



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR**

GABRIELE SAUTHIER ROMANO DE MELO

**EFEITOS DE NANOPARTÍCULAS DE DIÓXIDO DE SILÍCIO SOBRE
O CRESCIMENTO, PROTEOMA E FOTOSÍNTESE DE PLANTAS DE
SOJA (*Glycine max* L.)**

**Maringá
2022**

GABRIELE SAUTHIER ROMANO DE MELO

**EFEITOS DE NANOPARTÍCULAS DE DIÓXIDO DE SILÍCIO SOBRE
O CRESCIMENTO, PROTEOMA E FOTOSÍNTESE DE PLANTAS DE
SOJA (*Glycine max* L.)**

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

Orientador: Prof. Dr. Rogério Marchiosi
Coorientador: Prof. Dr. Osvaldo Ferrarese-Filho

**Maringá
2022**

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

M528e

Melo, Gabriele Sauthier Romano de

Efeitos de nanopartículas de dióxido de silício sobre o crescimento, proteoma e fotossíntese de plantas de soja (*Glycine max* L.) / Gabriele Sauthier Romano de Melo. -- Maringá, PR, 2022.

72 f.: il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Marchiosi.

Coorientador: Prof. Dr. Osvaldo Ferrarese-Filho.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Bioquímica, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular), 2022.

1. Proteômica. 2. Nanopartículas. 3. Metabolismo do nitrogênio. 4. Toxicidade. 5. Fotossíntese. I. Marchiosi, Rogério, orient. II. Ferrarese-Filho, Osvaldo, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Biológicas. Departamento de Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular). IV. Título.

CDD 23.ed. 572.7

GABRIELE SAUTHIER ROMANO DE MELO

**EFEITOS DE NANOPARTÍCULAS DE DIÓXIDO DE SILÍCIO SOBRE O
CRESCIMENTO, PROTEOMA E FOTOSSÍNTESE DE PLANTAS DE SOJA
(*Glycine max* L.)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas pela banca examinadora composta pelos membros:

Aprovado em: __/__/____.

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Rogério Marchiosi
(Presidente – UEM)

Profa. Dra. Marcela de Paiva Foletto-Felipe
UTFPR/Dois Vizinhos

Prof. Dr. Paulo Alfredo Feitoza Böhm
UNESPAR/Paranavaí

Profa. Dra. Graciene de Souza Bido
IFMS/Navirai

Profa. Dra. Ana Paula Ferro
UEM/Maringá

BIOGRAFIA

Gabriele Sauthier Romano de Melo nasceu em Maringá-PR em 05 de novembro de 1993. Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Maringá (2015). Foi estagiária do Laboratório de Reprodução de Peixes de Água Doce – NUPELIA (2013-2014) e do Laboratório de Bioquímica de Plantas - BIOPLAN, Departamento de Bioquímica (2014-2015). É mestre em Ciências Biológicas (2018) com enfoque em Bioquímica de Plantas pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, no qual desenvolveu o trabalho “EFEITOS DE NANOPARTÍCULAS DE DIÓXIDO DE TITÂNIO (TiO_2) SOBRE O CRESCIMENTO E METABOLISMO ANTIOXIDANTE EM PLANTAS DE SOJA (*Glycine max* L.)”. Iniciou o curso de Doutorado em Ciências Biológicas pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá em março de 2018, desenvolvendo o trabalho “Efeitos de nanopartículas de dióxido de silício (SiO_2) sobre o crescimento, proteoma e fotossíntese de plantas de soja (*Glycine max* L.)”, com defesa da tese marcada para agosto de 2022.

Renato, Marcia, Marcos, Lenise, Fabiana, Cleverson, Maria e Naur (in memoriam). Vocês são a personificação do amor de Deus, e são responsáveis por quem me tornei. A vocês dedico todos meus esforços.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e pelas inúmeras bênçãos derramadas sobre mim em minha vida acadêmica. Cada detalhe do que estudei revelam a sabedoria do Criador.

Agradeço ao meu esposo, Renato, por todo apoio e companhia desde o primeiro ano de pós graduação. No laboratório encontrei um companheiro de experimentos, que passou a ser meu companheiro para a vida. Agradeço a meus pais, Marcia e Marcos, pela estrutura e incentivo em toda minha vida, que me fizeram buscar ser uma pessoa melhor. Agradeço também a minha família. Esse trabalho é dedicado a vocês.

Agradeço à Universidade Estadual de Maringá (UEM) pela estrutura fornecida para o desenvolvimento da minha pesquisa e formação acadêmica ao longo destes 12 anos, e também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro para execução do trabalho.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Rogério Marchiosi, que me acompanha desde a graduação. Sua amizade, seus conselhos e seu cuidado são atitudes que levo não somente em minha vida acadêmica, mas também a minha vida pessoal. Obrigada pela postura e zelo ao longo desses anos. Agradeço ao Prof. Dr. Osvaldo Ferrarese Filho e ao Prof. Dr. Wanderley Dantas dos Santos. Duas pessoas atenciosas, contagiantes e apaixonadas pelo que fazem, deixando a pesquisa mais leve.

Agradeço aos meus amigos do Laboratório de Bioquímica de Plantas, em especial a Nayara, Danielly, Aline, Marcela e Josielle, que me incentivaram, me ajudaram, e tornaram nosso ambiente de trabalho muito mais divertido.

Por fim, obrigada a todos que fizeram parte dessa etapa em minha vida, direta ou indiretamente.

EPÍGRAFE

“Não devemos ter como lema “Seja boa, doce menina, e deixe a inteligência para quem a possui”, mas sim “Seja boa, doce menina, e não se esqueça de ser o mais inteligente que puder”.

C.S. Lewis em Cristianismo Puro e simples

APRESENTAÇÃO

Esta Tese é composta por dois capítulos. O capítulo I compreende um artigo sobre os efeitos de nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂) na germinação, composição da seiva, crescimento e proteoma de plantas de soja. Este artigo foi intitulado **“Nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂) aumentam o teor de aminoácidos na seiva de plantas de soja aumentando a expressão de enzimas do ciclo do ácido cítrico.”**. O segundo capítulo trata-se de um artigo sobre os efeitos das nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂) sobre a fotossíntese de plantas de soja, intitulado **“Nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂) melhoram o desempenho do PII através do aumento da condutância mesofílica e da forma oxidada da plastoquinona Qa em soja.”**. De acordo com o regulamento do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (PBC), os artigos foram redigidos seguindo as normas das revistas as quais serão submetidas, conforme descrito abaixo:

Capítulo I – Gabriele Sauthier Romano de Melo, Wanderley Dantas dos Santos, Osvaldo Ferrarese-Filho e Rogério Marchiosi. Nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂) aumentam o teor de aminoácidos na seiva de plantas de soja aumentando a expressão de enzimas do ciclo do ácido cítrico. Será submetido ao Periódico *Plant Physiology and Biochemistry* (Fator de impacto: 4.27). (<https://www.journals.elsevier.com/plant-physiology-and-biochemistry>).

Capítulo II – Gabriele Sauthier Romano de Melo, Wanderley Dantas dos Santos, Osvaldo Ferrarese-Filho e Rogério Marchiosi. Nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂) melhoram o desempenho do PII através do aumento da condutância mesofílica e da forma oxidada da plastoquinona Qa em soja. Será submetido ao Periódico *New Phytologist* (Fator de impacto: 10.151) (<https://www.journals.elsevier.com/plant-physiology-and-biochemistry>).

RESUMO GERAL

INTRODUÇÃO – Nanopartículas (NPs) deram origem a um novo ramo da ciência denominado nanotecnologia, e a exploração de nanomateriais tem mostrado benefícios e malefícios ao meio ambiente. O impacto das NPs no meio ambiente é uma preocupação crescente, e estudar seus efeitos em plantas pode facilitar a compreensão de seus mecanismos de ação em organismos vivos, visto que as plantas estão na teia alimentar desde níveis tróficos inferiores a animais e seres humanos. Estudos realizados com plantas têm mostrado que as NPs podem ser absorvidas, transportadas e acumuladas em compartimentos celulares específicos tais como vacúolos, núcleo e plasmodesmas. De fato, as NPs podem afetar uma diversidade de processos fisiológicos e influenciar o crescimento e o desenvolvimento das plantas, muito embora seus mecanismos de ação não sejam completamente compreendidos. Em plantas, poucos são os estudos sobre o efeito das NPs de SiO₂. A aplicabilidade das NPs de SiO₂ é grande, pois essas NPs são biocompatíveis, de baixo custo, atóxicas e utilizadas em sistemas de *drug delivery*, além de possuir alta absorção pelas células vegetais. Os efeitos das NPs de SiO₂ sobre as plantas são variados, e geralmente estão associados a alívio de estresse abiótico. Foi observada uma melhora a tolerância ao estresse hídrico, aumentando a condutância da água em *Solanum lycopersicum*. Também foi comprovado que estas NPs melhoram o mecanismo de defesa contra estresse salino estimulando a fotossíntese, condutância estomática, taxa de transpiração, eficiência do uso da água, clorofila total, prolina e a anidrase carbônica em folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*), além de melhorar a germinação e crescimento da planta, reduzir o teor de malondialdeídos que são produtos da peroxidação lipídica e reduzir o estresse oxidativo.

OBJETIVOS – Não há pesquisas que avaliam os efeitos de NPs de SiO₂ no metabolismo do nitrogênio e fotossíntese em soja. No entanto, ambos processos são determinantes para o crescimento e desenvolvimento da planta. Dessa forma, no presente estudo, investigamos os impactos das NPs de SiO₂ sobre a germinação, crescimento, metabolismo do nitrogênio através da atividade enzimática, bem como uma análise proteômica quantitativa comparativa. Os teores de aminoácidos livres no xilema também foram verificados. Além disso, investigamos os impactos das NPs de SiO₂ sobre a fotossíntese de plantas de soja através da realização de curvas de resposta à luz e ao CO₂ (A/Ci), bem como a determinação da fluorescência da clorofila *a*.

MATERIAL E MÉTODOS – Para análises de germinação, sementes de soja (*Glycine max* L. Merrill), cv. BRS-232 foram sanitizadas e distribuídas em placas Germibox® contendo papel de filtro previamente umedecido com suspensões aquosas de NPs de SiO₂ nas concentrações de 0, 31,25, 62,5, 125, 250, 500 e 1000 mg L⁻¹, previamente levadas ao banho ultrassônico por 30 min. As sementes foram cobertas frouxamente com uma camada adicional de papel. Então, foi realizada a contagem de sementes germinadas a cada 12 h após 30 h iniciais. Para as demais análises, as sementes foram inoculadas com *Rhizobium* e molibdato durante 5 min e foram colocadas em bandejas plásticas constituídas de celas em formato de pirâmide invertida de 50 mL preenchidas com substrato vermiculita e Mecplant® (1:1) a 2 cm de profundidade e irrigadas com água destilada até a capacidade de campo. As bandejas foram mantidas em uma sala de crescimento de plantas a 25°C com um fotoperíodo claro/escuro de 12/12 h e uma densidade de fluxo de fótons de 300 μmol m⁻² s⁻¹ durante 33 dias. O tratamento das plantas foi realizado após a emergência em 72 h somente com água para homogeneização das plantas e posteriormente, a cada dois dias pela adição de 30 mL de solução nutritiva de Hoagland contendo 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂, previamente levada ao banho ultrassônico por 30 min. Todas análises foram realizadas no 33º dia, sendo 29 dias de exposição a NP de SiO₂. Foram realizadas medições para avaliação dos parâmetros biométricos; dosagem de proteínas; análise da composição de aminoácidos livres na seiva bruta; determinação da atividade da glutamina sintetase; análise proteômica; índice SPAD de pigmento fotossintético e análise combinada dos parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila a.

RESULTADOS E DISCUSSÃO – As NPs de SiO₂ não alteraram os parâmetros de germinação em sementes de soja, corroborando com resultados encontrados anteriormente. Houve a redução de 83 a 100% de sementes duras na dose de 1000 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂, indicando uma melhora na absorção da água por parte das sementes. Este resultado pode estar relacionado a regulação de aquaporinas, uma classe de proteínas intrínsecas da membrana, com função de captação de água, nutrientes para o desenvolvimento das sementes, e transporte de CO₂. As análises biométricas revelaram que as NPs de SiO₂ não foram capazes de alterar o comprimento da raiz das plantas de soja, porém, aumentou o comprimento do caule. Em relação a proteômica das folhas, foi possível observar uma redução na expressão da enzima ribulose 1,6-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco), enzima responsável pela fixação de CO₂, relacionado

com a regulação da enzima devido à alta disponibilidade de CO₂, evidenciada pelo aumento de 164,53% na condutância mesofílica (g_m). Ocorreu um aumento considerável de asparagina na seiva bruta, fator relacionado com o aumento da expressão de enzimas do ciclo do ácido cítrico.

CONCLUSÃO – Plantas de soja tratadas com diferentes doses de NPs de SiO₂ apresentaram mudanças em seu crescimento, fotossíntese e proteoma. Nossos dados demonstraram que as NPs foram capazes de melhorar a absorção de água pelas sementes, podendo impactar positivamente a germinação. Contudo, a biomassa fresca das raízes foi reduzida, podendo prejudicar a planta na captação de nutrientes do solo e além disso, o caule apresentou sinais de estiolamento, que pode prejudicar o desenvolvimento da planta. Também foi verificado que o ciclo do ácido cítrico foi impactado positivamente pelo aumento da expressão das enzimas da via. A g_m aumentada revela maior disponibilidade de CO₂ para a Rubisco atuar como carboxilase, favorecendo a assimilação do CO₂ e o crescimento da planta. Em resumo, nossos dados indicaram que os efeitos das NPs de SiO₂ em soja atestam atoxicidade ou baixa toxicidade para a soja na concentração testada neste estudo.

Palavras chave: Nanopartículas, fotossíntese, proteoma, soja

GENERAL ABSTRACT

INTRODUCTION – Nanoparticles (NPs) gave rise to a new branch of science called nanotechnology, and the exploration of nanomaterials has shown benefits and harm to the environment. The impact of NPs on the environment is a growing concern, and studying their effects on plants can facilitate the understanding of their mechanisms of action in living organisms, as plants are in the food web from lower trophic levels to animals and humans. Studies performed with plants have shown that NPs can be absorbed, transported and accumulated in specific cellular compartments such as vacuoles, nucleus and plasmodesmata. In fact, NPs can affect a variety of physiological processes and influence plant growth and development, although their mechanisms of action are not fully understood. In plants, there are few studies on the effect of SiO₂-NPs. The applicability of SiO₂-NPs is huge, as these NPs are biocompatible, low cost, non-toxic and used in *drug delivery systems*, in addition to having high absorption by plant cells. The effects of SiO₂-NPs on plants are varied, and are generally associated with relief from abiotic stress. Improved water stress tolerance was observed by increasing water conductance in *Solanum lycopersicum*. These NPs have also been shown to improve the defense mechanism against salt stress by stimulating photosynthesis, stomatal conductance, transpiration rate, water use efficiency, total chlorophyll, proline and carbonic anhydrase in zucchini (*Cucurbita pepo*) leaves, in addition to improve plant germination and growth, reduce the content of malondialdehydes which are products of lipid peroxidation and reduce oxidative stress.

OBJECTIVES – There are no studies evaluating the effects of SiO₂-NPs on nitrogen metabolism and photosynthesis in soybean. However, both processes are crucial for plant growth and development. Thus, in the present study, we investigated the impacts of SiO₂-NPs on germination, growth, nitrogen metabolism through enzymatic activity, as well as a comparative quantitative proteomic analysis. The levels of free amino acids in the xylem were also verified. Furthermore, we investigated the impacts of SiO₂-NPs on the photosynthesis of soybean plants by performing light and CO₂ (A/Ci) response curves, as well as the determination of chlorophyll *a* fluorescence.

MATERIAL AND METHODS – For germination analysis, soybean seeds (*Glycine max* L. Merrill), cv . BRS-232 were sanitized and distributed on Germibox[®] plates containing filter paper previously moistened with aqueous suspensions of SiO₂-NPs at concentrations of 0, 31.25, 62.5, 125, 250, 500 and 1000 mg L⁻¹, previously taken to the

ultrasonic bath for 30 min. The seeds were loosely covered with an additional layer of paper. Then, germinated seeds were counted every 12 h after the initial 30 h. For the other analyses, the seeds were inoculated with *Rhizobium* and molybdate for 5 min and were placed in plastic trays made up of 50 mL inverted pyramid cells filled with vermiculite substrate and Mecplant® (1:1) at 2 cm depth, and irrigated with distilled water to field capacity. The trays were kept in a plant growth room at 25°C with a light/dark photoperiod of 12/12 h and a photon flux density of 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for 33 days. The treatment of the plants was carried out after the immersion in 72 h only with water for homogenization of the plants and later, every two days by the addition of 30 mL of Hoagland's nutrient solution containing 500 mg L⁻¹ of SiO₂-NPs, previously taken to the ultrasonic bath for 30 min. All analyzes were performed on the 33rd day, with 29 days of exposure to SiO₂-NPs. Measurements were performed to assess the biometric parameters; protein dosage; analysis of the composition of free amino acids in the crude sap; determination of glutamine synthetase activity; proteomic analysis; SPAD photosynthetic pigment index and combined analysis of gas exchange parameters and chlorophyll a fluorescence.

RESULTS AND DISCUSSION – SiO₂-NPs did not change the germination parameters in soybean seeds, corroborating the results found previously. There was a reduction of 83 to 100% of hard seeds at the dose of 1000 mg L⁻¹ of SiO₂-NPs, indicating an improvement in the water absorption by the seeds. This result may be related to the regulation of aquaporins, a class of intrinsic membrane proteins, with the function of water uptake, nutrients for seed development, and CO₂ transport. Biometric analyzes revealed that SiO₂-NPs were not able to change the root length of soybean plants, however, it increased the stem length. Regarding leaf proteomics, it was possible to observe a reduction in the expression of the enzyme ribulose 1,6-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco), the enzyme responsible for fixing CO₂, related to the regulation of the enzyme due to the high availability of CO₂, evidenced by the 164.53% increase in mesophilic conductance (g_m). There was a considerable increase in asparagine in the raw sap, a factor related to the increase in the expression of citric acid cycle enzymes.

CONCLUSION – Soybean plants treated with different doses of SiO₂-NPs showed changes in their growth, photosynthesis and proteome. Our data showed that NPs were able to improve water uptake by seeds, which could positively impact germination. However, the fresh biomass of the roots was reduced, which could harm the plant in the uptake of nutrients from the soil and, in addition, the stem showed signs of etiolation,

which can harm the development of the plant. It was also verified that the citric acid cycle was positively impacted by the increase in the expression of the enzymes of the pathway. The increased g_m reveals greater availability of CO₂ for Rubisco to act as a carboxylase, favoring CO₂ assimilation and plant growth. In summary, our data indicated that the effects of SiO₂-NPs in soybeans attest atoxicity or low toxicity for soybeans at the concentration tested in this study.

Keywords: Nanoparticles, photosynthesis, proteomics, soybean

CAPÍTULO I

ARTIGO:

Nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂) aumentam o teor de aminoácidos na seiva de plantas de soja aumentando a expressão de enzimas do ciclo do ácido cítrico.

Este artigo será submetido ao Periódico *Plant Physiology and Biochemistry*

Nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂) aumentam o teor de aminoácidos na seiva de plantas de soja aumentando a expressão de enzimas do ciclo do ácido cítrico.

*Gabriele Sauthier Romano de Melo, Wanderley Dantas dos Santos, Osvaldo Ferrarese-Filho e Rogério Marchiosi**

Laboratório de Bioquímica de Plantas, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

***Autor para correspondência**

E-mail address: rmarchiosi@uem.br

Resumo

Com o aumento da utilização de nanopartículas (NPs) nas últimas décadas, surgiu a preocupação sobre os impactos decorrentes de sua liberação e acúmulo no meio ambiente. Visto que os destinos finais dos nanomateriais (NMs) são a atmosfera, a água ou solo, encontra-se a necessidade de verificar seus possíveis efeitos adversos sobre os organismos vivos, especialmente sobre as plantas cultivadas. Neste contexto, destaca-se a cultura da soja (*Glycine max* L.), economicamente importante em nível mundial. Neste trabalho, nós investigamos os efeitos de NPs de dióxido de silício (SiO₂) na germinação de sementes, crescimento, metabolismo no nitrogênio e proteoma de raízes e folhas. Nossos dados revelaram significativa melhora na absorção de água pelas sementes, cuja análise do proteoma de raízes sugeriu estar relacionada com a regulação positiva da expressão de aquaporinas. As NPs não afetaram o crescimento radicular, embora tenham estiolado o caule das plantas, comprometendo parcialmente a sua sustentação vertical. Também foram verificados aumentos na expressão de enzimas do ciclo do ácido cítrico nas raízes, como a malato desidrogenase, o que culminou no aumento dos teores de asparagina na seiva bruta. Foi observado uma redução na expressão da Rubisco e ferredoxina, enzimas que foram reguladas pela maior disponibilidade de CO₂ devido ao aumento da condutância mesofílica ocasionado pelas NPs de SiO₂.

Palavras-chave: Nanopartículas, proteoma, soja, nitrogênio.

Introdução

Nanopartículas (NPs) deram origem a um novo ramo da ciência denominado nanotecnologia, e a exploração de nanomateriais (NMs) tem mostrado benefícios e malefícios ao meio ambiente (Dimkpa, 2014). O fluxo global de NMs, em toneladas por ano, desde a produção até o descarte, considerando a alta produção de 2010 como base, é estimado em 128.300 toneladas que atingem o solo, ar e água. Deste total, 51.600 toneladas permanecem no solo, sendo divididas entre tintas, medicamentos, cosméticos, eletrônicos e NPs provenientes da catálise de automóveis (Keller et al., 2013).

Estudos realizados com plantas têm mostrado que as NPs podem ser absorvidas, transportadas e acumuladas em compartimentos celulares específicos tais como vacúolos, núcleo e plasmodesmas (Wang et al., 2016). De fato, as NPs podem afetar uma diversidade de processos fisiológicos e influenciar o crescimento e o desenvolvimento das plantas, muito embora seus mecanismos de ação não sejam completamente compreendidos. As NPs de dióxido de silício (SiO_2) podem ser maciças ou porosas, e quando porosas, se classificam como microporosas (poros com tamanho de 2 nm) ou mesoporosas (2-50 nm). Em plantas, poucos são os estudos sobre o efeito das NPs de SiO_2 . Alguns resultados foram encontrados, como uma melhora a tolerância ao estresse hídrico, aumentando a condutância da água em *Solanum lycopersicum* (Shi et al., 2016). Também foi comprovado que estas NPs melhoram o mecanismo de defesa contra estresse salino estimulando a fotossíntese, condutância estomática, taxa de transpiração, eficiência do uso da água, clorofila total, prolina e a anidrase carbônica em folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*), além de melhorar a germinação e crescimento da planta, reduzir o teor de malondialdeídos que são produtos da peroxidação lipídica e reduzir o estresse oxidativo (Siddiqui et al., 2014).

As plantas podem sintetizar o conjunto de compostos nitrogenados comuns a todos os organismos vivos, bem como numerosas moléculas encontradas apenas nas plantas. A maior demanda de nitrogênio (N) é para a síntese de aminoácidos, que são precursores das proteínas e de muitos outros compostos. O N é também um componente essencial dos ácidos nucleicos, cofatores, outros metabolitos comuns e é o principal componente da clorofila (Buchanan et al., 2015). Não há pesquisas que avaliam os efeitos de NPs de SiO_2 no metabolismo do nitrogênio das plantas. No entanto, o ciclo do nitrogênio pode ser afetado por NPs como tem sido demonstrado na literatura. Dessa forma, no presente estudo, investigamos os impactos das NPs de SiO_2 sobre a germinação, crescimento,

metabolismo do nitrogênio através da atividade enzimática, bem como uma análise proteômica quantitativa comparativa. Os teores de aminoácidos livres no xilema também foram verificados.

Materiais e métodos

1. Efeitos das nanopartículas (NPs) de SiO₂ sobre a soja

1.1 Efeitos sobre a germinação de sementes

Sementes de soja (*Glycine max* L.), cv. BRS-232, foram sanitizadas com hipoclorito de sódio 2% durante 2 min e enxaguadas com água deionizada. Em seguida, as sementes foram distribuídas com espaçamento de 1,5 vezes o seu diâmetro em placas Germibox[®] contendo papel de filtro previamente umedecido com suspensões aquosas de NPs de SiO₂ nas concentrações de 0, 31,25, 62,5, 125, 250, 500 e 1000 mg L⁻¹, previamente levadas ao banho ultrassônico por 30 min. As sementes foram cobertas frouxamente com uma camada adicional de papel. Então, foi realizada a contagem de sementes germinadas a cada 12 h após 30 h iniciais, sendo utilizado como critério de germinação a protusão da radícula. As sementes não germinadas foram qualificadas como sementes duras, quando não absorvem água por um período mais longo que o normal, ou mortas, quando não apresentam nenhuma mudança. As sementes germinadas foram qualificadas em plântulas normais, quando mostraram potencial para continuar seu desenvolvimento, e anormais, quando danificadas ou deformadas, não podendo continuar seu desenvolvimento (Ministério da Agricultura, 2009). Os parâmetros avaliados quantitativamente foram tempo médio de germinação por hora (TMG), percentagem de germinação (%G), velocidade média de germinação por hora (VMG) e índice de velocidade de germinação (IVG) (Borghetti and Ferreira, 2004).

1.2 Cultivo e tratamento das plantas de soja

Sementes de soja (*Glycine max* L.), cv. BRS-232 foram inoculadas com *Rhizobium* e molibdato durante 5 mins e foram colocadas em bandejas plásticas constituídas de celas em formato de pirâmide invertida de 50 mL preenchidas com substrato vermiculita e MecPlant[®] (1:1) a 2 cm de profundidade e irrigadas com água destilada até a capacidade de campo. As bandejas foram mantidas em uma sala de crescimento de plantas a 25°C

com um fotoperíodo claro/escuro de 12/12 h e uma densidade de fluxo de fótons de 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante 33 dias. O tratamento das plantas foi realizado após a imersão em 72 h somente com água para homogeneização das plantas e posteriormente, a cada dois dias, pela adição de 30 mL de solução nutritiva de Hoagland contendo diferentes concentrações de NPs de SiO_2 (0, 62,5, 125, 250, 500 e 1000 mg L^{-1}), previamente levada ao banho ultrassônico por 30 min. Os experimentos foram realizados no 33º dia, sendo 29 dias de exposição às NPs de SiO_2 .

1.3 Efeitos sobre o crescimento das plantas

No 33º dia de cultivo as plantas de soja foram retiradas do sistema experimental e separadas as suas raízes, caule e folhas. O comprimento dos segmentos foi determinado com auxílio de uma régua milimétrica, sendo, em seguida, determinada a biomassa fresca. Um paquímetro foi utilizado para avaliar o diâmetro de raízes e caules. As biomassas secas foram estimadas após desidratação dos tecidos em estufa a 60°C por 72 h.

2. Efeitos das nanopartículas (NPs) de SiO_2 sobre o metabolismo do nitrogênio

2.1 Dosagem de proteínas totais

A dosagem de proteínas foi realizada utilizando o método de Bradford (Bradford, 1976), tendo albumina (50 mg%) como padrão. Amostras (20 μL), apropriadamente diluídas, foram adicionadas a tubos de ensaio contendo 1,0 mL do reagente de Bradford. Após 5 min de reação foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 595 nm. Os resultados foram expressos como $\text{mg proteína} \times \text{mg}^{-1}$ biomassa fresca.

2.2 Coleta e composição de aminoácidos livres na seiva bruta

No 33º dia de cultivo, 30 mL de água deionizada foi adicionado ao substrato contendo as plantas. Foi realizado um corte transversal do caule logo acima da região de transição com a raiz. A extremidade foi lavada com água deionizada e acoplada a um tubo coletor. Após ascensão, a seiva bruta foi retirada com auxílio de uma micropipeta e congelada a -80°C até o momento das análises. Os aminoácidos livres na seiva foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) após reação de derivatização com *O*-oftaldialdeído (OPA) (Benson and Hare, 1975; Jarrett et al., 1986) com modificações (Marur et al., 1994). Antes da reação de derivatização o extrato contendo os aminoácidos (100 μL) foi acidificado com 20 μL de HCl 0,1 M e, em seguida, combinado com 80 μL

de tampão borato-NaOH 2,4% (pH 9,5). Então, 625 μL de OPA e 5 μL de 2-mercaptoetanol foi adicionado. Após 3 min de reação, uma alíquota de 20 μL foi injetada em cromatógrafo líquido de alta eficiência (Prominence HPLC System, Shimadzu[®], Japão) equipado com uma bomba de gradiente quaternário LC-20AT, detector de fluorescência RF-20A, autoinjeter SIL-20A, forno para coluna CTO-20A e módulo de comunicação CBM-20A. Os aminoácidos foram separados com auxílio de uma coluna de fase reversa Shimpack[®] CLC-ODS (M) (250 \times 4,6 mm, com partículas de 5 μm) equipada com pré-coluna equivalente (10 \times 4,6 mm). Para eluição foram utilizadas as fases “A” [tampão fosfato 50 mM (pH 7,2) contendo metanol (2%), tetrahydrofurano (2%) e ácido acético (0,7%)] e “B” [metanol 65%] com o seguinte gradiente: 0 min A 80% e B 20%, 5 min A 72% e B 28%, 39 min A 42% e B 58%, 40 min A 25% e B 75%, 56 min A 5% e B 95%, 59 min A 4% e B 96% e 61 min B 100%, com fluxo de 0,8 mL min⁻¹. O detector de fluorescência foi ajustado para excitação em 265 nm e emissão em 480 nm. Os tempos de retenção e as concentrações dos aminoácidos foram determinados por comparação com um padrão Sigma AAS-18 (contendo Asp, Glu, Ser, Arg, Gly, Thr, Ala, Tyr, Met, Val, Phe, Ile, Leu, Lys) acrescido de Asn e Gln.

2.3 Determinação da atividade da glutamina sintetase

No 33º dia de cultivo, 0,5 g de raiz fresca foram maceradas com 1,5 de Tampão Imidazol – HCl 50 mM pH 7,2 (DTT 1 mM / EDTA 0,45 mM / TRITON X-100 0,1%) e centrifugadas a 10000 rpm durante 30 minutos. A atividade enzimática foi determinada de acordo com Sodek *et al.* (1980). O sobrenadante foi utilizado para a determinação da atividade da glutamina sintetase (GS), com uma mistura de ATP 6.23 mM, MgSO₄ 56.25 mM, hidroxilamina 6.25 mM, L-glutamato 93,72 mM e imidazol-HCl 50 mM pH 7.2. A reação iniciou com a adição do extrato enzimático incubado a 30°C por 30 min, sendo determinado em espectrofotômetro (Sodek et al., 1980).

3. Proteômica

3.1 Extração das proteínas totais solúveis de folha e raiz de soja

No 33º dia de cultivo as plantas de soja foram retiradas do sistema experimental e separadas as suas raízes e folhas, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C durante 7 dias. Toda metodologia utilizada foi de acordo com Murad e Rech, 2012 (Murad and Rech, 2012). As amostras foram maceradas com nitrogênio líquido até

obtenção de um pó homogêneo. Foi pesado 500 mg do homogeneizado em tubos Falcon (25 mL) e adicionado 4 mL de Tampão TRIS-HCl 20 mM pH 8,3, DTT 10 mM, PMSF 1 mM, SDS 0,1%. As amostras foram sonicadas a 60% de amplitude, 10 vezes durante 30 segundos com intervalo de 1 minuto. Os tubos foram centrifugados durante 15 minutos a 8000 rpm e 4°C, o sobrenadante foi transferido para um novo Falcon. Esse passo foi repetido duas vezes, para o sobrenadante se encontrar límpido. Para cada 200 µL de amostra contidas no Falcon, 800 µL de acetona gelada foi adicionada. Os tubos foram agitados em vórtex e incubados a -20°C por 1 hora, com agitação em vórtex a cada 15 minutos. As amostras foram distribuídas em tubos Eppendorf 1,5 mL e foram centrifugadas a 18000 g a 4°C, durante 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o pellet foi dissolvido cuidadosamente em 250 µL de NH₄HCO₃ 50 mM. Foi realizada a dosagem de proteínas das alíquotas através do método de Bradford (1976) (Bradford, 1976). A amostra foi diluída com NH₄HCO₃ 50 mM para a concentração de proteína de 1 µg.µL⁻¹ quando folha, e 0,5 µg.µL⁻¹ quando raiz.

3.2 Digestão proteica para NANOUPCL-MS^E

Em uma alíquota de 50 µL da amostra diluída foi adicionado 10 µL de NH₄HCO₃ 50 mM em um eppendorf 1,5 mL. Então, 25 µL de RapiGESTTM (Waters, USA) (0,2% v/v) foi adicionado, a amostra foi agitada em vórtex e incubada em banho seco a 80°C durante 15 minutos. A amostra foi brevemente centrifugada, e 2 µL de DTT 100 mM foi adicionado. Após gentil agitação em vórtex, a amostra foi incubada a 60°C por 30 minutos seguido por centrifugação. Foi adicionado 2,5 µL de Iodoacetamida 300 mM, e após breve agitação, a amostra foi incubada no escuro por 30 minutos. Então, 10 µL de tripsina 0,05 µg µL⁻¹ (razão 1:100) foi adicionado e a amostra foi vortexada. As amostras foram digeridas a 37°C em um banho seco durante 16 horas. A reação foi interrompida com 10 µL de TFA 5% para clivar e precipitar o RapiGESTTM, então as amostras foram centrifugadas por 30 minutos a 6°C e 14000 rpm. Depois, 100 µL do sobrenadante foi transferido para um vial e foi adicionado 2,5 µL da proteína Álcool desidrogenase (ADH) para calibração (Waters, número de acesso P00330), previamente ressuspensa com 1 mL de ácido fórmico 0,1% em água. A concentração final de ADH foi 25 fmol.µL⁻¹ (Murad and Rech, 2012).

3.2 Aquisição NanoUPLC-MS^E

A separação dos peptídeos trípticos em cromatografia líquida (LC) foi realizada utilizando um sistema nanoACQUITYTM (Waters Corporation, EUA), equipado com uma coluna de fase reversa C18 1,7 $\mu\text{m} \times 100 \mu\text{m} \times 100 \text{mm}$. As amostras foram transferidas para uma pré-coluna utilizando uma fase aquosa de ácido fórmico 0.1%, com um fluxo de 6 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ por 2 minutos. A fase móvel A utilizada foi de ácido fórmico 0.1% em água, e a fase móvel B de ácido fórmico 0.1% em acetonitrila. Os peptídeos foram separados usando um gradiente de 0-40% da fase B (ácido fórmico 0.1% em acetonitrila) em relação a fase A (ácido fórmico 0.1% em água), por 103 minutos com um fluxo de 6 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, seguido por um enxague de 10 min com 85% da fase B. A temperatura da coluna foi mantida a 35°C e o carregamento da coluna com a amostra foi de 2 a 4 μg de proteína. Os peptídeos foram analisados utilizando nano-ionização *electrospray* no modo positivo e uma fonte de ionização *NanoLockSpray* (Waters, EUA). Para todas análises, o espectrômetro de massas foi operado em modo sensível de análise, com calibração inicial com uma solução de leucina encefalina 200 fmol μL^{-1} fornecida pela fonte de ionização *NanoLockSpray* e a calibração final com formiato de sódio 100 fmol μL^{-1} f fornecido através do sistema da fluídica. A cada 30 segundos o spray de referência foi amostrado e os tempos de retenção de massa nanoLC-MS^E foram coletados em um modo alternado de aquisição de baixa e elevada energia. O tempo de aquisição foi de 1.5 segundos com um atraso *interscan* de 0.1 segundos. No modo MS de baixa energia, os dados foram coletados utilizando uma energia de 3 eV, e no modo MS de energia elevada, e energia de colisão foi aumentada para 45 eV a cada espectro de 1.5 segundos (Murad and Rech, 2012).

3.3 Processamento e identificação proteica

Após a obtenção dos dados por NanoUPLC-MS^E as análises foram realizadas utilizando o *ProteinLynx Global Server*TM (PLGS) v.3.0.3, com *Identity*^E e *Expression*^E v.3.0.3 (Waters). As proteínas foram identificadas utilizando um banco de dados de *Glycine max* disponível na *Uniprot* (UP000008827). O número de clivagens na fonte permitida foi de 1 e a identificação proteica teve como critério a detecção de pelo menos três fragmentos de íons por peptídeo, 6 fragmentos por proteína e a determinação de pelo menos um peptídeo por proteína; e sua identificação permitida com um falso positivo de até 4% em uma triplicata de cada amostra. Os dados coletados foram organizados pelo algoritmo

PLGS *Expression*^E em uma lista estatisticamente significativa que correspondeu a taxas de regulação mais alta ou mais baixa entre os grupos controle e 500 mg L⁻¹ de NPs SiO₂. E tabelas do Microsoft Excel (*Microsoft, EUA*) foram utilizadas para a manipulação de dados (Murad and Rech, 2012).

3.4 Análise de anotação funcional das proteínas

Anotação funcional das proteínas e identificação das vias metabólicas foi realizada usando Kobas 3.0 (<http://kobas.cbi.pku.edu.cn/kobas3>) (Xie et al., 2011).

4. Análises estatísticas

Nos experimentos de análise de germinação de sementes e do crescimento inicial (72 h) de sementes, cada amostra foi representada por uma Germibox[®] contendo 16 sementes de soja (1 Germibox[®] = 1 n). Os resultados foram expressos como resultados foram expressos como médias ± erro padrão da média (EPM).

Nos experimentos com plantas adultas, cada cela em formato de pirâmide invertida de 50 mL continha uma planta, sendo considerado 1 planta como 1 n. Os resultados foram expressos como médias ± erro padrão da média (EPM) e as repetições variaram por metodologia, sempre considerando um mínimo de três parcelas experimentais para cada condição (controle e tratado).

Todas análises estatísticas foram realizadas utilizando o pacote *GraphPad Prism*[®] (Versão 6.0, GraphPad Software Inc., USA). Foi utilizada a análise de variância unidirecional (*One-way ANOVA*) e as diferenças significativas foram analisadas no teste de comparação múltipla de Dunnett. Os valores de $P \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos em ambos os testes.

Resultados

Efeitos das NPs de SiO₂ sobre a germinação e crescimento de plantas de soja

As análises na germinação de sementes demonstraram que diferentes doses de NPs de SiO₂ não alteram os parâmetros quando comparado a plantas controle. As médias de TMG, %G, VMG e IVG não foram alteradas significativamente (Tab. 1), bem como o crescimento radicular analisado em 72 horas de crescimento (Tab. 1).

Neste estudo, foi avaliado o crescimento inicial de sementes de soja após 72 horas de exposição NP de SiO₂, considerando como sementes germinadas aquelas com 1 milímetro de radícula primária. Os tratamentos de NPs de SiO₂ não afetaram o comprimento das plântulas de soja. Em adição, foi realizada a análise qualitativa das sementes. Quando não germinadas, foram classificadas como sementes mortas, quando não apresentaram sinais de absorção de água, ou duras, por não absorverem água por um período mais longo que o normal. Foi verificada uma redução de sementes duras de 83% nos tratamentos de 31,25, 125,0 e 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂, e de 100% nos tratamentos de 250 e 1000 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂. A análise também mostrou que em comparação ao controle, ocorreu um aumento de 80 e 20% de sementes anormais nos tratamentos de 31,25 e 250 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂. Os cotilédones não apresentaram apodrecimento, mas o hipocótilo das plântulas estava torcido, característica de uma plântula anormal.

As NPs de SiO₂ influenciaram o comprimento do caule das plantas de soja (Fig. 1A). Foi observado um aumento de 9,0 e 9,6% no comprimento dos caules após o tratamento das plantas com 500 e 1000 mg L⁻¹, quando comparado com o controle. Os demais tratamentos não influenciaram o comprimento dos caules das plantas de soja. O comprimento das raízes não foi afetado pelas NPs de SiO₂ (Fig. 1A). Por sua vez, a biomassa fresca das raízes foi diminuída em 29,7 a 57,4% quando tratadas com doses de 62,25 a 1000,0 mg L⁻¹ de SiO₂ (Fig. 1B). Reduções de 17,8 a 46,4% nos tratamentos com 62,25 a 1000,0 mg L⁻¹ também foram verificadas na biomassa seca das raízes (Fig. 1C). Já a biomassa fresca dos caules (Fig. 1B) não foi afetada significativamente, enquanto a biomassa seca dos caules (Fig. 1C) aumentou em 22,5 e 19,3% nas doses de 250,0 e 500,0 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂, respectivamente. Os tratamentos com NPs de SiO₂ não alteraram o diâmetro da raiz, contudo, reduziram o diâmetro do caule em 11,2, 33,3 e 13,86% (250, 500 e 1000 mg L⁻¹ SiO₂) (Fig. 1D).

Efeitos das NPs de SiO₂ sobre o metabolismo do nitrogênio

Após os experimentos iniciais de germinação e crescimento, a dose de 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂ foi selecionada para a realização dos experimentos subsequentes de análise do metabolismo do nitrogênio e proteômica.

O teor de proteínas totais nas raízes das plantas de soja foi reduzido em 16,6% (Fig. 2A) e nas folhas em 26,82% (Fig. 2B). A atividade da enzima glutamina sintetase (GS) não foi alterada nas raízes (Fig. 2C) e teve sua atividade reduzida em 44% nas folhas de plantas tratadas com NPs de SiO₂ (Fig. 2D). As NPs também influenciaram

significativamente a composição de aminoácidos livres na seiva bruta (Fig. 3A). Os aminoácidos asparagina e glutamina tiveram seus teores aumentados em 122,6 e 432,2%, respectivamente.

Impactos das NPs de SiO₂ no proteoma de raízes e folhas de soja

Foi realizado neste estudo uma análise proteômica livre de marcação (LC/MS^E) para identificar alterações no proteoma de raízes e folhas de plantas de soja expostas a 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂.

Na raiz, foram identificadas 417 proteínas não redundantes, das quais 309 (74,1%) foram expressas em ambos os tratamentos, controle e NPs de SiO₂ (Fig. 4). No total, 108 proteínas foram diferencialmente expressas entre raízes de planta controle e tratadas com NPs de SiO₂, sendo 80 *downreguladas* e 38 *upreguladas* (Fig. 3B). Nas folhas, foram identificadas um total de 144 proteínas não redundantes, das quais 84 (58,3%) foram expressas em ambos os tratamentos, controle e NPs de SiO₂ (Fig. 5). No total, 46 proteínas foram diferencialmente expressas entre raízes de planta controle e tratadas com NPs de SiO₂, sendo 11 *downreguladas* e 35 *upreguladas* (Fig. 3B). As proteínas foram analisadas no servidor *Kobas 3.0 (KEGG Orthology Based Annotation System)* para enriquecimento e obtenção dos processos biológicos afetados pelo tratamento da soja com NPs de SiO₂.

Os resultados revelaram que as proteínas *downreguladas* em raízes de soja pelas NPs de SiO₂ foram relacionadas as funções de metabolismo energético, com alteração no metabolismo do carbono (6 proteínas), fixação do carbono em organismos fotossintetizantes (6 proteínas); metabolismo dos carboidratos, com alteração no metabolismo do ascorbato (1 proteína), glicólise e gliconeogênese (6 proteínas), metabolismo do glioxilato e dicarboxilato (3 proteínas); metabolismo dos aminoácidos, com alteração no metabolismo da alanina, aspartato e glutamato (3 proteínas), biossíntese da arginina (3 proteínas), biossíntese de aminoácidos (10 proteínas), metabolismo da cisteína e metionina (2 proteínas), metabolismo da glutathione (2 proteínas), metabolismo de compostos contendo selênio (1 proteína); metabolismo dos lipídeos, com alteração no metabolismo do ácido linoleico (5 proteínas); metabolismo do nitrogênio (3 proteínas); na biossíntese de metabólitos secundários (13 proteínas); na biossíntese de fenilpropanoides (6 proteínas); em processos celulares, sendo no fagossomo (8 proteínas); no processamento de proteínas no retículo endoplasmático (2 proteínas); no transporte de

RNA (3 proteínas); na interação planta-patógeno (1 proteína) e em diferentes vias metabólicas (19 proteínas) (Tabela 2).

Em adição, as proteínas *upreguladas* em raízes de soja pelas NPs de SiO₂ foram relacionadas as funções de metabolismo energético, com alterações no metabolismo do carbono (6 proteínas), fixação do carbono em organismos fotossintetizantes (3 proteínas), fosforilação oxidativa (3 proteínas); metabolismo dos carboidratos, no metabolismo do ácido 2-oxocarboxílico (3 proteínas), no ciclo do citrato (5 proteínas), no metabolismo da frutose e manose (1 proteína), no metabolismo da galactose (1 proteína), na glicólise e gliconeogênese (1 proteína), no metabolismo do glioxilato e dicarboxilato (3 proteínas), interconversões de pentose e glucuronato (1 proteína), na via pentose fosfato (1 proteína), no metabolismo do amido e sucrose (3 proteínas), metabolismo do piruvato (2 proteínas); no metabolismo dos aminoácidos, com alterações na biossíntese dos aminoácidos (4 proteínas), no metabolismo da cisteína e metionina (2 proteínas), no metabolismo da glutatona (2 proteínas); no metabolismo dos lipídeos, alterando o metabolismo do ácido α -linoleico (1 proteína), o metabolismo do ácido linoleico (1 proteína); alterando também a biossíntese de metabólitos secundários (8 proteínas), a biossíntese de fenilpropanoides (1 proteína); processos celulares, tal qual o fagossomo (1 proteína), peroxissomo (1 proteína), proteassoma (2 proteínas), ribossomo (1 proteína); e vias metabólicas (13 proteínas) (Tabela 2).

Em folhas de plantas de soja tratadas com NPs de SiO₂, as proteínas *downreguladas* foram relacionadas com as funções do metabolismo energético, com alterações no metabolismo do carbono (6 proteínas), na fixação do carbono em organismos fotossintetizantes (4 proteínas); metabolismo dos carboidratos, com alterações no metabolismo do glioxilato e dicarboxilato (4 proteínas); no metabolismo da glicina, serina e treonina (3 proteínas), na biossíntese de metabólitos secundários (4 proteínas) e em diferentes vias metabólicas (6 proteínas) (Tab. 3). As proteínas *upreguladas* estiveram relacionadas ao metabolismo energético, com alterações nas proteínas de fotossíntese (3 proteínas), proteínas antena (4 proteínas), metabolismo do enxofre (1 proteína), via da pentose fosfato (1 proteína), metabolismo do carbono (6 proteínas), fixação do carbono em organismos fotossintéticos (2 proteínas); no metabolismo dos carboidratos, com alterações na glicólise e gliconeogênese (1 proteína), metabolismo do glioxilato e dicarboxilato (3 proteínas), metabolismo da frutose e manose (1 proteína); no metabolismo dos aminoácidos, com alterações na biossíntese dos aminoácidos (2 proteínas), metabolismo da cisteína e metionina (1 proteína), metabolismo da glicina,

serina e treonina (2 proteínas); no metabolismo do ácido linoleico (1 proteína); na biossíntese de metabólitos secundários (5 proteínas) e em vias metabólicas (10 proteínas) (Tabela 3).

Identificação das proteínas envolvidas em termos de vias metabólicas na raiz de plantas de soja

A tabela 2 classifica as proteínas diferencialmente reguladas entre raízes de plantas controle e tratadas com NPs de SiO₂. Em relação a proteínas downreguladas, a enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (C6TN36, I1KC70, I1MM44, I1K135, I1N7G7, Q2I0H4) foi *downregulada* em diferentes vias, a saber: metabolismo do carbono, fixação do carbono em organismos fotossintetizantes, biossíntese de metabólitos secundários, glicólise e gliconeogênese e em biossíntese de aminoácidos. A ascorbato peroxidase 2 citosólica (APx), foi *downregulada* no metabolismo do ascorbato. A expressão da glutamina sintetase (Q9FUK4, C6T8F0, A0A0R4J3P1) em raízes também foi reduzida no metabolismo do glioxilato e dicarboxilato, bem como no metabolismo da alanina, aspartato e glutamato, na biossíntese de aminoácidos, na biossíntese da arginina e no metabolismo do nitrogênio.

É possível verificar *downregulation* da lipoxigenase no metabolismo do ácido linoleico (B3TDK9, I1KUQ0, I1M596, B3TDK7, B3TDK6). A enzima peroxidase (C6THP4, C6TL64, I1L1B0) também foi *downregulada* no tratamento com NPs de SiO₂, tendo sua expressão reduzida nas vias de biossíntese de metabólitos secundários e na biossíntese de fenilpropanoides, sendo *downregulada* com diferentes acessos em outras vias metabólicas (C6THP4, C6TL64, A0A0R4J5J5, I1L1B0, I1MVN5). Na biossíntese de metabólitos secundários a metionina sintase (Q71EW8) foi *downregulada*, tal qual outras vias metabólicas como na biossíntese de aminoácidos e no metabolismo de compostos contendo selênio. Em processos celulares, no transporte e catabolismo, a tubulina de cadeia- α (I1JV03, I1NG45, I1ML11, I1J9I1, I1N898, I1LEC4, I1K9J7, I1L0G9) teve sua expressão reduzida no fagossomo.

No processamento de proteínas no retículo endoplasmático, duas proteínas foram downreguladas: a proteína dissulfeto-isomerase (I1M4K9) e a proteína HSP90-1 (D6C4Z9), sendo a última também *downregulada* na interação planta patógeno. No transporte de RNA, o fator de alongação α -1 (A0A0R4J4C3, A0A0R0ESZ8, A0A0R0FM97) foi *downregulado*, como também a proteína adenosil-homocisteinase (I1KS65) em vias metabólicas.

O tratamento das plantas de soja por NPs de SiO₂ também interferiu aumentando a expressão de proteínas na raiz. A enzima aconitato hidratase (I1J8H1) foi *upregulada* nas vias do metabolismo do carbono, metabolismo do ácido 2-oxocarboxílico, ciclo do citrato, metabolismo de glioxilato e dicarboxilato, biossíntese de aminoácidos, biossíntese de metabólitos secundários e outras vias metabólicas. A frutose-bifosfato aldolase (I1JPX8) teve sua expressão aumentada em diferentes vias, a saber: metabolismo do carbono, fixação do carbono em organismos fotossintetizantes, metabolismo da frutose e manose, glicólise e gliconeogênese, via das pentoses-fosfato, biossíntese de aminoácidos e outras vias metabólicas.

A isocitrato desidrogenase (C6T857, I1MJH1) também *upregulada* em diversas vias: metabolismo do carbono, metabolismo do ácido 2-oxocarboxílico, ciclo do citrato (ciclo do TCA), biossíntese dos aminoácidos, metabolismo da glutatona, biossíntese de metabólitos secundários, peroxissomo e outras vias metabólicas. A enzima malato desidrogenase (I1LXZ7, H2D5S3) foi *upregulada* no metabolismo do carbono, na fixação do carbono em organismos fotossintetizantes, no ciclo do citrato (ciclo do TCA), no metabolismo de glioxilato e dicarboxilato, no metabolismo do piruvato, no metabolismo da cisteína e metionina, na biossíntese de metabólitos secundários e também em outras vias metabólicas.

Todas as proteínas da fosforilação oxidativa foram *upreguladas*, sendo elas a subunidade β da ATP sintase (I1NFS4, A0A0R4J4C8) e a subunidade β da bomba de prótons vacuolar (I1N438). Ambas as proteínas também foram *upreguladas* em vias metabólicas. A UTP-glicose-1-fosfatouridiltransferase (I1MBR7), única proteína do metabolismo da galactose foi *upregulada*, caso encontrado também em interconversões de pentose e glucuronato, metabolismo do amido e sucrose e em vias metabólicas. No metabolismo do amido, a sacarose sintase (K7MZJ0) foi *upregulada*, bem como em vias metabólicas. Quatro casos de *upregulation* em lipoxigenases (I1NE44) apareceram: no metabolismo do ácido linoleico, no metabolismo do ácido α -linoleico, na biossíntese de metabólitos secundários e em vias metabólicas.

A proteína ribossomal SA 40S (I1JPX8) teve sua expressão aumentada na biossíntese de metabólitos secundários e no ribossomo. A peroxidase (C6TCA1) apareceu *upregulada* em três casos: na biossíntese de metabólitos secundários, na biossíntese de fenilpropanoides e em vias metabólicas. As duas proteínas encontradas no proteossoma foram *upreguladas*, sendo elas a Subunidade α da proteossoma (A0A0R4J3L5) e a Subunidade β da proteossoma (I1KXF0).

Identificação das proteínas envolvidas em termos de vias metabólicas nas folhas de plantas de soja

A tabela 3 classifica as proteínas diferencialmente reguladas entre folhas de plantas controle e tratadas com NPs de SiO₂. Na fotossíntese, a ferredoxina (C6SX81, I1K498) foi downregulada, assim como a proteína H do sistema de clivagem de glicina (C6T0B7, A0A0R4J4A7), no metabolismo do carbono, do glioxilato e dicarboxilato, da glicina, serina e treonina e em vias metabólicas. No metabolismo do carbono, a ribulose-bifosfato carboxilase de cadeia curta (Rubisco) (Q39832, C6T1Y2) foi downregulada, bem como no metabolismo do glioxilato e dicarboxilato, nas vias metabólicas e na biossíntese de metabólitos secundários. Pôde-se encontrar *downregulation* na fosforibulocinase (I1J4L6, I1L540) na fixação do carbono em organismos fotossintetizantes, e também no metabolismo do carbono.

Além disso, foi possível encontrar proteínas upreguladas nas folhas de plantas de soja tratadas com NPs de SiO₂. Na fotossíntese, a proteína enhancer-2 envolvente de oxigênio (I1M712) foi upregulada bem como a proteína de ligação a clorofila α e β nas proteínas antena da fotossíntese. A única proteína encontrada no metabolismo do enxofre, a cisteína sintase (C6TMX6), foi upregulada, assim como no metabolismo do carbono, na biossíntese de aminoácidos e na biossíntese de metabólitos secundários. No metabolismo do carbono foi encontrada a proteína frutose-bifosfato aldolase, também upregulada na via das pentoses fosfato, fixação do carbono em organismos fotossintetizantes, glicólise e gliconeogênese, metabolismo da frutose e manose, biossíntese dos aminoácidos e vias metabólicas.

A enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (C6T9R8) apareceu uma vez upregulada no metabolismo do carbono, e a gliceraldeído-bifosfato desidrogenase (C6T9R8) foi upregulada na fixação do carbono em organismos fotossintetizantes. Além dessas enzimas, a proteína H do sistema de clivagem de glicina (I1JTW7, I1K8C9) também teve sua expressão upregulada no metabolismo da glicina, serina e treonina, vias metabólicas e biossíntese de metabólitos secundários. A única enzima encontrada no metabolismo dos lipídios foi a lipoxigenase (B3TDK7), upregulada no metabolismo do ácido linoleico. Nas vias metabólicas, a proteína de ligação a clorofila α e β (I1J7A8, C6TNE6, C6TLM4, Q43437) foi upregulada.

Discussão

Como descrito anteriormente, as NPs de SiO₂ não alteraram os parâmetros de germinação em sementes de soja quando comparadas ao controle (Tab. 1), corroborando com os resultados encontrados por Adhikari et al. (2013) em arroz (*Oryza sativa*), em que sementes expostas as NPs de SiO₂ obtiveram de 95 a 100% de porcentagem de germinação, bem como o controle (Adhikari et al., 2013). Por outro lado, sementes expostas a NPs de SiO₂ geralmente tem sua porcentagem de germinação melhorada. Foi demonstrado que sementes de milho (*Zea mays*) expostas a 1000 mg L⁻¹ de NP de SiO₂, obtiveram a porcentagem de germinação aumentada de 97% a 105%, além de induzir uma melhor porcentagem de germinação em tomate (*Lycopersicon esculentum*) sob estresse abiótico, confirmando a não toxicidade da NP para aplicação na agricultura (Gopalu et al., 2015; Siddiqui and Al-Whaibi, 2014).

O crescimento inicial das plântulas de soja foi avaliado após 72 h de germinação na ausência e presença de NPs de SiO₂ (Tab. 1). O comprimento inicial da radícula das sementes germinadas não foi alterado pelas NPs. Entretanto, houve a redução de 83 a 100% de sementes duras na dose de 1000 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂, indicando uma melhora na absorção da água por parte das sementes. Este resultado pode estar relacionado a regulação de aquaporinas, uma classe de proteínas intrínsecas da membrana, com função de captação de água, nutrientes para o desenvolvimento das sementes, e transporte de CO₂ (Talakayala et al., 2020). As NPs de SiO₂ melhoraram a condutância hidráulica em tomate sob condição de estresse hídrico, além de regular a expressão de aquaporinas (subfamília PIP) associadas a condutância da água nas raízes sob estresse hídrico em sorgo (*Sorghum bicolor* L.) (Shi et al., 2016).

De modo geral, o comprimento das raízes das plantas tratadas com as NPs não foi alterado quando comparado ao controle (Fig. 1A), resultados semelhantes aos encontrados em mudas de pêra (*Pyrus biosseriana*), que quando expostas a diferentes doses de NPs de SiO₂ (10 - 1000 mg L⁻¹ NPs SiO₂) não apresentaram o comprimento das raízes alterado (Zarafshar et al., 2015). Por outro lado, ocorreu uma redução dose-dependente da biomassa fresca das raízes quando tratadas com NPs de SiO₂ (Fig. 1B). Da mesma forma, houve a redução da biomassa seca das raízes (Fig. 1C), quando comparadas ao controle, fato que pode estar relacionado a resultados encontrados anteriormente, que associa o aumento de concentração das NPs de SiO₂ a uma redução na resistência da

membrana perturbando sua integridade, podendo assim, levar a redução de biomassa (Liu et al., 2014).

No presente estudo, foi possível verificar o aumento no comprimento dos caules, aumento na biomassa seca e redução do diâmetro do caule (Fig. 1), sendo o último de forma dose-dependente a exposição as NPs de SiO₂. Neste contexto, é importante ressaltar que alterações no caule afetam o desenvolvimento da planta, pois ele atua como uma estrutura física de suporte aos órgãos reprodutivos, bem como para o tecido vascular compreendendo o xilema e floema (Alerding et al., 2018). O estiolamento da planta com redução do diâmetro e aumento no comprimento pode deixar a planta susceptível a quebra do caule ou ao acamamento, e já foi demonstrado que alguns compostos, como o ácido ferúlico e o glifosato, são capazes de afetar o crescimento da cultura de soja (Voll, 1993). A altura das plantas de soja, bem como a redução da biomassa fresca das raízes foi reduzida de forma linear a exposição ao ácido ferúlico e glifosato, resultados similares ao encontrado neste estudo. Esses resultados poderiam indicar um aumento de produção na cultura, contudo, a redução da biomassa fresca das raízes pode implicar em menor absorção de água e nutrientes do solo (Voll, 1993).

Os resultados obtidos até então demonstraram alteração no crescimento das plantas tratadas com NPs de SiO₂. Verificar enzimas do metabolismo do nitrogênio bem como o proteoma das plantas, pôde elucidar os resultados obtidos no crescimento. Qualquer interferência nos processos de fixação, nitrificação e desnitrificação pode culminar em déficit de nitrogênio, podendo comprometer o crescimento e funcionamento adequado das plantas. Como descrito anteriormente, o teor de proteínas totais foi reduzido em raízes e plantas de soja tratadas com a NP (Fig. 2A e 2B), resultado evidenciado na proteômica de raízes e folhas, com *downregulation* de 80 proteínas nas raízes, e 11 proteínas nas folhas, em comparação ao controle (Fig. 3B).

Com a análise proteômica realizada neste estudo, foi possível observar que no metabolismo dos carboidratos das raízes de soja, apenas a enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, responsável pela sexta etapa da glicólise, foi downregulada. As demais enzimas envolvidas no metabolismo dos carboidratos foram upreguladas após o tratamento com NPs (Tab. 2). Esses resultados podem estar relacionados a uma resposta a alta disponibilidade de carboidratos, concordando com o verificado no crescimento dos frutos de maçã (*Malus domestica*), em que a expressão de genes das enzimas envolvidas no metabolismo dos carboidratos foi aumentada, acompanhando o aumento da concentração desses carboidratos (Dash et al., 2013).

Visando verificar as alterações no transporte e concentração de aminoácidos, a seiva bruta foi coletada e os aminoácidos livres do xilema foram analisados por HPLC. Foi possível encontrar os aminoácidos glutamato, asparagina, glutamina, treonina, alanina, tirosina, metionina, valina e leucina. Neste contexto, é importante ressaltar que as células vegetais realizam uma rápida conversão do amônio em aminoácidos para evitar sua toxicidade, e a principal rota para essa conversão envolve duas reações sequenciais da glutamina sintetase (GS) e glutamato sintase (GOGAT). A enzima GS combina o amônio com o glutamato para formar a glutamina, e uma vez assimilado em glutamina e glutamato, o nitrogênio é incorporado em outros aminoácidos por reações de transaminação (Taiz et al., 2017). Notavelmente, foi verificado um aumento da expressão das enzimas encontradas no ciclo do ácido cítrico (I1LXZ7, I1J8H1, I1MJH1, C6T857, H2D5S3), ressaltando a enzima malato-desidrogenase, que catalisa a conversão do malato em oxaloacetato, precursor de aspartato. Esse aminoácido participa do transporte malato-aspartato, e faz parte da principal rota para a síntese de asparagina. Essa síntese depende da ação da enzima asparagina sintetase (AS), que transfere o nitrogênio amida da glutamina para aspartato. A asparagina une o metabolismo do carbono e do nitrogênio, devido à alta razão N:C do aminoácido (Taiz et al., 2017). Na seiva bruta das plantas de soja tratadas com as NPs de SiO₂ foi possível verificar uma alta concentração do aminoácido asparagina, evidenciando um possível impacto positivo no ciclo do ácido cítrico das plantas tratadas com 500 mg L⁻¹ de SiO₂. Nas raízes, a GS se encontra nos plastídios, e a atividade da GS não foi alterada nas plantas de soja neste estudo (Fig. 2C). Contudo, a expressão da GS foi downregulada no metabolismo do nitrogênio das raízes de soja (Tab. 2). É sabido que quando há inibição da GS, ocorre o estímulo da expressão da AS, favorecendo a assimilação do nitrogênio em asparagina, pois é um composto rico em nitrogênio e estável para ser armazenado por muito tempo (Taiz et al., 2017), outra evidência para o acúmulo de asparagina nas plantas de soja.

Em relação a proteômica de folhas, foi possível observar uma redução na expressão da enzima Rubisco enzima responsável pela fixação de CO₂, início do ciclo de Calvin. Sabe-se que a expressão dos genes da Rubisco de cadeia curta e longa é influenciada por fatores internos e externos a planta, limitada principalmente às folhas e sendo altamente responsiva a sinais que afetam o crescimento e desenvolvimento vegetal (Patel and Berry, 2008). Estudos demonstraram que NPs de SiO₂ foram capazes de aumentar a condutância mesofílica em 164,53% em plantas de soja, disponibilizando maior concentração de CO₂ para a Rubisco (de Melo et al., 2022). Além disso, maiores doses de CO₂ foram capazes

de regular a expressão da enzima, como demonstra o achado de Moore *et al.* (1998). No estudo, plantas de soja expostas a 400 e 1000 cm³ m⁻³ de CO₂, obtiveram a expressão do gene da Rubisco de cadeia curta alterada, o que reduziu os teores da enzima total além de ocasionar o acúmulo de carboidratos em plantas de soja (Moore et al., 1998). Nossos dados em conjunto não demonstram um possível estresse fotossintético, já que as demais enzimas do metabolismo fotossintético tiveram a expressão aumentada. Portanto, sugere-se que as plantas de soja expostas a NPs de SiO₂ de nosso estudo tiveram a expressão da Rubisco e ferredoxina reduzidas como mecanismo compensatório a alta disponibilidade de CO₂, o que contribuiu para que a enzima atuasse como carboxilase, favorecendo a assimilação do CO₂ e o crescimento da planta. Para dados conclusivos, faz-se necessário mais estudos dos impactos das NPs de SiO₂ sobre plantas de soja, especialmente no aparato fotossintético.

Conclusão

Plantas de soja tratadas com diferentes doses de NPs de SiO₂ apresentaram mudanças em seu crescimento, fotossíntese e proteoma. Nossos dados demonstraram que as NPs foram capazes de melhorar a absorção de água pelas sementes, podendo impactar positivamente a germinação. Contudo, a biomassa fresca das raízes foi reduzida, podendo prejudicar a planta na captação de nutrientes do solo e além disso, o caule apresentou sinais de estiolamento, que pode prejudicar o desenvolvimento da planta. Também foi verificado que o ciclo do ácido cítrico foi impactado positivamente pelo aumento da expressão das enzimas da via, e como consequência, o aumento da concentração de asparagina na seiva bruta, um aminoácido rico em nitrogênio e estável ao armazenamento. Ocorreu uma redução na atividade da GS foliar, na expressão da Rubisco e na expressão da ferredoxina, porém, nossos dados não revelam toxicidade para a fotossíntese, uma vez que o metabolismo dos carboidratos e do nitrogênio não foi alterado. Sugere-se mais estudos para elucidar os efeitos das NPs de SiO₂ sobre plantas de soja.

Referências

- Adhikari, T., Kundu, S., Rao, A.S., 2013. Impact of SiO₂ and Mo Nano Particles on Seed Germination of Rice (*Oryza Sativa* L.). International Journal of Agriculture and Food Science Technology 4, 809–816.

- Alerding, A.B., Waalkes, M.R., Hill, E.S., Rowe, R.A., Parsons, G., 2018. Stem growth during seed production in soybean: Implications for pod yield. *Journal of Crop Improvement* 32, 156–174. <https://doi.org/10.1080/15427528.2017.1381866>
- Benson, J.R., Hare, P.E., 1975. O-phthalaldehyde: fluorogenic detection of primary amines in the picomole range. Comparison with fluoescamine and ninhydrin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 72, 619–622. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.2.619>
- Borghetti, F., Ferreira, A., 2004. *Germinação: Do básico ao aplicado*.
- Bradford, M.M., 1976. Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones, R.L., 2015. *Biochemistry and molecular biology of plants*.
- Dash, M., Johnson, L.K., Malladi, A., 2013. Reduction of Fruit Load Affects Early Fruit Growth in Apple by Enhancing Carbohydrate Availability, Altering the Expression of Cell Production-related Genes, and Increasing Cell Production. *Journal of the American Society for Horticultural Science J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 138, 253–262. <https://doi.org/10.21273/JASHS.138.4.253>
- De Melo, G.S.R., Santos, W.D., Ferrarese-Filho, O., Marchiosi, R. 2022. Nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂) melhoram o desempenho do PII através do aumento da condutância mesofílica e da forma oxidada da plastoquinona Qa em soja. *New Phytologist*.
- Dimkpa, C.O., 2014. Review Can nanotechnology deliver the promised benefits without negatively impacting soil microbial life? *Journal of Basic Microbiology* 889–904. <https://doi.org/10.1002/jobm.201400298>
- Gopalu Karunakaran, Rangaraj Suriyaprabha, Venkatachalam Rajendran Kannan, N., 2015. Influence of ZrO₂, SiO₂, Al₂O₃ and TiO₂ nanoparticles on maize seed germination under different growth conditions. *The institution of Engineering and technology* 10, 171–177. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2015.0007>
- Jarrett, H.W., Cooksy, K.D., Ellis, B., Anderson, J.M., 1986. The separation of o-phthalaldehyde derivatives of amino acids by reversed-phase chromatography on octylsilica columns. *Analytical Biochemistry* 153, 189–198. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697\(86\)90079-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697(86)90079-5)
- Keller, A.A., McFerran, S., Lazareva, A., Suh, S., 2013. Global life cycle releases of engineered nanomaterials. *Journal of Nanoparticle Research* 15. <https://doi.org/10.1007/s11051-013-1692-4>
- Liu, Y., Zhang, Z., Zhang, Q., Baker, G.L., Worden, R.M., 2014. Biomembrane disruption by silica-core nanoparticles: effect of surface functional group measured using a tethered bilayer lipid membrane. *Biochim Biophys Acta* 1838, 429–437. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.09.007>
- Marur, C.J., Sodek, L., Magalhes, A.C., 1994. Free Amino Acids in Leaves of Cotton Plants Under Water Deficit. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 6, 103–108.

- Ministério da Agricultura, P. e Abastecimento., 2009. Regras para análise de sementes. Biblioteca Nacional de Agricultura, Brasília. <https://doi.org/978-85-99851-70-8>
- Moore, B.D., Cheng, S.H., Rice, J., Seemann, J.R., 1998. Sucrose cycling, Rubisco expression, and prediction of photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO₂. *Plant, Cell and Environment* 21, 905–915. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1998.00324.x>
- Murad, A.M., Rech, E.L., 2012. NanoUPLC-MSE proteomic data assessment of soybean seeds using the Uniprot database. *BMC Biotechnology* 12, 82. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-12-82>
- Patel, M., Berry, J.O., 2008. Rubisco gene expression in C4 plants, in: *Journal of Experimental Botany*. pp. 1625–1634. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm368>
- Shi, Y., Zhang, Y., Han, W., Feng, R., Hu, Y., Guo, J., Gong, H., 2016. Silicon Enhances Water Stress Tolerance by Improving Root Hydraulic Conductance in *Solanum lycopersicum* L. *Frontiers in Plant Science* . <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00196>
- Siddiqui, M.H., Al-Whaibi, M.H., 2014. Role of nano-SiO₂ in germination of tomato (*Lycopersicum esculentum* seeds Mill.). *Saudi Journal of Biological Sciences* 21, 13–17. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.04.005>
- Siddiqui, M.H., Al-Whaibi, M.H., Faisal, M., al Sahli, A.A., 2014. Nano-silicon dioxide mitigates the adverse effects of salt stress on *Cucurbita pepo* L. *Environmental Toxicology and Chemistry* 33, 2429–2437. <https://doi.org/10.1002/etc.2697>
- Sodek, L., Lea, P.J., Mifflin, B.J., 1980. Distribution and Properties of a Potassium-Dependent Asparaginase Isolated from Developing Seeds of *Pisum sativum* and Other Plants. *Plant Physiology* 65, 22–26. <https://doi.org/10.1104/pp.65.1.22>
- Taiz, L., Zeiger, E., Max, I., Angus, M., 2017. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*.
- Talakayala, A., Ankanagari, S., Garlandine, M., 2020. Role of Silicon Transportation Through Aquaporin Genes for Abiotic Stress Tolerance in Plants. *Protective Chemical Agents in the Amelioration of Plant Abiotic Stress*, Wiley Online Books. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781119552154.ch31>
- Voll, E., 1993. Efeitos da interação de ácido ferúlico e glifosate em soja. *Planta Daninha*, 11, 5–8.
- Wang, Y., Zhu, X., Lao, Y., Lv, X., Tao, Y., Huang, B., Wang, J., Zhou, J., Cai, Z., 2016. TiO₂ nanoparticles in the marine environment: Physical effects responsible for the toxicity on algae *Phaeodactylum tricorutum*. *Science of the Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.164>
- Xie, C., Mao, X., Huang, J., Ding, Y., Wu, J., Dong, S., Kong, L., Gao, G., Li, C.-Y., Wei, L., 2011. KOBAS 2.0: a web server for annotation and identification of enriched pathways and diseases. *Nucleic Acids Research* 39, W316–W322. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr483>
- Zarafshar, M., Akbarinia, M., Askari, H., Hosseini, S.M., Rahaie, M., Struve, D., 2015. Toxicity Assessment of SiO₂ Nanoparticles to Pear Seedlings. *International Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 11, 13–22.

Tabelas

Tabela 1. Análise de germinação de sementes e do crescimento inicial (72 h) de sementes de soja expostas a diferentes concentrações de NPs de SiO₂ (0, 31.25, 62.5, 125.0, 250.0, 500.0, 1000.0 mg L⁻¹). Parâmetros analisados: tempo médio de germinação por hora (TMG), percentagem de germinação (%G), velocidade média de germinação por hora (VMG) e índice de velocidade de germinação (IVG). Médias (n=5) - teste T ($p \leq 0,05$).

	0	31,25	62,5	125	250	500	1000
TMG (h)	30,95 ± 1,44	30,45 ± 1,53	30,45 ± 1,05	31,84 ± 0,62	31,87 ± 0,94	32,38 ± 0,97	32,60 ± 0,83
%G	80,0 ± 8,24	78,75 ± 4,23	67,5 ± 3,64	86,25 ± 9,76	97,5 ± 2,50	79,8 ± 74	93,75 ± 6,2
VMG (h⁻¹)	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
IVG	0,45 ± 0,03	0,46 ± 0,02	0,37 ± 0,025	0,48 ± 0,06	0,55 ± 0,03	0,42 ± 0,02	0,49 ± 0,03
Comprimento (cm)	3,1 ± 0,05	3,3 ± 0,8	3,3 ± 0,15	3,4 ± 0,12	3,6 ± 0,18	3,4 ± 0,1	3,7 ± 0,08

Tabela 2. Proteínas reguladas diferencialmente (*Upreguladas* e *Downreguladas*) entre raízes de plantas de soja tratadas na ausência (Controle) e presença de 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂. O pós-processamento de informações foi realizado no *Kobas 3.0* (<http://kobas.cbi.pku.edu.cn/kobas3>) e a expressão em *ProteinLynx Global SERVER*TM (PLGS) : *Waters*.

Acesso (<i>Uniprot</i>)	Descrição	Score	SiO ₂ - NPs:Controle Razão Log(e)	Valor_P
Metabolismo				
Metabolismo energético				
<i>Metabolismo do carbono</i>				
I1J8H1	Aconitato hidratase OS=Glycine max OX=3847 GN=100499625 PE=3 SV=1	3161,35	0,09	0,96
I1JPX8	Frutose-bifosfato aldolase OS=Glycine max OX=3847 GN=100527532 PE=3 SV=1	1726,23	0,14	0,99
C6TN36	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100782924 PE=2 SV=1	8397,59	-0,07	0,04
I1KC70	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100783902 PE=3 SV=1	11356,93	-0,17	0
I1MM44	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100789951 PE=3 SV=1	1115,68	-0,54	0
I1K135	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100794095 PE=3 SV=1	4351,92	-0,25	0
I1N7G7	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100810217 PE=3 SV=1	3804,58	-0,24	0
Q2I0H4	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=GAPC1 PE=2 SV=1	11049,41	-0,21	0
C6T857	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100786103 PE=2 SV=1	1086	0,44	0,99

I1MJH1	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100816688 PE=3 SV=1	1188,56	0,48	0,98
I1LXZ7	Malato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100783188 PE=3 SV=1	3275,18	0,28	1
H2D5S3	Malato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100811402 PE=2 SV=1	8634,05	0,34	1

Fixação do carbono em organismos fotossintetizantes

I1JPX8	Frutose-bifosfato aldolase OS=Glycine max OX=3847 GN=100527532 PE=3 SV=1	1726,23	0,14	0,99
C6TN36	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100782924 PE=2 SV=1	8397,59	-0,07	0,04
I1KC70	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100783902 PE=3 SV=1	11356,93	-0,17	0
I1MM44	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100789951 PE=3 SV=1	1115,68	-0,54	0
I1K135	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100794095 PE=3 SV=1	4351,92	-0,25	0
I1N7G7	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100810217 PE=3 SV=1	3804,58	-0,24	0
Q2I0H4	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=GAPC1 PE=2 SV=1	11049,41	-0,21	0
I1LXZ7	Malato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100783188 PE=3 SV=1	3275,18	0,28	1
H2D5S3	Malato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100811402 PE=2 SV=1	8634,05	0,34	1

Fosforilação oxidativa

I1NFS4	Subunidade β da ATP sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=100789705 PE=3 SV=1	7635,04	0,22	1
A0A0R4J4C8	Subunidade β da ATP sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=100797948 PE=3 SV=1	7827,31	0,21	1
I1N438	Subunidade β da bomba de prótons vacuolar OS=Glycine max OX=3847 GN=100804483 PE=3 SV=2	1512,4	0,13	0,95

Metabolismo dos carboidratos

Metabolismo do ácido 2-oxocarboxílico

I1J8H1	Aconitato hidratase OS=Glycine max OX=3847 GN=100499625 PE=3 SV=1	3161,35	0,09	0,96
I1MJH1	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100816688 PE=3 SV=1	1188,56	0,48	0,98
C6T857	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100786103 PE=2 SV=1	1086	0,44	0,99

Metabolismo do ascobato

Q76LA6	Ascorbato peroxidase 2 citosólica OS=Glycine max OX=3847 GN=apx2 PE=2 SV=1	7346,53	-0,49	0
--------	---	---------	-------	---

Ciclo do citrato (ciclo do TCA)

I1LXZ7	Malato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100783188 PE=3 SV=1	3275,18	0,28	1
I1J8H1	Aconitato hidratase	3161,35	0,09	0,96

I1MJH1	OS=Glycine max OX=3847 GN=100499625 PE=3 SV=1 Isocitrato desidrogenase [NADP]	1188,56	0,48	0,98
C6T857	OS=Glycine max OX=3847 GN=100816688 PE=3 SV=1 Isocitrato desidrogenase [NADP]	1086	0,44	0,99
H2D5S3	OS=Glycine max OX=3847 GN=100786103 PE=2 SV=1 Malato desidrogenase	8634,05	0,34	1

Metabolismo da frutose e manose

I1JPX8	OS=Glycine max OX=3847 GN=100527532 PE=3 SV=1 Frutose-bifosfato aldolase	1726,23	0,14	0,99
--------	---	---------	------	------

Metabolismo da galactose

I1MBR7	OS=Glycine max OX=3847 GN=100790112 PE=3 SV=1 UTP-glicose-1-fosfatouridiltransferase	876,91	0,25	1
--------	---	--------	------	---

Glicólise / Gliconeogênese

I1JPX8	OS=Glycine max OX=3847 GN=100527532 PE=3 SV=1 Frutose-bifosfato aldolase	1726,23	0,14	0,99
C6TN36	OS=Glycine max OX=3847 GN=100782924 PE=2 SV=1 Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase	8397,59	-0,07	0,04
I1KC70	OS=Glycine max OX=3847 GN=100783902 PE=3 SV=1 Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase	11356,93	-0,17	0
I1MM44	OS=Glycine max OX=3847 GN=100789951 PE=3 SV=1 Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase	1115,68	-0,54	0
I1K135	OS=Glycine max OX=3847 GN=100794095 PE=3 SV=1 Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase	4351,92	-0,25	0
I1N7G7	OS=Glycine max OX=3847 GN=100810217 PE=3 SV=1 Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase	3804,58	-0,24	0
Q2I0H4	OS=Glycine max OX=3847 GN=GAPC1 PE=2 SV=1 Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase	11049,41	-0,21	0

Metabolismo de glioxilato e dicarboxilato

H2D5S3	OS=Glycine max OX=3847 GN=100811402 PE=2 SV=1 Malato desidrogenase	8634,05	0,34	1
I1LXZ7	OS=Glycine max OX=3847 GN=100783188 PE=3 SV=1 Malato desidrogenase	3275,18	0,28	1
Q9FUK4	OS=Glycine max OX=3847 GN=548082 PE=2 SV=1 Glutamina sintetase	24341,65	-0,33	0
C6T8F0	OS=Glycine max OX=3847 GN=547620 PE=2 SV=1 Glutamina sintetase	2067,11	-0,27	0
A0A0R4J3P1	OS=Glycine max OX=3847 GN=100817922 PE=3 SV=1 Glutamina sintetase	1477,63	-0,2	0,04
I1J8H1	OS=Glycine max OX=3847 GN=100499625 PE=3 SV=1 Aconitato hidratase	3161,35	0,09	0,96

Interconversões de pentose e glucuronato

I1MBR7	OS=Glycine max OX=3847 GN=100790112 PE=3 SV=1 UTP-glicose-1-fosfato uridiltransferase	876,91	0,25	1
--------	--	--------	------	---

Via da pentose fosfato

I1JPX8	Frutose-bifosfato aldolase OS=Glycine max OX=3847 GN=100527532 PE=3 SV=1	1726,23	0,14	0,99
<i>Metabolismo do amido e sucrose</i>				
I1MBR7	UTP-glicose-1-fosfato uridiltransferase OS=Glycine max OX=3847 GN=100790112 PE=3 SV=1	876,91	0,25	1
K7MZJ0	Sacarose sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=100802045 PE=3 SV=1	825,21	0,16	0,98
<i>Metabolismo do piruvato</i>				
I1LXZ7	Malato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100783188 PE=3 SV=1	3275,18	0,28	1
H2D5S3	Malato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100811402 PE=2 SV=1	8634,05	0,34	1
Metabolismo dos aminoácidos				
<i>Metabolismo da alanina, aspartato e glutamato</i>				
C6T8F0	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=547620 PE=2 SV=1	2067,11	-0,27	0
A0A0R4J3P1	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=100817922 PE=3 SV=1	1477,63	-0,2	0,04
Q9FUK4	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=548082 PE=2 SV=1	24341,65	-0,33	0
<i>Biossíntese dos aminoácidos</i>				
I1J8H1	Aconitato hidratase OS=Glycine max OX=3847 GN=100499625 PE=3 SV=1	3161,35	0,09	0,96
I1JPX8	Frutose-bifosfato aldolase OS=Glycine max OX=3847 GN=100527532 PE=3 SV=1	1726,23	0,14	0,99
A0A0R4J3P1	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=100817922 PE=3 SV=1	1477,63	-0,2	0,04
C6T8F0	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=547620 PE=2 SV=1	2067,11	-0,27	0
Q9FUK4	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=548082 PE=2 SV=1	24341,65	-0,33	0
C6TN36	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100782924 PE=2 SV=1	8397,59	-0,07	0,04
I1KC70	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100783902 PE=3 SV=1	11356,93	-0,17	0
I1MM44	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100789951 PE=3 SV=1	1115,68	-0,54	0
I1K135	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100794095 PE=3 SV=1	4351,92	-0,25	0
I1N7G7	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100810217 PE=3 SV=1	3804,58	-0,24	0
Q2I0H4	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=GAPC1 PE=2 SV=1	11049,41	-0,21	0
C6T857	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100786103 PE=2 SV=1	1086	0,44	0,99
I1MJH1	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100816688 PE=3 SV=1	1188,56	0,48	0,98
Q71EW8	Metionina sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=547643 PE=2 SV=1	11106,11	-0,17	0

Metabolismo da cisteína e metionina

I1KS65	Adenosil-homocisteína OS=Glycine max OX=3847 GN=100786939 PE=3 SV=1	2036,81	-0,29	0
I1LXZ7	Malato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100783188 PE=3 SV=1	3275,18	0,28	1
H2D5S3	Malato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100811402 PE=2 SV=1	8634,05	0,34	1
Q71EW8	Metionina sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=547643 PE=2 SV=1	11106,11	-0,17	0
<i>Metabolismo da glutatona</i>				
Q76LA6	Ascorbato peroxidase-2 citosólica OS=Glycine max OX=3847 GN=apx2 PE=2 SV=1	7346,53	-0,49	0
C6T857	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100786103 PE=2 SV=1	1086	0,44	0,99
I1MJH1	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100816688 PE=3 SV=1	1188,56	0,48	0,98
I1JBT5	Glutationa-S-transferase classe III (TAU – Indutora de auxina) OS=Glycine max OX=3847 GN=100805908 PE=2 SV=1	617,13	-0,93	0,04
<i>Biossíntese da arginina</i>				
C6T8F0	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=547620 PE=2 SV=1	2067,11	-0,27	0
Q9FUK4	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=548082 PE=2 SV=1	24341,65	-0,33	0
A0A0R4J3P1	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=100817922 PE=3 SV=1	1477,63	-0,2	0,04
<i>Metabolismo selenocompound</i>				
Q71EW8	Metionina sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=547643 PE=2 SV=1	11106,11	-0,17	0
Metabolismo dos lipídeos				
<i>Metabolismo do ácido α-linoleico</i>				
I1NE44	Lipoxigenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100782277 PE=3 SV=2	338,74	0,29	0,99
<i>Metabolismo do ácido linoleico</i>				
I1NE44	Lipoxigenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100782277 PE=3 SV=2	338,74	0,29	0,99
B3TDK9	Lipoxigenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100803358 PE=3 SV=1	9589,85	-0,11	0
I1KUQ0	Lipoxigenase OS=Glycine max OX=3847 GN=547694 PE=3 SV=1	821,6	-0,22	0
I1M596	Lipoxigenase OS=Glycine max OX=3847 GN=547774 PE=2 SV=1	1081,6	-0,15	0
B3TDK7	Lipoxigenase OS=Glycine max OX=3847 GN=547836 PE=3 SV=1	20299,55	-0,15	0
B3TDK6	Lipoxigenase OS=Glycine max OX=3847 GN=Lx3 PE=3 SV=1	961,35	-0,29	0
Metabolismo do nitrogênio				
A0A0R4J3P1	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=100817922 PE=3 SV=1	1477,63	-0,2	0,04
C6T8F0	Glutamina sintetase	2067,11	-0,27	0

	OS=Glycine max OX=3847 GN=547620 PE=2 SV=1			
Q9FUK4	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=548082 PE=2 SV=1	24341,65	-0,33	0
Biosíntese de metabólitos secundários				
I1LXZ7	Malato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100783188 PE=3 SV=1	3275,18	0,28	1
I1MJH1	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100816688 PE=3 SV=1	1188,56	0,48	0,98
C6T857	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100816688 PE=3 SV=1	1188,56	0,48	0,98
I1N7G7	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100810217 PE=3 SV=1	3804,58	-0,24	0
C6THP4	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100793327 PE=2 SV=1	467,53	-0,8	0,04
I1JPX8	Proteína ribossomal SA 40S OS=Glycine max OX=3847 GN=548014 PE=3 SV=1	817,13	0,46	0,99
C6TL64	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100804350 PE=2 SV=1	467,53	-0,72	0,05
C6TCA1	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100795412 PE=2 SV=1	6691,32	0,09	0,95
I1K135	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100794095 PE=3 SV=1	4351,92	-0,25	0
I1MM44	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100789951 PE=3 SV=1	1115,68	-0,54	0
I1L7Z5	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100799691 PE=3 SV=2	884,71	-1,91	0,04
I1NE44	Lipoxigenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100782277 PE=3 SV=2	338,74	0,29	0,99
H2D5S3	Malato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100811402 PE=2 SV=1	8634,05	0,34	1
C6TN36	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100782924 PE=2 SV=1	8397,59	-0,07	0,04
I1L1B0	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100808542 PE=3 SV=1	567,78	-0,71	0,03
Q2I0H4	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=GAPC1 PE=2 SV=1	11049,41	-0,21	0
I1MVN5	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100819937 PE=3 SV=1	1179,34	-0,94	0
I1J8H1	Aconitato hidratase OS=Glycine max OX=3847 GN=100499625 PE=3 SV=1	3161,35	0,09	0,96
A0A0R4J5J5	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100804620 PE=3 SV=1	467,53	-0,73	0,03
Q71EW8	Metionina sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=547643 PE=2 SV=1	11106,11	-0,17	0
I1KC70	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100783902 PE=3 SV=1	11356,93	-0,17	0
Biosíntese de fenilpropanóides				
C6THP4	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100793327 PE=2 SV=1	467,53	-0,8	0,04
C6TCA1	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100793327 PE=2 SV=1	6691,32	0,09	0,95
I1L7Z5	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100799691 PE=3 SV=2	884,71	-1,91	0,04

C6TL64	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100804350 PE=2 SV=1	467,53	-0,72	0,05
A0A0R4J5J5	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100804350 PE=2 SV=1	467,53	-0,73	0,03
I1L1B0	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100808542 PE=3 SV=1	567,78	-0,71	0,03
I1MVN5	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100819937 PE=3 SV=1	1179,34	-0,94	0

PROCESSOS CELULARES

Transporte e catabolismo

Fagossomo

I1JV03	Tubulina de cadeia α OS=Glycine max OX=3847 GN=100779027 PE=3 SV=1	2472,78	-0,16	0,02
I1NG45	Tubulina de cadeia α OS=Glycine max OX=3847 GN=100781185 PE=3 SV=1	2487,2	-0,16	0,03
I1ML11	Tubulina de cadeia α OS=Glycine max OX=3847 GN=100784487 PE=3 SV=1	365,26	-0,31	0,05
I1J9I1	Tubulina de cadeia α OS=Glycine max OX=3847 GN=100786598 PE=3 SV=1	2148,96	-0,25	0
I1N898	Tubulina de cadeia α OS=Glycine max OX=3847 GN=100796371 PE=3 SV=1	371,93	-0,3	0,04
I1LEC4	Tubulina de cadeia α OS=Glycine max OX=3847 GN=100799688 PE=3 SV=1	2472,78	-0,16	0,01
I1K9J7	Tubulina de cadeia α OS=Glycine max OX=3847 GN=100807401 PE=3 SV=1	2704,93	-0,15	0,03
I1LOG9	Tubulina de cadeia β OS=Glycine max OX=3847 GN=100818878 PE=3 SV=1	1286,57	-0,21	0,02
I1N438	Subunidade β da bomba de prótons vacuolar OS=Glycine max OX=3847 GN=100804483 PE=3 SV=2	1512,4	0,13	0,95

Degradação

Peroxisomo

I1MJH1	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100816688 PE=3 SV=1	1188,56	0,48	0,98
C6T857	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100786103 PE=2 SV=1	1086	0,44	0,99

Proteassoma

A0A0R4J3L5	Subunidade α da proteassoma OS=Glycine max OX=3847 GN=732640 PE=3 SV=1	375,35	1,09	0,99
I1KXF0	Subunidade β da proteassoma OS=Glycine max OX=3847 GN=100810291 PE=3 SV=1	1624,87	0,67	1

Processamento de proteínas no retículo endoplasmático

I1M4K9	Proteína dissulfeto-isomerase (PDI) OS=Glycine max OX=3847 GN=100804924 PE=3 SV=1	876,7	-0,32	0,04
D6C4Z9	HSP90-1 OS=Glycine max OX=3847 GN=100194423 PE=2 SV=1	5257,78	-0,11	0,03

Ribossomo

A0A0R0FJR0	Proteína ribossomal SA 40S OS=Glycine max OX=3847 GN=100805318 PE=3 SV=1	817,13	0,42	1
------------	---	--------	------	---

Transporte de RNA

A0A0R4J4C3	Fator de alongação α -1 OS=Glycine max OX=3847 GN=100776330 PE=3 SV=1	1519,81	-0,15	0
A0A0R0ESZ8	Fator de alongação α -1 OS=Glycine max OX=3847 GN=100785429 PE=3 SV=1	2092,46	-0,23	0
A0A0R0FM97	Fator de alongação α -1 OS=Glycine max OX=3847 GN=100801611 PE=3 SV=1	1887,45	-0,2	0

Interação planta-patógeno

D6C4Z9	HSP90-1 OS=Glycine max OX=3847 GN=100194423 PE=2 SV=1	5257,78	-0,11	0,03
--------	--	---------	-------	------

VIAS METABÓLICAS

I1J8H1	Aconitato hidratase OS=Glycine max OX=3847 GN=100499625 PE=3 SV=1	3161,35	0,09	0,96
I1KS65	Adenosil-homocisteinase OS=Glycine max OX=3847 GN=100786939 PE=3 SV=1	2036,81	-0,29	0
I1NFS4	Subunidade β da ATP sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=100789705 PE=3 SV=1	7635,04	0,22	1
A0A0R4J4C8	Subunidade β da ATP sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=100797948 PE=3 SV=1	7827,31	0,21	1
Q76LA6	Ascorbato peroxidase 2 citosólico OS=Glycine max OX=3847 GN=apx2 PE=2 SV=1	7346,53	-0,49	0
I1JPX8	Frutose-bifosfato aldolase OS=Glycine max OX=3847 GN=100527532 PE=3 SV=1	1726,23	0,14	0,99
A0A0R4J3P1	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=100817922 PE=3 SV=1	1477,63	-0,2	0,04
C6T8F0	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=547620 PE=2 SV=1	2067,11	-0,27	0
Q9FUK4	Glutamina sintetase OS=Glycine max OX=3847 GN=548082 PE=2 SV=1	24341,65	-0,33	0
C6TN36	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100782924 PE=2 SV=1	8397,59	-0,07	0,04
I1KC70	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100783902 PE=3 SV=1	11356,93	-0,17	0
I1MM44	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100789951 PE=3 SV=1	1115,68	-0,54	0
I1K135	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100794095 PE=3 SV=1	4351,92	-0,25	0
I1N7G7	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100810217 PE=3 SV=1	3804,58	-0,24	0
Q2I0H4	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=GAPC1 PE=2 SV=1	11049,41	-0,21	0
C6T857	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100786103 PE=2 SV=1	1086	0,44	0,99
I1MJH1	Isocitrato desidrogenase [NADP] OS=Glycine max OX=3847 GN=100816688 PE=3 SV=1	1188,56	0,48	0,98
I1NE44	Lipoxigenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100782277 PE=3 SV=2	338,74	0,29	0,99
I1LXZ7	Malato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100783188 PE=3 SV=1	3275,18	0,28	1
H2D5S3	Malato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100811402 PE=2 SV=1	8634,05	0,34	1
Q71EW8	Metionina sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=547643 PE=2 SV=1	11106,11	-0,17	0

C6THP4	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100793327 PE=2 SV=1	467,53	-0,8	0,04
C6TCA1	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100795412 PE=2 SV=1	6691,32	0,09	0,95
I1L7Z5	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100799691 PE=3 SV=2	884,71	-1,91	0,04
C6TL64	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100804350 PE=2 SV=1	467,53	-0,72	0,05
A0A0R4J5J5	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100804620 PE=3 SV=1	467,53	-0,73	0,03
I1L1B0	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100808542 PE=3 SV=1	567,78	-0,71	0,03
I1MVN5	Peroxidase OS=Glycine max OX=3847 GN=100819937 PE=3 SV=1	1179,34	-0,94	0
K7MZJ0	Sucrose synthase OS=Glycine max OX=3847 GN=100802045 PE=3 SV=1	825,21	0,16	0,98
I1JBT5	Glutathione-S-transferase classe III (TAU – Indutora de auxina) OS=Glycine max OX=3847 GN=100805908 PE=2 SV=1	617,13	-0,93	0,04
I1MBR7	UTP-glicose-1-fosfatouridiltransferase OS=Glycine max OX=3847 GN=100790112 PE=3 SV=1	876,91	0,25	1
I1N438	Subunidade β da bomba de prótons vacuolar OS=Glycine max OX=3847 GN=100804483 PE=3 SV=2	1512,4	0,13	0,95

Tabela 3. Proteínas reguladas diferencialmente (*Upreguladas e Downreguladas*) entre folhas de plantas de soja tratadas na ausência (Controle) e presença de 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂. O pós-processamento de informações foi realizado no *Kobas 3.0* (<http://kobas.cbi.pku.edu.cn/kobas3>) e a expressão em *ProteinLynx Global SERVER*TM (PLGS) : *Waters*.

Acesso (<i>Uniprot</i>)	Descrição	Score	SiO ₂ - NPs:Controle Razão Log(e)	Valor_P
<u>Metabolismo</u>				
Metabolismo energético				
<i>Fotossíntese</i>				
C6SX81	Ferredoxina OS=Glycine max OX=3847 GN=100305932 PE=2 SV=1	6300.21	-0.28	0.00
I1K498	Ferredoxina OS=Glycine max OX=3847 GN=100813636 PE=3 SV=1	6457.99	-0.24	0.00
I1M712	Proteína enhancer 2 envolvente de oxigênio OS=Glycine max OX=3847 GN=100784806 PE=4 SV=1	2739.16	0.14	1.00
<i>Fotossíntese – Proteínas antena</i>				
I1J7A8	Proteína de ligação a clorofila α e β OS=Glycine max OX=3847 GN=100785180 PE=3 SV=1	758.63	0.73	0.98
C6TNE6	Proteína de ligação a clorofila α e β OS=Glycine max OX=3847 GN=100805310 PE=2 SV=1	4343.37	0.39	1.00
C6TLM4	Proteína de ligação a clorofila α e β OS=Glycine max OX=3847 GN=547862 PE=2 SV=1	4343.37	0.40	1.00

Q43437	Proteína de ligação a clorofila α e β OS=Glycine max OX=3847 GN=lhcb1*7 PE=2 SV=1	4343.37	0.41	1.00
--------	---	---------	------	------

Metabolismo do enxofre

C6TMX6	Cisteína sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=100101865 PE=2 SV=1	662.65	0.65	1.00
--------	---	--------	------	------

Via das pentose fosfato

I1LJ68	Frutose-bifosfato aldolase OS=Glycine max OX=3847 GN=100818915 PE=3 SV=1	6137.45	0.64	1.00
--------	---	---------	------	------

Metabolismo do carbono

C6TMX6	Cisteína sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=100101865 PE=2 SV=1	662.65	0.65	1.00
--------	---	--------	------	------

I1LJ68	Frutose-bifosfato aldolase OS=Glycine max OX=3847 GN=100818915 PE=3 SV=1	6137.45	0.64	1.00
--------	---	---------	------	------

C6T9R8	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100806482 PE=2 SV=1	605.43	2.36	1.00
--------	--	--------	------	------

C6T0B7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100306654 PE=2 SV=1	5970.16	-0.21	0.03
--------	---	---------	-------	------

A0A0R4J4A7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100785811 PE=3 SV=1	5970.16	-0.19	0.05
------------	---	---------	-------	------

I1JTW7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100795673 PE=3 SV=1	204.65	0.51	1.00
--------	---	--------	------	------

I1K8C9	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100814366 PE=3 SV=2	234.03	0.47	1.00
--------	---	--------	------	------

I1M923	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100819714 PE=3 SV=1	252.18	0.38	0.99
--------	---	--------	------	------

I1J4L6	Fosforibuloquinase OS=Glycine max OX=3847 GN=100777515 PE=3 SV=1	2309.28	-0.18	0.00
--------	---	---------	-------	------

I1L540	Fosforibuloquinase OS=Glycine max OX=3847 GN=100807126 PE=3 SV=1	2463.25	-0.16	0.02
--------	---	---------	-------	------

Q39832	Ribulose-bifosfato carboxilase de cadeia curta OS=Glycine max OX=3847 GN=547605 PE=2 SV=1	20044.38	-0.37	0.00
--------	--	----------	-------	------

C6T1Y2	Ribulose-bifosfato carboxilase de cadeia curta OS=Glycine max OX=3847 GN=100500504 PE=2 SV=1	20016.79	-0.37	0.00
--------	---	----------	-------	------

Fixação do carbono em organismos fotossintetizantes

I1J4L6	Fosforibuloquinase OS=Glycine max OX=3847 GN=100777515 PE=3 SV=1	2309.28	-0.18	0.00
--------	---	---------	-------	------

C6T1Y2	Ribulose-bifosfato carboxilase de cadeia curta OS=Glycine max OX=3847 GN=100500504 PE=2 SV=1	20016.79	-0.37	0.00
--------	---	----------	-------	------

Q39832	Ribulose-bifosfato carboxilase de cadeia curta OS=Glycine max OX=3847 GN=547605 PE=2 SV=1	20044.38	-0.37	0.00
--------	--	----------	-------	------

I1L540	Fosforibuloquinase OS=Glycine max OX=3847 GN=100807126 PE=3 SV=1	2463.25	-0.16	0.02
--------	---	---------	-------	------

I1LJ68	Frutose-bifosfato aldolase OS=Glycine max OX=3847 GN=100818915 PE=3 SV=1	6137.45	0.64	1.00
--------	---	---------	------	------

C6T9R8	Gliceraldeído-bifosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100806482 PE=2 SV=1	605.43	2.36	1.00
--------	--	--------	------	------

Metabolismo dos carboidratos

Glicólise e gliconeogênese

I1LJ68	Frutose-bifosfato aldolase OS=Glycine max OX=3847 GN=100818915 PE=3 SV=1	6137.45	0.64	1.00
--------	---	---------	------	------

Metabolismo do glioxilato e dicarboxilato

C6T0B7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100306654 PE=2 SV=1	5970.16	-0.21	0.03
A0A0R4J4A7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100785811 PE=3 SV=1	5970.16	-0.19	0.05
I1JTW7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100795673 PE=3 SV=1	204.65	0.51	1.00
I1K8C9	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100814366 PE=3 SV=2	234.03	0.47	1.00
I1M923	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100819714 PE=3 SV=1	252.18	0.38	0.99
C6T1Y2	Ribulose-bifosfato carboxilase de cadeia curta OS=Glycine max OX=3847 GN=100500504 PE=2 SV=1	20016.79	-0.37	0.00
Q39832	Ribulose-bifosfato carboxilase de cadeia curta OS=Glycine max OX=3847 GN=547605 PE=2 SV=1	20044.38	-0.37	0.00

Metabolismo da frutose e manose

I1LJ68	Frutose-bifosfato aldolase OS=Glycine max OX=3847 GN=100818915 PE=3 SV=1	6137.45	0.64	1.00
--------	---	---------	------	------

Metabolismo dos aminoácidos

Biossíntese dos aminoácidos

C6TMX6	Cisteína sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=100101865 PE=2 SV=1	662.65	0.65	1.00
I1LJ68	Frutose-bifosfato aldolase OS=Glycine max OX=3847 GN=100818915 PE=3 SV=1	6137.45	0.64	1.00

Metabolismo da cisteína e metionina

C6TMX6	Cisteína sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=100101865 PE=2 SV=1	662.65	0.65	1.00
--------	---	--------	------	------

Metabolismo da glicina, serina e treonina

C6T0B7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100306654 PE=2 SV=1	5970.16	-0.21	0.03
A0A0R4J4A7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100785811 PE=3 SV=1	5970.16	-0.19	0.05
I1JTW7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100795673 PE=3 SV=1	204.65	0.51	1.00
I1K8C9	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100814366 PE=3 SV=2	234.03	0.47	1.00
I1M923	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100819714 PE=3 SV=1	252.18	0.38	0.99

Metabolismo dos lipídeos

Metabolismo do ácido linoleico

B3TDK7	Lipoxigenase OS=Glycine max OX=3847 GN=547836 PE=3 SV=1	232.73	0.33	1.00
--------	--	--------	------	------

Vias metabólicas

I1J7A8	Proteína de ligação a clorofila α e β OS=Glycine max OX=3847 GN=100785180 PE=3 SV=1	758.63	0.73	0.98
C6TNE6	Proteína de ligação a clorofila α e β OS=Glycine max OX=3847 GN=100805310 PE=2 SV=1	4343.37	0.39	1.00
C6TLM4	Proteína de ligação a clorofila α e β OS=Glycine max OX=3847 GN=547862 PE=2 SV=1	4343.37	0.40	1.00
Q43437	Proteína de ligação a clorofila α e β OS=Glycine max OX=3847 GN=lhcb1*7 PE=2 SV=1	4343.37	0.41	1.00
C6TMX6	Cisteína sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=100101865 PE=2 SV=1	662.65	0.65	1.00
I1LJ68	Frutose-bifosfato aldolase OS=Glycine max OX=3847 GN=100818915 PE=3 SV=1	6137.45	0.64	1.00
C6T9R8	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Glycine max OX=3847 GN=100806482 PE=2 SV=1	605.43	2.36	1.00
C6T0B7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100306654 PE=2 SV=1	5970.16	-0.21	0.03
A0A0R4J4A7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100785811 PE=3 SV=1	5970.16	-0.19	0.05
I1JTW7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100795673 PE=3 SV=1	204.65	0.51	1.00
I1K8C9	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100814366 PE=3 SV=2	234.03	0.47	1.00
I1M923	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100819714 PE=3 SV=1	252.18	0.38	0.99
I1J4L6	Fosforibuloquinase OS=Glycine max OX=3847 GN=100777515 PE=3 SV=1	2309.28	-0.18	0.00
I1L540	Fosforibuloquinase OS=Glycine max OX=3847 GN=100807126 PE=3 SV=1	2463.25	-0.16	0.02
C6T1Y2	Ribulose-bifosfato carboxilase de cadeia curta OS=Glycine max OX=3847 GN=100500504 PE=2 SV=1	20016.79	-0.37	0.00
Q39832	Ribulose-bifosfato carboxilase de cadeia curta OS=Glycine max OX=3847 GN=547605 PE=2 SV=1	20044.38	-0.37	0.00

Biossíntese de metabolitos secundários

C6TMX6	Cisteína sintase OS=Glycine max OX=3847 GN=100101865 PE=2 SV=1	662.65	0.65	1.00
I1LJ68	Frutose-bifosfato aldolase OS=Glycine max OX=3847 GN=100818915 PE=3 SV=1	6137.45	0.64	1.00
C6T0B7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100306654 PE=2 SV=1	5970.16	-0.21	0.03
A0A0R4J4A7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100785811 PE=3 SV=1	5970.16	-0.19	0.05
I1JTW7	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100795673 PE=3 SV=1	204.65	0.51	1.00
I1K8C9	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100814366 PE=3 SV=2	234.03	0.47	1.00
I1M923	Proteína H do sistema de clivagem de glicina OS=Glycine max OX=3847 GN=100819714 PE=3 SV=1	252.18	0.38	0.99

C6T1Y2	Ribulose-bifosfato carboxilase de cadeia curta OS=Glycine max OX=3847 GN=100500504 PE=2 SV=1	20016.79	-0.37	0.00
Q39832	Ribulose-bifosfato carboxilase de cadeia curta OS=Glycine max OX=3847 GN=547605 PE=2 SV=1	20044.38	-0.37	0.00

Figuras

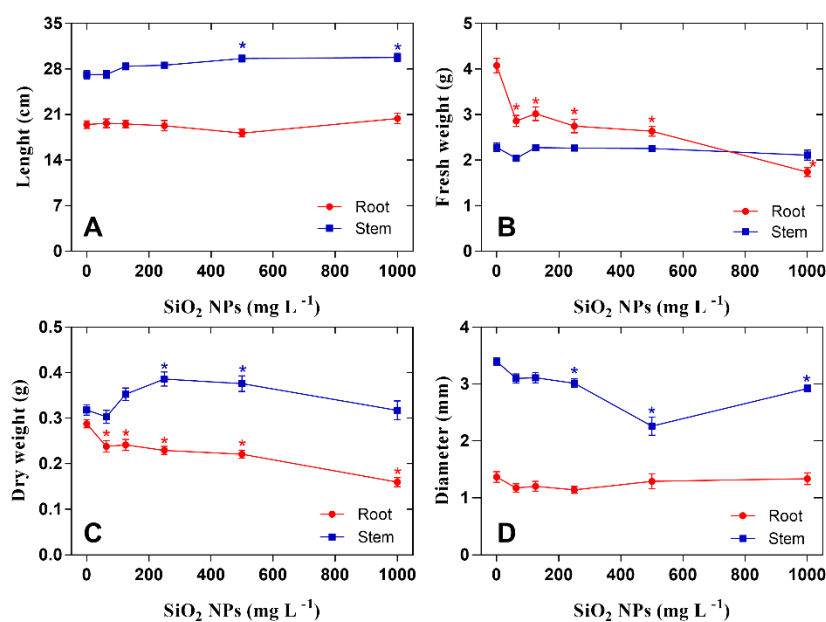


Fig. 1. Efeitos de nanopartículas de SiO₂ no crescimento de plantas de soja. Comprimento da raiz e caule (A), biomassa fresca da raiz e caule (B), biomassa seca da raiz e caule (C) e diâmetro da raiz e caule (D). Médias (n=28) - teste T ($p \leq 0,05$).

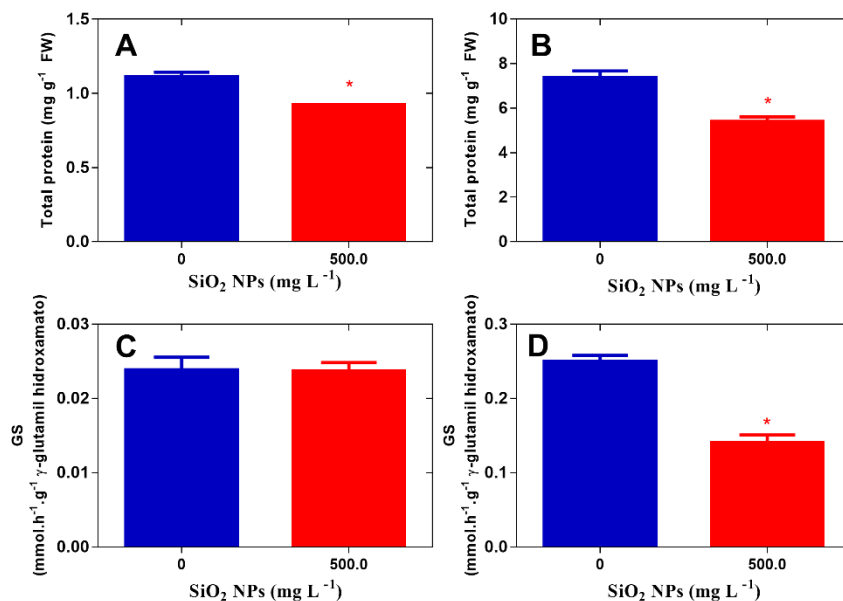


Fig. 2. Efeitos de nanopartículas de SiO₂ no conteúdo de proteína total e da enzima glutamina sintetase (GS) em raízes e folhas de plantas de soja. Proteína total de raízes (A), folhas (B) e atividade da GS em raízes (C) e folhas (D) em plantas expostas a 500 mg L⁻¹ de nanopartículas de SiO₂. Médias (n=11) - teste T ($p \leq 0,05$).

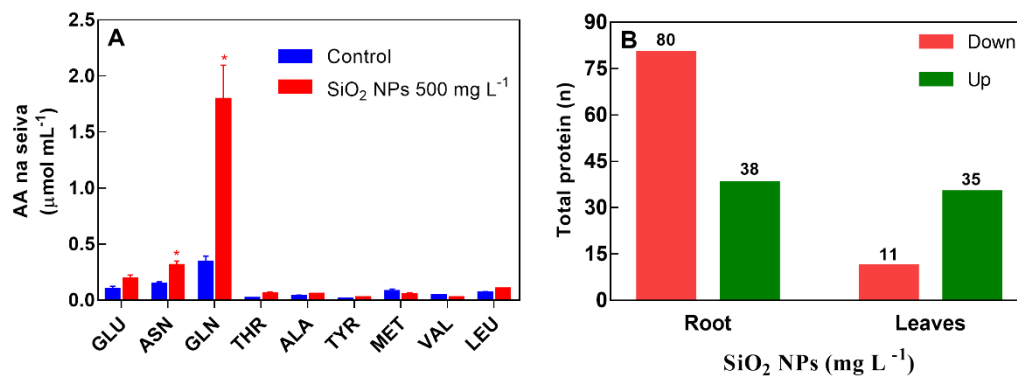


Fig 3. Composição da seiva bruta de plantas de soja (A) expostas a 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂. Médias (n=6) - teste T ($p \leq 0,05$) e número de proteínas significativamente alteradas em raiz e folhas de plantas de soja (B) tratadas com 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂.

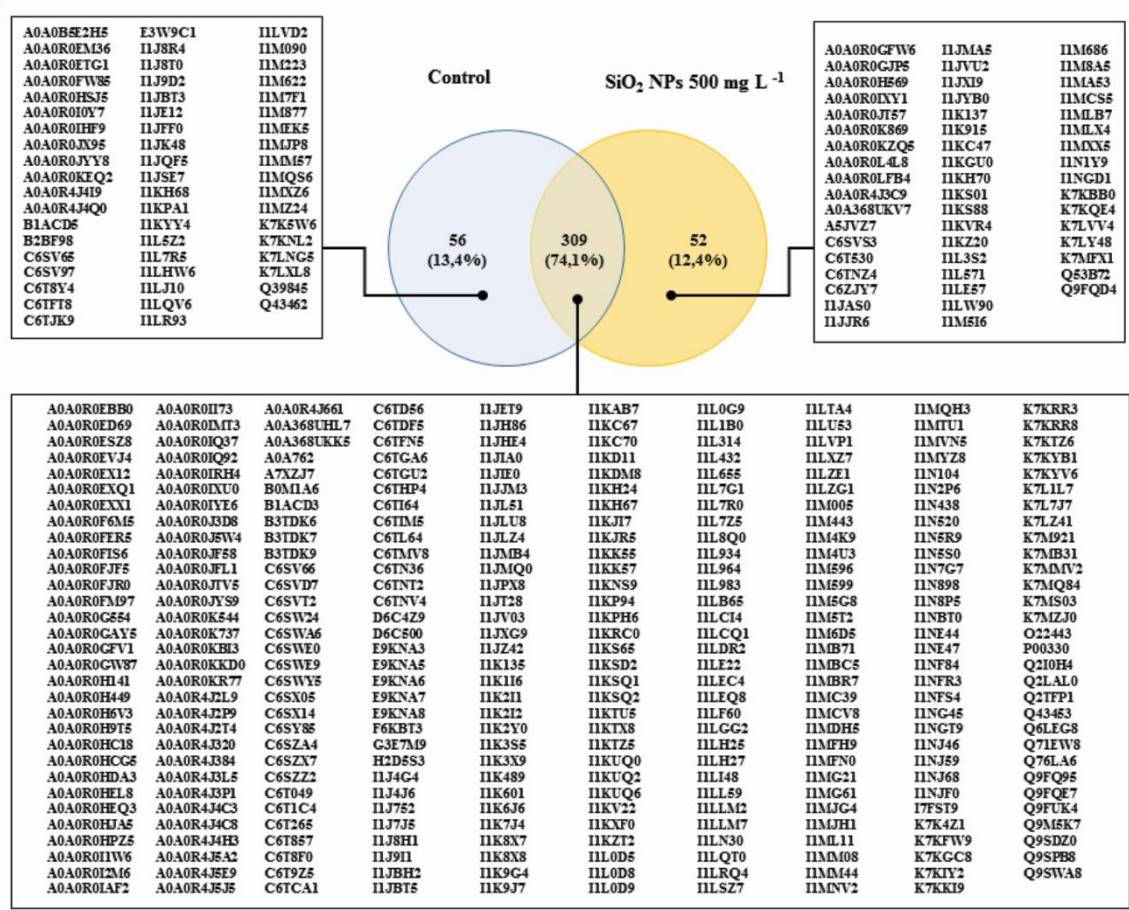


Fig 4. Resumo das alterações no proteoma de raiz de plantas de soja tratadas com 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂. Distribuição das proteínas identificadas no proteoma de raiz representadas pelo diagrama de Venn. Análise de *Kobas 3.0 (KEGG Orthology Based Annotation System)* das proteínas significativamente alteradas.

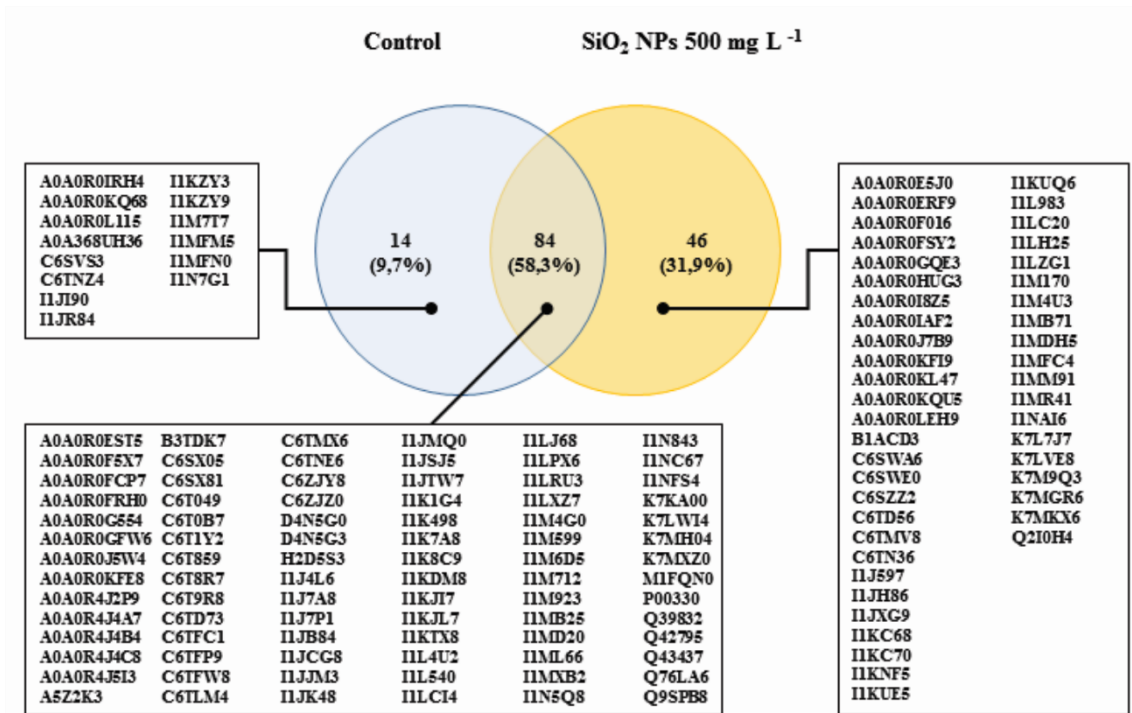


Fig 5. Resumo das alterações no proteoma de folhas de plantas de soja tratadas com 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂. Distribuição das proteínas identificadas no proteoma de folhas representadas pelo diagrama de Venn. Análise de *Kobas 3.0 (KEGG Orthology Based Annotation System)* das proteínas significativamente alteradas.

CAPÍTULO II

ARTIGO:

Nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂) melhoram o desempenho do PII através do aumento da condutância mesofílica e da forma oxidada da plastoquinona Qa em soja

Este artigo será submetido ao Periódico New Phytologist

Nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂) melhoram o desempenho do *PII* através do aumento da condutância mesofílica e da forma oxidada da plastoquinona Q_a em soja

*Gabriele Sauthier Romano de Melo, Wanderley Dantas dos Santos, Osvaldo Ferrarese-Filho e Rogério Marchiosi**

Laboratório de Bioquímica de Plantas, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

***Autor para correspondência**

E-mail address: rmarchiosi@uem.br

Resumo

Neste estudo, nós investigamos os efeitos das nanopartículas de dióxido de silício (NPs de SiO₂) sobre o metabolismo fotossintético de uma planta C₃, a soja. Para isso, realizamos uma análise combinada de sua ação sobre as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a*. As plantas foram expostas a 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂ por 29 dias. Nossos resultados com soja confirmaram que as NPs de SiO₂ não afetaram os processos fotossintéticos. A *g_m* aumentada pode disponibilizar maior concentração de CO₂ para a Rubisco, tendo potencial de favorecer o metabolismo da planta. Além disso, o aumento da eficiência quântica fotoquímica efetiva (F_v'/F_m') foi observado, o que favorece o isoprenoide plastoquinona Q_a em sua forma oxidada, permitindo que o PSII forneça maior energia fotoquímica através do fluxo de elétrons para a planta aprimorando o sistema fotossintético. As NPs não apresentaram toxicidade para a soja.

Palavras-chave: Nanopartículas, fotossíntese, eficiência quântica, condutância mesofílica.

1. Introdução

A nanotecnologia possibilitou a inovação em diversos setores, como na indústria farmacêutica, engenharia e informática, aumentando o uso e liberação de nanomateriais a milhões de toneladas por ano (Maurer-Jones *et al.*, 2013). O impacto das nanopartículas (NPs) no meio ambiente é uma preocupação crescente, e estudar seus efeitos em plantas pode facilitar a compreensão de seus mecanismos de ação em organismos vivos, visto que as plantas estão na teia alimentar desde níveis tróficos inferiores, a animais e seres humanos (Vineeth Kumar *et al.*, 2022). Além disso, a nanotecnologia e o uso de NPs na agricultura vem se tornando comum, pois contribui para desenvolver alternativas mais sustentáveis (Luyckx *et al.*, 2017). Embora haja uma grande variedade de plantas, os trabalhos que avaliam a toxicidade de NPs focam em plantas de consumo, tais como: milho, trigo, soja, tabaco e outras plantas frutíferas (Birbaum *et al.*, 2010; Priester *et al.*, 2012; Maurer-Jones *et al.*, 2013).

Na fotossíntese as plantas são capazes de captar a energia solar para formação de ATP e NADPH, usados posteriormente como fonte de energia para a síntese de carboidratos e outros compostos orgânicos para seu desenvolvimento (Nelson & Cox, 2017). Dessa forma, análises combinadas dos parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* são utilizadas para examinar o estresse abiótico em plantas (Baker, 2008). Os efeitos das NPs na fotossíntese diferem nas plantas a nível de espécie e doses das NPs, e os estudos realizados demonstram efeitos diversos nas plantas. Pode-se observar desde a melhora da captação de luz em plantas, ou efeitos negativos, bloqueando a cadeia de transporte de elétrons (Khan *et al.*, 2017; Kataria *et al.*, 2018). É importante ressaltar que há um pequeno conjunto de NPs utilizadas em um grande número de produtos, incluindo NPs de dióxido de titânio (TiO₂), óxido de zinco (ZnO), dióxido de silício (SiO₂) e derivados do carbono, como nanotubos e fulerenos (Maurer-Jones *et al.*, 2013).

A título de exemplo, plantas de café (*Coffea arabica*) apresentaram estresse fotossintético devido a exposição à NPs de alumínio, sendo evidenciado pela redução na taxa fotossintética (*A*) e na condutância estomática (*g_s*), além do aumento na concentração interna de CO₂ (*c_i*) (Konrad *et al.*, 2005). Além disso, Falco *et al.* (2011) demonstraram uma supressão dose dependente da fluorescência de clorofila extraída de plantas de soja, quando exposta a doses crescentes de NPs de ouro (Falco *et al.*, 2011). Um enxerto de cajueiro anão (clone CCP06 como porta e CCP76 como enxerto) quando submetido a

estresse salino obteve inibição de *A*, decorrente da limitação estomática (Bezerra *et al.*, 2005). Efeitos negativos também foram observados em plantas de lentilha (*Lemna gibba* L.) após 48 h de exposição a NPs de cobre, pois apresentaram todos os parâmetros de fluorescência da clorofila reduzidos, salientando uma redução na capacidade do transporte de elétrons pelo fotossistema (Perreault *et al.*, 2014).

A aplicabilidade das NPs de SiO₂ é grande, pois essas NPs são biocompatíveis, de baixo custo, atóxicas e utilizadas em sistemas de *drug delivery*, além de possuir alta absorção pelas células vegetais (Tang & Cheng, 2013; Wang *et al.*, 2015; Jeelani *et al.*, 2020). Os efeitos das NPs de SiO₂ sobre a fotossíntese de plantas são variados, e geralmente estão associados a alívio de estresse abiótico. Siddiqui *et al.* (2014) demonstraram que as NPs de SiO₂ preservaram o conteúdo de clorofila, e reduziram a degradação de clorofila em plantas de abobrinha (*Cucurbita pepo* L.) submetidas a estresse salino, demonstrando resultados similares aos obtidos a plantas controle (Siddiqui *et al.*, 2014). As NPs de SiO₂ (500 mg L⁻¹) também foi capaz de aumentar a *A* de trigo e tremoço, aumentando a taxa em 53 e 44% quando comparados ao controle (Sun *et al.*, 2016).

São poucos os trabalhos que avaliam os efeitos de NPs de SiO₂ sobre a fotossíntese, especialmente sobre a soja. Dessa forma, no presente estudo nós investigamos os impactos das NPs de SiO₂ sobre a fotossíntese de plantas de soja através da realização de curvas de resposta à luz e ao CO₂ (*A/Ci*), bem como a determinação da fluorescência da clorofila *a*.

2. Materiais e métodos

2.1 Cultivo e tratamento das plantas de soja

Sementes de soja (*Glycine max* L. Merril), cv. BRS-232 foram inoculadas com *Rhizobium* e molibdato durante 5 min e foram colocadas em bandejas plásticas constituídas de celas em formato de pirâmide invertida de 50 mL preenchidas com substrato vermiculita e Mecplant[®] (1:1) a 2 cm de profundidade e irrigadas com água destilada até a capacidade de campo. As bandejas foram mantidas em uma sala de crescimento de plantas a 25°C com um fotoperíodo claro/escuro de 12/12 h e uma densidade de fluxo de fótons de 300 μmol m⁻² s⁻¹ durante 33 dias. O tratamento das plantas foi realizado após a emergência em 72 h somente com água para homogeneização das plantas e posteriormente, a cada

dois dias pela adição de 30 mL de solução nutritiva de Hoagland contendo 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂, previamente levada ao banho ultrassônico por 30 min. As análises fotossintéticas foram realizadas no 33º dia, sendo 29 dias de exposição a NP de SiO₂.

2.2 Análises fotossintéticas

2.2.1 Análise combinada dos parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

Plantas adultas de soja cultivadas em substrato e vermiculita, expostas a 0 e 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂, seguindo o protocolo experimental de cultivo e tratamento descritos no tópico anterior, foram utilizadas para avaliar os parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*. Todas medidas foram realizadas na folha central do segundo trifólio, e foi definido o mínimo de três plantas para cada tratamento.

As medidas de trocas gasosas ocorreram entre às 7h 00min e 15h 00min utilizando o sistema portátil de fotossíntese com fluorômetro acoplado LI-6800-F2 (Li-Cor Inc., Lincoln, NE, USA) para analisar os parâmetros por meio da combinação entre medições de trocas gasosas e fluorescência multifase. Os dados foram considerados quando as variáveis analisadas dentro do mesmo grupo experimental apresentaram invariabilidade.

As taxas de assimilação do CO₂ (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e a concentração intercelular de CO₂ (c_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) foram mensuradas a partir da curva de resposta à luz [2500, 2000, 1800, 1500, 1200, 1000, 800, 600, 400, 300, 200, 150, 100, 75, 50, 25, 0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA)]. A concentração de CO₂ foi mantida a 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ pela câmara foliar, similar a concentração de CO₂ do ambiente.

Foram calculados os parâmetros de rendimento quântico da fotossíntese (α) [$(\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1})/(\mu\text{mol fóton m}^{-2} \text{ s}^{-1})$], assimilação máxima de CO₂ ($A_{\text{máx}}$), ponto de compensação da luz (P_{comp}), ponto de saturação da luz (P_{sat}) e a taxa de respiração (R_D) a partir das curvas de resposta a luz utilizando os modelos matemáticos linear e hiperbólico (Machado et al., 2005; Lobo et al., 2013; Moriwaki et al., 2019).

Foram definidos os pontos de concentração de CO₂ como 400, 200, 250, 50, 75, 100, 125, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 600, 700, 800, 1000, 1200, 1400, 1600 e 1800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ sob intensidade luminosa de 1400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para determinação das curvas de resposta ao CO₂ (A/c_i) utilizando a metodologia proposta por Zhou et al. (Zhou et al.,

2019) e Sharkey et al. (2007) (Sharkey *et al.*, 2007). Foram determinados os parâmetros de velocidade máxima de carboxilação da ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) ($V_{cmáx}$, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), taxa de transporte de elétrons fotossintéticos (J , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e velocidade máxima de carboxilação da fosfoenolpiruvato carboxilase (PEP carboxilase) ($V_{pmáx}$, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Em cada ponto, os dados foram registrados após adaptação por 60 a 120 s.

Foram realizadas medidas de medidas de fluorescência da clorofila *a* utilizando a abordagem de flash multifásico descrita por Loriaux et al. (Loriaux *et al.*, 2013) com adaptações, sendo utilizado um flash para luz vermelha saturante igual a $8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com três fases de 300 ms de comprimento cada e profundidade da rampa de 25%. Após a adaptação de 10 h no escuro, as plantas de soja foram submetidas a análises de fluorescência inicial (F_0), a fluorescência máxima (F_m) e o rendimento quântico máximo do fotossistema II (PSII) (F_v/F_m), em que F_v corresponde à diferença entre F_m e F_0 (Soares *et al.*, 2011).

Após 25 a 30 min de aclimatação as condições de luz, foram mensurados em conjunto com as análises de trocas gasosas os parâmetros de eficiência quântica fotoquímica efetiva (F_v'/F_m'), rendimento quântico efetivo (ϕPSII), taxa de transporte de elétrons no PSII (ETR), *quenching* fotoquímico (qP) e *quenching* não-fotoquímico (NPQ) (Genty et al., 1989; Galazzi, 2011). Estes parâmetros foram determinados sob uma DFFFA de $1400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em condições de concentração de CO_2 mantidas na câmara foliar a $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$. Todas as avaliações foram realizadas utilizando uma cabeça sensora com câmara foliar de 2 cm^2 , temperatura de 25°C e déficit de pressão de vapor controlado entre o ar e a folha (DPV) em $0,2 \text{ KPa}$ com vazão de $700 \mu\text{mol s}^{-1}$.

2.2.3 Índice SPAD - pigmento fotossintético

O índice SPAD foi determinado usando um clorofilômetro (SPAD-502, Konica Minolta, Ramsey, EUA), utilizando a mesma folha definida anteriormente nas análises de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*.

2.2.4 Análises estatísticas

Cada planta foi considerada 1 n, e as análises estatísticas foram realizadas considerando um mínimo de três parcelas experimentais para cada condição (0 e 500 mg L^{-1} de NPs de

SiO₂). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o pacote *GraphPad Prism*[®] (versão 7.0 GraphPad Software Inc., EUA). Foi utilizada a análise pelo teste de comparação *t de student*, e valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. Resultados

3.1 Efeitos das NPs de SiO₂ sobre as trocas gasosas de plantas soja

Os efeitos das NPs de SiO₂ sobre os parâmetros fotossintéticos de plantas de soja podem ser observados na Figura 1. A exposição as NPs não foram capazes de alterar significativamente os parâmetros de A , g_s , E e c_i no ponto de máxima saturação pela luz (2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e sob condição de CO₂ ambiente (400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$).

A tabela 1 mostra diversos parâmetros fotossintéticos de plantas de soja expostas a 0 e 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂, calculados através de ajustes lineares e não lineares das curvas de resposta à luz. Em comparação ao controle, não foram observadas diferenças significativas em R_D , ponto de compensação de luz (I_{comp}), taxa fotossintética máxima ($P_{N_{\text{max}}}$) e no rendimento quântico da fotossíntese (α).

3.2 Efeitos das NPs de SiO₂ sobre os parâmetros de fotossíntese

A Figura 2 mostra parâmetros da fotossíntese calculados a partir das curvas A/c_i nas plantas de soja expostas as NPs de SiO₂. A condutância mesofílica (g_m) teve sua porcentagem aumentada em 164,53%. Por outro lado, não foram verificadas alterações significativas na taxa de transporte de elétrons fotossintéticos (J) e na $V_{\text{cmáx}}$ em plantas expostas as NPs em relação as plantas controle.

3.3 Efeitos das NPs de SiO₂ na emissão de fluorescência a com pulso modulado

Nossos dados revelaram que o tratamento com NPs de SiO₂ não alterou os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* determinados em plantas de soja adaptadas ao escuro (Fig. 3). Não foram verificadas alterações significativas nos parâmetros de F_0 , F_m , F_v/F_m , ϕPSII e ETR (Fig. 3A, 3B, 3C, 3E e 3F). Porém, um achado importante, foi um aumento significativo em F_v'/F_m' (Fig. 3D) de 393,22% em plantas tratadas com as NPs de SiO₂ em relação ao controle.

O tratamento com NPs de SiO₂ também não apresentou efeitos sobre os qP, qN e NPQ, como observado na Figura 4. O teor de clorofila verificado através do índice SPAD (Fig. 4D) também não sofreu alterações pelo tratamento com as NPs.

4. Discussão

De modo geral, nossos dados revelaram que as NPs de SiO₂, na concentração de 500 mg L⁻¹, não exercem efeitos significativos na fotossíntese de plantas de soja. Análises da fluorescência da clorofila *a* em plantas adaptadas à luz e ao escuro, bem como curvas *A/c*_i sugeriram que as NPs de SiO₂ não apresentam toxicidade para a planta. Os dados revelaram um efeito positivo em relação ao transporte de elétrons, uma vez que na presença das NPs o isoprenoide plastoquinona Q_a permaneceu oxidado, fator que contribui para o fornecimento de energia fotoquímica, melhorando a eficiência do PSII. Além disso, plantas tratadas obtiveram um aumento em *g_m*, aprimorando a chegada de CO₂ para o processo de fixação.

A energia absorvida pelas moléculas de clorofila possui três destinos; sendo utilizada diretamente na fotossíntese, tendo o excesso dissipado através de calor ou sendo reemitida como fluorescência. A eficiência de um desses caminhos resulta na redução do rendimento dos outros, e medir curvas de resposta à luz constituem uma ferramenta valiosa para investigar as propriedades fotossintéticas da folha. As curvas descrevem o comportamento hiperbólico de *A* em função do aumento da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) (Maxwell & Johnson, 2000; Lobo et al., 2013; Lambers & Oliveira, 2019).

A taxa de fluorescência da clorofila *a* altera ao longo das fases fotossintéticas. Em resumo, uma vez que o PSII absorve luz, a plastoquinona Q_a recebe um elétron. Temporariamente, a taxa fotossintética é reduzida e a luz é reemitida como fluorescência. Com a ativação de enzimas envolvidas no metabolismo do carbono e a abertura estomática, o elétron é transportado para a plastoquinona Q_b subsequente, aumentando a ETR, processo chamado de qP, que indica a proporção dos centros de reação do PSII que estão abertos. Ao mesmo tempo, ocorre um aumento na eficiência em que a energia é convertida em calor, processo denominado de NPQ (Maxwell & Johnson, 2000; Baker, 2008). Essa sucessão de acontecimentos ocorre de forma integrada, e geralmente a alteração em um dos parâmetros afeta os demais. Em concordância, nossos resultados não

demonstraram resultados significativos em nenhum dos parâmetros citados, evidenciando que as NPs de SiO₂ não afetam a absorção de luz em plantas de soja.

Estudos atuais revelaram os efeitos das NPs de SiO₂ sobre vetiver (*Vetiveria zizanioides* L. Nash), observando um aumento na eficiência do PSII, pois qP e ETR foram estimuladas na presença de NPs de SiO₂ (Ahmed *et al.*, 2022). Além disso, as NPs de SiO₂ foram eficazes sob plantas de beterraba no tratamento contra nematoides. A presença das NPs foi capaz de aumentar qP, NPQ e ETR, revelando que as NPs foram capazes de manter a performance fotossintética das plantas, o que foi associado ao melhor crescimento e desenvolvimento sob estresse biótico (Khan & Siddiqui, 2020).

Em nosso estudo, para adquirir informações precisas sobre a performance fotossintética da planta, foi verificado a emissão de fluorescência *a* com pulso modulado, análise que permite a obtenção de F₀, F_m, F_v/F_m, F_v'/F_m', φ_{PSII} e ETR. Com a soma dessas informações, é possível averiguar a performance do PSII. Aqui, as plantas tratadas com NPs de SiO₂ não apresentaram mudanças nos parâmetros acima, demonstrando que o PSII não sofreu alterações. Um dado que corrobora com a integridade das plantas tratadas foi a razão F_v/F_m próxima a 0.8, evidenciando que o rendimento quântico máximo do PSII permaneceu inalterado quando comparado ao de plantas saudáveis por apresentar valores dentro do esperado (Björkman & Demmig, 1987; Maxwell & Johnson, 2000).

No entanto, as plantas expostas à 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂ apresentaram um aumento de 393,22% em F_v'/F_m'. Uma vez que o PSII recebeu um feixe de luz ocorre a redução de Q_a, e durante esse período o centro de reação permanece fechado. O aumento da F_v'/F_m' indica que plantas tratadas com NPs de SiO₂ possuíam sua Q_a em forma oxidada, livre para receber elétrons para disponibilizá-los à etapa fotoquímica. Deste modo, as plantas de soja tratadas com NPs de SiO₂ possuem maior capacidade de fornecer energia constante ao sistema devido a transferência de elétrons (Genty *et al.*, 1989b).

Os resultados encontrados estão de acordo com a literatura. Como exemplo, em plantas de vetiver, o φ_{PSII} e F_v/F_m obtiveram uma performance elevada na presença de NPs de SiO₂, revelando um melhor aproveitamento fotoquímico da luz absorvida (Genty *et al.*, 1989b; Ahmed *et al.*, 2022). Em pepino (*Cucumis sativus*), as NPs melhoraram a fotossíntese através do aumento do φ_{PSII}, ETR, qP, *A*, *E* e *gs* (Siddiqui *et al.*, 2020). Em relação ao alívio de toxicidade, Tripathi *et al.* demonstraram que as NPs de SiO₂ foram capazes de proteger plantas de ervilha da ação do cromo (Cr). Esses dados foram evidenciados pois as plantas na presença de Cr apresentaram uma redução em F_v/F_m,

NPQ e qP, porém, na presença de Cr e NPs de SiO₂, os efeitos tóxicos foram reduzidos, protegendo o PSII contra danos físicos e funcionais (Tripathi *et al.*, 2015).

Corroborando com os efeitos positivos das NPs de SiO₂, observamos em nossos resultados que R_D, I_{comp}, P_{Nmáx} e α não foram alterados, pois os parâmetros encontrados sucederam como o esperado. Em situações normais, quando a DFFFA é igual a zero o CO₂ não pode ser assimilado e a R_D é estimada. Com o aumento gradativo de DFFFA, ocorre um aumento linear de A, formando uma região na curva em que a fotossíntese é limitada pelo transporte de elétrons impulsionados pela luz. Esta é a região em que encontramos o P_{comp}, em que a taxa de CO₂ assimilado pela fotossíntese se iguala à quantidade de CO₂ liberado pela respiração. A inclinação da reta revela o α , e o platô observado sob altas DFFFA indica que a fotossíntese foi saturada pela luz (A_{máx}) e limitada pela taxa de carboxilação do CO₂ (Hall *et al.*, 1993; Lambers & Oliveira, 2019).

Em relação a fixação de CO₂, foram avaliados os parâmetros de g_s e g_m, fatores que regulam a disponibilidade de CO₂ para a Rubisco. A presença de 500 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂ não alterou a g_s, porém a g_m aumentou em 164,53%. Neste caso, a Rubisco atua mais eficientemente como carboxilase devido a disponibilidade de CO₂, cenário que favorece o crescimento e produção de plantas C₃ (Kimball, 1983; Long *et al.*, 2004; Evans, 2013). São escassos os estudos realizados com NPs de SiO₂ revelando os efeitos dessas NPs sobre a Rubisco. Contudo, foi verificado por Siddiqui *et al.* (2015) o aumento da atividade da anidrase carbônica em pepino exposto às NPs de SiO₂. Essa enzima fornece CO₂ para a Rubisco, podendo aprimorar a fotossíntese (Siddiqui *et al.*, 2015; Mali *et al.*, 2020).

Em nosso trabalho, as NPs de SiO₂ não afetaram A, E, ci e o teor de clorofila, e os resultados previamente obtidos nesses parâmetros geralmente estão associados ao alívio de estresse abiótico. Quando na presença de chumbo, a NP aspergida foi capaz de proteger o aparato fotossintético devido ao aumento dos pigmentos da folha (Fatemi *et al.*, 2020). Larkunthod *et al.* (2022) avaliaram os efeitos da aplicação de 120 mg L⁻¹ de NPs de SiO₂ em arroz sob estresse salino (NaCl). As NPs aliviaram os efeitos negativos na planta, apresentando uma melhora na toxicidade em relação ao grupo controle e ao grupo NaCl. Os efeitos do NaCl sobre A, E e g_s foram controlados na presença da NP, apresentando poucos danos em relação ao grupo controle e o tratamento de forma isolada sobre as plantas demonstrou que as NPs de SiO₂ não afetaram os parâmetros fotossintéticos (Larkunthod *et al.*, 2022), corroborando com os resultados encontrados em nosso trabalho.

Conclusão

Nossos resultados com soja confirmaram que, de fato, as NPs de SiO₂ não exercem efeitos negativos sobre plantas de soja. A g_m aumentada revela maior disponibilidade de CO₂ para a Rubisco atuar como carboxilase, favorecendo a assimilação do CO₂ e o crescimento da planta. Juntamente com o aumento na F_v'/F_m' , a fotossíntese foi favorecida, visto que o PSII tem sua eficiência aprimorada, já que o isoprenoide Q_a pode ser reduzido, favorecendo o fluxo de elétrons. Em resumo, nossos dados indicaram que os efeitos das NPs de SiO₂ na fotossíntese da soja são em sua maioria não significativos, atestando sua atoxicidade ou baixa toxicidade para a soja na concentração testada neste estudo.

Referências

- Ahmed KBM, Khan MMA, Shabbir A, Ahmad B, Uddin M, Azam A. 2022.** Comparative Effect of Foliar Application of Silicon, Titanium and Zinc Nanoparticles on the Performance of Vetiver- a Medicinal and Aromatic Plant. *Silicon*.
- Baker NR. 2008.** Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology* **59**: 89–113.
- Bezerra MA, Lacerda CF, Prisco JT, Filho EG. 2005.** Crescimento e fotossíntese de plantas jovens de cajueiro anão precoce sob estresse salino. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*: 90–94.
- Birbaum K, Brogioli R, Schellenberg M, Martinoia E, Stark WJ, Günther D, Limbach LK. 2010.** No Evidence for Cerium Dioxide Nanoparticle Translocation in Maize Plants. *Environmental Science & Technology* **44**: 8718–8723.
- Björkman O, Demmig B. 1987.** Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* **170**: 489–504.
- Evans JR. 2013.** Improving photosynthesis. *Plant Physiology* **162**: 1780–1793.
- Falco WF, Botero ER, Falcão EA, Santiago EF, Bagnato VS, Caires ARL. 2011.** In vivo observation of chlorophyll fluorescence quenching induced by gold nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **225**: 65–71.
- Fatemi H, Esmail Pour B, Rizwan M. 2020.** Isolation and characterization of lead (Pb) resistant microbes and their combined use with silicon nanoparticles improved the growth, photosynthesis and antioxidant capacity of coriander (*Coriandrum sativum* L.) under Pb stress. *Environmental Pollution* **266**.

- Galazzi EB. 2011.** Desempenho fotossintético de plantas de *Jatropha curvas* L. cultivadas no Estado do Espírito Santo.
- Genty B, Briantais JM, Baker NR. 1989a.** The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* **990**: 87–92.
- Genty B, Briantais J-M, Baker NR. 1989b.** The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* **990**: 87–92.
- Hall DO, Scurlock JMO, Bolhar-Nordenkampf HR, Leegood RC, Long SP. 1993.** *Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual*. Springer-Science+Business Media, B. V.
- Jeelani PG, Mulay P, Venkat R, Ramalingam C. 2020.** Multifaceted Application of Silica Nanoparticles. A Review. *Silicon* **12**: 1337–1354.
- Kataria S, Jain M, Rastogi A, Živčák M, Brestic M, Liu S, Tripathi DK. 2018.** Role of nanoparticles on photosynthesis: Avenues and applications. In: *Nanomaterials in Plants, Algae and Microorganisms: Concepts and Controversies: Volume 2*. Elsevier, 103–127.
- Khan MN, Mobin M, Abbas ZK, AlMutairi KA, Siddiqui ZH. 2017.** Role of nanomaterials in plants under challenging environments. *Plant Physiology and Biochemistry* **110**: 194–209.
- Khan MR, Siddiqui ZA. 2020.** Use of silicon dioxide nanoparticles for the management of *Meloidogyne incognita*, *Pectobacterium betavascularum* and *Rhizoctonia solani* disease complex of beetroot (*Beta vulgaris* L.). *Scientia Horticulturae* **265**.
- Kimball BA. 1983.** Carbon Dioxide and Agricultural Yield: An Assemblage and Analysis of 430 Prior Observations. *Agronomy Journal* **75**: 779–788.
- Konrad MLF, Silva JAB da, Furlani PR, Machado EC. 2005.** Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. *Bragantia* **64**: 339–347.
- Lambers H, Oliveira RS. 2019.** *Plant physiological ecology*.
- Larkunthod P, Boonlakhorn J, Pansarakham P, Pongdontri P, Theerakulpisut P. 2022.** Synthesis and characterization of silica nanoparticles from rice husk and their effects on physiology of rice under salt stress. *Chilean Journal of Agricultural Research* **82**: 412–425.
- Lobo F de A, de Barros MP, Dalmagro HJ, Dalmolin ÂC, Pereira WE, de Souza ÉC, Vourlitis GL, Rodríguez Ortíz CE. 2013a.** Fitting net photosynthetic light-response curves with Microsoft Excel - a critical look at the models. *Photosynthetica* **51**: 445–456.
- Long SP, Ainsworth EA, Rogers A, Ort DR. 2004.** Rising Atmospheric Carbon Dioxide: Plants FACE the future. *Annual Review of Plant Biology* **55**: 591–628.

- Loriaux SD, Avenson TJ, Welles JM, Mcdermitt DK, Eckles RD, Riensche B, Genty B. 2013.** Closing in on maximum yield of chlorophyll fluorescence using a single multiphase flash of sub-saturating intensity. *Plant, Cell and Environment* **36**: 1755–1770.
- Luyckx M, Hausman JF, Lutts S, Guerriero G. 2017.** Silicon and plants: Current knowledge and technological perspectives. *Frontiers in Plant Science* **8**.
- Machado EC, Schmidt PT, Medina CL, Ribeiro ERV. 2005.** Photosynthetic responses of three citrus species to environmental factors. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* **40**: 1161–1170.
- Mali SC, Raj S, Trivedi R. 2020.** Nanotechnology a novel approach to enhance crop productivity. *Biochemistry and Biophysics Reports* **24**.
- Maurer-Jones MA, Gunsolus IL, Murphy CJ, Haynes CL. 2013.** Toxicity of engineered nanoparticles in the environment. *Analytical Chemistry* **85**: 3036–3049.
- Maxwell K, Johnson GN. 2000.** *Chlorophyll fluorescence-a practical guide*.
- Moriwaki T, Falcioni R, Tanaka FAO, Cardoso KAK, Souza LA, Benedito E, Nanni MR, Bonato CM, Antunes WC. 2019.** Nitrogen-improved photosynthesis quantum yield is driven by increased thylakoid density, enhancing green light absorption. *Plant Science* **278**: 1–11.
- Nelson DL, Cox MM. 2017.** Lehninger Principles of Biochemistry 7th. *W.H. Freeman and Company* **2**.
- Perreault F, Samadani M, Dewez D. 2014.** Effect of soluble copper released from copper oxide nanoparticles solubilisation on growth and photosynthetic processes of *Lemna gibba* L. *Nanotoxicology* **8**: 374–382.
- Priester JH, Ge Y, Mielke RE, Horst AM, Moritz SC, Espinosa K, Gelb J, Walker SL, Nisbet RM, An Y-J, et al. 2012.** Soybean susceptibility to manufactured nanomaterials with evidence for food quality and soil fertility interruption. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **109**: E2451-6.
- Sharkey TD, Bernacchi CJ, Farquhar GD, Singsaas EL. 2007.** Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. *Plant, Cell and Environment* **30**: 1035–1040.
- Siddiqui H, Ahmed KBM, Sami F, Hayat S. 2020.** Silicon Nanoparticles and Plants: Current Knowledge and Future Perspectives. In: 129–142.
- Siddiqui MH, Al-Wahaibi MH, Faisal M, al Sahli AA. 2014.** Nano-silicon dioxide mitigates the adverse effects of salt stress on *Cucurbita pepo* L. *Environmental Toxicology and Chemistry* **33**: 2429–2437.
- Siddiqui MH, Al-Wahaibi MH, Firoz M, Al-Khaishany MY. 2015.** Role of nanoparticles in plants. In: *Nanotechnology and Plant Sciences: Nanoparticles and Their Impact on Plants*. Springer International Publishing, 19–35.

Soares AR, de Ferrarese MLL, de Siqueira-Soares RC, Marchiosi R, Finger-Teixeira A, Ferrarese-Filho O. 2011. The Allelochemical L-DOPA Increases Melanin Production and Reduces Reactive Oxygen Species in Soybean Roots. *Journal of Chemical Ecology* **37**: 891–898.

Sun D, Hussain HI, Yi Z, Rookes JE, Kong L, Cahill DM. 2016. Mesoporous silica nanoparticles enhance seedling growth and photosynthesis in wheat and lupin. *Chemosphere* **152**: 81–91.

Tang L, Cheng J. 2013. Nonporous silica nanoparticles for nanomedicine application. *Nano Today* **8**: 290–312.

Tripathi DK, Singh VP, Prasad SM, Chauhan DK, Dubey NK. 2015. Silicon nanoparticles (SiNp) alleviate chromium (VI) phytotoxicity in *Pisum sativum* (L.) seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* **96**: 189–198.

Vineeth Kumar CM, Karthick V, Kumar VG, Inbakandan D, Rene ER, Suganya KSU, Embrandiri A, Dhas TS, Ravi M, Sowmiya P. 2022. The impact of engineered nanomaterials on the environment: Release mechanism, toxicity, transformation, and remediation. *Environmental Research* **212**: 113202.

Wang Y, Zhao Q, Han N, Bai L, Li J, Liu J, Che E, Hu L, Zhang Q, Jiang T, et al. 2015. Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* **11**: 313–327.

Zhou H, Akçay E, Helliker BR. 2019. Estimating C4 photosynthesis parameters by fitting intensive A/Ci curves. *Photosynthesis Research* **141**: 181–194.

Tabelas

Tabela 1. Taxa de respiração no escuro (R_d) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), ponto de compensação da luz (I_{comp}) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), assimilação máxima de carbono (P_{Nmax}) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e rendimento quântico da fotossíntese (α) [$(\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1})/(\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1})$] e 0 e 500 mg L^{-1} de NPs de SiO_2 . Médias ($n = 4 \pm \text{EPM}$) seguidas por asterisco (*) são estatisticamente diferentes do controle de acordo com o teste t de student ($p \leq 0,05$).

[CO ₂]	SiO ₂	R_D	I_{comp}	P_{Nmax}	α
400	0	1,52 ± 0,1109	24,2 ± 1,87	15,25 ± 1,17	0,0586 ± 0,001
	500	1,867 ± 0,1202	31,33 ± 3,78	13,2 ± 0,9487	0,0537 ± 0,0635

Figuras

Fig 1. Efeitos de nanopartículas de SiO₂ (500 mg L⁻¹) após 29 dias de exposição, sobre a taxa fotossintética (**A**), condutância estomática (**B**), transpiração (**C**) e concentração intercelular de CO₂ (**D**). Médias (n = 4 ± EPM) - seguidas por asterisco (*) são estatisticamente diferentes do controle de acordo com o teste *t* de student ($p \leq 0,05$).

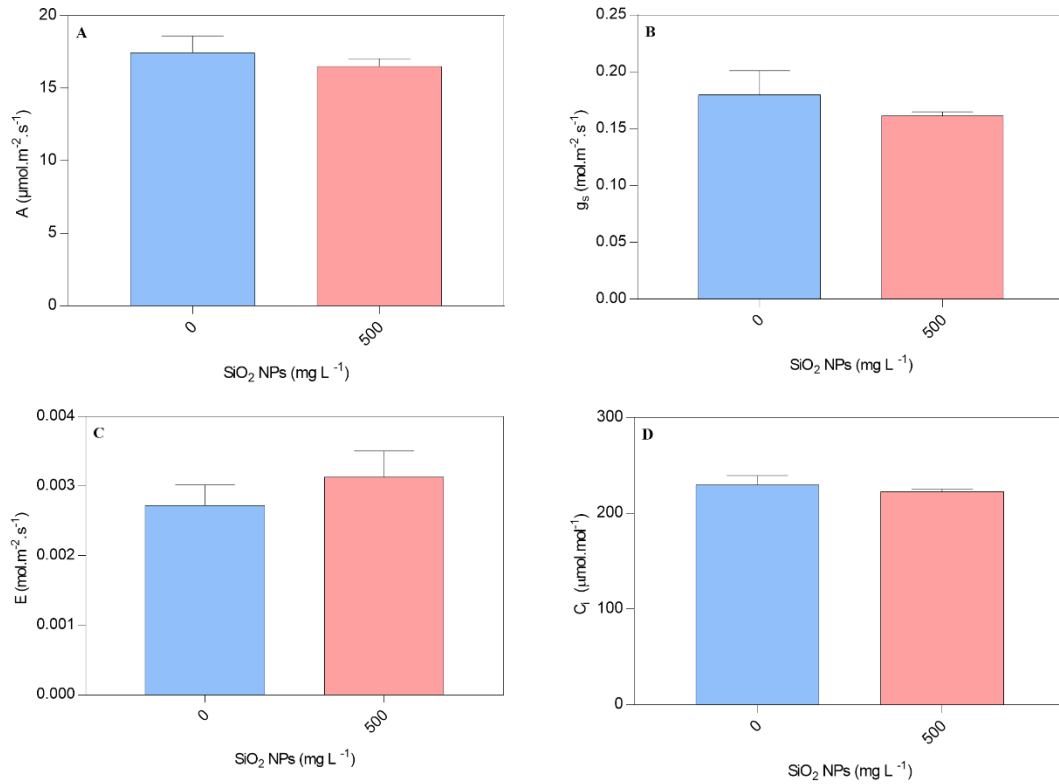


Fig 2. Efeitos de nanopartículas de SiO₂ (500 mg L⁻¹) após 29 dias de exposição sobre a taxa de transporte de elétrons fotossintéticos (*J*) (A), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (*V_{cmáx}*) (B), velocidade máxima de carboxilação da PEP carboxilase (*V_{pmáx}*) (C) e condutância mesofílica (*g_m*) (C) obtidos a partir da curva de A em função de *C_i* das folhas de soja. Médias (*n* = 4 ± EPM) seguidas por asterisco (*) são estatisticamente diferentes do controle de acordo com o teste de t de student (*p* ≤ 0,05).

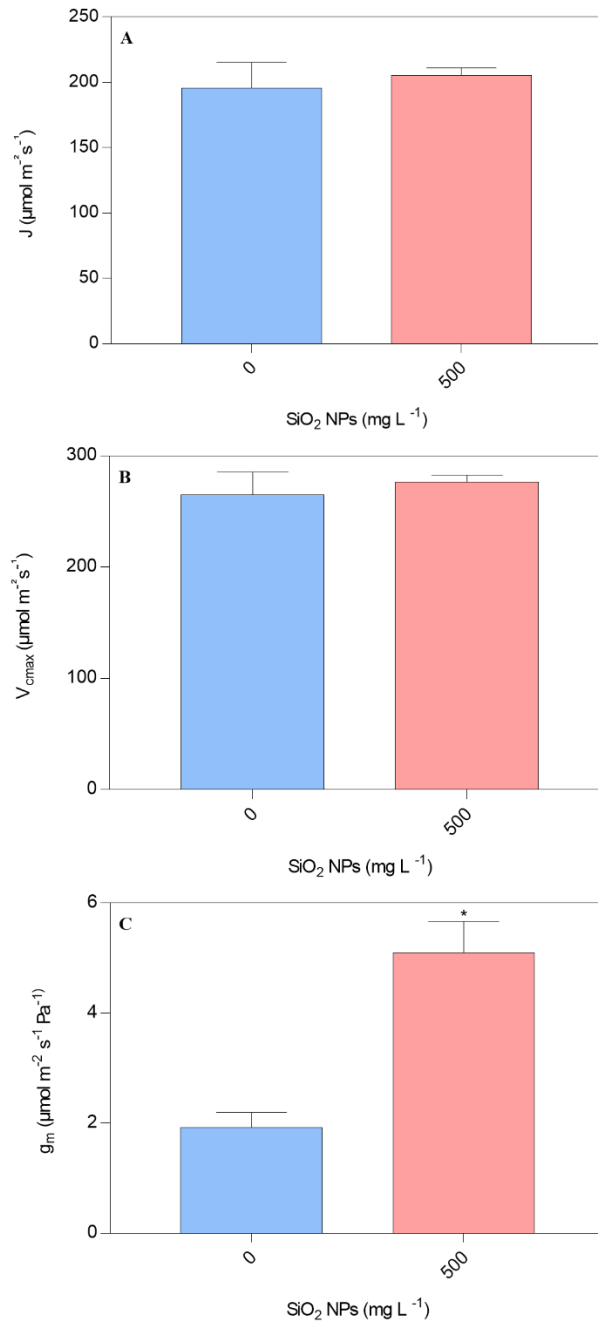


Fig 3. Efeitos de nanopartículas de SiO₂ (500 mg L⁻¹) sobre os parâmetros fotossintéticos relacionados a fluorescência da clorofila *a* em plantas adaptadas ao escuro e a luz após 29 dias de exposição à NP de SiO₂. Fluorescência inicial (F₀) (A), fluorescência máxima (F_m) (B), rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) (C), eficiência quântica fotoquímica efetiva (F_v'/F_m' (D), rendimento efetivo (φ_{PSII}) (E) e taxa de transporte de elétrons (ETR) (F). Médias (n = 4 ± EPM) seguidas por asterisco (*) são estatisticamente diferentes do controle de acordo com o teste de t de student (p ≤ 0,05).

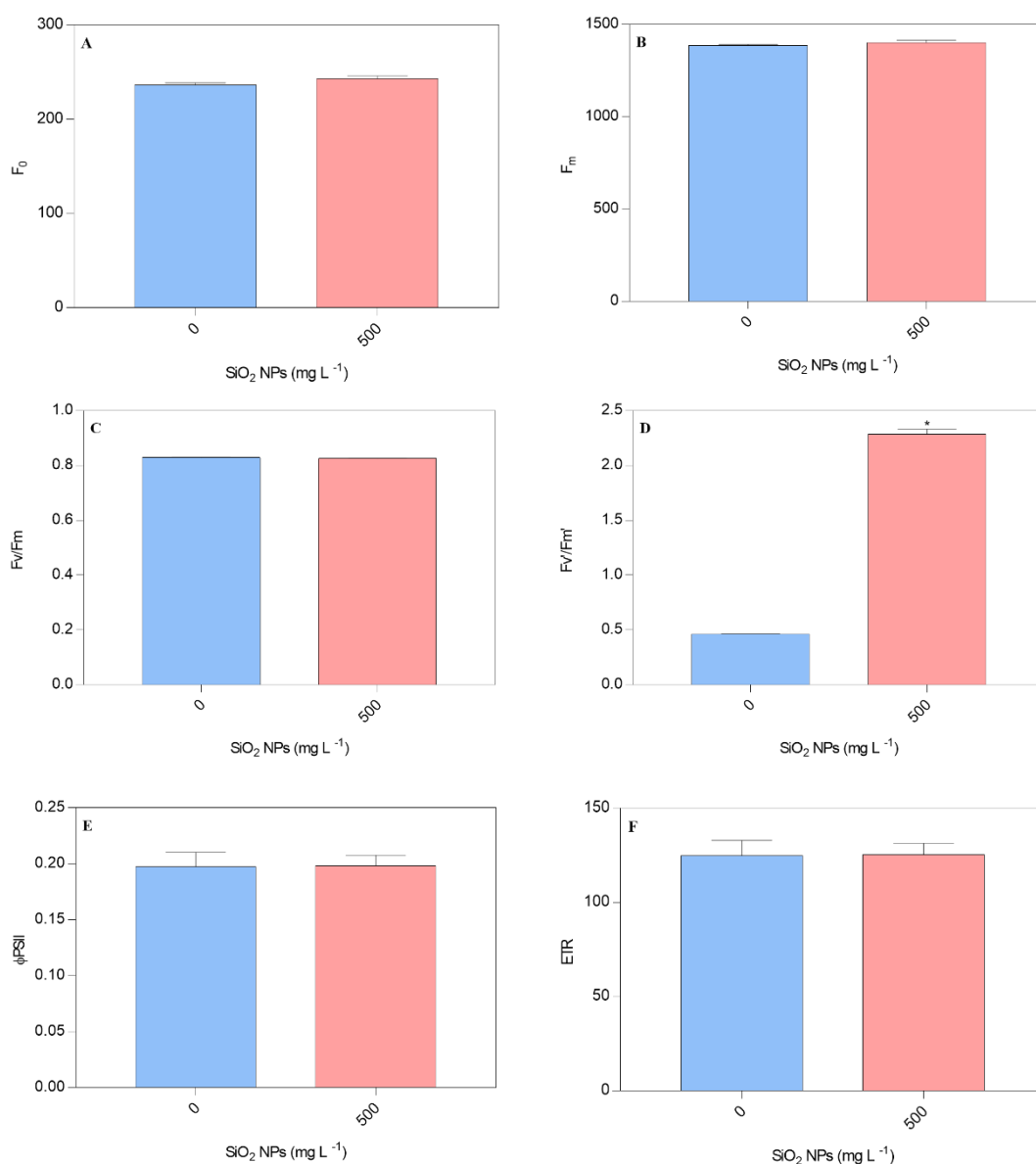


Fig 4. Efeitos de nanopartículas de SiO₂ (500 mg L⁻¹) após 29 dias de exposição, nos quenchings fotoquímico (qP) (**A**), não fotoquímico (qN e NPQ) (**B e C**) e no teor de clorofila (**D**). Médias (n = 6 ± EPM) seguidas por asterisco (*) são estatisticamente diferentes do controle de acordo com o teste de t de student (p ≤ 0,05).

