

# Fitotoxicidade por nanopartículas de Cobre e Zinco para diferentes tratamentos na germinação de sementes de *Lactuca sativa*

Phytotoxicity by Copper and Zinc nanoparticles for different treatments in the germination of *Lactuca sativa*

Alice Sperandio Porto<sup>1,2,3\*</sup>, Mauro Guilherme Ferreira Bezerra<sup>1,2,3</sup>,  
Fernanda Antunes Fabian<sup>3</sup> & Judes Gonçalves Santos<sup>3</sup>

1 Estudante de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília-UnB. 2 Docente do Instituto Federal de Rondônia-IFRO. 3 Departamento de Física da Universidade Federal de Rondônia-UNIR

**Resumo** O presente estudo teve por objetivo analisar os efeitos das nanopartículas (NPs) de Cobre (Cu) e Zinco (Zn) em testes de germinação das sementes de *Lactuca sativa*, popularmente conhecido como alface. As NPs foram analisadas em Microscopia de Varredura (MEV), Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-x (EDS) e microscopia óptica (MO). Observou-se que a concentração de 0,25% todas as sementes germinaram, apresentando problemas no desenvolvimento, com o aumento da concentração principalmente das amostras sintetizadas com amônio ( $\text{NH}_4^+$ ). O estudo demonstrou que altas concentrações de NPs, são letais ao processo de germinação de sementes da espécie *Lactuca sativa* e o resultado dessa interação pode causar sinais de genotoxicidade e fitotoxicidade em plantas. Com base em nossa pesquisa, podemos argumentar que os materiais nanoestruturados apresentam grande potencial para ser aplicado na agricultura.

**Palavras-chave:** nanomaterial; microscopia eletrônica; radícula; *Lactuca sativa*

**Abstract** The objective of the present study was to analyze the effects of nanoparticles Copper (Cu) and Zinc (Zn) on germination tests of *Lactuca sativa*,

popularly known as lettuce. The NPs were analyzed in Scanning Microscopy (SEM), X-ray Dispersive Energy Spectroscopy (EDS) and optical microscopy (MO). It was observed that the concentration of 0.25% all the seeds germinated, presenting problems in the development, with the increase of the concentration mainly of the samples synthesized with ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ). The study showed that high concentrations of NPs are lethal to the seed germination process of the *Lactuca sativa* species and the result of this interaction can cause signs of genotoxicity and phytotoxicity in plants. Based on our research, we can argue that nanostructured materials have great potential to be applied in agriculture.

**Keywords:** nanomaterial; electron microscopy; radicle; *Lactuca sativa*

## Introdução

Os nanomateriais, assim como as Nanopartículas (NPs), são estruturas que apresentam dimensões de 1 a 100 nanômetros. Alguns simulações de modelos de fluxo, realizados pela Engenharia de Nanomateriais (ENMs), demonstraram que são capazes

de atingir vários tipos de ecossistemas naturais (Colman et al., 2013); os organismos vivos estão expostos às nanopartículas, podendo ocorrer sua inalação, o contato com os tecidos epiteliais externos, assim como absorção ao nível celular e a ingestão involuntária, ocorrências que podem ser prejudiciais ao seu bem-estar (Paschoalino et al, 2010). As plantas são organismos capazes de assimilar Nanopartículas Metálicas dependendo das suas condições anatômicas e do tamanho das Nps (Rico et al., 2011), desencadeando sinais de genotoxicidade e fitotoxicidade em células radiculares (Mattiello et al., 2015).

Para o desenvolvimento das plantas, são necessários elementos químicos denominados de essenciais (macronutrientes ou micronutrientes), sendo um componente integral de uma estrutura, composto ou metabólito (Epstein; Bloom, 2006). Alguns desses elementos são classificados como metais pesados, porém essenciais a planta como: Cu, Fe, Mn e Zn, entretanto, quando presente em altas concentrações podem ser tóxicos. O elemento cobre (Cu) é fundamental para o florescimento e frutificação, sua deficiência acarreta a morte da planta ainda no estágio de plântula; o Ferro (Fe) impede a clorose (descorada) geral de folhas jovens (Epstein, 2004) atua também na biossíntese da clorofila (Laurett et al, 2017); o Zinco (Zn) é um importante componente de vários sistemas enzimáticos que regulam diversas atividades do metabolismo das plantas, estando relacionado com o metabolismo normal de carbono, sendo também necessário na formação das auxinas, que são reguladoras do crescimento (Malavolta, 1980; Pereira, 2001); o Cloro (Cl) atua na fotólise da água e no transporte de elétrons. Embora a deficiência de cloro raramente ocorra, por ser um elemento presente em todos os ambientes, sua deficiência pode ocasionar a redução do tamanho foliar, clorose e murchamento das folhas, apresentando a toxicidade causada por excesso, causando a “queima foliar” (Sfredo, 2004).

Atualmente, vários pesquisadores estão estudando os efeitos de Nanopartículas (NPs) na germinação e crescimento de vegetais, avaliando características de fitotoxicidade e genotoxicidade (Khot et al., 2012; Mattiello et al., 2015; Behboud et al., 2017). A alface (*Lactuca sativa* L.) tem sido amplamente utilizada em testes de fitotoxicidade (Ding et al., 2009) e genotoxicidade (Monteiro et al., 2009) devido à sua sensibilidade e representatividade, e ainda por ser amplamente cultivada no mundo todo (Pereira et al., 2013). As NPs de  $\text{CuSO}_4$  e  $\text{ZnSO}_4$  utilizadas para a reali-

zação dos testes de fitotoxicidade foram sintetizadas pelo método de Coprecipitação associando na reação química, bases de NaOH, KOH e  $\text{NH}_4$ . Durante o processo de decantação e lavagem do material, para obtenção nas NPs, foram retirados 50 mL dos sobrenadantes que são desprezados e lançados juntamente com outros efluentes comuns. Partindo do princípio, que nanoestruturas são materiais sintetizados em laboratório e não encontrados no meio ambiente, isso gera uma preocupação quanto aos impactos causados pelo contato desses sobrenadantes com seres suscetíveis a sua absorção.

Dessa forma, é importante compreender a as alterações provocadas no processo de germinação de sementes influenciados pela composição, tamanho e concentração de NPs metálicas. Assim neste trabalho foram sintetizadas NPs de  $\text{CuSO}_4$  e  $\text{ZnSO}_4$  pelo método de coprecipitação e caracterizado pelas técnicas de Microscopia Óptica, MEV, EDS e avaliamos alguns parâmetros de germinação com as NPs para avaliar a fitotoxicidade.

---

## Materiais e Métodos

Foram utilizados dois tipos de NPs,  $\text{CuSO}_4$  e  $\text{ZnSO}_4$ , sintetizadas pelo método de Coprecipitação sintetizadas com três diferentes bases, NaOH, KOH e  $\text{NH}_4$ . As mesmas foram avaliadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), para comprovação de tamanho e morfologia apresentando tamanhos variando de 80 a 120 nm e forma esférica. Medidas de EDS foram realizadas para caracterizar a amostra quanto à presença de elementos químicos utilizados durante a síntese das NPs, fornecendo uma composição qualitativa.

As amostras foram diluídas nas proporções, 0,25%; 0,50%; 0,75%; 1% e 2%. As sementes de *Lactuca sativa* foram adquiridas comercialmente e em seguida colocadas em placas de Petri (100mm X 15 mm) com uma peça de papel filtro esterilizado e 5 mL de água destilada. Em cada placa de Petri, foram acondicionadas 10 sementes sob o papel filtro. As placas foram tapadas e envolvidas com papel filtro durante 7 dias a uma temperatura de 23 °C, totalizando 30 amostras a seres analisadas. O número de sementes germinadas foi observado diariamente durante 7 dias, assim como o comprimento da plântula que foi medido no mesmo período. Foram consideradas sementes germinadas, quando a radícula mos-

trou pelo menos 2 mm de comprimento (Ista, 2009).

A fitotoxicidade pode ser expressa como atraso de germinação, inibição de crescimento e de germinação, e qualquer outro efeito adverso causado por substâncias específicas ou condições ambientais (Rudnik, 2008). Para determinar esse parâmetro, foram realizadas medidas de média do comprimento das raízes de cada tratamento, o Índice de Crescimento Relativo (ICR), Comprimento da Radícula na Amostra (CRA), bem como o Índice de Germinação (IG) propostos nas equações abaixo (Young et al., 2012; Oliveira, 2013 *adaptado*).

**Equação 1:**  $ICR = CRA/CRC$

**Equação 2:**  $IG = ICR \times (SGA/SGC) \times 100$

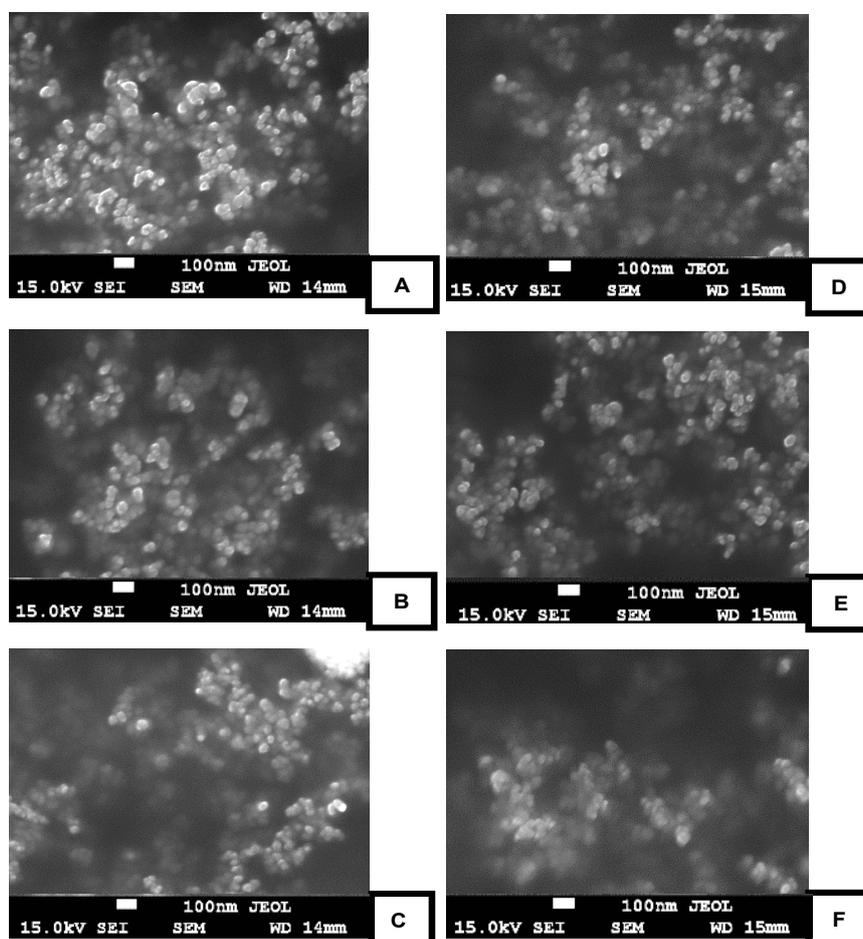
Onde, CRA é o Comprimento da Radícula na Amostra, CRC é o Comprimento da Radícula no Controle Negativo, SGA é o número de Sementes Germinadas da Amostra e SGC é o número de Sementes Germinadas no Controle Negativo (Oliveira, 2013).

Os cálculos foram realizados a partir das medições de germinação absoluta (%GA), crescimento relativo da raiz (%CRR) e índice de germinação (%IG).

Foram realizados registros fotográficos das Placas de Petri com 07 dias de germinação para comparação macroscópica e contagem do número de sementes germinadas e mensuração das radículas com auxílio de paquímetro. As sementes não germinadas foram observadas por meio de Microscopia Óptica e fotografadas nas objetivas de 10X e 40X para identificar possíveis alterações em sua morfologia externa (endosperma).

## Resultados e Discussão

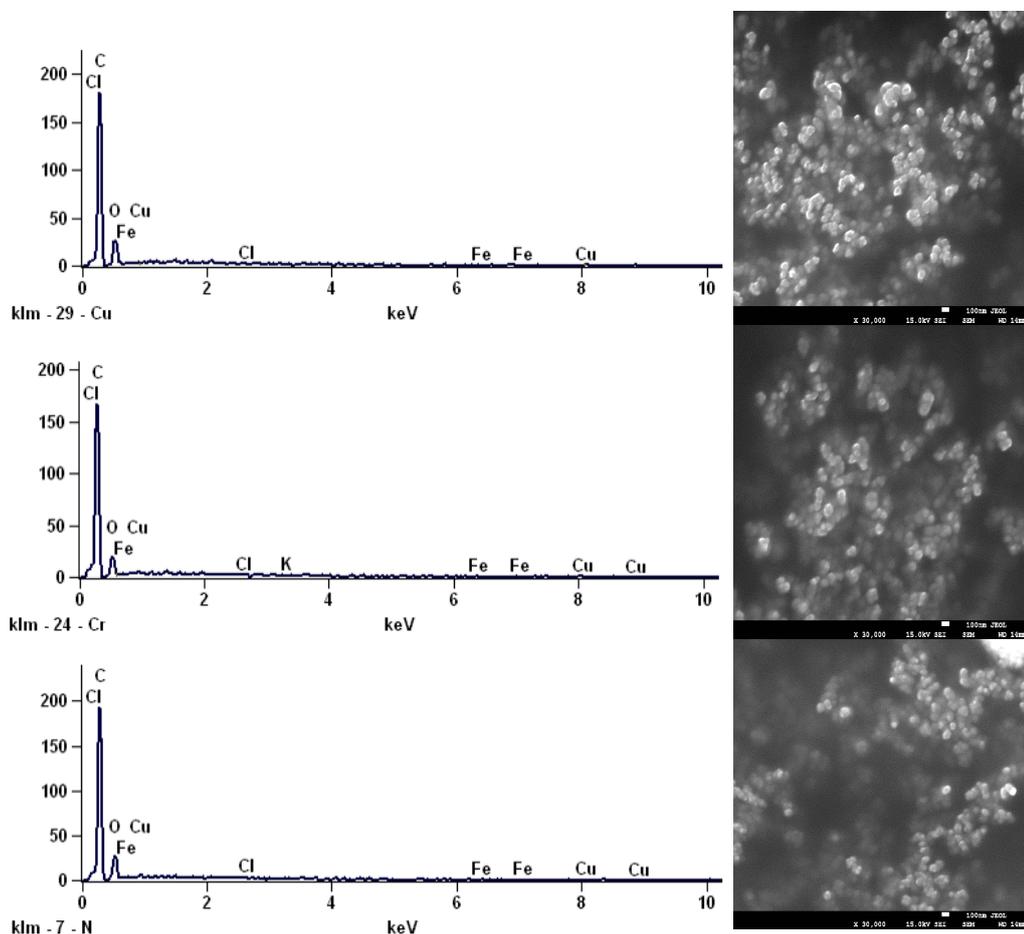
A NPs utilizadas apresentam dimensão entre 50 nm a 120 nm e morfologia esférica (Figura 1). Para C e F (indicadas pelas setas), observa-se NPs menores que as demais sintetizadas, demonstrando que a reação de síntese, utilizando como base o amônio, ocorre redução do tamanho.



**Figura 1.** Nps de  $CuSO_4$  A /B /C sintetizadas com NaOH / KOH e  $NH_4$ , respectivamente; NPs de  $ZnSO_4$  D /E / F sintetizadas com NaOH / KOH e  $NH_4$ , respectivamente.

As informações obtidas por EDS confirmam a composição das amostras de forma qualitativa (Figura 2). Observa-se que, estruturas cristalinas, na fases mais densas, apresentam diâmetro médio de 80 nm para todas as amostras. O comportamento das

informações obtidas por EDS, demonstra que não houve diferença quanto a ocorrência dos elementos utilizados na síntese e que, a presença da fase mais densa é devido a presença de Cl e Fe.



**Figura 2.** Micrografias por Microscopia Eletrônica de Varredura e dados de EDS para NPs de  $\text{CuSO}_4$  A/B/C sintetizadas com NaOH / KOH e  $\text{NH}_4$ , respectivamente.

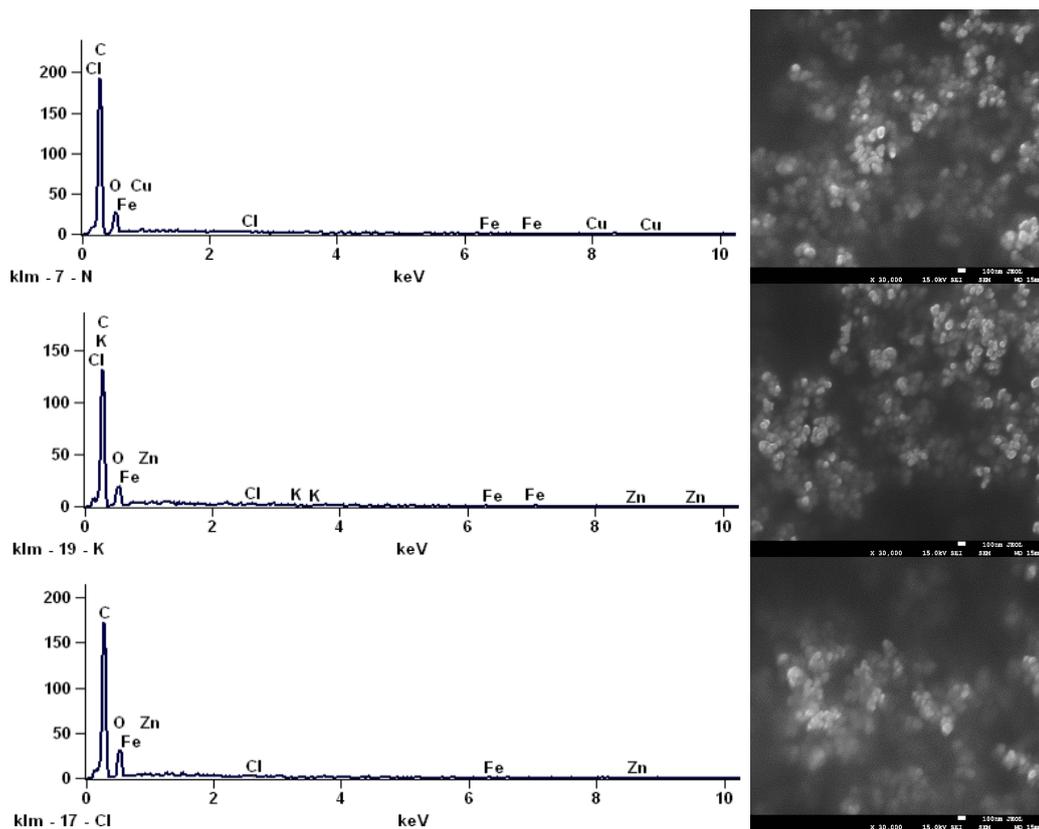
Observa-se que, estruturas cristalinas, na fases mais densas, apresentam diâmetro médio de 60 nm para todas as amostras. O comportamento das informações obtidas por EDS, demonstra que não houve diferença quanto a ocorrência dos elementos utilizados na síntese e que, a presença da fase mais densa é devido a presença de Cl, Cu e Fe.

Em geral, as sementes consistem de um embrião e de tecidos circunvizinhos, dentre os quais, o tegumento ou pericarpo; as células dos tecidos embrionários e os demais tecidos mencionados, apresentam potencial hídrico, que pode ser específico a cada tecido, célula ou cada compartimento celular (Ferreira & Borghetti, 2004).

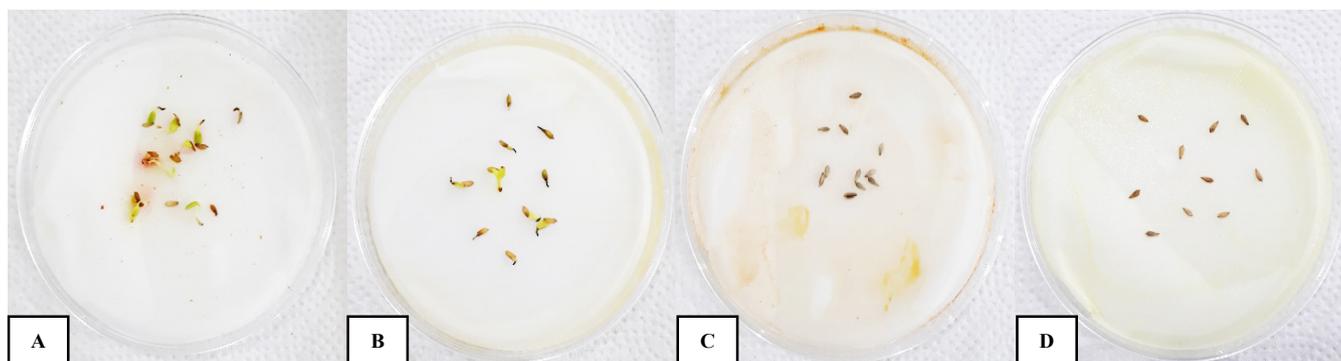
As sementes secas submetidas a embebição em água, apresenta um processo denominado poten-

cial hídrico, um processo físico que depende da água à matriz da semente que, consequentemente, desencadeia a ativação de processos metabólicos requeridos para o crescimento do embrião e conclusão do processo germinativo (Bewley & Black, 1994; Ferreira & Borghetti, 2004). Ao monitorar o processo de germinação com diferentes concentrações de NPs diluídas em água é possível constatar que, mesmo dispondo de água que favorecesse o desenvolvimento do embrião, o aumento da concentração das NPs diminuiu o processo ou impediu a absorção de água necessária (Figura 4).

A exposição direta das sementes a baixa concentração de NPs aumentaram alguns parâmetros de germinação que podem ser devido à absorção e utilização de NP por sementes (Suriyaprabha et al., 2012).



**Figura 3.** Micrografias por Microscopia Eletrônica de Varredura e dados de EDS para NPs de de  $\text{CuSO}_4$  A /B /C sintetizadas com  $\text{ZnOH}_4$  / KOH e  $\text{NH}_4$ , respectivamente.



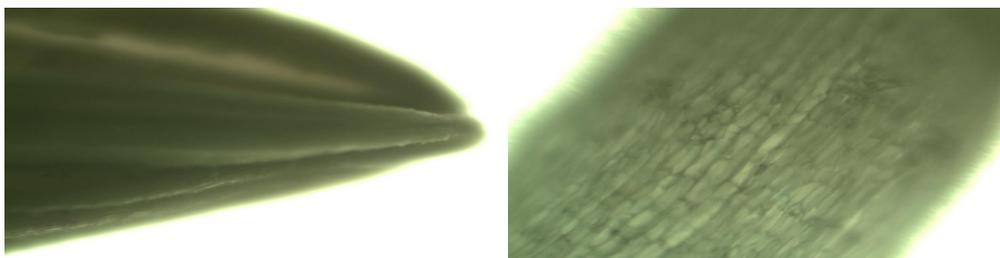
**Figura 4.** Concentração 0,75% de NPs  $\text{CuSO}_4$ +KOH (A); Concentração 0,75% de NPs  $\text{ZnSO}_4$ +KOH (B); Concentração 1%  $\text{CuSO}_4$ +KOH (C); Concentração 1% de NPs  $\text{ZnSO}_4$ +KOH (D)

Em contraste, em alta concentração de NPs, possivelmente NPs não foi totalmente penetrar o revestimento da semente e endosperma e assim, ter limitado efeitos nos embriões (Figura 3 c, d) (Behbouidi et al, 2017). A parede celular do endosperma das sementes (Figura 5) é constituída, principalmente, de polissacarídeos, como galactomananos que em temperaturas acima de 30 °C enfraquece impedindo o crescimento do embrião (Villela, 2009). Como as

sementes foram submetidas a uma temperatura de 23 °C, essa não foi a causa do impedimento da germinação sendo possivelmente, afetado pela absorção das altas concentrações de NPs que prejudicaram o embrião. Dentre alguns fatores que podem dificultar a germinação, encontram-se a impermeabilidade à troca de gases dos tecidos que cobrem o embrião e à impermeabilidade a absorção de água (Nascimento, 2002). As NPs podem atingir a semente e revestir o

endosperma, tornando-se barreiras efetivas, especialmente quando estão aglomeradas (Duke & Kakefuda, 1981), entretanto, estudos recentes de fitotoxicidade, utilizando NPs de  $\text{CeO}_2$  e  $\text{TiO}_2$ , demonstraram que a germinação das sementes de *Hordeum vulgare* L não foi afetada porque as mesmas não podem en-

trar na semente, porém, dependendo das frações em amostras germinadas (mudas) é possível encontrar sinais de genotoxicidade afetando o crescimento da raiz através de estresse oxidativo (Marttiello et al., 2015).



**Figura 5.** Estrutura morfológica das sementes de *Lactuca sativa* por microscopia óptica nos aumentos de 10X (A) e 40X(B).

Como pode ser observado nas Tabelas 1 e 2, as sementes submetidas ao contato com NPs apresentaram sensibilidade e germinação nula com o aumento da concentração. Metodologias que relacionam a concentração e absorção de NPs desempenham um papel importante no comportamento, na reatividade e

na toxicidade das plantas (Behboudi et al., 2017). As amostras de NPs sintetizadas com  $\text{CuSO}_4$  associadas a  $\text{NH}_4$  apresentaram baixo índice de germinação e para amostras de  $\text{ZnSO}_4$  a germinação foi nula. Células vegetais convertem rapidamente o amônio gerado pela assimilação de nitrato ou fotorrespiração.

**Tabela 1.** Comprimento Médio das Raízes (CMR), Índice de Crescimento Relativo (ICR) e Índice de Germinação das sementes de *Lactuca sativa* em diferentes concentrações de NPs de  $\text{CuSO}_4$  sintetizadas com diferentes bases.

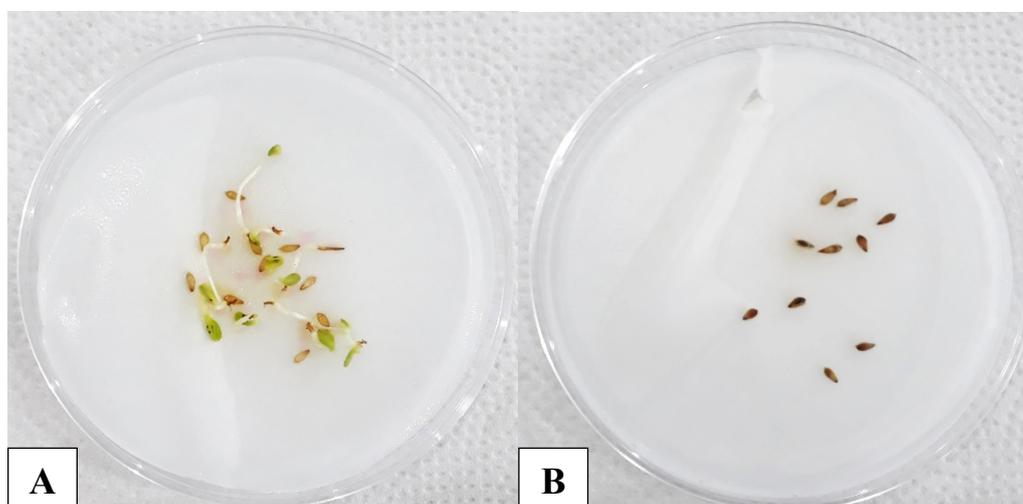
AMOSTRA	DILUIÇÃO	CMR	ICR	IG(%)
$\text{CuSO}_4 + \text{NaOH}$	0,25%	3,15 mm	3.22	322
	0,50%	3,07 mm	3.22	322
	0,75%	3,26 mm	3.22	322
	1%	-	-	0
	2%	-	-	0
$\text{CuSO}_4 + \text{KOH}$	0,25%	1,12 mm	3.22	322
	0,50%	1,26 mm	2.90	261
	0,75%	0,75 mm	2.25	157,5
	1%	-	-	0
	2%	-	-	0
$\text{CuSO}_4 + \text{NH}_4$	0,25%	1,26 mm	3.22	322
	0,50%	-	-	0
	0,75%	-	-	0
	1%	-	-	0
	2%	-	-	0

**Tabela 2.** Comprimento Médio das Raízes (CMR), Índice de Crescimento Relativo (ICR) e Índice de Germinação das sementes de *Lactuca sativa* em diferentes concentrações de NPs de  $ZnSO_4$  sintetizadas com diferentes bases.

AMOSTRA	DILUIÇÃO	CMR	ICR	IG(%)
$ZnSO_4 + NaOH$	0,25%	0,97 mm	2.90	261
	0,50%	1,14 mm	2.90	261
	0,75%	1,26 mm	3.22	322
	1%	-	-	-
	2%	-	-	-
$ZnSO_4 + KOH$	0,25%	0,64 mm	2.25	157,5
	0,50%	0,67 mm	2.58	206,4
	0,75%	0,6 mm	1.61	80,5
	1%	-	-	-
	2%	-	-	-
$ZnSO_4 + NH_4$	0,25%	-	-	-
	0,50%	-	-	-
	0,75%	-	-	-
	1%	-	-	-
	2%	-	-	-

Em sistemas de cultivo, são utilizados fertilizantes nitrogenados que podem alterar o pH próximo aos grânulos (Ernani, 2008). Esse nitrogênio utilizado, é um macronutriente primário, essencial para as plantas, por participar da formação de proteínas, aminoácidos e de outros compostos importantes no metabolismo das plantas (Oliveira et al., 2003). Sua ausência bloqueia a síntese de citocinina, hormônio responsável pelo crescimento das plantas, causando redução do seu tamanho e consequentemente redução da produção econômica das sementes (Mengel & Kirkby, 1982).

Para fonte de nitrogênio de algumas leguminosas como o feijão-vagem, deve ser utilizado o sulfato de amônio (Oliveira et al., 2003). A germinação é reduzida quando utilizado o Sulfato de Amônio como fonte de nitrogênio para espécie de erva daninha como *Bidens pilosa* e reduzida, também, quando utilizado o Nitrato de Amônio no processo de germinação de *Sida rhombifolia* (Fleck et al., 2001). O mesmo pode ser observado em sementes de *L. sativa* quando ocorre o aumento das concentrações, sendo tóxico e inibindo a germinação (Figura 6).



**Figura 6.** Sementes de *Lactuca sativa* com NPs de  $CuSO_4$  e amônio a 0,25% (A); Sementes de *Lactuca sativa* com NPs de  $ZnSO_4$  e amônio a 0,25%.

O processo de germinação, respondeu de maneira distinta para os dois tipos de NPs sintetizadas com diferentes bases. Diferentes efeitos morfológicos dependem do tipo de nanomaterial, tamanho, concentração, propriedades superficiais, métodos de absorção, propriedade química, cristalinidade, estado de aglomeração e espécies de plantas (Casals et al., 2008; Rico et al., 2011). Os resultados de IGs nas amostras estudadas, foram semelhantes para NPs de  $\text{CuSO}_4$  em baixa concentração. Comparavelmente, o IG de amostras tratadas com  $\text{CuSO}_4$  foram maiores que as amostras tratadas com  $\text{ZnSO}_4$ , que apresentou ICR e CMR também inferior.

---

## Conclusão

Os testes com *Lactuca sativa* apresenta características importantes, resultando em efeitos positivos quanto a constatação que, em diluição a 0,25%, todas as sementes germinaram, porém, como efeito negativo, o aumento da concentração principalmente em amostras contendo amônio, são altamente fitotóxicas dificultando a germinação. As amostras que foram utilizadas  $\text{ZnSO}_4$  associadas a base  $\text{NH}_4$  acarretou dano letal na germinação das sementes, gerando a necessidade de análises mais precisas por Microscopia Eletrônica de Transmissão, para verificar as alterações internas provocadas pela influência nas NPs testadas. Com base no presente estudo, podemos afirmar que esta pesquisa tem potencial aplicação na agricultura.

---

## Agradecimentos

Ao Laboratório de Microscopia e Microanálises da Universidade de Brasília-UnB; Ao Laboratório de Nanomateriais e Nanomagnetismo da Universidade Federal de Rondônia – UNIR e ao Instituto Federal de Rondônia – IFRO.

---

## Referências

BEHBOUDI, F., TAHMASEBI SARVESTANI, Z., KASSAEE, M. Z., MODARES SANAVI, S. S. M., SOROOSHADEH, A., **Phytotoxicity of Chitosan and  $\text{SiO}_2$  Nanoparticles to Seed Germination of Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Barley**

**(*Hordeum vulgare* L.) Plants**, Not Sci Biol, 2017, 9(2):242-249.

BEWLEY, L.D., BLACK, M. **Seeds: Physiology of development and germination**. New York: Plenum, 1994. 445p.

CASALS E, VAZQUEZ-CAMPOS S, BASTUS NG, PUNTES V (2008). **Distribution and potential toxicity of engineered inorganic NPs and carbon nanostructures in biological systems**. Trends in Analytical Chemistry 27:672-679.

COLMAN, B. P., ARNAOUT, C. L., ANCIAUX, S., GUNSCH, G. K., HOHELLA, M. F. JR., KIM, B., et al. (2013). **Low concentrations of silver nanoparticles in biosolids cause adverse ecosystem responses under realistic field scenario**. PLoS ONE 8: e57189. doi: 10.1371/journal.pone.0057189.

DUKE SH, KAKEFUDA G (1981). **Role of the testa in preventing cellular rupture during imbibition of legume seeds**. Plant Physiology 67(3):449-456

EPSTEIN, EMANUEL; **Em Nutrição Mineral de Plantas: princípios e perspectivas**. Epstein, Emanuel; Bloom, Arnold Londrina. Editora Planta, 2004.

ERNANI, P. R. **Em Química do solo e disponibilidades de nutrientes**; Graphel, Lages. 2008.

FERREIRA, ALFREDO GUI; **Em Germinação: do básico ao aplicado**; Ferreira, Alfredo Gui; Borghetti, Fabian, Porto Alegre: Artmed, 2004.

ISTA (2009). **ISTA rules. International Seed Testing Association**. Zurich, Switzerland.

KHOT LR, SANKARAN S, MARI MAJA J, EHSAANI R, SCHUSTER EW (2012). **Applications of nanomaterials in agricultural production and plant protection: A review**. Plant Protection 35:64-70.

NILSON GILBERTO FLECK DIRCEU AGOSTINETTO2 RIBAS ANTÔNIO VIDAL ALDO MEROTTO JÚNIOR; **Efeitos de fontes nitrogenadas e de luz na germinação de sementes de *Bidens pilosa* e *Sida rhombifolia***; Ciênc. agrotec., v.25, n.3, p.592-600, maio/jun., 2001.

LAURETT, L., FERNANDES, A. A., SCHMILDT, C. P. A., PINTO, M. L. P. B. **Desempenho da alface e da rúcula em diferentes concentrações de ferro na solução nutritiva**. Revista de Ciências Agrárias, v. 60. 2017.

MARTIELLO, A., FILIPPI, A., POSCIC, F., MUSETTIL, R., SALVATICI, M. C., GIORDANO, C., VISCHI, M., BERTOLINI, A., MARCHIOL, L. **Evidence of Phytotoxicity and Genotoxicity in *Hordeum vulgare* L. Exposed to  $\text{CeO}_2$  and  $\text{TiO}_2$  Nanoparticles**. Frontiers in Plant Science. Vol. 6. 2015.

- MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**. 3 ed. Bern: International Potash Institute, 1982. p.295-318.
- MONTEIRO MS, SANTOS C, SOARES A.M.V.M; MANN, R.M (2009a) **Assessment of biomarkers of cadmium stress in lettuce. Ecotoxicology and Environmental safety** 72: 811-818.
- NASCIMENTO, CANTLIFFE.D.J.; **Embrapa Hortaliças**, C. Postal 218, 70.359-970 Brasília-DF; Horticultural Sciences Department, University of Florida, P.O. Box 110690, Gainesville, FL 32611-0690, USA. Email: wmn@cnpq.embrapa.br
- NASCIMENTO, W.M.; CANTLIFFE, D.J. **Germinação de sementes de alface sob altas temperaturas**. Horticultura Brasileira, Brasília, v. 20, n. 1, p.103106, 2002.
- OLIVEIRA, G. L. S. **Avaliação da toxicidade de efluente kraft após tratamento por processos oxidativos avançados**. TCC (Tecnólogo em Processos Ambientais). Universidade Tecnológica do Paraná. Curitiba. 2013.
- OLIVEIRA, A. P. PEREIRA, E. L., LUCENA, R., ALCÂNTARA, B., ALVES, E. U., DA COSTA, R. F., LEAL, F. R. **Produção e qualidade fisiológica de sementes de feijão-vagem em função de fontes e doses de nitrogênio**. Revista Brasileira de Sementes, vol. 25, nº 1, p.49-55, 2003.
- PASCHOALINO, M. et al. **“Os nanomateriais e a questão ambiental”**. Química Nova, v. 33, n. 2, 2010, p.421-430.
- PEREIRA, M.P., PEREIRA, F. J., RODRIGUES, L. C. A., BARBOSA, S., CASTRO, E. M., **Fitotoxicidade do chumbo na germinação e crescimento inicial de alface em função da anatomia radicular e ciclo celular**. Revista AgroAmbiente, v.7. 2013.
- RICO CM, MAJUMDAR S, DUARTE-GARDEA M, PERALTA-VIDEA JR, GARDEATORRESDEY JL (2011). **Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain**. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59(8): 3485-3498.
- RUDNIK, E. **Compostable Polymer Materials**. Oxford: Elsevier, p.168-180, 2008.
- SFREDO, G. J. **Deficiências e toxicidades de nutrientes em plantas de soja** / Gedi Jorge Sfredo, Clóvis Manuel Borkert. – Londrina: Embrapa Soja, 2004.
- SURIYAPRABHA R, KARUNAKARAN G, YU-VAKKUMAR R, PRABU P, RAJENDRAN V, KANNAN N (2012). **Growth and physiological responses of maize (*Zea mays* L.) to porous silica NPs in soil**. Journal of Nanoparticle Research 14:1294-1296.
- VILELA, R. P.; **Influência da temperatura na produção e qualidade fisiológica de sementes de alface**. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Lavras, 2009.
- YOUNG, B. J.; RIERA, N. I.; BEILY, M. E.; BRES, P. A.; CRESPO, D. C.; RONCO, A. E. **Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa***. Ecotoxicology and Environmental Safety, n.76, p.182-186, 2012.