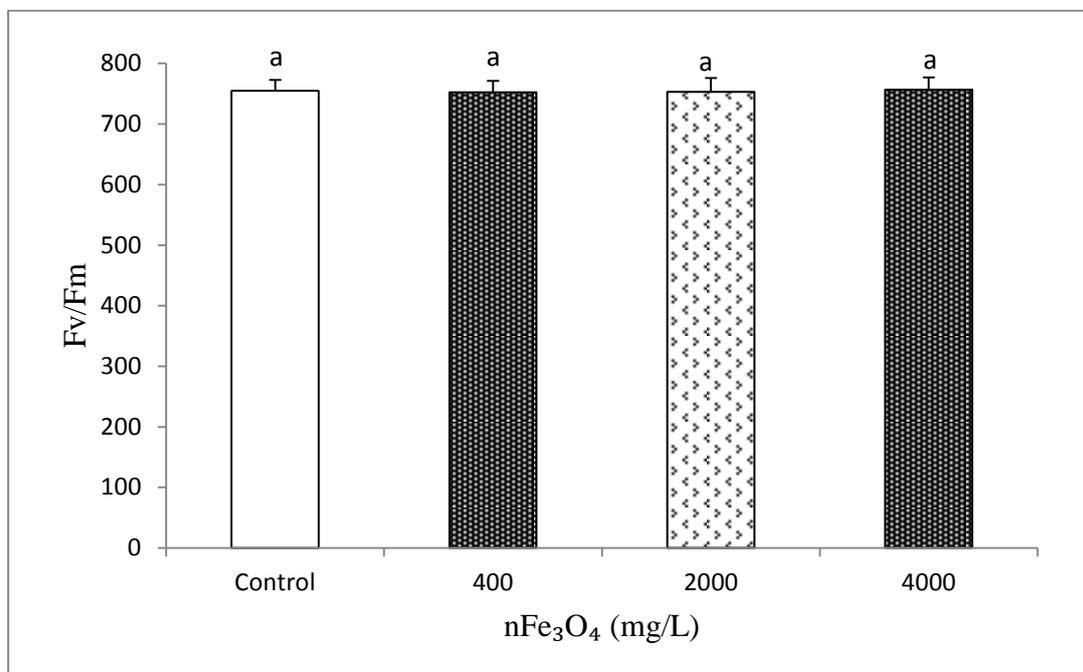
**Figura 11** – Conteúdo de carotenóides e xantofilas das folhas de *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita. Para comparações as letras mostram os resultados da ANOVA-oneway e teste Tukey. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ).



**Figura 12** - Conteúdo de clorofila totais das folhas de *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita. Para comparações as letras mostram os resultados da ANOVA-oneway e teste Tukey. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ).

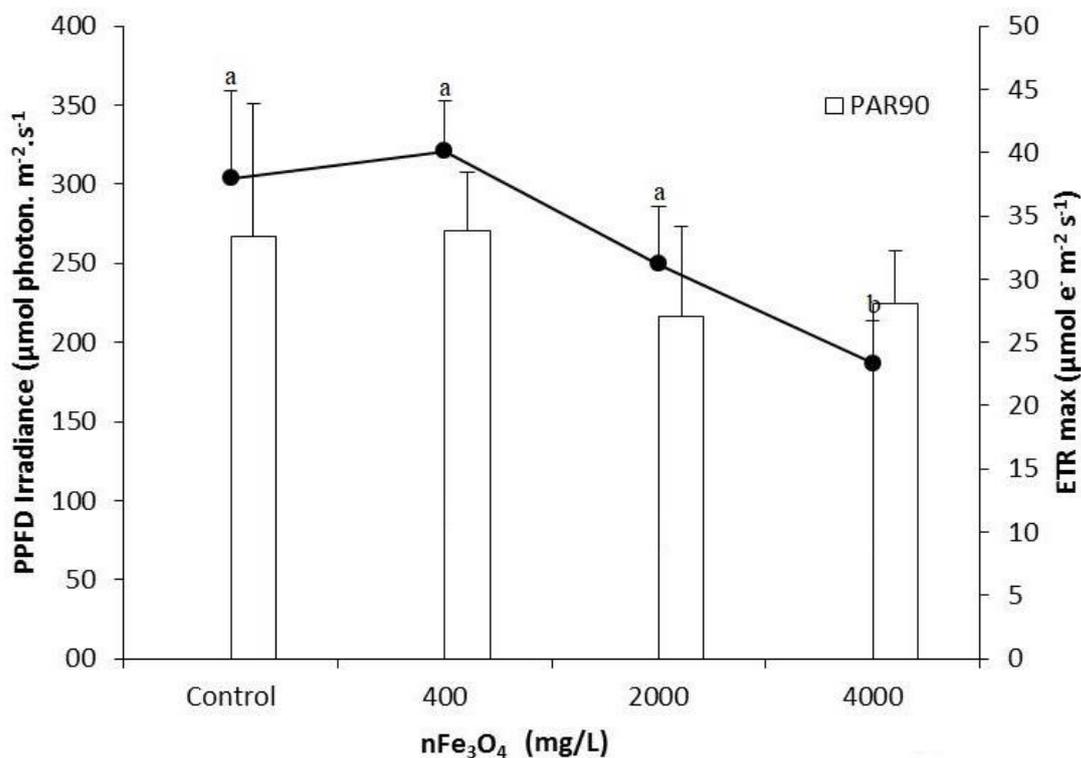
Outros estudos, utilizando NPs de magnetita de 40-100 nm, não apresentaram efeito significativo no conteúdo de clorofila nas espécies *Lactuca sativa* (Trujillo-Reyes et al., 2014) e *Picochlorum* sp. (Hazeem et al., 2015). Já as NPs de 9-50 nm reduziram significativamente o conteúdo de clorofila a das espécies *Picochlorum* sp. (Hazeem et al., 2015), e *Chlorella vulgaris* (Chen et al., 2013), *Lemna gibba* (Li et al., 2013) e *Citrullus lanatus* (Barhoumi et al., 2015). Observa-se (Fig. 12) que não houve diferença significativa para eficiência

fotoquímica (Fv/Fm) nas amostras submetidas a diferentes concentrações de nanopartículas de magnetita ( $P=0,84$ ), indicando que não houve alterações na fluorescência e no processo fotossintético.



**Figura 13** - Rendimento quântico potencial (Fv/Fm) do fotossistema II (PSII) das folhas de *Pennisetum glaucum* (L.) R.Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita. Para comparações as letras mostram os resultados da ANOVA-oneway e teste Tukey. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ).

Os valores de ETR (Fig. 13) indicam que houve diferença significativa entre os tratamentos ( $P= 0,01$ ). Resultados similares também foram encontrados com *Lemna gibba* (Barhoum et al., 2015).



**Figura 14-** Taxa de transporte de elétrons (ETR) das folhas de *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. crescendo em diferentes concentrações de NPs de magnetita. Radiação Fotossintética Ativa (RFA) para 90% de transporte de elétrons (barras). Para comparações as letras mostram os resultados da ANOVA-oneway e teste Tukey. As mesmas letras não são significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ).

Devido às suas propriedades físico-químicas, o ferro em excesso pode deslocar o balanço redox celular para um estado pró-oxidante, levando a uma diversidade de sintomas morfológicos, bioquímicos e fisiológicos, gerando estresse oxidativo (Jucosky, 2011). Há evidências de que grande proporção do fluxo de elétrons é desviada da assimilação de CO<sub>2</sub> para redução de O<sub>2</sub>, sob condições de estresse com baixa concentração intercelular de CO<sub>2</sub>, com aumentos na peroxidação lipídica, em plantas aroeiras sob estresse hídrico. A limitação da absorção de CO<sub>2</sub> pelo déficit hídrico pode, portanto, aumentar a formação de espécies de oxigênio reduzido e, conseqüentemente aumentar o seu potencial para danos no aparato fotossintético. (Queiroz et al., 2002).

## 6. CONCLUSÃO

A toxicidade por NPs de magnetita em *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. (milheto) ocasionou alterações morfológicas na plantas, tais como inibição do crescimento das raízes e

parte aérea. A porcentagem de germinação das sementes de milho, a eficiência fotossintética do FSII (Fv/Fm), e o conteúdo dos pigmentos cloroplastídeos (clorofila e carotenóides e xantofilas) não foram afetados significativamente pelas diferentes concentrações de NPs de magnetita em relação ao controle. O rendimento máximo do fotossistema II (Fv/Fm) e os pigmentos cloroplastídeos podem não ter sido afetados devido ao tempo de exposição às NPs de magnetita, sugere-se um tempo de exposição maior para melhor avaliar esses parâmetros.

Dentre os parâmetros avaliados o crescimento das raízes/parte aérea e a taxa de transportes de elétrons foram os mais sensíveis para a detecção da toxicidade às NPs de magnetita. Apesar do decréscimo nos valores de ETR, não se observaram alterações nos valores do rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm). Os resultados obtidos neste trabalho mostram que o estresse devido à adição das NPs de magnetita às plantas de milho não foi severo o suficiente para provocar fotoinibição, sugerindo que não houve sérios danos no complexo coletor de luz do fotossistema II.

O alongamento da parte aérea foi significativamente reduzido em relação ao controle, o que pode ter uma explicação baseada no fato de que as NPs podem ter sido adsorvidas/absorvidas pela parte radicular das plântulas de milho comprometendo a absorção de água e nutrientes para as plantas. Sugere-se a realização de análises em amostras nos tecidos das plântulas e raízes para verificar com veemência essa hipótese.

O modelo de planta *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. (milho) mostrou ser um bom bioindicador nas condições avaliadas, uma vez que em poucos dias obteve-se respostas rápidas em relação a germinação e crescimento das plantas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIKAMANOGLU, S.; SEN, A. Stimulation of growth and some biochemical parameters by magnetic field in wheat (*Triticum aestivum* L.) tissue cultures. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, ed. 53, p. 10957-10963, 2011.

ANJUM, N. A.; GILL, S. S.; DUARTE, A. C.; PEREIRA, E.; AHMAD.; IQBAL. Silver nanoparticles in soil–plant systems. *Journal of Nanoparticles Research*, v. 15, p.1896, 2013.

ARAÚJO, R.; CASTRO, A. C. M.; FIÚZA, A. The use of nanoparticles in soil and water remediation processes. *Materials Today: Proceedings*, v. 2, n. 1, p. 315-320, 2015.

BARHOUMI, L.; OUKARROUM, A.; TAHER, L. B.; SMIRI, L. S.; ABDELMELEK, H.; DEWEZ, D. Effects of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles on Photosynthesis and Growth of the Aquatic Plant *Lemna gibba*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 68, ed. 3, p. 510-520, 2015.

BIONDO, V. Produção e Caracterização de nanopartículas Metálicas Obtidas por Moagem de Alta Energia. Tese (Doutorado em Física) – Universidade Estadual de Maringá, 2010.

BJÖRKMAN, O.; DEMMIG, B. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Plant**, v. 170, ed. 4, p. 489-504, 1987.

BLANEY L. Magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>): Properties, Synthesis, and Applications. **The Lehigh Review**, v. 15, pp 33-81, 2007.

CHEN, X.; ZHU, X.; LI, R.; YAO, H.; LU, Z.; YANG, X. Photosynthetic toxicity and oxidative damage induced by nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> on *Chlorella vulgaris* in aquatic environment. **Open Journal of ecology**, v. 2, n. 1, p. 21-28, 2012.

COSTA, T. C. C. Síntese de nanopartículas de magnetite via decomposição térmica em meio não-aquoso. Tese (Doutorado em Ciências e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2013.

DEVI, P.; ZHONG, H.; STICKLEN, M. B. In vitro morphogenesis of pearl millet [Pennisetum glaucum (L.) R.Br.]: efficient production of multiple shoots and inflorescences from shoot apices. **Plant Cell Reports**, v. 19, ed. 6, p.546–550, 2000.

DIAS, J. H. Síntese e caracterização de nanopartículas de carbono. Monografia (Bacharel em física) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015.

DINIZ, V. C. S.; DANTAS, B. B.; FIGUEIREDO, A. R.; CORNEJO, D. R.,; COSTA, A. C. F. M. Avaliação microestrutural e magnética de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> sintetizada pelo método de reação de combustão. **Cerâmica**, v. 61, p. 298-302, 2015.

DU, W.; TAN, W.; PERALTA-VIDEA, J. R.; GARDEA-TORRESDEY, J. L.; JI, R.; YIN, Y.; GUO, H. Interaction of metal oxide nanoparticles with higher terrestrial plants: Physiological and biochemical aspects. **Plant Physiology and Biochemistry**, 2016.

DUARTE, M. D.; GEBLER, A.; SCARANO, F. R.; FRANCO, A. C.; MATTOS, E. A.; NAHM, M.; RENNENBERG.; RODRIGUES, P. J. F. P.; ZALUAR, H. L. T.; LUTTGE, U. Ecophysiology of six selected shrub species in different plant communities at the periphery of the Atlantic Forest of SE-Brazil. **Flora**, v. 200, p. 456-476, 2005.

EL-NASR, A.; K, M.; EL-HENNAWY, H. M.; EL-KEREAMY, A. M. H.; EL-YAZIED, A. A.; ELDIN, A. S. Effect of Magnetite Nanoparticles (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) as Nutritive Supplement on Pear Saplings. **Middle East Journal of Applied Sciences**, v. 5, ed. 3, p. 777-785, 2015.

FAGERIA N, K.; FILHO, M. P. B.; CARVALHO, J. R. P. Influência de ferro no crescimento e na absorção de P, K e Mg pela planta de arroz em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, ed. 16, v. 4, p. 483-488, Brasília, 1981.

FIUZA, L. P. Desenvolvimento e avaliação de uma planta piloto para tratamento de efluentes aquosos contendo metais pesados utilizando o método da eletrocoagulação: análise do desempenho do processo e caracterização do resíduo gerado. Dissertação de Mestrado (Engenharia de Materiais)- Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, 2017.

GHAFAARIYAN, M. H.; MALAKOUTI, M. J.; DADPOUR, M.; STROEVE, P.; MAHMOUDI. Effects of Magnetite Nanoparticles on Soybean Chlorophyll. **Environmental Science and Technology**, v. 47, ed. 18, p.10645–10652. 2013.

HANNICKEL, A. Estudo de nanopartículas de magnetita obtidas pelos métodos de coprecipitação, biossíntese e moagem. Dissertação (Mestrado em Engenharia dos Materiais) Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 2011.

HAZEEM, L. J.; WAHEED, F. A.; RASHDAN, S.; BOUOUDINA, M.; BRUNET, L.; SLOMIANNY, C.; BOUKHERROUB, R.; ELMESSELMANI, W. A. Effect of magnetic iron oxide (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles on the growth and photosynthetic pigment content of *Picochlorum* sp. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, ed. 15, p. 11728–11739, 2015.

HOSSAIN, Z.; MUSTAFA, G.; KOMATSU, S. Plant responses to nanoparticle stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 11, p. 26644-26653, 2015.

IANNONE, M. F.; GROPPA, M. D.; SOUSA, M. E.; RAAP, M. B. F. V.; BENAVIDES, M. P. Impact of Magnetite Iron Oxide nanoparticles on wheat (*Triticumaestivum* L.) development: Evaluation of oxidative damage. **Environmental and Experimental Botany**, v. 131, p. 77-88, 2016.

JAIN, N.; BHARGAVA, A.; PAREEK, V.; AKHTAR, M. S.; PANWAR, J. Does seed size and surface anatomy play role in combating phytotoxicity of nanoparticles?. **Ecotoxicology**, v. 26, ed. 2, p. 238–249, 2017.

JUCOSKI, G. O. Toxicidade de ferro e metabolismo antioxidativo em *Eugenia uniflora* L. Tese (Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Viçosa, 2011.

JU-NAM, Y.; LEAD, J. R. Manufactured Nanoparticles: An overview of their chemistry , interactions and potential environmental implications. **Science of the Total Environment**, v. 400, p. 396-414, 2008, 2008.

KHODAKOVSKAYA, M.; DERVISHI, E.; MAHMOOD, M.; XU, Y. L. Z.; WATANABE, F.; ALEXANDRU, S. B. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. **ACS Nano**, v. 3, n. 10, p. 3221–3227, 2009.

LATIF, B. Nanotechnology for Site Remediation: Fate and Transport of Nanoparticles in Soil and Water Systems. 2006. 12f. Projeto de pesquisa sob amparo da EPA. University of Arizona, 2006.

LEBEDEV, S. V.; KOROTKOVA, A. M.; OSIPOVA, E. A. Influence of Fe<sup>0</sup> Nanoparticles, Magnetite Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles, and Iron (II) Sulfate (FeSO<sub>4</sub>) Solutions on the Content of Photosynthetic Pigments in *Triticum vulgare*. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 61, n. 4, p. 564-569, 2014.

LEE, C. W.; MAHENDRA, S.; ZODROW, K.; LI, D.; TSAI, Y. C.; BRAAM, J.; ALVAREZ, P. J. J. Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to *Arabidopsis thaliana*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 3, p. 669–675, 2010.

LEE, W.; NA, Y.; YOON, H.; KWEON, H. Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): plant agar test for water-insoluble nanoparticles. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 27, n. 9, p. 1915-1921, 2008.

LI J, CHANG, P. R.; HUANG, J.; WANG, Y.; YUAN, H.; REN, H. Physiological Effects of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles Towards Watermelon. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 13, n. 8, p. 5561–5567, 2013.

LIU, R.; ZHANG, H.; LAL, R. Effects of Stabilized Nanoparticles of Copper, Zinc, Manganese, and Iron Oxides in Low Concentrations on Lettuce (*Lactuca sativa*) Seed Germination: Nanotoxicants or Nanonutrients?. **Water Air & Soil Pollution**, v. 227, ed. 42, p. 1-14, 2016.

LÓPEZ-LUNA, J.; SILVA-SILVA, M. J.; MARTINEZ-VARGAS, S.; MIJANGOS-RICARDEZ, O. F.; GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. C.; SOLÍS-DOMÍNGUEZ, F. A.; CUEVAS-DÍAZ, M. C. Magnetite nanoparticle (NP) uptake by wheat plants and its effect on cadmium and chromium toxicological behavior. **Science of The Total Environment**, v. 565, p. 941-950, 2016.

MA, C.; WHITE, J. C.; DHANKHER, O. P.; XING, B. Metal-Based Nanotoxicity and Detoxification Pathways in Higher Plants. **Environmental Science and Technology**, v. 49, ed. 12, p. 7109-7122, 2015.

MA, X.; GEISER-LEE, J.; DENG, Y.; KOLMAKOV, A. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 16, p. 3053–3061, 2010.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised Medium for rapid growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. **Physiology Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

MUSHTAQ, Y. K. Effect of nanoscale Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, TiO<sub>2</sub> and carbon particles on cucumber seed germination. **Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 46, ed. 14, p. 1732-1735, 2011.

NAIR, R. Effects of Nanoparticles on Plant Growth and Development. In: Kole C., Kumar D., Khodakovskaya M. **Plant Nanotechnology: Principles and Practices**. Editora Springer, Cham, ed. 1, p. 95-118, 2016.

NAVA, G.; BOHNEN, H. Oxidação de ferro em raízes de dois cultivares de arroz em solução de solo inundado. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.26, p. 325-332, 2002.

NOGUEIRA, P. F. M.; PAINO, I. M. M.; ZUCOLOTTO, V. Nanosilver: propriedades, aplicações e impactos na saúde pública e meio ambiente. **Revista Visa em Debate: Sociedade, Ciência e Tecnologia**, v. 1(4), p. 59-71, 2013.

OLIVEIRA, F.; BARBOSA, J.; FARIA, R.; PIMENTEL, .; REIS, J.; SILVA, M. Nanomateriais e nanocompósitos. Projeto FEUP- O Despertar das Engenharias. Faculdade de Engenharia Universidade do Porto, 2015.

PARIONA, N.; MARTÍNEZ, A. I.; HERNANDEZ-FLORES, H.; CLARK-TAPIA, R. Effect of magnetite nanoparticles on the germination and early growth of *Quercus macdougalii*. **Science of the Total Environment**, v. 565, p. 941-950, 2016.

PASCHOALINO, M. P.; MARCONE, G. P. S.; JARDIM, W. F. Os nanomateriais e a questão ambiental. **Química Nova**, v. 33, n. 2, 2010.

PEREIRA, D. A. Síntese e funcionalização de nanopartículas de ouro para a formação de bionanoconjugados para o desenvolvimento de biossensores. 101 f. Tese (Mestrado em Química)- Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Portugal, 2014.

QUEIROZ, C. G. S.; GARCIA, Q. S.; FILHO, J. P. L. Atividade fotossintética e peroxidação de lipídios de membrane em plantas de aroeira-do-sertão sob estresse hídrico e após reidratação. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, ed. 14, v. 1, p. 59-63, 2002.

REN, H. X.; LIU, L.; LIU, C.; HE, S. Y.; HUANG, J.; LI, J. L.; ZHANG, Y.; HUANG, X. J.; GU, N. Physiological Investigation of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles Towards Chinese Mung Bean. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 7, ed. 5, p. 677-684, 2011.

RIAHI-MADVAR, A.; REZAEI, F.; JALALI, V. Effects of alumina nanoparticles on morphological properties and antioxidant system of *Triticum aestivum*. **Iranian Journal of Plant Physiology**, v 3, n.1, p. 595-603, 2012.

RICO, C. M.; MAJUMDAR, M.; DUARTE-GARDEA, M.; PERALTA-VIDEA, J. R.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Interaction of Nanoparticles with Edible Plants and Their Possible Implications in the Food Chain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, ed, 8, p. 3485-3498, 2011.

RIZWAN, M.; ALI, S.; QAYYUM, M. F.; OK, Y. S.; ADREES, M.; IBRAHIM, M.; ZIA-UR-REHMAN M.; FARID, M.; ABBAS, F. Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: a critical review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 322, PART A, p. 2-16, 2016.

SALVINO, L. B. Avaliação microestrutural de nanopartículas de magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) obtidas por co-precipitação em diferentes condições de síntese. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – CEFET-MG, 2014.

SCARANO, F. R.; DUARTE, H. M.; FRANCO, A. C.; GESSLER, A.; MATTOS, E. A.; NAHM, M.; RENNENBERG, H.; LÜTTGE, U. Physiological synecology of tree species in relation to geographic distribution and ecophysiological parameters at the Atlantic forest periphery in Brazil: an overview. **Trees Structure and Function**, v. 19, p. 493-496 2005a.

SCARANO, F. R.; DUARTE, H. M.; RIBEIRO, K. T.; RODRIGUES, P. J. F. P.; BARCELLOS, E. M. B.; FRANCO, A. C.; BRULFERT, J.; DELÉENS, E.; LÜTTGE, U. Four sites with contrasting environmental stress in southeastern Brazil: relations of species, life form diversity, and geographical distribution to ecophysiological parameters. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 136, p. 345-364, 2001.

SCHENKEL, E. A. Produção e caracterização de nanopartículas de quartzo obtidas por moagem e separação granulométrica de solução aquosa. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Universidade Estadual de Campinas, 2015.

SHANKRAMMA, K.; YALLAPPA, M.; SHIVANNA, M. B.; MANJANNA, J. Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> magnetic nanoparticles to enhance *S. lycopersicum* (tomato) plant growth and their biomineralization. **Applied Nanoscience**, v. 6, ed. 7, p. 983-990, 2016.

SHAW, A. K.; HOSSAIN, Z. Impact of nano-CuO stress on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. **Chemosphere**, v. 93, ed. 6, p. 906-915, 2013.

SIDDIQI, K. S.; HUSEN, A. Plant Response to Engineered Metal Oxide Nanoparticles. **Nanoscale Research Letters**, v. 12, ed. 92, p. 1-18, 2017.

SILVA, L.H.; VIANA, A. R.; BALDISSERA, M. D.; NASCIMENTO, K.; SAGRILLO, M. R.; LUCHESE, C. Revisão bibliográfica sobre relações entre nanomateriais, toxicidade e avaliação de riscos: a emergência da nanotoxicologia. **Disciplinarum Scientia**, v. 15, n.1, p.19-30, 2014.

SIMONIN, M.; RICHAUME, A. Nanoparticles ecological risks: effects on soil microorganisms. *Science for Environmental Policy*, v. 22, p.13710-13723, 2015, 2015.

STAMPOULIS, D.; SINHA, S. K.; WHITE, J. C. Assay-Dependent Phytotoxicity of Nanoparticles to Plants. **Environmental Science & Technology**, v. 43, n.24, p. 9473-9479, 2009.

TEIXEIRA, T. J. T. Caracterização de nanopartículas de ouro em solos. Universidade de Aveiro. 105 f. Tese (Mestrado em Química) - Universidade de Aveiro, Portugal, 2013.

THE ROYAL SOCIETY. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. The Royal Society & The Royal Academy of Engineering, 2004.

TRUJILLO-REYES, J.; PERALTA-VIDEA, J. R.; MAJUMDAR, S.; BOTEZ, C. E.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Exposure studies of core-shell Fe/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and Cu/CuO NPs to lettuce (*Lactuca sativa*) plants: Are they a potential physiological and nutritional hazard?. **Journal of Hazardous Materials**, v. 267, p. 255-263, 2014.

WANG, H.; KOU, X.; PEI, Z.; XIAO, J. Q.; SHAN, X.; XING, B. Physiological effects of magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles on perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and pumpkin (*Cucurbita mixta*) plants. **Nanotoxicology**, v. 5, ed. 1, p. 30–42, 2011.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v. 144, p. 307-313, 1994.

WIERZBICKA, M.; OBIDZINSKA, J. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. **Plant Science**, v. 157, p. 155-171, 1998.

YADAV, T.; MUNGRAY, A. A.; MUNGRAY, A. K. Fabricated Nanoparticles: Current Status and Potential. In: WHITACRE, David M. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. New York: Springer, v. 230, p. 83-110, 2014.

ZHANG, R.; ZHANG, H.; TU, C.; HU, X.; LI, L.; LUO, Y.; CHRISTIE, P. Phytotoxicity of ZnO nanoparticles and the released Zn (II) ion to corn (*Zea mays* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.) during germination. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 11109–11117, 2015.

ZHU, H.; HAN, J.; XIAO, J. Q.; JIN, Y. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 10, ed. 6, p. 685-784, 2008.