

## ANÁLISE DO CRESCIMENTO DE RAÍZES DE PLANTAS DE SOJA APÓS APLICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE GRAFENO

Tawany Aparecida Valério dos Santos (PIBIC-Af-IS – CNPq/FA/UEM), Rogério Marchiosi (Orientador), e-mail: rmarchiosi@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas (CCB) / Departamento de Bioquímica (DBQ) / Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento:** 20300000 e 20303009

**Palavras-chave:** Nanopartículas, Óxido de grafeno, Crescimento.

### Resumo:

A nanotecnologia está em ascensão e sua matéria-prima é composta por nanopartículas (NPs). O óxido de grafeno (OG), é um exemplo de NP de carbono e está recebendo destaque devido às suas características (leveza e impermeabilidade) e versatilidade de aplicações (medicina e agricultura). De acordo com a literatura, o OG tem impactado algumas plantas positivamente ou negativamente, dependendo da concentração. Diante do excedente dessas NPs no ambiente e da carência de estudos sobre os seus efeitos na soja, os objetivos deste trabalho foram sintetizar o OG, caracterizá-lo e avaliar os seus efeitos no crescimento de raízes de plantas de soja. A síntese foi realizada de acordo com Marcano et al. (2010). A caracterização do material foi feita com o auxílio da Espectroscopia Raman, Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e Microscopia Eletrônica de Varredura. Para as análises *in vivo*, plântulas viáveis e homogêneas, oriundas da germinação das sementes (72 h), foram cultivadas em hidroponia (144 h), na ausência e presença de OG (50, 125, 250, 500 e 750 mg L<sup>-1</sup>). A solução nutritiva foi renovada a cada 48 h e o consumo dessa solução pelas raízes foi mensurado durante as trocas. Após o período de cultivo, as raízes foram excisadas para as análises biométricas. Os resultados de caracterização do material mostraram que o OG foi sintetizado corretamente e o mesmo afetou significativamente o comprimento da raiz principal em todas as concentrações utilizadas. Os demais parâmetros não sofreram alteração significativa.

### Introdução

Nanopartículas (NPs) são materiais com dimensão de até 100 nm e suas propriedades podem influenciar na penetração e no possível acúmulo nos organismos. Atualmente, as NPs são alvos de intensas pesquisas e investimentos, sendo aplicadas em diversas áreas como indústria, medicina e agricultura (Marchiol, 2018). O grafeno é um nanomaterial versátil e revolucionário composto por única camada de átomos de carbono (Chae et al., 2020) e, a partir dele, outros compostos podem ser originados, como o óxido de grafeno (OG), o qual apresenta vários

grupos funcionais contendo oxigênio, como hidroxilas e carboxilas. As aplicações de OG em diversas áreas estão se expandindo, inclusive na agricultura. Algumas pesquisas sobre os efeitos do OG no crescimento e desenvolvimento das plantas estão surgindo, as quais analisam dentre outros fatores, os parâmetros biométricos (Guo et al., 2021). Considerando que o uso e a disseminação de OG no ambiente são crescentes e que os estudos sobre sua interação e efeito em células vegetais são escassos, os objetivos deste trabalho foram sintetizar e caracterizar o OG, e estudar os seus efeitos em raízes de plantas de soja, mensurando os parâmetros biométricos (comprimento de raiz principal, biomassa fresca e seca) e a absorção de solução nutritiva via sistema radicular.

## Materiais e Métodos

### 1-Síntese e caracterização de óxido de grafeno (OG)

A síntese do OG ocorreu por esfoliação química do grafite, a partir do método de Marcano et al. (2010), o qual utiliza uma técnica melhorada em relação ao método de Hummers (1958), no qual 3 g de grafite (*Sigma-Aldrich*<sup>®</sup>) foram adicionados a 400 mL da solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> na proporção 9:1, e após homogeneização, 18 g de KMnO<sub>4</sub> foram adicionados lentamente, permanecendo sob agitação durante 30 minutos. Após esse período, a mistura foi aquecida a 50°C durante 12 h. Após o resfriamento da amostra (temperatura ambiente), ela foi vertida em 400 mL de água com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%). A mistura foi filtrada em fibra de poliéster, o filtrado foi decantado, o sobrenadante foi descartado e o material sólido (precipitado) passou por processo de purificação, sendo lavado em sucessão com 200 mL de água, 200 mL de HCl (30%) e 200 mL de etanol (duas vezes). A caracterização foi realizada por Espectroscopia Raman, utilizando microscópio Raman confocal modelo Senterra, laser de excitação em 532 nm e potência nominal de 20 mW, por Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), utilizando um espectrômetro Bruker modelo Vertex 70v, equipado com o acessório de refletância total atenuada (ATR) com cristal de diamante e por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), utilizando o Microscópio Eletrônico de Varredura do modelo FEI - QUANTA 250.

### 2-Germinação das sementes e cultivo das plantas

Sementes de soja (*Glycine max* L. Merrill), cv 95R90IPRO foram higienizadas com hipoclorito de sódio 2% por 2 min, lavadas com água deionizada e distribuídas uniformemente entre dois papéis Germitest®, previamente umedecidos com água deionizada. Essas folhas foram enroladas e acondicionadas em tubos de plástico, os quais permaneceram em câmaras de germinação, por 72 h, na ausência de luz, a 25 °C. Após a germinação, plântulas uniformes foram transferidas para recipientes plásticos (três plântulas por recipiente), contendo 150 mL de solução nutritiva de Hoagland (pH 6,0) com a adição de 0, 50, 125, 250, 500 e 750 mg L<sup>-1</sup> de OG. O tratamento das plantas foi repetido em dias alternados, totalizando 6 dias de cultivo, ocorrendo a 25 °C, sob fotoperíodo de 12 h de luz/12 h de escuro e irradiância de 300 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

### 3-Análises biométricas e consumo da solução nutritiva

Após o período de cultivo (6 dias), as raízes das plantas foram excisadas e o comprimento foi medido em centímetros (cm) com auxílio de uma régua, a partir da zona de transição entre a raiz e o caule até o ápice radicular da raiz principal. Os pesos frescos e secos foram aferidos em balança analítica em gramas (g). Os comprimentos das raízes e os pesos frescos foram determinados imediatamente após a retirada das plantas dos sistemas hidropônicos. Os pesos secos foram aferidos após a desidratação do tecido, que ocorreu em estufa a 70 °C, por 72 h. O consumo da solução nutritiva foi determinado a cada 48 h, durante a troca de solução das plantas, por meio da fórmula:  $\Delta = \text{volume inicial (150 mL)} - \text{volume final}$ .

### Resultados e Discussão

Na espectroscopia Raman, as bandas características para o OG apareceram, sendo designadas como banda G, relacionada com as ligações carbono-carbono e como banda D, indicando desordem estrutural, como a presença de grupos funcionais. Os resultados obtidos estão de acordo com a literatura e na figura 1 é possível observar que em solução a amostra teve um grau de desordem maior. Testes computacionais mostram que a proximidade de uma molécula de água em relação ao OG, permite uma vibração fora do plano, além da troca iônica existente entre o OG e a água, o que influencia o aumento de intensidade da banda D. Os resultados encontrados na Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) também foram condizentes com a literatura e concordam que o material sintetizado é o OG. Na Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), verificou-se estruturas semelhantes a folhas e chapas, características do OG, como observado na figura 2. Os resultados *in vivo* revelaram que as raízes das plantas que receberam o tratamento com OG apresentaram uma redução significativa no comprimento da raiz principal em relação ao grupo controle, de 26%, 18%, 22%, 46% e 24%, respectivamente, como mostrado na figura 3. Para a biomassa fresca, houve redução de 14% e 27%, em relação ao controle, nas concentrações de 125 e 750 mg L<sup>-1</sup> de OG respectivamente, porém, sem significância estatística. Os resultados das análises de biomassa seca também não apresentaram diferença significativa, mesmo mostrando redução de 21% e 26% em relação ao controle, para as mesmas concentrações de OG citadas anteriormente (125 e 750 mg L<sup>-1</sup>), respectivamente. Apesar da redução do comprimento da raiz principal em todas as concentrações de OG utilizadas, as biomassas não foram proporcionalmente reduzidas em todas as concentrações, devido ao fato, de que provavelmente houve um aumento na quantidade de raízes secundárias, compensando o valor da biomassa. O consumo da solução nutritiva pelo sistema radicular não foi alterado significativamente.

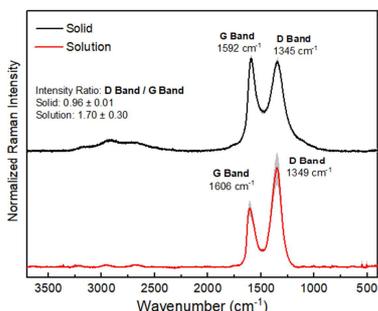


Figura 1 – Espectroscopia Raman.

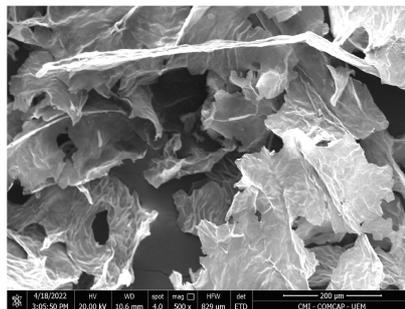


Figura 2 – Microscopia Eletrônica de Varredura. Folhas de OG (magnificação de 500x).

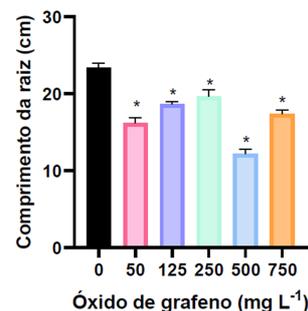


Figura 3 – Comprimento da raiz principal na ausência e presença de OG.

## Conclusões

De acordo com os resultados encontrados, conclui-se que o óxido de grafeno tem efeito tóxico sobre as raízes das plantas de soja, pois o comprimento das mesmas foi reduzido em todas as concentrações analisadas.

## Agradecimentos

Agradeço a oportunidade que me foi dada, ao meu orientador Rogério Marchiosi, à minha coorientadora Ana Paula Ferro, aos colegas que me auxiliaram e me ensinaram e ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

## Referências

- Chae, S., Le, T.-H., Park, C. S., Choi, Y., Kim, S., Lee, U., Heo, E., Lee, H., Kim, Y. A., Kwon, O. S., Yoon, H. 2020. Anomalous restoration of sp(2) hybridization in graphene functionalization. **Nanoscale**. 12, 13351–13359.
- Guo, X., Zhao, J., Wang, R., Zhang, H., Xing, B., Naeem, M., Yao, T., Li, R., Xu, R., Zhang, Z., Wu, J. 2021. Effects of graphene oxide on tomato growth in different stages. **Plant Physiol Biochem**. 162, 447–455.
- Hummers, J. R. S.; Offeman, R.E. Preparation of graphitic oxide. **J. American chemical society**, v. 80, n. 6, p. 1339-1339, 1958.
- Marcano, D. C. et al. Improved synthesis of graphene oxide. **ACS nano**, v. 4, n. 8, p. 4806-4814, 2010.
- Marchiol, L. 2018. Nanotechnology in agriculture: New opportunities and perspectives. **In New Visions in Plant Science**. 9, 121–141.