

Vagne de Melo de Oliveira
Thiago Pajeú Nascimento
Juanize Matias da Silva Batista
Kethylen Barbara Barbosa Cardoso
Romero Marcos Pedrosa Brandão Costa
Ana Lúcia Figueiredo Porto

BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL

LABTECBIO
Laboratório de Tecnologia de Bioativos
LABIOPROT
LABORATÓRIO DE BIOTECNOLOGIA DE PROTEÍNAS

Rfb
Editora



BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL

Vagne de Melo de Oliveira
Thiago Pajeú Nascimento
Juanize Matias da Silva Batista
Kethylen Barbara Barbosa Cardoso
Romero Marcos Pedrosa Brandão da Costa
Ana Lúcia Figueiredo Porto
(Organizadores)

BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL

Edição 1

Belém-PA



2022

© 2022 Edição brasileira
by RFB Editora

© 2022 Texto
by Autor(es)

Todos os direitos reservados

RFB Editora
Home Page: www.rfbeditora.com
Email: adm@rfbeditora.com
WhatsApp: 91 98885-7730
CNPJ: 39.242.488/0001-07
Av. Augusto Montenegro, 4120 - Parque Verde, Belém - PA, 66635-110

Diagramação

Danilo Wothon Pereira da Silva

Design da capa

Organizadores

Revisão de texto

Os autores

Bibliotecária

Janaina Karina Alves Trigo Ramos

Gerente editorial

Nazareno Da Luz

<https://doi.org/10.46898/rfb.9786558892328>

Catálogo na publicação

Elaborada por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

B616

Biotecnologia ambiental / Vagne de Melo de Oliveira (Organizador), Thiago Pajeú Nascimento (Organizador), Juanize Matias da Silva Batista (Organizadora), et al. – Belém: RFB, 2021.

Outros organizadores

Kethylen Barbara Barbosa Cardoso

Romero Marcos Pedrosa Brandão da Costa

Ana Lúcia Figueiredo Porto

Livro em PDF

42 p., il.

ISBN: 978-65-5889-232-8

DOI: 10.46898/rfb.9786558892328

1. Biotecnologia na agricultura. 2. Microrganismos. 3. Nanotecnologia. I. Oliveira, Vagne de Melo de (Organizador). II. Nascimento, Thiago Pajeú (Organizador). III. Batista, Juanize Matias da Silva (Organizadora). IV. Título.

CDD 631.52

Índice para catálogo sistemático

I. Biotecnologia na agricultura



Todo o conteúdo apresentado neste livro, inclusive correção ortográfica e gramatical, é de responsabilidade do(s) autor(es).

Obra sob o selo *Creative Commons*-Atribuição 4.0 Internacional. Esta licença permite que outros distribuam, remixem, adaptem e criem a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que lhe atribuam o devido crédito pela criação original.

Conselho Editorial

Prof. Dr. Ednilson Sergio Ramalho de Souza - UFOPA (Editor-Chefe)

Prof.^a Dr.^a. Roberta Modesto Braga-UFPA

Prof. Dr. Laecio Nobre de Macedo-UFMA

Prof. Dr. Rodolfo Maduro Almeida-UFOPA

Prof.^a Dr.^a. Ana Angelica Mathias Macedo-IFMA

Prof. Me. Francisco Robson Alves da Silva-IFPA

Prof.^a Dr.^a. Elizabeth Gomes Souza-UFPA

Prof.^a Dr.^a. Neuma Teixeira dos Santos-UFRA

Prof.^a Ma. Antônia Edna Silva dos Santos-UEPA

Prof. Dr. Carlos Erick Brito de Sousa-UFMA

Prof. Dr. Orlando José de Almeida Filho-UFSJ

Prof.^a Dr.^a. Isabella Macário Ferro Cavalcanti-UFPE

Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares-UFPI

Prof.^a Dr.^a. Welma Emidio da Silva-FIS

Comissão Científica

Prof. Dr. Laecio Nobre de Macedo-UFMA

Prof. Me. Darlan Tavares dos Santos-UFRJ

Prof. Dr. Rodolfo Maduro Almeida-UFOPA

Prof. Me. Francisco Pessoa de Paiva Júnior-IFMA

Prof.^a Dr.^a. Ana Angelica Mathias Macedo-IFMA

Prof. Me. Antonio Santana Sobrinho-IFCE

Prof.^a Dr.^a. Elizabeth Gomes Souza-UFPA

Prof. Me. Raphael Almeida Silva Soares-UNIVERSO-SG

Prof.^a. Dr.^a. Andréa Krystina Vinente Guimarães-UFOPA

Prof.^a. Ma. Luisa Helena Silva de Sousa-IFPA

Prof. Dr. Aldrin Vianna de Santana-UNIFAP

Prof. Me. Francisco Robson Alves da Silva-IFPA

Prof. Dr. Marcos Rogério Martins Costa-UnB

Prof. Me. Márcio Silveira Nascimento-IFAM

Prof.^a Dr.^a. Roberta Modesto Braga-UFPA

Prof. Me. Fernando Vieira da Cruz-Unicamp

Prof.^a Dr.^a. Neuma Teixeira dos Santos-UFRA

Prof. Me. Angel Pena Galvão-IFPA

Prof.^a. Dr.^a. Dayse Marinho Martins-IEMA

Prof.^a Ma. Antônia Edna Silva dos Santos-UEPA

Prof.^a. Dr.^a. Viviane Dal-Souto Frescura-UFSM

Prof. Dr. José Moraes Souto Filho-FIS

Prof.^a. Ma. Luzia Almeida Couto-IFMT

Prof. Dr. Carlos Erick Brito de Sousa-UFMA

Prof.^a. Ma. Ana Isabela Mafra-Univali

Prof. Me. Otávio Augusto de Moraes-UEMA



Prof. Dr. Antonio dos Santos Silva-UFPA
Prof^a. Dr. Renata Cristina Lopes Andrade-FURG
Prof. Dr. Daniel Tarciso Martins Pereira-UFAM
Prof^a. Dr^a. Tiffany Prokopp Hautrive-Unopar
Prof^a. Ma. Rayssa Feitoza Felix dos Santos-UFPE
Prof. Dr. Alfredo Cesar Antunes-UEPG
Prof. Dr. Vagne de Melo Oliveira-UFPE
Prof^a. Dr^a. Ilka Kassandra Pereira Belfort-Faculdade Laboro
Prof. Dr. Manoel dos Santos Costa-IEMA
Prof^a. Dr^a. Érima Maria de Amorim-UFPE
Prof. Me. Bruno Abilio da Silva Machado-FET
Prof^a. Dr^a. Laise de Holanda Cavalcanti Andrade-UFPE
Prof. Me. Saimon Lima de Britto-UFT
Prof. Dr. Orlando José de Almeida Filho-UFSJ
Prof^a. Ma. Patrícia Pato dos Santos-UEMS
Prof^a. Dr^a. Isabella Macário Ferro Cavalcanti-UFPE
Prof. Me. Alisson Junior dos Santos-UEMG
Prof. Dr. Fábio Lustosa Souza-IFMA
Prof. Me. Pedro Augusto Paula do Carmo-UNIP
Prof^a. Dr^a. Dayana Aparecida Marques de Oliveira Cruz-IFSP
Prof. Me. Alison Batista Vieira Silva Gouveia-UFG
Prof^a. Dr^a. Silvana Gonçalves Brito de Arruda-UFPE
Prof^a. Dr^a. Nairane da Silva Rosa-Leão-UFRPE
Prof^a. Ma. Adriana Barni Truccolo-UERGS
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares-UFPI
Prof. Me. Fernando Francisco Pereira-UEM
Prof^a. Dr^a. Cátia Rezende-UNIFEV
Prof^a. Dr^a. Katiane Pereira da Silva-UFRA
Prof. Dr. Antonio Thiago Madeira Beirão-UFRA
Prof^a. Ma. Dayse Centurion da Silva-UEMS
Prof^a. Dr^a. Welma Emidio da Silva-FIS
Prof^a. Ma. Elisângela Garcia Santos Rodrigues-UFPB
Prof^a. Dr^a. Thalita Thyrsa de Almeida Santa Rosa-Unimontes
Prof^a. Dr^a. Luci Mendes de Melo Bonini-FATEC Mogi das Cruzes
Prof^a. Ma. Francisca Elidivânia de Farias Camboim-UNIFIP
Prof. Dr. Clézio dos Santos-UFRRJ
Prof^a. Ma. Catiane Raquel Sousa Fernandes-UFPI
Prof^a. Dr^a. Raquel Silvano Almeida-Unespar
Prof^a. Ma. Marta Sofia Inácio Catarino-IPBeja
Prof. Me. Ciro Carlos Antunes-Unimontes
Prof. Dr. Marcos Pereira dos Santos - FAQ/FAEG

Nossa missão é a difusão do conhecimento gerado no âmbito acadêmico por meio da organização e da publicação de livros científicos de fácil acesso, de baixo custo financeiro e de alta qualidade!

Nossa inspiração é acreditar que a ampla divulgação do conhecimento científico pode mudar para melhor o mundo em que vivemos!



AGRADECIMENTO

Este livro faz parte do trabalho desenvolvido com aporte financeiro concedido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, processo nº 88887.175810/2018-00, e do Programa FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco), Acordo CAPES/FACEPE - 18/2016.



SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	9
1 LACASES PRODUZIDAS POR MICRORGANISMOS: UMA REVISÃO.....	11
Julyanne Victória dos Santos Ferreira	
Anna Gabrielly Duarte Neves	
Thiago Pajeú Nascimento	
Vagne de Melo de Oliveira	
Romero Marcos Pedrosa Brandão da Costa	
Juanize Matias da Silva Batista	
Ana Lúcia Figueiredo Porto	
DOI: 10.46898/rfb.9786558892328.1	
2 BIOINSETICIDAS ENCAPSULADOS DE <i>Bacillus thuringiensis</i>: UMA AL-	
TERNATIVA PARA AUMENTAR A PERSISTÊNCIA NO CAMPO.....	25
Márcia Nieves Carneiro da Cunha	
Túlio Alexandre Freire da Silva	
Ana Lúcia Figueiredo Porto	
DOI: 10.46898/rfb.9786558892328.2	
3 NANOTECNOLOGIA VERDE E SUAS APLICAÇÕES NO ECOSISTEMA	
AGRÍCOLA.....	33
Micheline Thais dos Santos	
Juanize Matias da Silva Batista	
Ana Lúcia Figueiredo Porto	
DOI: 10.46898/rfb.9786558892328.3	
ÍNDICE REMISSIVO.....	41



APRESENTAÇÃO

Caros Leitores e leitoras,

É com enorme satisfação que venho apresentar o início dessa coleção de livros. Eles abordarão os principais temas e pesquisas na área de Biotecnologia Ambiental, com relação as principais pesquisas realizadas no LABTECBIO (Laboratório de Tecnologia de Bioativos) localizado na Universidade Federal Rural de Pernambuco. Essa coleção será publicada pela RFB Editora.

A coleção abordará toda a área de Ciências Agrárias, que segundo a Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), englobam: Agroecologia, Agronomia, Medicina Veterinária, Engenharia de Alimentos, Engenharia de Recursos Hídricos e Zootecnia.

Desse modo, todos os capítulos apresentados neste livro - em sua maioria são originários de pesquisa, trabalhos acadêmicos, TCC, monografia, dissertação, tese realizados pelo grupo de pesquisa.

Todos os temas possuem grande relevância e traz alto impacto no desenvolvimento social e científico. De ante mão os autores agradecem a todo o aporte financeiro concedido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, processo nº 88887.175810/2018-00, e do Programa FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco), Acordo CAPES/FACEPE - 18/2016.

Espero que desfrutem de todo o conhecimento científico abordado no livro.

Ana Lúcia Figueiredo Porto
Professora Titular da Universidade Federal Rural de Pernambuco



CAPÍTULO 1

LACASES PRODUZIDAS POR MICROORGANISMOS: UMA REVISÃO

LACCASES PRODUCED BY MICROORGANISMS: A REVIEW

Julyanne Victória dos Santos Ferreira¹

Anna Gabrielly Duarte Neves²

Thiago Pajeú Nascimento³

Vagne de Melo de Oliveira⁴

Romero Marcos Pedrosa Brandão da Costa⁵

Juanize Matias da Silva Batista⁶

Ana Lúcia Figueiredo Porto⁷

DOI: 10.46898/rfb.9786558892328.1

1 Universidade Federal Rural de Pernambuco. <https://orcid.org/0000-0002-3633-3582>. julyanne.marculino@gmail.com

2 Universidade Federal Rural de Pernambuco. <https://orcid.org/0000-0002-2089-5302>. a.gabriellydneves@gmail.com

3 Universidade Federal do Piauí. <http://orcid.org/0000-0003-3480-6734>. thiago_pajeu@hotmail.com

4 Universidade Federal do Acre. <https://orcid.org/0000-0003-0841-1974>. vagne_melo@hotmail.com

5 Universidade de Pernambuco. <https://orcid.org/0000-0001-7045-2975>. romero.brandao@upe.br

6 Universidade Federal Rural de Pernambuco. <http://orcid.org/0000-0001-7654-2533>. juanizematias@yahoo.com.br

7 Universidade Federal Rural de Pernambuco. <https://orcid.org/0000-0001-5561-5158>.
analuporto@yahoo.com.br

RESUMO

As lacases são enzimas pertencentes à família das oxidases multicobre, que catalisam a oxidação ambientalmente amigável de diferentes tipos de substratos aromáticos, juntamente com a redução direta do oxigênio molecular a água, sem formação de peróxido de hidrogênio intermediário. Além disso, lacases apresentam baixa especificidade em substratos, sendo aplicadas em vários processos, sobretudo de remediação de diversos tipos de contaminante, na degradação de corantes sintéticos de efluentes de indústrias têxteis e sucroalcooleiras no solo, na deslignificação de compostos celulósicos entre outros. A produção dessa classe de enzimas ocorre principalmente por microrganismos, bactérias e com maior destaque por meio de fungos filamentosos, que apresentam capacidade de produzir a enzima extracelularmente, seja por fermentação em estado sólido (FES), fermentação submersa ou estado semi-sólido. A produção de lacase é influenciada por diversos fatores como: condições da cultura, natureza e concentração de fontes de carbono e nitrogênio, composição do meio, pH e temperatura. Sendo assim, esta revisão objetivou abordar os principais relatos da literatura sobre a produção de lacases de origem bacteriana e fúngicas, e constatou-se que as lacases obtidas por meio da fermentação em estado sólido de fungos filamentosos, na qual utiliza-se o íon cobre como indutor no meio para otimizar a produção são as que apresentam as maiores atividades enzimáticas com potencial para as mais diversas aplicações industriais.

Palavras-chave: Enzima. Fungos. Bactérias. Síntese. Otimização

ABSTRACT

Laccases are enzymes belonging to the family of multicopper oxidases, which catalyze the environmentally friendly oxidation of different types of aromatic substrates, together with the direct reduction of molecular oxygen to water, without the formation of intermediate hydrogen peroxide. Furthermore, laccases present specificity in substrates, being applied in several processes, mainly in the remediation of different types of contaminants, in the degradation of synthetic dyes from effluents from textile and sugar-alcohol industries in the soil, in the delignification of cellulosic compounds, among others. The production of this class of enzymes occurs mainly by microorganisms, bacteria and more prominently through filamentous fungi, which have the ability to produce the enzyme extracellularly, either by solid state fermentation (FES), submerged fermentation or semi-solid state. The production of laccase is influenced by several factors such as: culture conditions, nature and concentration of carbon and nitrogen sources, composition of the medium, pH and temperature. Therefore, this review aimed to address the main reports in the

literature on the production of laccases of bacterial and fungal origin, and it was found that the laccases transferred through solid state fermentation of filamentous fungi, in which the copper ion is used. as an inductor in the medium to optimize production, they are those with the greatest enzymatic activities with potential for the most diverse industrial applications.

Keywords: Enzyme. Fungi. Bacteria. Synthesis. optimization

1 INTRODUÇÃO

As lacases são enzimas catalisadoras pertencentes à família das oxidases multicobre, são glicoproteínas diméricas ou tetraméricas com quatro átomos de cobre por molécula espalhadas entre três locais, que catalisam a oxidação de um elétron de quatro moléculas de substrato redutor concomitante com a redução de quatro elétrons da água de oxigênio molecular. Esse grupo de enzimas são os mais amplamente estudado entre as oxidases, pois não requerem a peróxido de hidrogênio prejudicial para a reação oxidativa como outras oxidases e peroxidases (Fonseca et al., 2015; Sharma et al., 2018).

Logo, as lacases são de natureza ecológica pois, catalisam a oxidação ambientalmente amigável de diferentes tipos de substratos aromáticos, juntamente com a redução direta do oxigênio molecular na água, sem formação de peróxido de hidrogênio intermediário. Além disso, lacases podem catalisar a oxidação de compostos fenólicos usando oxigênio molecular como aceitador de elétrons, e usando mediadores de baixo peso molecular, substratos de lacase podem ser ampliados para incluir compostos não-fenólicos (Yuan et al., 2020; Mehandia et al., 2020)

Esse grupo de enzimas apresentam baixa especificidade em substratos, sendo aplicadas em vários processos, na remediação de diversos tipos de contaminante, fenólicos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos do ambiente, na degradação de corantes sintéticos de efluentes de indústrias têxteis e sucroalcooleiras no solo, na deslignificação de compostos celulósicos, no branqueamento de celulose na indústria de papel, no tratamento de águas residuais, na desintoxicação de poluentes ambientais e na decomposição de vários micropoluentes (Junior et al., 2019; Sané et al., 2014). Para que essas aplicações sejam eficazes é necessária lacase adequada para cada finalidade específica que deve ser originária da natureza e produzida em quantidade adequada. (Mehandia et al., 2020)

Sendo assim, a presente revisão objetivou abordar os principais relatos da literatura sobre a produção, melhores condições de cultivo e otimização de lacases

de origem bacteriana e fúngica, de forma a auxiliar outros pesquisadores em seus trabalhos.

2 METODOLOGIA

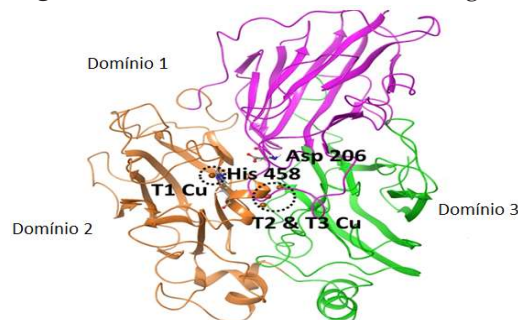
Foi realizada uma pesquisa bibliográfica nas bases Science direct, PubMed, Springer e Google acadêmico utilizando os descritores: *laccase*, *production* e *microorganisms*, no idioma inglês, cuja busca se ateve a artigos e capítulos de livros publicado entre os anos de 2014 e 2020, sendo excluídos cartas, comentários, artigos de opinião e de revisão, foram selecionados 26 artigos e 1 capítulo de livro, pelos seus títulos e resumos, que descreviam bem a forma de produção de lacase em suas metodologias e que em seus resultados constavam a atividade máxima de lacase encontrada.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

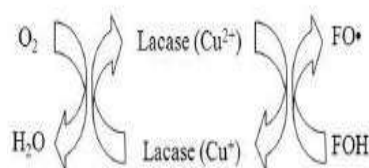
3.1 Lacase (LAC)

As lacases pertencem ao grupo das enzimas multicobre oxidase (benzenediol: oxigênio oxi-redutase) [EC 1.10.3.2] compostas por um sítio ativo com quatro íons de cobre dispostas em uma estrutura geométrica e eletrônica, as lacases fúngicas contêm quatro átomos catalíticos de Cu e apresentam três domínios. Os substratos são consecutivamente oxidados por um elétron no local T1 próximo a superfície da proteína, e a redução de 4 elétrons de O₂ em água ocorre no local T2 /T3, como pode ser observado na (Figura 1). As lacases catalisam a oxidação de um elétron (e⁻) de diversos substratos e transferem sequencialmente quatro elétrons para os átomos catalíticos de cobre (Cu), que são usados para reduzir O₂ para duas moléculas de água, como pode ser observado no esquema ilustrado na Figura 2 (Mehra et al., 2018).

Figura 1 - Estrutura de uma lacase fúngica.



Fonte: Mehra e colaboradores (2018).

Figura 2 - Lacase oxidando substratos e reduzindo a água.

Fonte: Aguiar e Ferraz (2011).

A produção de lacase deu-se inicialmente por plantas, em seguida foram descobertas a produção por fungos e bactérias, entretanto estudos dos últimos 5 anos apontam que essa enzima é secretada principalmente por fungos filamentosos, que são capazes de produzir extracelularmente uma grande diversidade de enzimas no ambiente, em virtude do seu alto poder degradativo e biosortivo, além de resistirem em condições ambientais adversas. (Wang et al., 2015; Liu et al., 2017).

3.2 Lacases bacterianas

As bactérias são conhecidas por sua versatilidade bioquímica e capacidade de adaptação a diferentes ambientes (Chandra et al. 2007). Segundo a literatura, ambos os tipos de fermentação (estado sólido e submerso) são adequados para a produção de lacase bacteriana (Neifar et al. 2016; Devasia e Nair 2016; Muthukumarasamy et al. 2015; Sondhi et al. 2014).

O primeiro relato encontrado na literatura sobre lacase bacteriana foi de Givaudan et al. (1993), no qual a enzima foi encontrada em uma cepa não móvel da *Azospirillum lipoferum*, uma bactéria gram negativa, não fermentativa e fixadora de nitrogênio que promove o crescimento de plantas, e foi isolada a partir da rizosfera de arroz, diferentes compostos aromáticos como L-DOPA, SGZ, p-fenileno diamina e 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) foram utilizados como substratos para produção de lacase. Essa descoberta proporcionou e incentivou a busca para a exploração e aplicação da lacase em diversos microrganismos.

Em um estudo mais recente, Odeniyi et al. (2017), propôs que as lacases bacterianas são secretadas espontaneamente e que sua produção pode ser intensificada pelas condições de crescimento e nutricionais do meio, bem como utilizando resíduos agrícolas com matéria-prima barata, que reduzem o custo de uma produção em larga escala com o alívio simultâneo da toxicidade ambiental dos resíduos, tornando-os úteis para fins agrícolas e atendendo às metas de sustentabilidade. Além disso, quando os níveis das fontes de carbono diminuem, a síntese de lacase é reforçada pela lignina e compostos fenólicos presentes em resíduos agrícolas (Muthukumarasamy et al. 2015).

Dessa forma, ao utilizar resíduos agroindustriais de casca de mandioca e farelo de trigo, como substratos para a produção de lacase por bactérias do gênero *Achromobacter* Hb9c e *Bordetella* Hb16c; Unuofin et al. (2019) obteve Hb9c 29,4U/ mL e Hb16c 28,2 U/ mL, respectivamente. No entanto ao resolver otimizar a produção usando fatores significativos de fermentação, como variando o pH, agitação, a fonte de nitrogênio e o resíduo agroindustrial, a máxima produção de lacase chegou a Hb9c; 169,39 U / mL e Hb16c; 45,22 U / mL evidenciando o benefício no emprego de resíduos agroindustriais como substratos para produção de lacase, possibilitando sua aplicação industrial.

Na produção de lacase por *Stenotrophomonas* sp. utilizando a fermentação submersa com os seguintes agro resíduos: casca de coco (CS), casca de coco (CH), casca de palmito (PKS), óleo de palma cacho de frutas vazio (OPEFB) e serragem (SD), a máxima produção foi alcançada a 40 ° C, pH 8,0 com nitrato de amônio como fonte de nitrogênio, apresentando maior rendimento (31 U/mg) em CH, PKS e OPEFB (Olajuyigbe et al. 2018).

Diferentes amostras de estações de tratamento de águas residuais selecionadas (ETARs), foram enriquecidas com alguns compostos (vanilina, lignina e hidrogenoftalato de potássio) para detectar isolados bacterianos que possuem potenciais de degradação. Posteriormente, os isolados positivos foram rastreados quanto à produção de lacase e degradação em fenólicos (guaiacol, α -naftol e seringaldazina) e não fenólicos (ABTS; 2,2 azino-bis - (3-etilbenzotiazolina 6 ácido sulfônico) e PFC (potássio ferrocianoferrato) substratos característicos da oxidação da lacase. Os resultados mostraram que as águas residuais e o enriquecimento seletivo produziram, em conjunto, as gama proteobactérias *Pseudomonas aeruginosa* DEJ16, *Pseudomonas mendocina* AEN16 e *Stenotrophomonas maltophilia* BIJ16, que oxidaram preferencialmente os substratos não fenólicos. As maiores atividades de lacase extracelular foram Dbza4; cca. 7011 U/L, Berl11b2; cca. 6938 U/L, AP21a15; cca.5758 U/L. Indicando portanto que as águas residuais servem como um meio para o isolamento de bactérias produtoras de lacase (Unuofin et al. 2019).

Atualmente, a otimização das condições físico-químicas para produção de lacase, a partir de diferentes microorganismos, está sendo realizada por vários grupos, no entanto essa otimização geralmente envolve a variação de uma variável independente, enquanto fixa outras variáveis, processo esse que é bastante trabalhoso, demorado e muitas vezes, tem os efeitos de interação dos parâmetros negligenciados (Sivakumar et al., 2010). No entanto observa-se em muitos estudos que

o cobre é usado como indutor da produção de lacase acelerando o mecanismo de defesa contra estresse oxidativo.

O cobre sozinho ou em combinação com outros aumenta efetivamente a produção de enzimas. Dessa forma, ao otimizar a produção de lacase, de uma cepa de *Aquisalibacillus elongatus*, o meio de cultura foi suplementado com diferentes indutores (0,1 1 mM) e sais (0 5 M) Rezaei et al. (2017) relataram a forte influência do CuSO_4 como indutor de NaCl na atividade da lacase em que a produção foi estimulada 13,7 vezes (cerca de 4,4 U/ mL).

O rendimento máximo de lacase em bactérias ocorre em temperatura ambiente geralmente de (37°C) (Devasia e Nair 2016), com algumas exceções como 60°C exigidas para a produção de lacase de *Geobacillus thermocatenuatus* (Verma e Shirkot 2014). O pH ideal para a produção de lacase bacteriana é alcalino (Menaka et al. 2015), mas em alguns casos o pH ácido ideal para a produção de enzimas também foi observado (Guo et al. 2017).

Visto que o tempo de incubação para a produção ideal de lacase em bactérias é muito breve, geralmente apenas 24 horas, sendo possível observar na fermentação em estado sólido da *Pseudomonas extremorientalis* utilizando farelo de trigo como substrato em que a atividade máxima de lacase de cerca de 7000 U /L foi obtida em 24 horas (Neifar et al. 2016). As atividades máximas de lacase produzidas pelos microrganismos citados neste tópico e os respectivos autores estão expressas no quadro abaixo.

Quadro 1 - Lacases produzidas por bactérias

Microrganismos	Atividade máxima de lacase	Autor
Bactérias		
<i>Achromobacter</i>	169,39 U /mL	Unuofin et al. (2019)
<i>Bordetella</i>	45,22 U /mL	Unuofin et al. (2019)
<i>Stenotrophomonas sp.</i>	31 U /mg	Olajuyigbe et al. (2018)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7011 U /L	Unuofin et al. (2019)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	6938 U /L	Unuofin et al. (2019)
<i>Pseudomonas mendocina</i>	5758 U /L	Unuofin et al. (2019)
<i>Aquisalibacillus elongatus</i>	4,4 U /mL	Rezaei et al. (2017)
<i>Pseudomonas extremorientalis</i>	7000 U /L	(Neifar et al. 2016)

Fonte: Próprio autor

3.3 Lacases Fúngicas

A maioria dos fungos filamentosos apresentam a capacidade de produzir enzimas extracelularmente, seja por fermentação em estado sólido (FES), fermentação submersa ou estado semi-sólido, o que facilita etapas de purificação (Kumar et.al, 2016; Yesilada et al., 2018). A produção de lacase fúngica é influenciada principalmente pelas condições da cultura, como natureza e concentração de fontes de carbono e nitrogênio, composição do meio, pH e temperatura Patel e Gupte (2016).

A fermentação em estado sólido (FES) é um bioprocesso eficiente pois tem o potencial de converter resíduos agroindustriais em valiosos compostos, produzindo grande quantidade de enzima a baixo custo (Patel e Gupte 2016). Em alguns trabalhos como, Ergun e Urek (2017), utilizando a fermentação em estado sólido com o fungo *Pleurotus ostreatus* no resíduo da casca de batata para obtenção de enzimas lignolíticas, obtiveram a maior atividade de lacase com 17 dias de cultivo, sendo de $6708,3 \pm 75$ U/L. Já Wlizo et al. (2020) em seu trabalho utilizou lacases livre e imobilizada de uma cepa de *Pleurotus ostreatus* obtida após 18 dias de cultivo, a lacase extracelular foi induzida pela presença de $250 \mu\text{M}$ de CuSO_4 adicionado no 4º dia de cultivo.

Sendo assim, um novo fungo basidiomiceto *Tricholoma giganteum* sob fermentação em estado sólido (FES) foi utilizado para produção de lacases, a máxima obtida foi de $2,69 \times 10^5$ U/g usando palha de trigo como substrato seco. O pH ideal foi de 5,0 e a temperatura de 30°C com $0,3 \text{ mM}$ de cobre como indutor. Neste estudo, a glicose tem um efeito perceptível na produção de lacase como substrato durante a fermentação seguido de sacarose, xilose e frutose (Patel e Gupte 2016).

Também utilizando a fermentação em estado sólido do *Pleurotus ostreatus* (PLO 02 and PLO 06) e *Pleurotus eryngii* (PLE 05) com substrato resíduo de coco de Macaúba, Lopes et al. (2020) produziram lacase. Em que os fungos tiveram crescimento micelial em placas de Petri contendo 20 mL de meio de cultura, ágar batata-dextrose (39 g L^{-1}) e lignina (1 g L^{-1}) por 15 dias a $25 \pm 1^\circ \text{C}$. Quatro discos de ágar com os micélios foram adicionados em frascos de Erlenmeyer (150 mL) contendo 50 g de grãos de sorgo previamente cozidos e autoclavados por 20 minutos a 121°C . Após 15 dias a 25°C foram usados como inóculo para a fermentação em estado sólido, a mesma foi realizada em frascos de Erlenmeyer (250 mL) contendo 280 g de resíduo de coco Macaúba e 65 mL de água. Os substratos foram autoclavados por 1 h a 121°C . Após 23 dias de incubação a 25°C , três frascos foram removidos a cada 5 dias para análise. O tempo total de fermentação foi de 63 dias. O extrato de proteína bruta (CPE) foi realizado com 50 mL de tampão citrato de sódio (50 mmol L^{-1} , pH

4,8) e 25 g de substrato/micélio. A atividade da lacase foi maior na PLO 02, para PLO06 e PLE05, a atividade de lacase foi estável em todas as temperaturas analisadas enquanto para PLO 02 teve um aumento na atividade enzimática a 50 ° C.

Além disso, foi encontrado na literatura o uso da fermentação submersa produzida pelo fungo *Pleurotus sajor-caju*, que foi inoculado em balão Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de vinhaça (efluente de indústria sucroalcooleira) com pH 6,0 e previamente autoclavado a 121°C e 1 atm por 15 minutos. Após o resfriamento, esses frascos foram inoculados com três discos (1 cm de diâmetro) do meio de cultura que contém o fungo (MEA meio de extrato de malte), os frascos foram incubados por 15 dias em agitador a 180 rpm e 28°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), sob nenhuma luz, e as amostras foram coletadas a cada 3 dias e a máxima atividade de lacase de 539,3 U/L foi obtida no 3º dia de fermentação usando 0,4 mM de CuSO_4 como indutor que promoveu um aumento de 4 vezes na atividade de lacase (Junior et al. 2019).

Estudos mais recentes apontam que lacases apresentam baixa especificidade em substratos, sendo aplicadas em diferentes processos, esse grupo de enzimas são secretadas principalmente por fungos filamentosos, que são capazes de produzir extracelularmente uma grande diversidade de enzimas no ambiente, em virtude do seu alto poder degradativo e biosortivo, além de resistirem em condições ambientais adversas. (Wang et al., 2015; Liu et al., 2017). Desse modo, uma lacase também foi isolada a partir de uma cepa de *Aspergillus flavus* por Kumar et al. (2016) sendo possível observar que ao utilizar o corante bromofenolblue e ABTS como substratos para a triagem da atividade da lacase, a atividade máxima foi obtida no 12º dia de produção sendo de (17,39 UI/ml) e os estudos de otimização revelaram que o rendimento de lacase foi maior quando operado nas seguintes condições: fonte de carbono - celulose (8%), fonte de nitrogênio - peptona (2%), temperatura - 35°C, pH - 7 e inóculo de tamanho 1,5 cm.

Uma lacase foi isolada de *Fusarium* sp. e caracterizada, a maior produção de lacase extracelular do fungo foi observada como 43,41 U/ml usando tampão de acetato de sódio (100 mM, pH-5,0) e 200 μM de CuSO_4 como indutor no dia 14 em condição estática. O pH e a temperatura ótimos da enzima foram de 5,0 e 30 °C, respectivamente. A enzima foi estável na faixa de pH de 4,0 a 10,0 e em temperaturas abaixo de 40 °C. A lacase apresentou a maior especificidade de substrato para DMP (2,6-dimetoxifenol) como substrato. O K_m e $V_{m\acute{a}x}$ da lacase foram 3,27 mM e 196,07 U/mg, respectivamente para o substrato DMP (Debnath e Saha 2020).

Darvishia et al. (2018) utilizou em seu estudo lacase produzida pela levedura *Yarrowia lipolytica* otimizou a produção usando sacarose como principal fonte de

carbono e aplicou a enzima na descoloração de corantes sintéticos. Após a otimização dos níveis de sacarose, cloreto de amônio, extrato de levedura e tiamina o autor obteve 900 U L⁻¹ e em um biorreator de 5L a sua produção atingiu 6760 U L⁻¹.

A partir de fungos endofíticos irradiados pela radiação gama foi possível observar a produção aprimorada de lacase, o fungo foi isolado da folha de *Simarouba glauca* L. e foi identificado como *Phomopsis* sp. o mesmo foi cultivado em seis placas contendo o meio agar-dextrose-potato (PDA) por três e cinco dias, cinco dessas placas foram expostas à radiação gama na fonte de cobalto-60 com doses sub-letais de 0,2; 0,4; 0,8; 1,2 e 2,0 kGy, uma dose para cada placa respectivamente e a sexta placa não foi irradiada. A maior atividade da lacase foi observadas em torno de 30 °C de temperatura a pH 5, no 10º dia de crescimento do fungo 35,71 ± 2,28 U/mg (18,93 ± 1,28 U / mL) em radiação gama (1,2kGy) *Phomopsis* sp., enquanto o fungo não irradiado apresentou 19 ± 2,6 U / mg (4,56 ± 0,6 U / mL) de atividade de lacase. Os autores constataram que a escassez de nutrientes no meio (especialmente nitrogênio) estimula o fungo a síntese de lacase. Navada et al. (2019). As atividades máximas de lacase citadas ao longo deste tópico, bem como as condições de cultivo dos fungos e os respectivos autores encontram-se expressos no quadro abaixo.

Quadro 2 - Produção de lacases Fúngicas

Microrganismo	Tipo de fermentação	Meio de cultivo	Tempo de cultivo	pH ideal	Temperatura ideal	Atividade máxima de lacase	Autor
Fungos							
<i>Phomopsis</i> sp.	NR	Agar-Dextrose-Potato (PDA)	10 dias	5,0	30°C	NR	Navada et al. (2019)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Sólida (casca de batata)	NR	17 dias	NR	NR	6708,3 ± 75 U/L.	Ergun e Urek (2017)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Submersa	NR	18 dias	NR	NR	NR	Wlizio et al. (2020)
<i>Aspergillus flavus</i>	NR	NR	12 dias	7,0	35 °C	17,39 UI/mL)	Kumar et al. (2016)
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Submersa	MEA (malte meio de extrato)	15 dias	6,0	180 rpm e 28 °C	539,3 U/L	Junior et al. (2019)
<i>Yarrowia lipolytica</i>	NR	NR	NR	NR	NR	900 U L ⁻¹	Darvishia et al. (2018)
<i>Fusarium</i> sp.	NR	NR	14 dias	5,0	30 °C	43,41 U/mL	(Debnath e Saha 2020).
<i>Tricholoma giganteum</i>	Sólida usando palha de trigo como substrato seco	NR	NR	5,0	30 °C	2,69 × 10 ⁵ U/g	(Patel e Gupte 2016).

NR= Não foi relatado

Fonte: Próprio autor

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, com esta revisão de literatura observa-se que os melhores resultados de produção e otimização de lacases são obtidos utilizando a fermentação em estado sólido de fungos e íons metálicos como indutores, com grande destaque para o cobre, que é apontado em vários estudos como melhor indutor provocando aumento significativo na atividade enzimática de lacase. É possível observar também que a maioria dos fungos produtores de lacases pertencem ao grupo dos Basidiomycota, também destacam-se os Ascomycota e Deuteromycota. Quando se trata na otimização da produção destaca-se a necessidade de maiores fontes de nitrogênio e carbono para favorecer o crescimento fúngico, visto que a enzima lacase pode ser caracterizada em alguns casos como metabólitos secundários.

REFERÊNCIAS

- CHANDRA, R., *et al.* Characterisation and optimization of three potential aerobic bacterial strains for kraft lignin degradation from pulp paper waste. **Chemosphere**. v. 67, p. 839-846, 2007.
- DEBNATH, R., SAHA, T., 2020. Identification and characterization of an industrially important enzyme laccase from *Fusarium* sp. FW2PhC1. *Biotechnology and Biological sciences-Sen et al. (Eds).* Taylor & Francis group, London, 911 ISBN 978-0-367-43161-7.
- DEVASIA, S., NAIR, A.J. Screening of potent laccase producing organisms based on the oxidation pattern of different phenolic substrates. **Int J Curr Microbiol App Sci**. v. 5 p. 127-137, 2016.
- ERGUN, S. O; UREK, R. O. Production of ligninolytic enzymes by solid state fermentation using *Pleurotus ostreatus*. **Annals of Agrarian Sciences**, 2017.
- FONSECA, M. I., *et al.* Decolorization of Kraft liquor effluents and biochemical characterization of laccases from *Phlebia brevispora* BAFC 633. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 114, p. 443- 451, oct. 2015.
- GIVAUDAN, A., *et al.* Polyphenol oxidase in *Azospirillum lipoferum* isolated from rice rhizosphere: evidence for laccase activity in non-motile strains of *Azospirillum lipoferum*. **FEMS Microbiol Lett**. V. 108, p. 205-210, 1993.
- GUO, H., LIN, C., WANG, S., JIANG, D., ZHENG, B., LIU, Y., QIN, W. Characterization of a novel laccase-producing *Bacillus* sp. A4 and its application in *Miscanthus* degradation. **BioResources**. v. 12(3), p. 4776-4794, 2017.
- JUNIOR, J. A., *et al.* Sequential degradation of raw vinasse by a laccase enzyme producing fungus *Pleurotus sajor-caju* and its ATPS purification. **Biotechnology Reports**, dec. 2019.

- KUMAR, R., et al. Optimization of laccase production from *Aspergillus flavus* by design of experiment technique: Partial purification and characterization. **Journal of genetic engineering and biotechnology**, v. 14, p.125-131. 2016.
- LIU, J., et al. Scalable production, fast purification, and spray drying of native Pycnoporus laccase and circular dichroism characterization. **J. Clean. Prod.**, v.127, p. 600- 609, 2017.
- LOPES, L.S., et al. Production of fungal enzymes in Macaúba coconut and enzymatic degradation of textile dye. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.26, p. 1- 7, 2020.
- MEHRA, R., et al. A structural-chemical explanation of fungal laccase activity. **Nature**, v. 8, p. 1-16, 2018.
- MEHANDIA, S., et al. Isolation and characterization of an alkali and thermostable laccase from a novel *Alcaligenes faecalis* and its application in decolorization of synthetic dyes. **Biotechnology Reports**, v. 25, 2020.
- MENAKA, S., LONE, T.A., LONE, R.A., 2015. Cloning of laccase gene from a newly isolated 2, 4-dichlorophenol degrading *Bacillus subtilis* from dyeing industry sites.
- MODA, E. M., et al. Edible mushroom *Pleurotus sajor caju* production on washed and supplemented sugar cane bagasse. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 2, p. 127-132, 2005.
- MENAKA, S., LONE, T.A., LONE, R.A., 2015. Cloning of laccase gene from a newly isolated 2, 4-dichlorophenol degrading *Bacillus subtilis* from dyeing industry sites. **American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science**. v 1, p. 1602-1608, 2015.
- NEIFAR. M. et al. *Pseudomonas extremorientalis* BU118: a new salt-tolerant laccase-secreting bacterium with biotechnological potential in textile azo dye decolourization. **3Biotech**. 6(1), 107, 2016.
- ODENIYI, O.A., et al. Production characteristics, activity patterns and biodecolourisation applications of thermostable laccases from *Corynebacterium efficiens* and *Enterobacter ludwigii*. **J. Sci.Ind.** v. 76, p. 562-569, 2017.
- OLAJUYIGBE. M.F., et al. Biodelignification of some agro-residues by *Stenotrophomonas* sp. CFB-09 and enhanced production of ligninolytic enzymes.
- PATEL, H., GUPTE, A., et al. Optimization of different culture conditions for enhanced laccase production and its purification from *Tricholoma giganteum* AGHP. **Bioresources and Bioprocessing**, v.3, p. 1-10, 2016.
- REZAEI, S., SHAHVERDI, A. R., FARAMARZI. M. A. Isolation, one-step affinity purification, and characterization of a polyextremotolerant laccase from the halophilic bacterium *Aquisalibacillus elongatus* and its application in the delignification of sugar beet pulp. **Bioresource Technology**, 2017.

R. SIVAKUMAR, R. RAJENDERAN, C. BALAKUMAR, M. TAMILVENDAN. Isolation, Screening and Optimization of Production Medium for Thermostable Laccase Production from *Ganoderma* sp. **Int. J. Eng. Sci. Technol**, v. 2, p. 7133–7141, 2020.

SHARMA, B., et al. Contemporary enzyme based technologies for bioremediation: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 210, p. 10-22, 2018.

SANÉ, S., et al. Using planktonic microorganisms to supply the unpurified multi-copper oxidases laccase and copper efflux oxidases at a biofuel cell cathode. **Biore-source Technology**, v. 158, p. 231–238, april. 2014.

UNUOFIN, J. O., OKOH, A. I., NWODOA, U.U. Recovery of laccase-producing gammaproteobacteria from wastewater. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v. 21, 2019.

UNUOFIN, J. O., OKOH, A. I., NWODOA, U.U. Utilization of agroindustrial wastes for the production of laccase by *Achromobacter xylosoxidans* HWN16 and *Bordetella bronchiseptica* HSO16. **Journal of Environmental Management**, v. 231, p. 222-231, 2019.

VERMA, A., SHIRKOT, P. Purification and characterization of thermostable laccase from thermophilic 1345 *Geobacillus thermocatenulatus* MS5 and its applications in removal of textile dyes. **Sch Acad J Biosci**, v. 2, p. 479-485, 2014



CAPÍTULO 2

BIOINSETICIDAS ENCAPSULADOS DE *Bacillus thuringiensis*: UMA ALTERNATIVA PARA AUMENTAR A PERSISTÊNCIA NO CAMPO

*BIOINSECTICIDES ENCAPSULATED FROM *Bacillus thuringiensis*: AN ALTERNATIVE TO INCREASE PERSISTENCE IN THE FIELD*

Márcia Nieves Carneiro da Cunha¹
Túlio Alexandre Freire da Silva²
Ana Lúcia Figueiredo Porto³

DOI: 10.46898/rfb.9786558892328.2

¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco. <https://orcid.org/0000-0003-2744-6216>. marcianieves@yahoo.com.br
² Universidade Federal Rural de Pernambuco. <https://orcid.org/0000-0002-4694-6198>. tulio_alexandre@live.com
³ Universidade Federal Rural de Pernambuco. <https://orcid.org/0000-0001-5561-5158>. analuporto@yahoo.com.br

RESUMO

Bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* (Bt) possuem alta especificidade, e são de baixo risco ambiental e a saúde humana. Porém, ainda apresentam custos pouco atraentes aos agricultores, devido principalmente a sua menor resistência em campo, quando comparados aos agrotóxicos convencionais. Visando contornar este problema, aplicação de técnicas de encapsulação vem sendo descritas para melhorar a persistência da toxicidade do Bt no campo. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo realizar uma revisão narrativa sobre formulações de bioinseticidas baseados em Bt encapsulados.

Palavras-chave: Bioinseticida, *Bacillus thuringiensis*, encapsulação, imobilização.

ABSTRACT

Bioinsecticides based on *Bacillus thuringiensis* (Bt) have high specificity and are of low environmental risk and human health. However, they still present unattractive costs to farmers, mainly due to their lower resistance in the field, when compared to conventional pesticides. To circumvent this problem, the application of encapsulation techniques has been described to improve the persistence of Bt toxicity in the field. In this way, the present study aimed to carry out a narrative review on formulations of bioinsecticides based on encapsulated Bt.

Keywords: Bioinsecticide, *Bacillus thuringiensis*, microencapsulated, immobilization

1 INTRODUÇÃO

Dentre as principais espécies de microrganismos utilizadas no desenvolvimento de biopesticidas, destaca-se a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (Bt), responsável por cerca de 97% do mercado global de biopesticidas (DEVI, DURAIMURUGAN e CHANDRIKA, 2019). Esta bactéria anaeróbia em sua fase de esporulação, produz endotoxinas também conhecidas como proteínas cristais, alvo grande interesse no controle biológico de pragas, pois apresentam atividade inseticida comprovada e altamente específica contra pragas em sua fase larval (DUARTE NETO et al., 2020). Entre as vantagens da utilização de biopesticidas baseados em Bt está a ausência de efeitos negativos à sanidade do meio ambiente e a especificidade contra as espécies alvo, sendo, portanto, de baixo risco a saúde humana. Contudo, o uso generalizado desses produtos é frequentemente desafiado, visto que, existem vários fatores ambientais, tais como: radiação ultravioleta, chuva, pH, temperatura e fisiologia da folhagem que impedem a eficácia das formulações de Bt e diminuem sua persistência em campo (BRAR et al 2006).

Desta forma, a formulação desempenha um papel significativo na determinação da eficácia final de um produto à base de Bt, assim como os processos de descoberta, produção e estabilização da biomassa deste agente de controle biológico (KUMAR et al., 2019). A aplicação de técnicas de microencapsulação em produtos voltados para o controle biológico, permite o revestimento fino de partículas sólidas, gotas de líquidos e dispersões, com um filme protetor, tendo como finalidade potencializar o efeito do produto, assegurar boas condições de armazenamento, garantir que o inseticida seja liberado apenas no local exato e pelo tempo desejado (YUSOP et al., 2017). Logo, o objetivo dessa revisão narrativa foi realizar um levantamento bibliográfico sobre os principais tópicos que envolvem formulações de bioinseticidas encapsulados oriundos de Bt, considerando o seu efeito em campo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis (Bt) é uma bactéria Gram-positiva, entomopatogênica, que se caracteriza pela produção de proteínas cristalinas denominadas de δ -endotoxinas ou proteínas Cry durante sua fase estacionária de crescimento. Essas proteínas podem ser altamente tóxicas para insetos suscetíveis, não apresentando atividade para outros organismos. O cristal é liberado para o meio ambiente após a lise celular no final da esporulação, e pode ser responsável por 20 a 30% do peso seco das células esporuladas (ROSAS-GARCÍA, 2009).

Contudo, bioinseticidas a base de Bt são suscetíveis à rápida degradação ambiental devido à radiação UV, calor, dessecação, pH do substrato e competição microbiana, limitando assim seu uso em controle de pragas (JOSHI, et al., 2019). Esses desafios estão sendo pouco a pouco superados por modificações nas formulações desses bioprodutos. A exemplo da adição de excipientes, como agentes de suspensão para evitar o assentamento das suspensões e de conservantes para aumentar a vida útil e, no caso de pós, pela adição de produtos para melhorar o derramamento e umedecimento. Agentes de proteção UV também estão sendo utilizados, visando diminuir a fotólise após pulverização. Além disso, a aplicação de técnicas de encapsulação, podem conferir proteção e liberação controlada do Bt em campo. Tais estratégias associadas com um controle de qualidade rigoroso, levam a um aumento da eficácia desses produtos em campo.

2.2 Técnicas de encapsulação aplicadas para produção de bioinseticidas

A microencapsulação é uma tecnologia inovadora que protege os produtos de condições ambientais desfavoráveis e prolonga a vida útil, vêm atraindo conside-

rável atenção devido à possibilidade aumentar a estabilidade e de controlar a taxa de liberação de um componente ativo. A técnica consiste no aprisionamento de pequenas partículas (núcleo), por meio de um material secundário (matriz), formando pequenas cápsulas, que de acordo com a escala do seu diâmetro são classificadas como micro (tamanho de partícula de 1–1000 μm de diâmetro) ou nanocápsulas (tamanho de partícula de 1–1000nm de diâmetro).

Segundo Ngwuluka et al. (2020a) a micro/nano encapsulação pode ser obtida a partir de processos químicos, físicos e físico-químicos. A escolha da técnica a ser utilizada não só determina o tamanho, mas também a morfologia e provavelmente a estabilidade esperada das cápsulas-alvo. Inúmeros parâmetros devem ser considerados neste processo, como a composição físico-química da casca e do material do núcleo, o objetivo do processo de encapsulamento, a forma de liberação esperada, a aplicação final pretendida, a necessidade de aumento de escala e o custo de processamento para fabricação em grande escala. A técnica ideal visa alcançar cápsulas monodispersas com grande estabilidade à agregação, aderência e outros fatores desestabilizadores, e alta eficiência de carregamento e encapsulamento da carga (Ngwuluka et al., 2020b).

A aplicação dessas técnicas vêm sendo sugeridas para formulações de biopesticidas à base de *Bacillus thuringiensis*. Visto que, garantem proteção a condições ambientais desfavoráveis aumentando a persistência desses bioprodutos em campo.

3 METODOLOGIA

A metodologia utilizada para a realização deste trabalho foi uma revisão bibliográfica, baseada em pesquisas de artigos científicos disponíveis nos bancos de dados: Scopus (<http://www.scopus.com/>), Science Direct (<http://www.sciencedirect.com/>) e Web of Science (<https://webofknowledge.com/>) com os seguinte termo de busca: (Microencapsulated OR nanoencapsulated OR encapsulated) AND “*Bacillus thuringiensis*”. Foram considerados trabalhos publicados nos últimos cinco anos, e todo referencial teórico citado neste trabalho foi meramente qualitativo sem nenhuma pretensão quantitativa.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nos últimos anos vários autores descreveram a utilização de técnicas de encapsulação aplicadas em formulações de bioinseticidas baseados em *Bacillus thuringiensis* (Bt), com o objetivo de melhorar a resistência às condições ambientais, e consequentemente aumentar a eficiência desses produtos em campo. A exemplo da formulação de Bt subsp. Kurstaki encapsulada a partir da técnica de emulsão por

Pickering sugerida por Javali, Maghsoudi e Noroozian (2020) utilizada com o objetivo de melhorar a atividade e estabilidade contra a desativação por irradiação UV. A viabilidade dos esporos microencapsulados foram avaliados frente a larvas *Ephestia kuehniella* Zeller em condições de não exposição UV e sob exposição UV, os resultados obtidos para ambos os testes mostraram que os esporos continuavam viáveis e que as formulações de microcápsulas de coloidossais forneceram com sucesso uma boa proteção contra a radiação UV.

Bezerra-Cortéz (2017) também observaram o efeito de proteção a irradiação quando avaliaram a bioatividade de uma formulação encapsulada pela técnica de emulsão / gelificação interna utilizando água, óleo de milho na microemulsão e alginato como geleificante. Além da proteção a condições extremas, os autores observaram que houve um aumento do efeito inseticida das proteínas Cry encapsuladas se a faixa de diâmetros das microcápsulas fosse reduzida na faixa de 1–9 μ .

A técnica de emulsão por Pickering também foi utilizada por Bashir et al. (2016) para encapsulamento de esporos e cristais de três diferentes serovares de Bt. Os bioensaios frente a larva *Trichoplusia ni* mostrou que não houve prejuízo da bioatividade do Bt no processo de encapsulamento. Em campo, o material encapsulado foi testado frente a três pragas de lepidópteros que atacam culturas de brócolis (Brassica). Foi observado que após 12 dias, o número médio de larvas foi menor para as formulações microencapsuladas com efeito comparável a um pesticida químico.

Da mesma forma, a microencapsulação por pulverização em spray drier foi realizada por Eski, Demirbag e Demir (2019) visando proteger esporos e cristais de um isolado indígena de *Bacillus thuringiensis* Se13 do estresse ambiental. Os autores avaliaram o efeito do material da parede, temperatura de entrada e temperatura de saída na microencapsulação de Bt- Se13. Os resultados obtidos mostraram que material de parede mais adequado foi a maltodextrina DE10 e as temperaturas ótimas de entrada e saída do secador foram determinadas como 160 °C e 70 °C, respectivamente. A eficiência frente a larvas de *Spodoptera exigua* em condições de laboratório, mostrou uma LC_{50} foi $1,6 \times 10^4$ ufc.mL⁻¹. Em conclusão, biopesticida baseados em Bt-Se13 microencapsulados podem ser registrados para o controle de *S. exigua*

Estudos semelhantes foram realizados por Xin, Zhang e Li (2018) quando realizaram a microencapsulação de Bt através da técnica de coacervação complexa em microcápsulas de gelatina-goma arábica. Tais autores determinaram a condição ótima de encapsulação, e obtiveram um rendimento de até 87%. O experimento para avaliar a atividade biológica frente a larvas mostrou que a microcápsula Bt teve me-

lhor efeito persistente em comparação com o controle, quando o número de esporos foi 10^7 cfu.ml⁻¹, e a taxa de mortalidade da larva foi de 75,65% e 86,09% no 7º e 14º dia.

He e colaboradores (2017) realizaram a microencapsulação de proteínas de cristais (Cry1Ac) produzidas por *Bacillus thuringiensis* HD73 (Bt-HD73). As microcápsulas foram automontadas por deposição alternada (camada por camada) utilizando quitosana e alginato como matrizes encapsulantes. As toxinas Cry1Ac foram liberadas das microcápsulas em valores de pH acima de 9,0, e os resultados do bioensaio frente a mariposa *Ostrinia furnacalis* mostraram que não houve diferença significativa da toxicidade larvicida entre a forma não encapsulada e encapsulada. Segundo os citados autores, tais resultados indicam que a proteção da microcápsula pode aumentar a eficácia do Bt no controle de pragas, especialmente para larvas de lepidópteros que possuem intestino médio alcalino.

Outra abordagem interessante para a aplicação de técnicas de microencapsulação na agricultura é o encapsulamento de sistemas híbridos que possibilitam a liberação de agroquímicos em uma única aplicação. Como realizado por Joshi et al. (2020) que realizaram a microencapsulação de compostos híbridos contendo fertilizantes de nitrogênio, fósforo e potássio (emulsão de peixe, nitrato de potássio e fosfato de potássio) e de biopesticidas de Bt com liberação lenta em microesferas de polissacarídeo superabsorventes com base em alginato de sódio (ALG). Os autores avaliaram diferentes formulações usando 15%/g de Bt em emulsão de peixe, nitrogênio e fósforo. O encapsulamento foi realizado pela técnica de extrusão úmida usando alginato de sódio como polímero superabsorvente e cloreto de cálcio como agente gelificante. Os resultados do estudo mostraram que as microesferas podem transportar e liberar fertilizantes sob condições controladas por um período de tempo prolongado. E que o biopesticida de Bt também permaneceu ativo frente a lagartas, ou seja, o encapsulamento ofereceu benefícios retardando a liberação de nutrientes para o meio ambiente e protegendo o Bt de ambientes hostis. Além disso, os materiais de encapsulamento são totalmente biodegradáveis e orgânicos.

Formulações Bt e do vírus NPV microencapsuladas com gelatina e alginato de sódio foram testadas individualmente e em combinação. As formulações foram avaliadas em ambiente externo e sob a luz do sol em vasos de repolho. A estabilidade das formulações foi testada a cada 0, 3, 7 e 10 dias após a pulverização em plantações de repolho infestadas com larvas de segundo ínstar da mariposa *Plutella xylostella*. Os resultados mostraram que as formulações não e microencapsuladas não expostas à luz solar (0 dias) apresentaram atividades equivalentes. Contudo, após exposição solar por três dias, o Bt e o NPV não encapsulados apresentaram

uma taxa de letalidade 40% menor em comparação com os biopesticidas microencapsulados (Naghavi et al., 2016).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A tecnologia de microencapsulação usada para a formulação de biopesticidas é eficaz para proteção contra a radiação ultravioleta da luz solar e aumentando a persistências desses produtos em campo. O microencapsulamento de bioinseticidas baseados em *Bacillus thuringiensis* (Bt) em alguns casos potencializou a sua ação frente a diferentes pragas agrícolas. Contudo, estudos que relatam a eficiência desses bioprodutos em campo ainda são escassos. Tal resultado confirma a importância da realização de pesquisas para o desenvolvimento de novas formulações bioinseticidas de Bt utilizando técnicas de encapsulação e que demonstrem o potencial deste bioproduto em campo.

REFERÊNCIAS

BARRERA-CORTÉS, Josefina et al. Reducing the microcapsule diameter by micro-emulsion to improve the insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* encapsulated formulations. **Biocontrol science and technology**, v. 27, n. 1, p. 42-57, 2017.

BASHIR, Oumar et al. Controlled-release of *Bacillus thuringiensis* formulations encapsulated in light-resistant colloidosomal microcapsules for the management of lepidopteran pests of Brassica crops. **PeerJ**, v. 4, p. e2524, 2016.

BRAR, S.K.; VERMA, M.; TYAGI, R.D.; VALÉRO, J.R.; Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides, **Process Biochemistry**, Volume 41, Issue 2, 2006, Pages 323-342, ISSN 1359-5113, <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.07.015>.

DEVI, P.S.; DURAIMURUGAN, P. & CHANDRIKA, K.S.V.P. (2019). *Bacillus thuringiensis*-based nanopesticides for crop protection. DOI 10.1016/B978-0-12-815829-6.00010-3.

DUARTE NETO José Manoel Wanderley et al. *Bacillus thuringiensis* endotoxin production: a systematic review of the past 10 years. **World J Microbiol Biotechnol**. 2020 Jul 26;36(9):128. DOI 10.1007/s11274-020-02904-4. PMID: 32712871.

ESKI, Ardahan; DEMIRBAĞ, Zihni; DEMIR, İsmail. Microencapsulation of an indigenous isolate of *Bacillus thuringiensis* by spray drying. **Journal of microencapsulation**, v. 36, n. 1, p. 1-9, 2019.

FREITAS, Lívia Santos de et al. Uso de substratos agroindustriais para produção de delta-endotoxinas por *Bacillus thuringiensis*. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Brasil, v. 25, n. 2, jan. 2021. ISSN 2446-8053. Disponível em: <<https://pap.emnuvens.com.br/pap/article/view/225/119>>. Acesso em: 08 fev. 2021. doi:<https://doi.org/10.12661/pap.2020.007>.

HE, Xiaolin et al. Biopolymer microencapsulations of *Bacillus thuringiensis* crystal preparations for increased stability and resistance to environmental stress. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 101, n. 7, p. 2779-2789, 2017.

HORTA, André Ballerini, PANNUTI, Luiz Eduardo da Rocha; BALDIN, Edson Luiz Lopes; FURTADO, Edson Luiz; "Toxinas inseticidas de *Bacillus thuringiensis*", p. 737 -774. In: **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria** - Vol. 4. São Paulo: Blucher, 2017. ISBN: 9788521211150, DOI 10.5151/9788521211150-21

JALALI, Elham; MAGHSOUDI, Shahab; NOROOZIAN, Ebrahim. Ultraviolet protection of *Bacillus thuringiensis* through microencapsulation with Pickering emulsion method. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2020.

JOSHI, Prutha P. et al. Preparation of slow-release encapsulated insecticide and fertilizer based on superabsorbent polysaccharide microbeads. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 137, n. 39, p. 49177, 2020.

KUMAR, S., NEHRA, M., DILBAGHI, N., MARRAZZA, G., HASSAN, A. A., & KIM, K. H. (2019). Nano-based smart pesticide formulations: Emerging opportunities for agriculture. **Journal of Controlled Release**, 294, 131-153. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.12.012>

NAGHAVI, Samaneh Sadat; MARZBAN, Rasoul; IMANI, Sohrab. Stability of *Bacillus thuringiensis* and NPV microencapsulated formulation under sunlight. **Int J Adv Biotechnol Res**, v. 7, p. 2224-2230, 2016.

NGWULUKA, Ndidi C. et al. Natural Polymers in Micro-and Nanoencapsulation for Therapeutic and Diagnostic Applications: Part I: Lipids and Fabrication Techniques. In: **Nano-and Micro-Encapsulation-Techniques and Applications**. IntechOpen, 2020a

NGWULUKA, Ndidi C. et al. Natural Polymers in Micro- and Nanoencapsulation for Therapeutic and Diagnostic Applications: Part II - Polysaccharides and Proteins. In: **Nano-and Micro-Encapsulation-Techniques and Applications**. IntechOpen, 2020b.

ROSAS-GARCÍA, Ninfa M. Biopesticide production from *Bacillus thuringiensis*: an environmentally friendly alternative. **Recent Patents on biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 28-36, 2009.

XIN, L. L.; ZHANG, B. H.; LI, C. Y. Preparation and bioassay of bacillus thuringiensis microcapsules by complex coacervation. **Digest J Nanomater Biostruct**, v. 13, p. 1239-1247, 2018.

CAPÍTULO 3

NANOTECNOLOGIA VERDE E SUAS APLICAÇÕES NO ECOSISTEMA AGRÍCOLA

*GREEN NANOTECHNOLOGY AND ITS APPLICATIONS IN
THE AGRICULTURAL ECOSYSTEM*

Micheline Thais dos Santos¹
Juanize Matias da Silva Batista²
Ana Lúcia Figueiredo Porto³

DOI: 10.46898/rfb.9786558892328.3

¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco. <https://orcid.org/0000-0002-7675-2554>. michelinesantos@live.com

² Universidade Federal Rural de Pernambuco. <https://orcid.org/0000-0001-7654-2533>. juanizematias@yahoo.com.br

³ Universidade Federal Rural de Pernambuco. <https://orcid.org/0000-0001-5561-5158>. analuporto@yahoo.com.br

RESUMO

Com a crescente busca dos consumidores por empresas que praticam agricultura sustentável, o mercado agrícola tem buscado novas possibilidades promissoras nesse segmento. Diante disso, a bionanotecnologia apresenta-se como uma nova alternativa a ser inserida no sistema agrícola promovendo alta aplicabilidade, elevados rendimentos e principalmente *eco-friendly*. Desta forma, este trabalho aborda de forma geral o campo da síntese de nanopartículas metálicas por micro-organismos aplicados no ecossistema agrícola. Foi realizado uma busca nas principais bases de dados científicos, logo após desenvolvido uma revisão narrativa a qual aborda tópicos relacionados à utilização dos micro-organismos como fonte biossintética de nanopartículas metálicas na agricultura, sua biossíntese e campo de aplicação. Nesse capítulo conclui-se que as nanopartículas possuem uma atuação de extrema importância no campo da agricultura sustentável, visto que é uma área de inovação, desafiadora e verde, podendo contribuir no setor de gestão de pragas agrícolas, micronutrientes e fertilizantes no solo e em plantas.

Palavras-chave: Nanopartículas metálicas. Nanotecnologia ambiental. Sustentabilidade.

ABSTRACT

With the growing consumer search for companies that practice sustainable agriculture, the agricultural market has been looking for promising new alternatives in this segment. Therefore, bionanotechnology presents itself as a new alternative to be inserted in the agricultural system, promoting high applicability, high yields and mainly eco-friendly. In this way, this work approaches in general the field of the synthesis of metallic nanoparticles by microorganisms applied in the agricultural ecosystem. A qualitative survey of the information obtained was carried out, among which topics related to the use of microorganisms as a biosynthetic source of metallic nanoparticles in agriculture, their biosynthesis and field of application were addressed. In this chapter it is concluded that nanoparticles have an extremely important role in the field of sustainable agriculture, since it is an area of innovation, challenging and green, being able to contribute in the sector of management of agricultural pests, micronutrients and fertilizers in the soil and in plants.

Keywords: Environmental nanotechnology. Metallic nanoparticles. Sustainability.

1 INTRODUÇÃO

A prática agrícola intensiva, juntamente com o rápido crescimento da população humana, exige melhorias na produção de alimentos bem como um aumento no rendimento geral. Os agricultores em todo o mundo são obrigados a produzir mais rendimento, seja para ampliar as terras agrícolas ou para adotar novos métodos de agricultura sustentável com o objetivo de preencher esse espaço entre a produção de alimentos e o consumo (El-Ramady et al., 2017).

Um dos grandes questionamentos que envolve esse setor é a fertilização aplicada, a aplicação de herbicidas e inseticidas que são obrigatórios para a produção bem sucedida de safras, frutas e vegetais, enquanto seu mau uso se tornou um dos principais problemas de conteúdo excessivo de poluentes no solo e como consequência da aplicação excessiva de fertilizantes e herbicidas na prática agrícola, várias substâncias residuais perigosas permanecem no ecossistema e representam uma fonte significativa de poluição do solo e água (Rawtani et al., 2018).

A nanotecnologia verde está associada ao aumento da sustentabilidade ambiental dos processos, a fim de minimizar os custos e os riscos ambientais de externalidades negativas produzidas na agricultura (Debashree e Borkha, 2021). Portanto, a nanotecnologia verde representa um novo esforço dos pesquisadores para empregar a capacidade da natureza de remover ou diminuir os riscos ambientais e à saúde humana causados pelo uso de nanomateriais, substituindo produtos existentes por novos nanoprodutos que são ecologicamente corretos ao longo de sua vida (Nasrollahzadeh et al., 2019). Posto isso, essa breve revisão tem por objetivo enfatizar o uso da nanotecnologia verde e sua aplicação dentro de uma agricultura sustentável.

2 METODOLOGIA

Essa breve revisão foi baseada em artigos científicos publicados nos últimos anos. O processo de coleta do material foi realizado de forma não sistemática em bases de dados científicas, tais como nas principais bases internacionais e nacionais (Science direct, Pubmed e Scielo), utilizando-se dos descritivos (green nanotechnology or Bionanotechnology) and (Sustainable Agriculture) and (application of green nanoparticles), estes materiais foram lidos na íntegra e analisados criticamente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Nanotecnologia verde

Nanotecnologia é o campo da ciência que lida com uma variedade de nanoestruturas úteis na indústria da saúde, eletrônica, manufatura, meio ambiente, agricultura e diferentes indústrias biomédicas. As nanopartículas (NPs) são partículas em escala nanométrica que variam entre 1 a 100 nanômetros de tamanho e ou menor dimensão (EFSA, 2009). A nanotecnologia está relacionada a diversos métodos biológicos (não tóxicas e ambientalmente seguras), a chamada bionanotecnologia, explorando uma variedade de micróbios, como algas, bactérias, fungos e extratos de plantas (Iravani et al., 2017). Assim, as NPs são de matéria à base de metal, com capacidade de se tornar um sistema integrado de vários princípios ativos consistindo de partículas (Baker et al., 2015).

3.2 Biossíntese das nanopartículas metálicas

A síntese microbiana de nanopartículas de metal pode ocorrer tanto por via intracelular quanto extracelular (Jain et al., 2011). As NPs têm propriedades físico-químicas importantes como forma, tamanho e distribuição de partículas e rugosidade, topografia, pureza, estabilidade, dispersão, reatividade e hidrofobicidade (Kumar e Dixit, 2017).

Algumas condições como pH, teor de sal, temperatura (Fatemi et al., 2018), natureza dos microrganismos usados, compostos secretados por eles, condições nutricionais e a presença de doadores e aceitadores de elétrons podem afetar a biossíntese das NPs, suas propriedades biológicas, químicas e físicas são amplamente determinadas pelo tamanho e forma (Singh e Singh, 2019).

3.3 Aplicação das nanopartículas metálicas no meio ambiente

O rápido desenvolvimento da nanotecnologia tem causado efeitos benéficos na agricultura e no meio ambiente com a sintetização das nanopartículas de base metálica, podendo ser aplicadas por caminhos diretos e indiretos no sistema de otimização entre solo e planta.

A nanotecnologia oferece alternativas ecológicas para o manejo de doenças de plantas, que podem desempenhar um papel fundamental na produção global de alimentos e na segurança alimentar (Fig. 1). Recentemente, várias NPs metálicas (como Ag, Au, Zn, Ni e Ti) têm sido usadas como agentes antimicrobianos para o manejo de fitopatógenos. As formulações de nanopesticidas oferecem vantagens

adicionais em relação aos pesticidas convencionais, aumentando a solubilidade de ingredientes ativos pouco solúveis (Narware et al., 2019).

Figura 1 - Aplicações da nanotecnologia na agricultura.



Fonte: Adaptado de Narware et al., (2019).

O solo agrícola tem como grande característica a abundância de material orgânico dissolvida no solo, o qual pode ter um impacto significativo no destino e transporte das NPs à base de metal. As plantas, por sua vez, participam como componentes-chave na prática agrícola por mostrarem interações complexas e dinâmicas com NPs metálicas (Hao Chen, 2018). A maioria das investigações existentes sobre o impacto ambiental dessas nanopartículas consideram o ambiente do solo agrícola e o sistema vegetal separadamente, no entanto faz-se necessário que haja um estudo que enfatiza o sistema integrado solo - planta, assim obtendo criticamente a análise do ecossistema agrícola.

3.4 Vias de entrada de NPs metálicas no solo

O método de entrada das nanopartículas metálicas no solo podem ocorrer por meio de duas vias: via direta e via indireta.

3.4.1 Via indireta

Uma das principais fontes de NPs metálicas é a aplicação de lodo de esgoto em terras. Após a aplicação dos produtos nanoparticulados, as NPs são facilmente liberadas da matriz de produtos e, em seguida, entram no sistema de estampagem (Hao Chen, 2018). assim como exemplos mencionados por Kagi et al. (2008) que as NPs de TiO_2 podem liberar para o ambiente a partir da pintura do edifício; Benn et al. (2010), NPs podem ser liberados do tecido durante a lavagem ou do recipiente plástico durante o uso; Gondikas et al. (2014), as Nanopartículas de TiO_2 e ZnO podem ser liberadas de protetores solares em piscinas externas.

As nanopartículas metálicas tendem a ficar retidas e se acumulam no lodo do esgoto em sistema de tratamento de águas residuais e como resultado, várias NPs metálicas foram detectadas no bio-sólido da estação de tratamento de águas residuais (Durenkamp et al., 2016). Uma vez que a prática de usar o lodo de esgoto em terras agrícolas como condicionador do solo ou fertilizante de plantas, pode ser uma das fontes importantes de NPs à base de metal nas terras aráveis (Singh e Agrawal, 2008).

3.4.2 Via Direta

A entrada direta de NPs no solo ocorre principalmente por meio de aplicações de produtos químicos agrícolas formulados por Nanotecnologia, incluindo Nano fertilizantes e Nano pesticidas. Fertilizantes nanoestruturados como Fe, Mn, Zn, Cu, Mo NPs podem promover o crescimento das plantas e rendimentos agrônômicos em uma pequena dose, levando a benefícios econômicos e ambientais significativos (Monreal et al., 2016).

Nos estudos de Jeyasubramanian et al. (2016) relatam por exemplo, nanopartículas de ZnO e Fe₂O₃ aplicados em sementes de amendoim, resultando em maior germinação de sementes, aumento do crescimento do caule e da raiz, enquanto outra forma de Zn ou Fe usada para comparação teve impacto limitado. Já em pesquisas realizadas por Hanif et al. (2015) indicaram que quando 100 mg/ kg⁻¹ de nanopartículas de TiO₂ foram aplicados ao solo a concentração de P fito disponível no solo aumentou até 56% após 72h de incubação à temperatura ambiente (25 °C) em placas de Petri. Após o cultivo de plantas de *L. sativa* no solo, aplicado com 100 mg/kg⁻¹ de nanopartículas de TiO₂ durante 14 dias, os comprimentos da parte aérea e da raiz aumentaram em até 49% e 62%, respectivamente, em comparação com o tratamento controle.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A nanotecnologia verde através da biossintetização por via microbiana tem se tornado um importante mecanismo de defesa ao meio ambiente frente a utilização exacerbada de agrotóxicos e despejo irregular de resíduos industriais e comerciais, melhorando os efeitos sustentáveis e de produção. Mesmo com resultados positivos e promissores, essa área requer mais estudos e discussão entre as comunidades científicas e agrícolas, principalmente relacionado a interação solo-planta, visto que a nanotecnologia pode ser aplicada em diversas áreas do ecossistema agrícola, para uma melhor aplicação em escala de produção e também na atuação em campos

contaminados, visto que essa área já é promissora em diferentes campos, como fármacos, alimentos e diagnóstico.

REFERÊNCIAS

BAKER, S.; KUMAR, K.M.; SANTOSH, P.; RAKSHITH, D.; SATISH, S. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by novel *Pseudomonas veronii* AS41G inhabiting *Annona squamosa* L. and their bactericidal activity. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, ed. 136, p. 1434-1440, 2015.

BENN, T.; CAVANAGH, B.; HRISTOVSKI, K. et al. The launch of nano-silver consumer products used at home. **Journal of Environmental Quality**. 39 (6), p. 1875, 2010.

DEBASHREE, D.; BORKHA, M. D. Scope of green nanotechnology towards amalgamation of green chemistry for cleaner environment: A review on synthesis and applications of green nanoparticles. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, n. 15, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100418>

EL-RAMADY, H., ALSHAAL, T., ABOWALY, M., ABDALLA, N., TAHA, H.S., et al., Nanoremediation for sustainable crop production, **Nanoscience in Food and Agriculture**, Springer, vol. 5, 2017.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, Scientific opinion of the scientific committee on a request from the European commission on the potential risks arising from nanoscience and nanotechnologies on food and feed safety. *The EFSA J.*, ed. 958, p.1 - 39, 2009.

FATEMI, M., MOLLANIA, N., MOMENI-MOGHADDAM, M., SADEGHIFAR, F. Extracellular biosynthesis of magnetic iron oxide nanoparticles by *Bacillus cereus* strain HMH1: characterization and in vitro cytotoxicity analysis on MCF-7 and 3T3 cell lines. **Journal of Biotechnology**. v. 270, p. 1-11, 2018.

GONDIKAS, A.P.; KAMMER, F.V.D.; REED, R.B. et al. Release of TiO₂ nanoparticles from sunscreens in surface waters: a year-long survey in the former Danube recreation lake. **Environmental Science Technology**. ed. 48 (10), p. 5415 - 5422, 2014.

HANIF, H.U.; ARSHAD, M.; ALI, M.A. et al. Phosphorus phyto availability for *Lactuca sativa* in response to TiO₂ nanoparticles applied in the soil. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**. ed. 52 (1), p. 177 - 182, 2015.

HAO, C. Metal-based nanoparticles in an agricultural system: behavior, transport and interaction with plants. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 30: 1, 123-134, 2018. DOI: [10.1080 / 09542299.2018.1520050](https://doi.org/10.1080/09542299.2018.1520050)

IRAVANI, A.; HASAN AKBARI, M.; ZOHOORI, M. Advantages and Disadvantages of Green Technology; Goals, Challenges and Strengths. **International Journal of Science and Engineering Applications**. v. 6, Iss. 09, 2017.

JAIN, N.; BHARGAVA, A.; MAJUMDAR, S.; TARAFDAR, J.C.; PANWAR, J. Extracellular biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Aspergillus flavus* NJP08: a mechanism perspective. **Nanoscale**, v.3, p. 635-641, 2011.

JEYASUBRAMANIAN, K.; THOPPEY, U.U.G.; HIKKU, G.S. et al. Increase in the growth rate and productivity of spinach grown in hydroponics with iron oxide nanoparticles. **RSC Advances**, ed. 6 (19), 15451 - 15459, 2016.

KAGI, R. , ULRICH, A.; SINNET, B. et al. Emission of synthetic TiO₂ nanoparticles from external facades to the aquatic environment. **Environmental science of technology**. Pollution., ed. 156 (2): 233 - 239, 2008.

KUMAR, A., DIXIT, C.K. METHODS FOR CHARACTERIZATION OF NANOPARTICLES. *Advances in Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids*. Woodh. Publi., Cambridge, p. 43-58, 2017.

MONREAL, C.M.; DE ROSA, M.; MALLUBHOTLA, S.C. et al. Nanotecnologias para aumentar a eficiência do uso da cultura de micronutrientes fertilizantes. **Biol Fertil Soils**, n. 52, p. 423-437, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00374-015-1073-5>

NARWARE, J., YADAV, RN, KESWANI, C., SINGH, SP, SINGH, HB. Biopesticides based on silver nanoparticles for phytopathogens: Scope and potential in agriculture. *Nano-Biopesticides Today and Future Perspectives*, p. 303-314, 2019.

NASROLLAHZADEH, M.; SAJADI, M.; ISSAABADI, Z.; SAJJADI, M. Biological Sources Used in Green Nanotechnology. In: **An Introduction to Green Nanotechnology**. Editora: Academic Press, v. 28 p. 81-111, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813586-0.00003-1>.

RAWTANI, D., KHATRI, N., TYAGI, S., PANDEY, G. Nanotechnology-based recent approaches for sensing and remediation of pesticides. **J. Environ. Manage.**, p. 749-76, 2018.

SINGH, R.; AGRAWAL, M. Potential benefits and risks of applying sewage sludge to the soil. **Waste Management**, ed. 28 (2), p. 347 - 358, 2008.

SINGH, V. K.; SINGH, A. K. Role of microbially synthesized nanoparticles in sustainable agriculture and environmental management. *Role of Plant Growth Promoting Microorganisms in Sustainable Agriculture and Nanotechnology*, p. 55-73, 2019.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Aplicação 15, 16, 26, 27, 28, 30, 34, 35, 37, 38

Atividade 14, 17, 18, 19, 20, 21, 26, 27, 29

F

Fermentação 12, 15, 16, 17, 18, 19, 21

Formulações 26, 27, 28, 29, 30, 31, 36

L

Lacase 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22

M

Microorganismos 12, 15, 17, 26, 36

N

Nanoparticles 34, 35, 39, 40

Nanopartículas 34, 36, 37, 38

Nanotecnologia 35, 36, 37, 38

P

Produção 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 27, 31, 35, 36, 38

T

Thuringiensis 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32

Vagne de Melo de Oliveira
Thiago Pajeú Nascimento
Juanize Matias da Silva Batista
Kethylen Barbara Barbosa Cardoso
Ana Lúcia Figueiredo Porto

BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL

LABTECBIO
Laboratório de Tecnologia de Bioativos
LABIOPROT
LABORATÓRIO DE BIOTECNOLOGIA DE PROTEÍNAS



RFB Editora
Home Page: www.rfbeditora.com
Email: adm@rfbeditora.com
WhatsApp: 91 98885-7730
CNPJ: 39.242.488/0001-07
Av. Augusto Montenegro, 4120 - Parque Verde,
Belém - PA, 66635-110

