

*TRABALHO COMPLETO CONTENDO ARTIGOS CIENTÍFICOS. AGUARDANDO A PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS!

Título: NANOPARTÍCULAS BIOGÊNICAS DE TITÂNIO A PARTIR DE *Trichoderma harzianum* PARA APLICAÇÃO NA ÁREA AGRÍCOLA: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E BIOATIVIDADE

Autora: Tatiane Pasquoto Stigliani

Orientadora: Prof.^a Dra. Renata de Lima

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi sintetizar NPs biogênicas de titânio a partir do fungo *Trichoderma harzianum*, utilizando diferentes precursores, visando controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. As NPs de titânio foram sintetizadas a partir do conteúdo enzimático de *T. harzianum* cultivado com estímulo de *S. sclerotiorum* e sem estímulo, utilizando três diferentes precursores: TiO-II, TiO-IV Anatase e TiO-IV Rutilo. As Nps foram caracterizadas para a obtenção de diâmetro médio, polidispersão, concentração (Nps/mL), potencial zeta (ZP), morfologia e pH. Ao final da síntese foi observado *T. harzianum* remanescente nas suspensões de todas as NPs, então foi avaliada sua viabilidade e crescimento, bem como a bioatividade das NPs no controle de *S. sclerotiorum*. Com base nos resultados, duas nanopartículas foram escolhidas para a análise de citotoxicidade e genotoxicidade em células animais (NPTiOII e NPTiOIVR, ambas sem estímulo). Por fim foi avaliada a ação das Nps de TiOIVR sem estímulo em microrganismos de importância agrícola e bactérias envolvidas como ciclo do nitrogênio no solo, bem como sua ação na morfologia e estresse oxidativo em plantas de soja. As NPs sintetizadas com estímulo apresentaram maior diâmetro médio, sendo 712,9 nm para as NPTiOII, 774,4 nm para as NPTiOIVA e 650,7 nm para as NPTiOIVR, em comparação com as sintetizadas sem estímulo, que apresentaram 459,6 nm para as NPTiOII, 310,1 nm para as NPTiOIVA e 567,4 nm para as NPTiOIVR. Foi observado também maior eletronegatividade nas NPs sintetizadas sem estímulo, com ZPs de -19,33 mV (NPTiOII), -16,40 mV (NPTiOIVA) e -20,2 mV (NPTiOIVR) em comparação com as sintetizadas com estímulo, que apresentaram ZP de -9,41 mV (NPTiOII), -7,53 mV (NPTiOIVA) e -17,10 mV (NPTiOIVR), o que pode ser consequência da produção de maior quantidade e variedade de proteínas pelo *T. harzianum* na presença de *S. sclerotiorum*. Foi observada também a melhor atividade das NPTiOII e NPTiOIVR sem estímulo no crescimento de *T. harzianum* e no controle do fitopatógeno, motivo pelo qual estas Nps foram escolhidas para continuidade das análises. Com relação à citotoxicidade, não foram observadas alterações nas linhagens testadas com e sem exposição à radiação UV, porém foi observado aumento no índice de danos para ambas as NPs apenas na linhagem HaCat, indicando uma maior sensibilidade desta linhagem com relação às demais. Não foram observadas diferenças significativas na morfologia e nos marcadores de estresse oxidativo de plantas de soja, bem como não foi alcançada a concentração de NPTiOIVR capaz de inibir o crescimento de microrganismos de interesse agrícola, porém foi observada uma leve alteração na quantidade e proporção de bactérias do ciclo do nitrogênio no solo. Com base no descrito, foi possível comprovar a viabilidade da técnica aplicada para a síntese de nanopartículas a partir de *T. harzianum*, sua bioatividade no controle de *S. sclerotiorum* e baixa toxicidade, porém são necessários mais estudos acerca deste novo nanomaterial antes da sua aplicação na agricultura. Palavras-chave: Biossíntese de Nanopartículas. Nanopartículas de Óxidos de Metais. Controle de Pragas. Citotoxicidade. Genotoxicidade. Fitotoxicidade.

*TRABALHO COMPLETO CONTENDO ARTIGOS CIENTÍFICOS. AGUARDANDO A PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS!

ABSTRACT

The aim of this work was to synthesize biogenic titanium NPs from *Trichoderma harzianum* fungus, using different precursors, aiming at controlling *Sclerotinia sclerotiorum*. Titanium NPs were synthesized from the *T. harzianum* enzymatic content cultivated with *S. sclerotiorum* stimulus and without stimulation, using three different precursors: TiO-II, TiO-IV Anatase and TiO-IV Rutile. Nps were characterized to obtain mean diameter, polydispersity, concentration (Nps / mL), zeta potential (ZP), morphology and pH. After the synthesis was observed remnant *T. harzianum* in all NPs suspensions and their growth and viability were evaluated, as well as the bioactivity of the NPs in the control of *S. sclerotiorum*. According to results, two nanoparticles were chosen for the analysis of cytotoxicity and genotoxicity in animal cells (NPTiOII and NPTiOIVR, both without stimulation). Finally, the action of TiOIVR Nps without stimulation in microorganisms of agricultural importance and bacteria involved in nitrogen cycle in the soil was evaluated, as well as its action on morphology and oxidative stress in soybean plants. NPs synthesized with *S. sclerotiorum* stimulus presented means diameters of 712.9 nm for NPTiOII, 774.4 nm for NPTiOIVA and 650.7 nm for NPTiOIVR, larger than those synthesized without stimulus, which presented 459.6 nm for NPTiOIVR. NPTiOII, 310.1 nm for NPTiOIVA and 567.4 nm for NPTiOIVR. Higher electronegativity was also observed in non-stimulated NPs, with ZPs of -19.33 mV (NPTiOII), -16.40 mV (NPTiOIVA) and -20.2 mV (NPTiOIVR) compared to those synthesized with stimulus. ZP of -9.41 mV (NPTiOII), -7.53 mV (NPTiOIVA) and -17.10 mV (NPTiOIVR), which may be a consequence of the increase of protein production by *T. harzianum* in the presence of *S. sclerotiorum*. It was also observed the best activity of NPTiOII and NPTiOIVR without stimulus on *T. harzianum* growth and phytopathogen control, reason why these Nps were chosen for continuity of the analyzes. Regarding cytotoxicity, no changes were observed in the strains tested with and without exposure to UV radiation, but an increase in the damage index for both NPs was observed only in HaCat cell line, indicating higher sensitivity compared to the others. No significant differences in soybean plant morphology and oxidative stress were observed, and the concentration of NPTiOIVR capable of inhibiting the growth of microorganisms of agricultural interest was not achieved, but a slight change in the amount and proportion of nitrogen cycle bacteria was observed. Based on the above, it was possible to prove the viability of the applied technique for the synthesis of nanoparticles from *T. harzianum*, its bioactivity in the control of *S. sclerotiorum* and low toxicity, but further studies on this new nanomaterial are needed before its application in agriculture. Key words: Nanoparticles Biosynthesis, Pest Control. Metal Oxide Nanoparticles Cytotoxicity. Genotoxicity. Phytotoxicity.