



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA APLICADA À SAÚDE

JULYANNE VICTÓRIA DOS SANTOS FERREIRA

**BIOSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE
NANOPARTÍCULAS DE PRATA POR FUNGOS
FILAMENTOSOS E SUAS APLICAÇÕES
ANTIBACTERIANA, ANTIBIOFILME E ANTICÂNCER**

RECIFE
2025

JULYANNE VICTÓRIA DOS SANTOS FERREIRA

**BIOSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE
NANOPARTÍCULAS DE PRATA POR FUNGOS
FILAMENTOSOS E SUAS APLICAÇÕES
ANTIBACTERIANA, ANTIBIOFILME E ANTICÂNCER**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestra em Biologia Aplicada à Saúde. Área de concentração: Biologia aplicada à saúde.

Orientador (a): Ana Lúcia Figueiredo Porto

Coorientador (a): Juanize Matias da Silva Batista

Coorientador (a): Lorenzo Miguel Pastrana Castro

Recife

2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Ferreira, Julyanne Victória Dos Santos.

Biossíntese e caracterização de Nanopartículas de Prata por fungos filamentosos e suas aplicações antibacteriana, antibiofilme e anticâncer / Julyanne Victória Dos Santos Ferreira. - Recife, 2025.

60f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Biologia aplicada à Saúde, 2025.

Orientação: Ana lúcia Figueiredo Porto.

Inclui referências.

1. Trichoderma; 2. AgNPs; 3. Antibacteriana; 4. Antibiofilme; 5. Anticâncer; 6. Síntese verde. I. Porto, Ana lúcia Figueiredo. II. Título.

UFPE-Biblioteca Central

JULYANNE VICTÓRIA DOS SANTOS FERREIRA

**BIOSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE
NANOPARTÍCULAS DE PRATA POR FUNGOS
FILAMENTOSOS E SUAS APLICAÇÕES
ANTIBACTERIANA, ANTIBIOFILME E ANTICÂNCER**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Biociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Biologia Aplicada à Saúde. Área de concentração: Biologia Aplicada à Saúde

.

Aprovado em: 28/02/2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Figueiredo Porto (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Romero Marcos Pedrosa Brandão Costa (Examinador Interno)
Universidade de Pernambuco

Prof^o. Dr. Thiago Pajeú Nascimento (Examinador Externo)
Universidade Federal do Piauí

“À minha mãe, Enilda Marculino, que, como mãe solo, foi minha força inabalável e a base de tudo o que sou. Sua coragem, dedicação e amor incondicional iluminaram os caminhos da minha vida e me inspiram todos os dias. Dedico a você, com profunda gratidão e amor eterno”

AGRADECIMENTOS

A Deus o autor da minha vida, que permitiu com que eu vencesse uma tuberculose pulmonar multidroga resistente e me fez chegar até aqui, pesquisando formas de vencer a resistência bacteriana.

Aos meus avós, Antônio Marcolino (*in memoriam*) e Maria Júlia, pelo amor, cuidado e zelo dedicados a mim ao longo de toda a minha vida. À minha mãe, Enilda Marculino, uma mulher forte, batalhadora e resiliente, que me ensinou, entre tantas lições, que a educação é a chave para a transformação. Seu amor, cuidado, sabedoria e força foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

Às minhas tias, Elza, Eronilda e Edilene, por contribuírem na formação do meu caráter, e aos meus primos e primas, cujo incentivo foram essenciais para esta conquista.

Aos meus amigos Renan, Bia e Éder, que estiveram ao meu lado desde a aprovação nesta pós-graduação e acompanharam todas as lutas e obstáculos enfrentados durante o caminho. O apoio de vocês foi imprescindível para a conclusão deste trabalho.

Ao Sport Club do Recife, por ser uma fonte alegria, de distração e terapia ao longo desses dois anos e, sobretudo, por ter cruzado meu caminho com o de Pedro, meu parceiro. Sua presença tornou essa jornada mais leve e especial.

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e à Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), instituições públicas de excelência que contribuíram significativamente para minha formação e reforçaram em mim a certeza de que vale a pena estudar e lutar pelos sonhos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde da UFPE, a todo o corpo docente que foi peça-chave no desenvolvimento deste estudo, e ao secretário do programa, Fábio, por sua disponibilidade e excelência, tornando a jornada na pós-graduação mais tranquila.

À minha orientadora, Ana Porto, por confiar em mim, abrir as portas do laboratório e contribuir de maneira inestimável para minha formação profissional e pessoal. À minha coorientadora, Juanize Batista, que se tornou uma grande amiga. Sou profundamente grata por seus ensinamentos, sua disponibilidade e por estar ao meu lado, passo a passo, durante essa jornada. Sem vocês, este momento não seria possível.

Aos pós-doutorandos do laboratório, Marllyn, Gaby, Túlio, Leandro e Pablo, pelos inúmeros auxílios e pelo compartilhamento de conhecimentos indispensáveis à conclusão deste mestrado. À Marques, Daniel e Kethy, pela colaboração essencial nas

análises realizadas neste estudo.

À Kayne, por sua imensa contribuição nos experimentos do último ano. À toda equipe do LABTECBIO, que, direta ou indiretamente, tornou possível a finalização deste trabalho.

À Capes, pelo apoio financeiro que viabilizou esta pesquisa e foi crucial para a sua realização.

RESUMO

A síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando fungos do gênero *Trichoderma* representa uma abordagem promissora para diversas aplicações biotecnológicas, especialmente na área biomédica. Neste estudo, AgNPs foram biossintetizadas a partir de extratos celulares de oito linhagens de *Trichoderma* e caracterizadas por espectrofotometria UV-Vis, potencial zeta e espalhamento dinâmico de luz (DLS). Os resultados indicaram que as linhagens *Trichoderma* sp. UFPIT08 e *T. orientale* UFPIT09 produziram AgNPs altamente estáveis e monodispersas. A síntese foi influenciada por fatores como o meio de pré-inóculo e a temperatura, que afetaram diretamente a estabilidade e o tamanho das nanopartículas. Entre as linhagens avaliadas, *T. orientale* UFPIT09 destacou-se pela produção de AgNPs com pico de ressonância plasmônica em 425 nm, reveladas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) como esféricas e com diâmetro médio de aproximadamente 20 nm. A análise por FTIR identificou biomoléculas presentes no extrato fúngico envolvidas na formação e estabilização das nanopartículas. As AgNPs demonstraram atividade antibacteriana contra 12 linhagens bacterianas, incluindo cepas clínicas multirresistentes, com halos de inibição variando entre 5 e 14 mm, além da capacidade de erradicar biofilmes bacterianos. Testes de citotoxicidade *in vitro* revelaram atividade anticancerígena dose-dependente contra células de adenocarcinoma mamário humano (MDA-MB-231). Portanto, as AgNPs biossintetizadas neste estudo apresentam-se como uma alternativa sustentável e eficaz, com potencial aplicação como agentes antibacterianos, antibiofilme e anticâncer.

Palavras-chave: *Trichoderma*; AgNPs; Antibacteriana; Antibiofilme; Anticâncer; síntese verde.

ABSTRACT

Green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) using fungi of the genus *Trichoderma* represents a promising approach for various biotechnological applications, particularly in the biomedical field. In this study, AgNPs were biosynthesized from cell extracts of eight *Trichoderma* strains and characterized by UV-Vis spectrophotometry, zeta potential, and dynamic light scattering (DLS). The results showed that *Trichoderma* sp. UFPIT08 and *T. orientale* UFPIT09 produced highly stable and monodisperse AgNPs. The synthesis was influenced by factors such as the pre-inoculum medium and temperature, which directly affected nanoparticle stability and size. Among the evaluated strains, *T. orientale* UFPIT09 stood out by producing AgNPs with a surface plasmon resonance peak at 425 nm, revealed by transmission electron microscopy (TEM) as spherical particles with an average diameter of approximately 20 nm. FTIR analysis identified biomolecules in the fungal extract involved in the formation and stabilization of the nanoparticles. The AgNPs exhibited antibacterial activity against 12 bacterial strains, including multidrug-resistant clinical isolates, with inhibition zones ranging from 5 to 14 mm, as well as the ability to eradicate bacterial biofilms. In vitro cytotoxicity assays revealed dose-dependent anticancer activity against human breast adenocarcinoma cells (MDA-MB-231). Therefore, the AgNPs biosynthesized in this study represent a sustainable and effective alternative with potential applications as antibacterial, antibiofilm, and anticancer agents.

Keywords: *Trichoderma*; AgNPs; Antibacterial; Antibiofilm; Anticancer; Green synthesis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Principais mecanismos de aquisição de genes de resistência bacteriana.....	19
Figura 2 – Mecanismos de resistência a antibióticos em bactérias	19
Figura 3 – Abordagens <i>top-down</i> e <i>bottom-up</i> para síntese de NPs.....	23
Figura 4 – Diversidade na coloração dos cultivos de <i>Trichoderma</i> spp.....	27
Figura 5 – Localização do ponto de coleta dos <i>Trichodermas</i> spp. no ecótono Cerrado- Caatinga piauiense.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Antimicrobianos sintetizados por fungos.....	17
Tabela 2 - Fungos biossintetizantes de nanopartículas metálicas.....	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgNPs	Nanopartículas de Prata
BDA	Potato Dextrose Ágar (BDA)
CFE	Filtrado celular livre de células
MDR	Multidroga resistente
NPs	Nanopartículas
Sab	Ágar Sabouraud
SMs	Metabólitos secundários

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1. Resistência Bacteriana.....	16
2.2. Nanotecnologia.....	19
2.3. Bionanotecnologia.....	20
2.4. Miconanotecnologia	23
2.5. O gênero <i>Trichoderma</i>	25
2.6. Ecótono Cerrado-Caatinga piauiense.....	27
3. OBJETIVOS.....	29
3.1. Objetivo geral.....	29
3.2. Objetivos específicos.....	29
4. REFERÊNCIAS.....	30
5. CAPÍTULO I: Potencial Antibacteriano, Antibiofilme e Anticancerígeno de Nanopartículas de Prata Biossintetizadas por <i>Trichoderma orientale</i>: Uma Abordagem de Síntese Verde a partir de Isolados do Ecótono Caatinga-Cerrado.	39
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	60

1. INTRODUÇÃO

Os Ecótonos são áreas que conectam comunidades biológicas, tratando-se de uma região de transição nas extensões territoriais onde coexistem dois ou mais domínios vegetais, por ser uma área de tensão ecológica possuem alta diversidade biológica que se interrelacionam nos espaços geográficos com diferentes ecossistemas, apresentando características específicas e peculiares que, em geral, os tornam mais vulneráveis à degradação ambiental. Sendo assim, os fungos do solo dessa região são adaptados a condições adversas, tornando-os interessantes para exploração de potencialidades biotecnológicas (Silva *et al.*, 2020).

Neste íterim, os fungos são considerados microrganismos excelentes para emprego em nanotecnologia, o que contribuiu com o surgimento da miconanotecnologia, área que utiliza estes seres em processos nanotecnológicos (Kashyap *et al.*, 2012; Hanafy, 2018). O gênero *Trichoderma* consiste em fungos filamentosos, não patogênicos e com alto grau de diversidade genética, sendo bastante promissores nessa área, pois já são reconhecidos por possuírem enorme potencial biotecnológico, principalmente pela produção de diversas biomoléculas (Ikram *et al.*, 2019; Delabona *et al.*, 2020), além de já serem utilizados como biocontrole na agricultura (Ji *et al.*, 2020). Assim, recentemente mais de 70 cepas de *Trichoderma* foram relatadas com utilização na síntese ecológica de nanopartículas de prata (AgNPs) (Herrera Pérez; Castellano e Ramírez Valdespino, 2024).

As AgNPs estão inseridas na nanotecnologia que é considerada uma área da nanociência que tem atraído a atenção de diversos pesquisadores, devido às aplicações dos nanomateriais, estruturas em nanoescala, que apresentam uma de suas dimensões na faixa de 1 a 100 nm (Elwakiel *et al.*, 2020). Dentre os nanomateriais amplamente estudados, as nanopartículas (NPs) metálicas destacam-se, principalmente, as de prata (Qais *et al.*, 2019), pois o metal prata vem sendo explorado desde a Antiguidade, pelo conhecimento de longa data de que ele mantinha itens perecíveis frescos por mais tempo (Durán *et al.*, 2010).

Para a síntese destas nanopartículas duas abordagens são amplamente empregadas, a top down, na qual um material metálico é fragmentado até atingir a escala nanométrica e a bottom up, que a partir da auto-montagem atômica ou molecular obtêm-se uma partícula de nanoescala (Ahmed *et al.*, 2016). De acordo com Siddiqi *et al.* (2018), as técnicas utilizadas para a síntese de nanopartículas podem ser de origem química, física ou biológica, de maneira que as duas primeiras possuem alto consumo de energia e envolvem, em muitos casos, substâncias prejudiciais ao meio ambiente devido à liberação de resíduos químicos tóxicos e poluentes, enquanto as técnicas biológicas são

rentáveis, limpas, atóxicas e ecologicamente corretas.

Ao longo das últimas décadas, a demanda por alternativas sustentáveis, verdes e econômicas para a síntese de nanopartículas (NP) aumentou exponencialmente. Dessa forma, além da conhecida síntese verde mediada por plantas, o potencial de diferentes microrganismos como bactérias e fungos têm sido amplamente investigados (Vanlalveni *et al.*, 2024). Além disso, as enzimas e biomoléculas nas células microbianas são capazes em catalisar a redução de Ag^+ para Ag^0 durante o processo de biossíntese. Assim, as NP possuem uma maior estabilidade e biocompatibilidade (não possuem efeitos nefastos sobre tecidos biológicos) reduzindo a sua toxicidade favorecendo diversas aplicações biomédicas (Singh *et al.*, 2015; Biswas *et al.*, 2018).

Atualmente, sabe-se que a prata impedia os processos microbianos associados à deterioração devido ao efeito bactericida e bacteriostático (Misirli *et al.*, 2022). Assim, as AgNPs possuem variada atividade antimicrobiana, contra uma grande quantidade de microrganismos patogênicos, principalmente aqueles considerados multirresistentes a antibióticos (Railean-Plugaru *et al.*, 2016; Rajeshkumar *et al.*, 2016; Quinteros *et al.*, 2016).

A resistência bacteriana, anunciada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma das dez ameaças globais à saúde (Algammal *et al.*, 2023), é um perigo crescente para a saúde pública, especialmente devido às infecções causadas por bactérias multirresistentes (MDR), que apresentam alta letalidade e patogenicidade (Nystrom *et al.*, 2018). Esse cenário impulsiona o crescimento do mercado de resistência aos antibióticos, cujo valor global foi estimado em USD 8,72 bilhões em 2023, com uma projeção de crescimento anual composto (CAGR) de 5,27% entre 2024 e 2030. Nesse contexto, destaca-se a necessidade urgente de desenvolver novas substâncias capazes de substituir os antibióticos tradicionais (Grand View Research)

Assim, as AgNPs surgem como uma alternativa promissora no combate à resistência bacteriana, particularmente contra cepas MDR, pois suas propriedades aumentam a eficácia antibacteriana (Ameen e Majrashi, 2023). Além disso, AgNPs não apenas exibem efeitos bactericidas significativos, mas também impedem a formação de biofilme, o que é crucial na persistência das infecções (Gong *et al.*, 2024).

Portanto, o presente estudo realizou a seleção de fungos filamentosos do gênero *Trichoderma* isolados do ecótono Caatinga-Cerrado Piauiense, capazes de biosintetizar nanopartículas de prata com atividade antibacteriana e antibiofilme frente a linhagens bacterianas de isolados clínicos multirresistentes.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. RESISTÊNCIA BACTERIANA

A resistência aos antibióticos é definida como a capacidade dos microrganismos de neutralizar a ação dos agentes antimicrobianos e esse fenômeno ocorre quando um antibiótico perde sua eficiência para inibir o crescimento bacteriano (Beceiro *et al.*, 2013; Nadeem *et al.*, 2020). Desde que Alexander Fleming descobriu em 1928 que o *Penicillium* inibia o crescimento de bactérias, a indústria de antibióticos experimentou um grande avanço, diversos antibióticos foram identificados e aplicados com sucesso no tratamento de doenças infecciosas (Fleming, 1929). Visto que a resistência bacteriana é um fenômeno que ocorre naturalmente no ambiente e é parte da adaptação das bactérias a condições adversas, portanto, pouco tempo após a introdução desses medicamentos, começaram a surgir casos de resistência bacteriana (Wright., 2007; Lee *et al.*, 2018).

Por isso, a resistência bacteriana aos antibióticos representa um dos maiores desafios para a saúde pública mundial, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que, até 2050, esse fenômeno poderá resultar em 10 milhões de mortes em todo o planeta, caso a tendência de uso inadequado e excessivo de antibióticos continue. Esse cenário alarmante é agravado pelo fato de que o uso excessivo e impróprio desses medicamentos é uma das principais causas que contribuem para o desenvolvimento de resistência bacteriana (De Kraker *et al.*, 2016; World Health Organization, 2014).

Em 2019, uma pesquisa global revelou que 1,27 milhão de pessoas morreram diretamente em função da resistência aos antibióticos, com base em dados de 204 países e regiões. Além disso, outros 4,95 milhões de mortes ocorreram em contextos relacionados à resistência, sendo uma parte significativa dessas fatalidades atribuída a infecções causadas por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), afetando mais de 100.000 pessoas ao redor do mundo (Bourne *et al.*, 2023).

À medida que as bactérias circulam pelo ambiente, elas se dispersam e os genes de resistência se espalham, assim as bactérias resistentes podem se propagar de forma verticalmente, em que seus genes são transmitidos de geração em geração, e horizontalmente, por meio da troca ou compartilhamento de porções de material genético (Liu *et al.*, 2022). Dessa forma, as bactérias podem ser transportadas pela água, pelos alimentos, bem como por meio de contato entre pessoas ou até dentro do corpo humano, a transmissão entre indivíduos ocorre principalmente por meio da tosse, do espirro ou do contato com mãos contaminadas (Pulingam *et al.*, 2022; Kamal *et al.*, 2022).

Em um ambiente natural, às bactérias competem constantemente por recursos necessários à sobrevivência, esse cenário leva diversos microrganismos a produzirem substâncias químicas durante seu metabolismo, as quais têm a capacidade de inibir ou

matar outros microrganismos. Por exemplo, as penicilinas são metabólitos produzidos pelo *Penicillium*, enquanto as cefalosporinas são metabólitos do *Cephalosporium*, outros exemplos podem ser observados na tabela 1. Assim, devido à pressão seletiva pela sobrevivência, os microrganismos competidores desenvolvem mecanismos de resistência aos antibióticos, de modo que as linhagens que secretam antibióticos frequentemente possuem mecanismos de resistência correspondentes para se proteger contra os efeitos dessas substâncias (Mohr, 2016; Lewis, 2020).

Tabela 1 – Antimicrobianos sintetizados por fungos

Antimicrobiano	Fungo	Atividade biológica	Referência
Ácido Fusídico	<i>Fusidium coccineum</i>	Antibiótico esteroide	Gemechu, 2024
Ácido micofenólico	<i>Penicillium glaucum</i>	Antibiótico imunossupressor	Sharma e Sharma, 2016
Cefalosporina	<i>Penicillium notatum</i>	Antibiótico	Masis-Ramos <i>et al.</i> , 2021
-Cefalosporina C	<i>Cephalosporium acremonium</i>	Antibiótico	Pardo <i>et al.</i> , 2022
Gliotoxina	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Antibiótico imunossupressor	Vasilchenko <i>et al.</i> , 2023
Griseofulvina	<i>Penicillium griseofulvum</i>	Antifúngico	Silva-Rodrigues <i>et al.</i> , 2024
Penicilina	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Antibiótico	Horri <i>et al.</i> , 2020
Pneumocandina B (caspofungina)	<i>Glarea lozoyensis</i>	Antifúngico	Dong <i>et al.</i> , 2021
Verticilina	<i>Clonostachy</i>	Antibacteriano Anti-tripanosômico	Zhao <i>et al.</i> , 2019

Fonte: A autora (2025).

Neste viés, estudos demonstraram que arqueias de 30.000 anos atrás já eram resistentes a antibióticos β -lactâmicos (como a penicilina) e antibióticos aminoglicosídeos (como a estreptomicina) (D'costa *et al.*, 2011). Assim, a resistência bacteriana a medicamentos surge como um mecanismo de autoproteção, resultado da seleção natural. Ao longo de um processo evolutivo prolongado, diversas bactérias desenvolveram mecanismos de resistência contra antibióticos, o que lhes permite escapar da ação de uma variedade ainda maior de substâncias antimicrobianas (Zhang e Cheng, 2022).

Além disso, a ingestão de antibióticos em animais, a prescrição irracional e excessiva, a automedicação, a falta de qualificação das equipes de profissionais de saúde, a baixa disponibilidade de testes de sensibilidade cultural e a dosagem incompleta dos fármacos são fatores que contribuem significativamente para a disseminação de bactérias resistentes a antibióticos (EFSA *et al.*, 2021). Ademais, o monitoramento

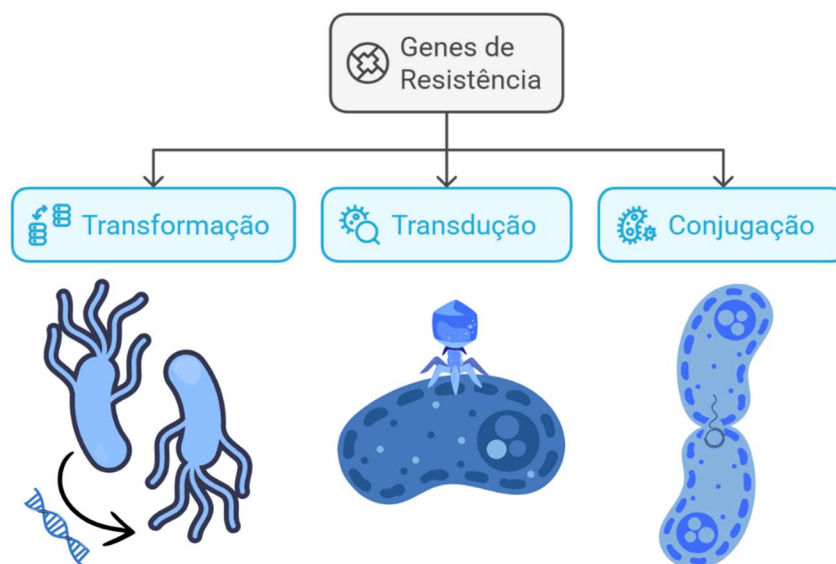
insuficiente, as dificuldades associadas à pobreza, tanto individual quanto nacional, como o acesso limitado a cuidados de saúde, a fome, as doenças recorrentes e crônicas, e a incapacidade de arcar com medicamentos mais caros e eficazes, bem como a falta de novos medicamentos, agravam ainda mais o problema da resistência bacteriana aos antimicrobianos (Liu *et al.*, 2021).

Embora seja esperado que novos antibióticos ofereçam mecanismos mais eficazes de proteção contra patógenos, seus efeitos seriam temporários caso o uso excessivo e inadequado de antibióticos continue (Lee *et al.*, 2013). Sabe-se que a resistência a um antibiótico pode surgir logo após sua aprovação para uso clínico. Dois dos principais fatores que contribuem para esse fenômeno são: (1) o uso de antibióticos que inibe as bactérias suscetíveis, permitindo que as resistentes sobrevivam, e (2) a ativação de genes de resistência dormentes nas bactérias devido à pressão exercida pelos antibióticos. Os isolados bacterianos que prosperam sob essa pressão podem espalhar o gene de resistência para outros hospedeiros, e esse processo pode até continuar a se disseminar para outras comunidades (Levy e Marshall, 2004).

Os mecanismos de resistência a antibióticos nas bactérias podem ser classificados principalmente em três vias comuns: (1) alteração do sítio-alvo do antibiótico, (2) modificação ou destruição da molécula do antibiótico, e (3) inibição da ligação do antibiótico ao sítio-alvo por meio de mecanismos de eliminação. Além disso, os genes de resistência são geralmente adquiridos pelas bactérias por meio de transformação (captação do gene resistente do ambiente), transdução (transferência do gene resistente por bacteriófagos) e conjugação bacteriana (transferência do gene resistente entre cepas bacterianas) (Blair *et al.*, 2015; Wright, 2005), conforme ilustrado na figura 1. Em suma, as principais barreiras bacterianas, que impedem os antibióticos de atingir seus alvos são: biofilmes bacterianos, paredes celulares e enzimas destrutivas (Diab *et al.*, 2015).

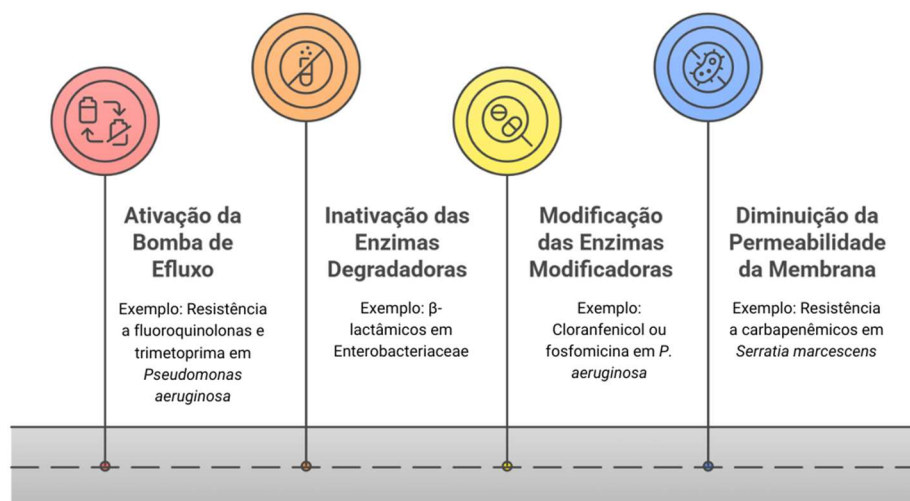
Dessa forma, devido ao aumento progressivo de bactérias resistentes a antibióticos é essencial considerar alternativas aos medicamentos existentes. Algumas das opções propostas incluem modificações na estrutura dos antibióticos, terapia antibiótica combinatória, uso de combinações de antibióticos com adjuvantes, utilização de aminoglicosídeos e seus derivados, além de alternativas como os biofármacos (Pulingam *et al.*, 2022).

Figura 1 – Principais mecanismos de aquisição de genes de resistência bacteriana.



Fonte: A autora (2025).

Figura 2 – Mecanismos de resistência a antibióticos em bactérias



Fonte – A autora (2025).

2.2. NANOTECNOLOGIA

O ponto inicial da nanotecnologia foi à palestra proferida por Richard Feynman em 1959, onde o mesmo propôs a manipulação de átomos e que o homem não necessitava meramente aceitar os materiais da forma que a natureza provê, desde que as leis da natureza não sejam afetadas (Cadioli e Salla., 2006). O conceito de nanotecnologia vem sendo aprimorado de acordo com os avanços da ciência, por isso ainda não há um consenso internacional para o termo. Na área da saúde, a *European Medicines Agency* define a nanotecnologia como o uso de pequenas estruturas menores de 1.000 nanômetros de diâmetro que são projetadas para apresentar propriedades específicas (Lammers *et al.*, 2011).

Enquanto a nanociência corresponde ao estudo dos fenômenos naturais que regem o comportamento de átomos, moléculas e estruturas na escala nanométrica, a

nanotecnologia consiste na aplicação da nanociência para o controle e manipulação da matéria estruturada no nível atômico e molecular, permitindo o desenvolvimento de dispositivos, materiais funcionais e sistemas com propriedades significativamente diferentes daquelas observadas na escala micro ou macroscópica (Dimer *et al.*, 2013). Assim, na última década o uso da nanotecnologia tem atraído a atenção de muitos pesquisadores e aplica-se em setores multidisciplinares como engenharia, biologia, eletrônica, química, física, informação, medicina, ciência dos materiais, energia e informática (Kumar, Kumar e Luthra., 2023).

Há diversas áreas com aplicações nanotecnológicas possíveis, tais como: aumento da capacidade de armazenamento e processamento de dados dos computadores, criação de novos mecanismos para a produção de medicamentos, criação de materiais mais leves, baratos e mais resistentes, economia de energia, proteção ao meio ambiente e menor uso de matérias primas escassas. Sendo assim, a nanoeletrônica, nanobiotecnologia e nanomateriais são os principais campos da nanotecnologia, que vêm ganhando destaque mundialmente (Cadioli e Salla., 2006)

Nas áreas farmacêutica e de medicina os esforços em pesquisa e desenvolvimento visam projetar nanomedicamentos para oferecerem vantagens em relação aos seus homólogos, principalmente pelo seu tamanho reduzido, ou seja, um aumento na área de superfície em relação ao seu volume (Dimer *et al.*, 2013).

Dessa forma, a nanotecnologia foi revelada como uma abordagem fundamental, com propriedades físico-químicas adequadas para a administração de medicamentos contra bactérias resistentes, assim os sistemas de administração de medicamentos particulados são considerados promissores, pois apresentam mecanismos capazes de superar as resistências microbianas, como: alteração da atividade da bomba de efluxo bacteriano, atividade anti-biofilme das nanopartículas, penetração aprimorada através de estruturas de biofilme, proteção contra degradação enzimática, morte intracelular de bactérias e alvo específico (Khameneh *et al.*., 2016).

2.3. BIONANOTECNOLOGIA

A bionanotecnologia surge como uma ciência multidisciplinar e transdisciplinar capaz de apresentar estratégias baseadas na sustentabilidade e na biocompatibilidade com seres vivos. Ela engloba o conhecimento da biotecnologia e nanotecnologia para desenvolver tecnologias que buscam resolver problemas relacionados ao meio ambiente e à saúde pública (Shahcheraghi *et al.*, 2022). Para tanto, busca-se resolver, com pluralidade, os problemas emergentes através da manipulação da matéria em escalas atômicas e moleculares e sua aplicação em sistemas biológicos (Dos Santos *et al.*, 2024).

Ela envolve o uso de nanomateriais em vários campos, incluindo medicina, saúde, imagem, imunoproteômica, administração de medicamentos, engenharia de tecidos,

cosméticos, agricultura e farmácia (Kaur e Thombre, 2021). Uma das alternativas bionanotecnológicas mais utilizadas como estratégia para o desenvolvimento sustentável é a síntese de nanopartículas (NPs) a partir de fontes naturais, que visa minimizar o uso de reagentes e processos tóxicos ao meio ambiente e à saúde dos seres vivos. A redução biogênica de precursores metálicos para produzir NPs é uma técnica ecologicamente correta, menos dispendiosa e livre de contaminantes químicos para aplicações médicas e biológicas, onde a pureza das NPs é uma grande preocupação (Hussain *et al.*, 2016).

Sabe-se que partículas de nanoescala têm propriedades melhoradas devido a interações atômicas em sua superfície, assim as NPs consistem principalmente de ouro, prata, cobre, cobalto, níquel e materiais semicondutores. As nanopartículas de prata (AgNPs), dentre outras nanopartículas, têm recebido grande atenção devido às suas propriedades elétricas, ópticas e biológicas e consequentemente têm sido utilizadas para inúmeras aplicações, incluindo biossensores, medicamentos e medicina (Bindhu e Umadevi., 2015; Marimuthu *et al.*, 2011; Velusamy *et al.*, 2015).

Nanopartículas de prata possuem forte capacidade de penetração de biofilme, assim, medicamentos antibacterianos podem ser encapsulados em portadores de polímeros em nanopartículas, liberados *in vivo* para desempenhar um papel bactericida com alta solubilidade (Guenday *et al.*, 2020). Além disso, o DNA revestido ou adsorvido por nanopartículas pode superar a barreira externa à célula ao entrar na célula por endocitose, fornecendo uma nova ideia para a entrega de medicamentos terapêuticos no corpo (Zhang e Cheng., 2022).

Abordagens *top-down* e *bottom-up* podem ser usadas para a síntese de AgNPs, a abordagem de cima para baixo envolve quebrar um material a granel em nano-tamanhos usando técnicas como ablação a laser. Em contraste, a abordagem *bottom-up* refere-se à construção de nanopartículas usando entidades menores, como métodos químicos e biológicos (Varadan *et al.*, 2010), como ilustrado na figura 3. Processos biológicos, conhecidos como síntese verde, oferecem vantagens sobre métodos químicos e físicos, porque eles são rentáveis, *eco-friendly*, e prontamente disponíveis (Alharbi, Alsubhi e Felimba, 2022).

As moléculas presentes nos diversos extratos biológicos permitem a biorredução de íons para átomos, essa biorredução permite a formação de um nanossistema mais estável, biocompatível e menos citotóxico. Após a biorredução e a nucleação, ocorre o crescimento de nanopartículas na solução, transformando-a em um nanossistema coloidal (Devatha e Thalla, 2018; Salem e Fouda, 2021), conforme ilustrado na figura 3.

Neste viés, diversas são as fontes biológicas usadas na bionanotecnologia para a síntese de NPs, Revathi *et al* (2024) utilizou o extrato vegetal de *Acacia nilotica* para a síntese de AgNPs, obtendo uma AgNP esférica, homogênea, com tamanho médio de 23,65 nm e com ação antibacteriana frente a diversas doenças humanas. Segundo o

trabalho de Pathak *et al* (2021) outra fonte promissora são as cianobactérias, pois produzem uma infinidade de compostos biologicamente ativos e quimicamente diversos, sendo fontes potenciais para a extração de substâncias bioativas, com ação anticancerígenas, antimicrobianas e várias propriedades farmacologicamente importantes. Sendo assim, elas têm sido utilizadas na síntese verde de nanopartículas com potencial de aplicação no campo biomédico.

Algas verdes como a *Chlorella ellipsoidea* também são usadas para a síntese de AgNPs empregando sua biomassa seca, as AgNPs sintetizadas usando algas exibem propriedades fotofísicas significativas, potencial catalítico e atividade antibacteriana, tornando-as adequadas para aplicações em sensores, imagens e revestimentos antimicrobianos (Singh *et al.*, 2024). Também há relatos na literatura do uso da microalga *Asterarcys sp.* na síntese de AgNPs com eficácia antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* (Choudhary *et al.*, 2024).

Outra fonte utilizada para a síntese verde de AgNPs são as bactérias, cujas capacidades naturais de redução e estabilização dos microrganismos são aproveitadas, os componentes da parede celular bacteriana podem atuar como agentes redutores e estabilizadores das nanopartículas, prevenindo a aglomeração (El-Seedi *et al.*, 2024). Extratos microbianos de bactérias como *Streptomyces thinghirensis*, *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Escherichia coli* mediam efetivamente o processo de síntese de NPs. O mecanismo de biossíntese inclui o envolvimento de várias biomoléculas e fitoquímicos que facilitam a redução e estabilização das nanopartículas. Parâmetros-chave como pH, temperatura e concentração de precursores influenciam o tamanho e as propriedades das nanopartículas de prata sintetizadas (Loqman *et al.*, 2022; El-Seedi *et al.*, 2024).

Fungos como *Cladosporium cladosporoides*, *Penicillium chrysogenum* e *Purpureocillium lilacinum* são eficazes na síntese de AgNPs, os extratos fúngicos contêm enzimas e metabólitos que reduzem os íons de prata e estabilizam as nanopartículas. AgNPs mediados por fungos mostraram atividade antimicrobiana significativa, com nanopartículas derivadas de *Cladosporium* inibindo patógenos como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (Răut *et al.*, 2024; Rami *et al.*, 2024).

Embora a síntese verde de nanopartículas usando plantas, algas, cianobactérias, bactérias e fungos ofereça vários benefícios, desafios como otimizar as condições de síntese e aumentar a produção permanecem. Mais pesquisas são necessárias para padronizar protocolos e explorar novas fontes biológicas para aproveitar totalmente o potencial dessa abordagem sustentável. Além disso, explorar a citotoxicidade e o impacto ambiental dessas nanopartículas é crucial para garantir sua aplicação segura em vários campos. (El-Seedi *et al.*, 2024; Ibarra., 2024).



Fonte- A autora, adaptado de Xu *et al.* (2020).

2.4. MICONANOTECNOLOGIA

Dentre as fontes biológicas usadas na síntese verde de NPs os fungos têm sido os mais utilizados, devido à sua micossíntese simples e eficaz, eles usam seus metabólitos secundários (SMs) para mediar e catalisar as reações para produzir nanopartículas metálicas, além de serem capazes de atuar como agentes de cobertura, produzindo diferentes características físico-químicas e atividades biológicas nas NPs. A síntese mediada por fungos é vantajosa em comparação às plantas, porque os fungos produzem uma grande quantidade de SMs e proteínas, o que resulta em uma alta produção de NPs com maior estabilidade (Mukherjee *et al.*, 2008; Herrera Pérez; Castellano e Ramírez Valdespino, 2024).

A utilização de fungos para sintetizar diversos materiais, denominada micossíntese, tem se destacado pelo seu amplo potencial de aplicação, especialmente na agricultura sustentável e no combate a patógenos vegetais e humanos (Owaid e Ibraheem, 2017). Nesse contexto, surgiu a miconanotecnologia, um campo inovador que explora as propriedades biológicas únicas dos fungos para sintetizar nanopartículas, oferecendo uma alternativa sustentável e ecológica aos métodos tradicionais (Madakka; Jayaraju e Rajesh, 2018).

A miconanotecnologia auxilia na sustentabilidade ambiental ao reduzir os poluentes por meio do potencial de bioacumulação das paredes celulares dos fungos. Ele melhora o crescimento das culturas, minimizando o uso de produtos químicos tóxicos e contribuindo com a absorção de metais (Joel *et al.*, 2022). Na agricultura, as miconanopartículas são empregadas para controlar pragas e doenças fúngicas, reduzindo a dependência de fungicidas químicos, fungos como *Penicillium* e *Aspergillus* são amplamente usados para síntese de nanopartículas, contribuindo para práticas agrícolas sustentáveis (Prabhu *et al.*, 2023; Tyagi *et al.*, 2023).

Além disso, a miconanotecnologia é fundamental no desenvolvimento da nanomedicina antimicrobiana, particularmente usando nanopartículas de prata

conhecidas por suas propriedades antibacterianas, antifúngicas e antivirais. Essas NPs são usadas no revestimento de dispositivos implantáveis e materiais medicinais para prevenir infecções e promover a cicatrização de feridas. Os mecanismos antimicrobianos incluem estresse oxidativo, liberação de íons metálicos e vias não oxidativas, que são críticas no tratamento de infecções bacterianas e servem como alternativas aos antibióticos (Prabhu *et al.*, 2023).

A síntese verde de nanopartículas usando fungos é economicamente viável devido à alta capacidade de bioacumulação de metais dos fungos, o que reduz os custos associados aos processos químicos (Tyagi *et al.*, 2023). Assim, os fungos têm se mostrado eficazes na síntese verde de NPs, os principais gêneros usados para esta finalidade são *Aspergillus*, *Fusarium* e *Trichoderma*, conforme pode ser observado na tabela 2 (Elsakhawy *et al.*, 2022). A eficácia dos fungos na síntese de NPs é devido à sua capacidade de produzir grandes quantidades de proteínas e SMs, que atuam como agentes redutores e estabilizadores (Guilger-Casagrande *et al.*, 2019; Roy; Bera e Adak., 2018).

Tabela 2 – Fungos biossintetizantes de nanopartículas metálicas

Fungo	Tipo de nanopartícula	Localização	Forma	Tamanho	Referência
<i>Aspergillus flavus</i>	Zinco	Extracelular	Esférica	12-24 nm	Uddandarao <i>et al.</i> , 2019
<i>Aspergillus kambarensis</i>	Prata, ouro, cobre, óxido de zinco	Extracelular	Esféricas	<50 nm	Gholami-Shabani <i>et al.</i> , 2022
<i>Aspergillus terreus</i>	Prata	Extracelular	Esférica	40 nm	Yari <i>et al.</i> , 2022
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Prata	Extracelular	Esférica	<20 nm	Räut <i>et al.</i> , 2024
<i>Fusarium solani</i>	Prata, Cobre Zinco	Extracelular	Esféricas	13,70 nm (Prata); 13,42 nm (Cobre); 17, 33 nm (Zinco)	El Sayed., <i>et al.</i> , 2019
<i>Gloeophyllum striatum</i>	Prata	Extracelular	Esférica	21,5 nm	Zawadzka <i>et al.</i> , 2021
<i>Penicillium decumbens</i>	Prata	Extracelular	Esférica	30- 60 nm	Majeed <i>et al.</i> , 2016
<i>Penicillium verrucosum</i>	Prata	Extracelular	Esférica	10-12 nm	Yassin <i>et al.</i> , 2021
<i>Trichoderma atroviride</i>	Ouro	Extracelular	Esférica	24,7 nm	Olvera-Arpez <i>et al.</i> , 2024

<i>Trichoderma asperellum</i>	Ouro	Extracelular	Esférica	16,4 nm	Olvera-Aripez <i>et al.</i> , 2024
-------------------------------	------	--------------	----------	---------	------------------------------------

Fonte: A autora (2025).

Diversos são os compostos envolvidos na micossíntese de NPs, em *Trichoderma harzianum*, foi relatado que o ácido kójico, acético e cítrico, ou seja, ácidos orgânicos são os principais componentes mediadores da síntese de NPs (Gupta *et al.*, 2019). Outro estudo, também usando *T. harzianum*, indica que compostos nitrogenados, isoflavonoides e alcaloides são responsáveis pela produção de AgNPs (Konappa *et al.*, 2021).

Isso indica que, apesar de usar a mesma espécie de *Trichoderma*, ele pode produzir diferentes SMs e, portanto, mediar a síntese. No entanto, sabe-se que a síntese de NPs por fungos é um efeito colateral resultante de um mecanismo de defesa do fungo contra agentes tóxicos encontrados no ambiente (Herrera Pérez; Castellano e Ramírez Valdespino, 2024).

Portanto, a miconanotecnologia é reconhecida por seu potencial de produzir nanopartículas com propriedades físico-químicas únicas, tornando-a uma abordagem promissora para futuras aplicações científicas. Embora a miconanotecnologia apresente inúmeras vantagens, é essencial considerar a escalabilidade e os aspectos regulatórios de suas aplicações. A integração da miconanotecnologia nos principais processos industriais requer mais pesquisas para enfrentar esses desafios e garantir sua implementação segura e eficaz (Javed *et al.*, 2023).

2.5. O GÊNERO *TRICHODERMA*

O gênero *Trichoderma* pertence ao Reino Fungi; Filo Ascomycota; Classe Sordariomycetes; Ordem Hypocrales e Família Hypocreaceae. São fungos filamentosos, que vivem em solos de regiões de clima temperado e tropical, sendo amplamente observados em condições saprofíticas em solo ou madeira (Francisco, 2016; Barnett e Hunter, 1998). Nas espécies em que a etapa de reprodução sexual, chamada de *Hypocrea*, é identificada, ocorre a constituição de peritécio, estrutura de frutificação, em estromas de coloração verde, amarela, creme ou marrom (figura 4) esses peritécios abrigam oito ascósporos bicelulares, resultando na produção de 16 esporos.

A etapa de reprodução assexuada, chamada de *Trichoderma*, apresenta conidióforos originados do micélio vegetativo, possuindo um eixo central e ramificações que culminam em estruturas do tipo fiálides, onde são gerados conídios unicelulares, com formato predominantemente esférico, oval ou alongado e com coloração verde (Jaklitsch, 2005). Porém, a partir de 2013, com o aumento da adoção da filogenia molecular para a

categorização de espécies, a utilização da dupla nomenclatura tornou-se desatualizada, e somente o nome *Trichoderma* foi adotado (Rossman *et al.*, 2013).

Trichoderma exibem uma propensão ao crescimento acelerado, evidenciado em meios de cultura, caracterizam-se por conidióforos hialinos definidos, altamente ramificados, com ramos terminais, não verticiliados, e fíalides isoladas ou agrupadas. A forma e o tamanho dos conídios podem variar, exibindo colorações que vão de verde a amarelo ou verdeamarelado, com uma tendência a se acumular em aglomerados globulares (Esposito e Silva, 1998; Samuels, 1996).

Segundo pesquisas realizadas por Meyre *et al.* (2019), os isolados de *Trichoderma* podem ser facilmente identificados através do seu micélio branco, de textura algodonosa e crescimento rápido em meios de cultura. A faixa de temperatura ótima para o seu desenvolvimento varia de 25°C a 30°C na maioria das espécies. Após apenas 48 horas de cultivo, é possível observar a formação de pústulas ou círculos verdes, resultantes da produção abundante de esporos subhialinos. Esses esporos, quando reunidos em massa, adquirem uma tonalidade verde, conferindo à colônia uma aparência granular ou pulverulenta.

O gênero *Trichoderma* engloba fungos filamentosos que segundo dados da Agrotech (2020), são encontrados na rizosfera das plantas e na fração orgânica em decomposição. Espécies do gênero *Trichoderma* são fungos cosmopolitas e tipicamente transmitidos pelo solo ou que decompõem a madeira (Samuels 1996, Esposito e Silva 1998). Até 2020, cerca de 375 espécies de *Trichoderma* foram relatadas e validadas, sendo consideradas benéficas para a humanidade, devido a sua versatilidade, para serem utilizadas na agricultura, como agentes de biocontrole, na biotecnologia, para a produção de enzimas industriais e antibióticos, na biorremediação e, recentemente na nanotecnologia (Kubicek e Penttilä 1998; Kullnig-Gradinger *et al.*, 2002).

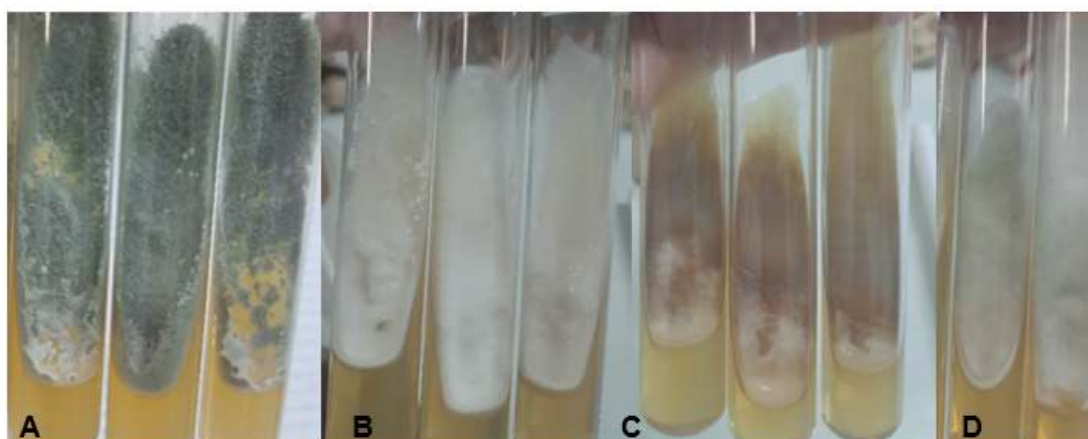
Sendo assim, *Trichoderma* são geralmente abundantes na madeira em decomposição e no solo devido ao seu sucesso em várias interações heterotróficas, incluindo decomposição, parasitismo e até mesmo endofitismo oportunista. Muitas espécies de *Trichoderma* têm várias aplicações importantes na indústria e na vida humana, além de agentes de controle biológico de fungos fitopatogênicos e como produtoras de antibióticos (Druzhinina; Kopchinskiy e Kubicek 2006). Logo, há relatos na literatura da utilização desse gênero para mediar a produção de diversas nanopartículas metálicas, como Ag, Cu, CuO, Zn e ZnO (Herrera Pérez; Castellano e Ramírez Valdespino, 2024).

No estudo de Gemishev *et al.* 2022 o extrato aquoso livre de células (CFE) de *Trichoderma reesei* foi usado como uma fonte verde e renovável de enzimas redutase e metabólitos, que foram capazes de transformar íons Ag⁺ em AgNPs monodispersa, com um tamanho de 2–6 nm e efeito antibacteriano diante uma cepa de *E.coli*. Segundo

relatos da literatura, os principais metabólitos secundários envolvidos na síntese de AgNPs mediada por *Trichoderma* são alceno, alceno, amina, amida e compostos de ácido orgânico (Gupta *et al.*, 2019; Konappa *et al.*, 2021; Omran *et al.*, 2019; Hirpara e Gajera., 2019).

Neste viés, destaca-se as aplicações ambientais e biomédicas de NPs sintetizadas por *Trichoderma*, como na biorremediação de ambientes contaminados e na agricultura sustentável, aumentando o crescimento de plantas resistentes a doenças (Tomah *et al.*, 2023). Já dentre as aplicações biomédicas, há relatos do seu uso na cicatrização de feridas, na administração de medicamentos, e como agentes antimicrobianos, com grande destaque para seu potencial antibacteriano contra patógenos (Herrera Pérez; Castellano; Ramírez Valdespino, 2024; Coelho, 2020).

Figura 4- Diversidade na coloração dos cultivos de *Trichoderma* spp. após 7 dias em meio de cultura BDA a 30°C.



A: *T. longibrachiatum* UFPIT02; B: *Trichoderma* sp. UFPIT08; C: *Trichoderma* sp. UFPIT06; D: *Trichoderma* sp. UFPIT05.

Fonte: A autora (2023).

2.6. ECÓTONO CERRADO-CAATINGA PIAUIENSE

Ecótonos são ecossistemas localizados na transição entre dois biomas, onde as comunidades se encontram e se integram (Araújo *et al.*, 2021). Essas regiões são frequentemente caracterizadas por uma combinação florística entrelaçada de espécies vegetativas. Contudo, para além de uma simples mistura na composição, um ecossistema de ecótono pode apresentar traços físicos e químicos específicos que chegam a interferir numa nova propriedade biológica, tal como nas ciclagens de materiais e nos fluxos de energias. Além disso, esses ambientes podem abrigar espécies endêmicas, sensíveis a alterações ambientais (Milan, Moro; 2016; Souza, 2024).

No Brasil, um dos principais ecótonos encontra-se na interseção entre os biomas Caatinga e Cerrado. Essa área corresponde a cerca de 1,7% do território nacional, concentrando-se principalmente na região Nordeste (WWF, 2017). No estado do Piauí, as zonas de transição atravessam grande parte do território, compondo o maior espaço

fitoecológico da bacia hidrográfica do rio Parnaíba e contribuindo para a diversidade de fitofisionomias do estado (Rivas, 1996).

No estado do Piauí as formações vegetacionais predominantes são a caatinga que abrange 37%, o cerrado com 33% e as áreas de transição ocupando 19% (Oliveira, *et al.*, 1997). Logo, os ecótonos formam um complexo vegetal constituído por um grupo florístico significativo, influenciado por plantas do Cerrado (como *Casearia*) e Caatinga (como *Bauhinia*) sob uma configuração de vegetação em mosaico que é influenciada por fatores climáticos e do solo (Silva *et al.*, 2020).

Além disso, uma vez que os ecótonos apresentam propriedades distintas do solo, principalmente parâmetros químicos (Rhoades *et al.*, 2005), o gradiente Cerrado-Caatinga do Piauí possui alta heterogeneidade do solo, com características físico-química bem distintas, favorecendo comunidades microbiológicas diversas (Silva *et al.*, 2020). Esses microrganismos desempenham funções essenciais, como a decomposição de matéria orgânica, a ciclagem de nutrientes e processos biogeoquímicos, além de contribuírem para a estabilidade e produtividade do ecossistema (Mendes *et al.*, 2017; Miranda *et al.*, 2018).

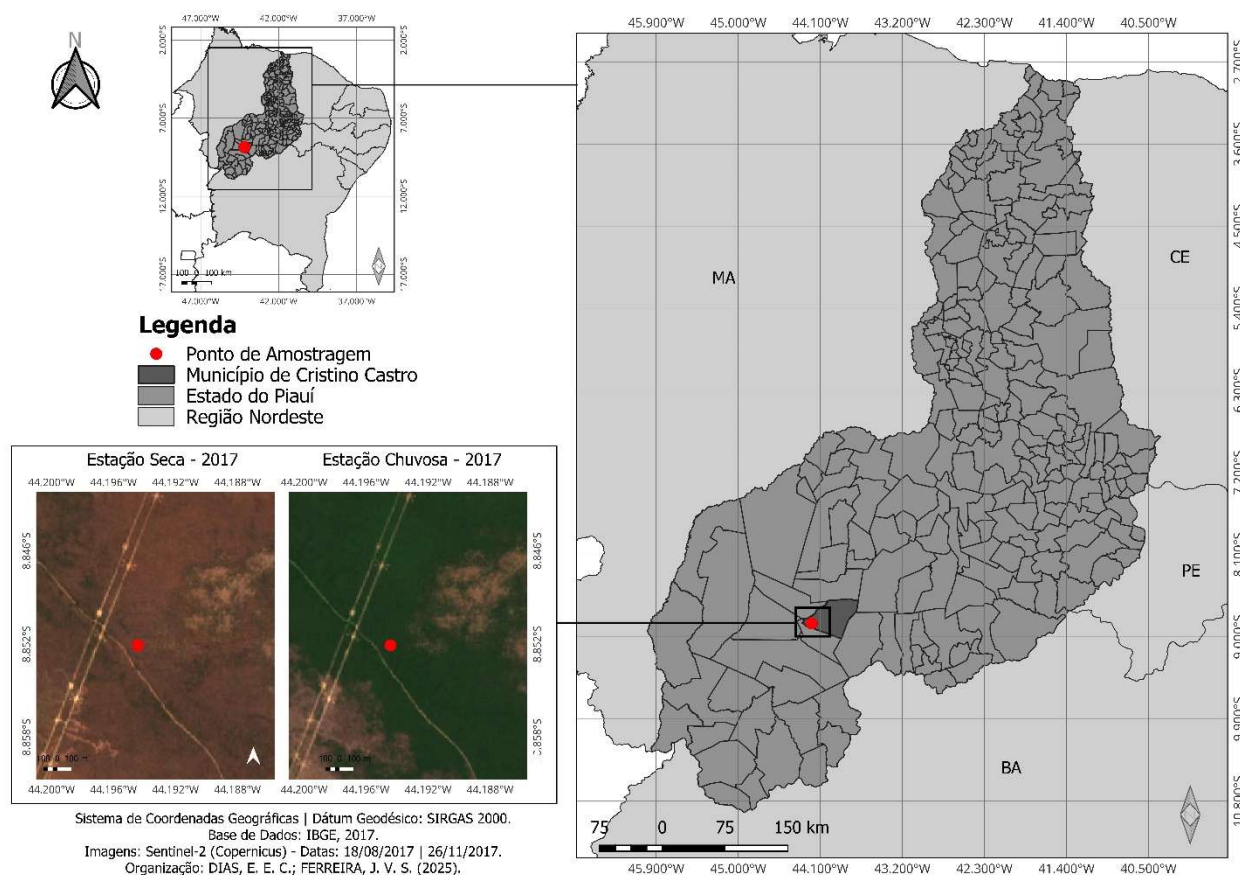
A biodiversidade única do ecótono Cerrado-Caatinga no Piauí é uma fonte promissora para o desenvolvimento de novos bioprodutos. Entretanto, a maioria dos estudos sobre a biodiversidade desses ecossistemas estão concentrados em plantas (Lenza *et al.*, 2015), animais (Pinheiro *et al.*, 2015) e insetos (Coelho *et al.*, 2017). Todavia, a integração da biodiversidade com a biotecnologia pode levar a produtos inovadores, pois pesquisas indicam que apenas uma fração das espécies do Cerrado foi explorada por seu potencial biotecnológico (Napolitano *et al.*, 2016).

Por exemplo, no estudo de Dantas *et al.* (2021) fungos endofíticos de plantas do Cerrado exibem alta diversidade química, produzindo novos metabólitos com propriedades antifúngicas e antibacteriana, visto que extratos do gênero *Diaporthe* demonstraram atividade contra patógenos como *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*, indicando seu potencial no controle biológico. De maneira semelhante, Bezerra *et al.* (2012) destacaram a riqueza de fungos endofíticos da Caatinga com potencial enzimático promissor para pectinases, celulasas, xilanases e proteases.

Portanto, os microrganismos presentes na transição Cerrado-Caatinga apresentam um grande potencial biotecnológico, com destaque para aplicações nas áreas farmacêutica e agrícola. França Silva *et al.* (2020) investigaram o potencial de 19 isolados de *Trichoderma spp.* oriundos desse ecótono no estado do Piauí (Figura 3) para o controle do fungo *Colletotrichum truncatum* em culturas de soja, obtendo resultados promissores. Esses isolados, provenientes de fragmentos florestais nativos, demonstraram eficácia como agentes de controle biológico. Assim, oito desses isolados de *Trichoderma spp.* foram disponibilizados para o presente estudo, com o objetivo de

explorar suas capacidades na biossíntese de nanopartículas de prata (AgNPs) com aplicações biológicas diversas.

Figura 5 – Localização do ponto de coleta dos *Trichoderma* spp. no ecótono Cerrado-Caatinga piauiense.



Fonte: A autora (2025).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Sintetizar nanopartículas de prata (AgNps) por fungos filamentosos da região de um ecótono Caatinga-Cerrado, visando à sua utilização na indústria farmacêutica.

3.2. Objetivos específicos

- Selecionar a linhagem fúngica que tenha capacidade de biossintetizar nanopartículas de prata (AgNPs);
- Caracterizar quanto forma, tamanho, carga e estrutura as nanopartículas de prata (AgNPs);
- Verificar a toxicidade das nanopartículas de prata (AgNPs) *in vitro*;
- Investigar as atividades biológicas das nanopartículas de prata (AgNPs): antimicrobiana, antibiofilme e anticâncer.

4. REFERÊNCIAS

- AGROTECH. **Trichoderma: tudo sobre o fungo que ajuda no controle biológico de doenças**. 2020. Disponível em: <<https://tecnologianocampo.com.br/trichoderma/>>. Acesso em: 30 out. 2024.
- AHMED, S. *et al.* A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. **Journal of advanced research**, v. 7, n. 1, p. 17-28, 2016.
- ALGAMMAL, A. *et al.* Emerging multidrug-resistant bacterial pathogens “superbugs”: a rising public health threat. **Frontiers in microbiology**, v. 14, p. 1135614, 2023.
- ALHARBI, Njud S.; ALSUBHI, Nehad S.; FELIMBAN, Afnan I. Green synthesis of silver nanoparticles using medicinal plants: Characterization and application. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v. 15, n. 3, p. 109-124, 2022.
- AMEEN, F; MAJRASHI, N. Recent trends in the use of cobalt ferrite nanoparticles as an antimicrobial agent for disability infections: a review. **Inorganic Chemistry Communications**, p. 111187, 2023.
- ARAÚJO, A. S. F. *et al.* Distinct taxonomic composition of soil bacterial community across a native gradient of Cerrado-Ecotone-Caatinga. **Applied Soil Ecology**, v. 161, p. 103874, 2021.
- BARNETT, Horace Leslie; HUNTER, Barry B. Illustrated genera of imperfect fungi. The American phytopathological society. **US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington State University, Pullman. APS Press. USA. St. Paul, Minnesota USA. 218p**, 1998.
- Base de Dados em formato shapefile. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Bases Cartográficas. Rio de Janeiro: IBGE, 2017. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/geociencias/downloads-geociencias.html>. Acesso em: 18 de janeiro de 2025.
- BECEIRO, A; TOMÁS, M; BOU, G. Antimicrobial resistance and virulence: a successful or deleterious association in the bacterial world?. **Clinical microbiology reviews**, v. 26, n. 2, p. 185-230, 2013.
- BEZERRA, J. D. P. *et al.* Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill.(Cactaceae) and preliminary screening for enzyme production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p. 1989-1995, 2012.
- BINDHU, M. R.; UMADEVI, M. Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver nanoparticles. **Spectrochimica acta part A: molecular and biomolecular spectroscopy**, v. 135, p. 373-378, 2015.
- BISWAS, A. *et al.* Biosynthesis of silver nanoparticles using *Selaginella bryopteris* plant extracts and studies of their antimicrobial and photocatalytic activities. **Journal of Bionanoscience**, v. 12, n. 2, p. 227-232, 2018.
- BLAIR, J. M. A. *et al.* Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature reviews microbiology**, v. 13, n. 1, p. 42-51, 2015.

BOURNE, R. R. A. *et al.* Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019, 2023.

CADIOLI, L.P; SALLA, L.D. Nanotecnologia: um estudo sobre seu histórico, definição e principais aplicações desta inovadora tecnologia. **Revista de Ciências exatas e tecnologia**, v. 1, n. 1, p. 98-105, 2006.

CHOUDHARY, Sunita *et al.* Phyco-synthesis of silver nanoparticles by environmentally safe approach and their applications. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 9568, 2024.

COELHO, Kelven Wladie dos Santos Almeida. **Atividade antibacteriana de nanopartículas de prata de *Trichoderma* sobre *Aeromonas spp.* provenientes de piscicultura**. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2020.

COELHO, Marcel S. *et al.* Gallin insects of the Brazilian Páramos: species richness and composition along high-altitude grasslands. **Environmental Entomology**, v. 46, n. 6, p. 1243-1253, 2017.

DANTAS, S. B. S; ALVES, F. A. M; CHAPLA, V. M. Chemical, diversity and biotechnological potential of endophytic fungi isolated from Brazilian Cerrado plants. **Biota Neotropica**, v. 21, p. e20201069, 2021.

D'COSTA, V. M. *et al.* Antibiotic resistance is ancient. **Nature**, v. 477, n. 7365, p. 457-461, 2011.

DE KRAKER, M.E.A; STEWARDSON, A. J.; HARBARTH, S. Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050?. **PLoS medicine**, v. 13, n. 11, p. e1002184, 2016.

DELABONA, P. S. *et al.* The impact of putative methyltransferase overexpression on the *Trichoderma harzianum* cellulolytic system for biomass conversion. **Bioresource Technology**, v. 313, p. 1-7, 2020.

DEVATHA, Chella Purushothaman; THALLA, Arun K. Green synthesis of nanomaterials. In: **Synthesis of inorganic nanomaterials**. Woodhead Publishing, 2018. p. 169-184.

DIAB, R. *et al.* Insights in nanoparticle-bacterium interactions: new frontiers to bypass bacterial resistance to antibiotics. **Current pharmaceutical design**, v. 21, n. 28, p. 4095-4105, 2015.

DIMER, Frantiescoli A. *et al.* Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos. **Química Nova**, v. 36, p. 1520-1526, 2013.

DONG, Yan *et al.* Gl yap1 regulates pneumocandin B 0 synthesis by controlling the intracellular redox balance in *Glarea lozoyensis*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, p. 6707-6718, 2021.

DOS SANTOS, M.S *et al.* Bionanotechnology and its applications: The plurality of science is fundamental for the search for solutions. **Plant Nano Biology**, v. 7, p. 100060, 2024.

DRUZHININA, Irina S.; KOPCHINSKIY, Alex G.; KUBICEK, Christian P. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. **Mycoscience**, v. 47, n. 2, p. 55-64, 2006.

DURÁN, N. *et al.* Uso potencial de nanopartículas de prata em bactérias patogênicas, sua toxicidade e possíveis mecanismos de ação. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 6, p. 949-959, 2010.

EFSA PANEL ON BIOLOGICAL HAZARDS (BIOHAZ) *et al.* Role played by the environment in the emergence and spread of antimicrobial resistance (AMR) through the food chain. **Efsa Journal**, v. 19, n. 6, p. e06651, 2021.

ELSAKHAWY, Tamer *et al.* Green synthesis of nanoparticles by mushrooms: a crucial dimension for sustainable soil management. **Sustainability**, v. 14, n. 7, p. 4328, 2022.
EL SAYED, Manal T.; EL-SAYED, Ashraf SA. Biocidal activity of metal nanoparticles synthesized by *Fusarium solani* against multidrug-resistant bacteria and mycotoxigenic fungi. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 2, p. 226, 2019.

EL-SEEDI, Hesham R. *et al.* Updated Review of Metal Nanoparticles Fabricated by Green Chemistry Using Natural Extracts: Biosynthesis, Mechanisms, and Applications. **Bioengineering**, v. 11, n. 11, p. 1095, 2024.

ELWAKIEL, N. *et al.* Synthesis, characterization of Ag⁺ and Sn²⁺ complexes and their applications to improve the biologic and mechanical properties of denture base materials. **Journal of Molecular Structure**, v. 1219, p. 1-9, 2020.

ESPOSITO, Elisa; SILVA, Manuela da. Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. **Critical reviews in microbiology**, v. 24, n. 2, p. 89-98, 1998.

EUROPEAN SPACE AGENCY (ESA). Sentinel Hub. Imagem de satélite Sentinel-2A, adquirida em 21 jan. 2025. Disponível em: <https://browser.dataspace.copernicus.eu/>. Acesso em: 21 jan. 2025.

FRANÇA SILVA, H. *et al.* Bioprospection of *Trichoderma* spp. originating from a Cerrado-Caatinga ecotone on *Colletotrichum truncatum*, in soybean. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 15, n. 1, 2020.

FRANCISCO, Michele Rodrigues. **Seleção e Identificação de *Trichoderma* spp. e Potencial para Produção de Enzimas Industriais**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2016.

FLEMING, A. On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. **British journal of experimental pathology**, v. 10, n. 3, p. 226, 1929.

GEMECHU, G. W. Antibiotics Production from Fungi. **Adv Biotechnol Microbiol**, v.18, n.2, p.1-4, 2024.

GEMISHEV, O. *et al.* Green synthesis of stable spherical monodisperse silver nanoparticles using a cell-free extract of *Trichoderma reesei*. **Materials**, v. 15, n. 2, p. 481, 2022.

GHOLAMI-SHABANI, Mohammadhassan *et al.* Physicochemical properties, anticancer and antimicrobial activities of metallic nanoparticles green synthesized by *Aspergillus kambarensis*. **IET nanobiotechnology**, v. 16, n. 1, p. 1-13, 2022.

GRAND VIEW RESEARCH. **Antibiotic resistance market size, share & trends analysis report by disease (cUTI, CDI), by pathogen, by drug class, by mechanism**

of action, by distribution channel, by region, and segment forecasts, 2024 - 2030.

Disponível em: <<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/antibiotic-resistance-market>>. Acesso em: 9 jan. 2025.

GUENDAY, Cemre *et al.* Ciprofloxacin-loaded polymeric nanoparticles incorporated electrospun fibers for drug delivery in tissue engineering applications. **Drug delivery and translational research**, v. 10, p. 706-720, 2020.

GUILGER-CASAGRANDE, Mariana *et al.* Biosynthesis of silver nanoparticles employing *Trichoderma harzianum* with enzymatic stimulation for the control of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 14351, 2019.

GUPTA, B.; MATHUR, A.; KOUL, A.; SHRIVASTAVA, V. Study on the Extraction and Purification of Metabolites Obtained from *Trichoderma harzianum*. **Asian J. Pharm. Pharmacol**, v. 5, 547–550, 2019.

HANAFY, M.H. Myconanotechnology in veterinary sector: Status quo and future perspectives. **International Journal of Veterinary Science and Medicine**, v. 6, n. 2, p. 270-273, 2018.

HERRERA PÉREZ, G.M.; CASTELLANO, L.E.; RAMÍREZ VALDESPINO, C.A. *Trichoderma* and mycosynthesis of metal nanoparticles: role of their secondary metabolites. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 7, p. 443, 2024.

HIRPARA, D.; GAJERA, H.P. Green Synthesis and Antifungal Mechanism of Silver Nanoparticles Derived from Chitin-Induced Exometabolites of *Trichoderma Interfusant*. **Appl. Organomet. Chem.** 2019, 34, e5407.

HORII, Shumpei *et al.* Detection of Penicillin G produced by *Penicillium chrysogenum* with Raman microspectroscopy and multivariate curve resolution-alternating least-squares methods. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 11, p. 3223-3229, 2020.

HUSSAIN, Imtiyaz *et al.* Green synthesis of nanoparticles and its potential application. **Biotechnology letters**, v. 38, p. 545-560, 2016.

IBARRA, F. Green silver nanoparticles: Synthesis, characterization and applications. **Materials Research Foundations**, v. 169, 2024.

IKRAM, M. *et al.* Novel antimicrobial and antioxidative activity by endophytic *Penicillium roqueforti* and *Trichoderma reesei* isolated from *Solanum surattense*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 41, n. 9, p. 1-11, 2019.

JAKLITSCH, Walter M. *et al.* *Hypocrea voglmayrii* sp. nov. from the Austrian Alps represents a new phylogenetic clade in *Hypocrea/Trichoderma*. **Mycologia**, v. 97, n. 6, p. 1365-1378, 2005.

JAVED, M. R. *et al.* Mycogenesis of nanoparticles and their potential applications. In: **Nanofungicides**. Elsevier, 2024. p. 103-121.

Jl, S. *et al.* The effect of *Trichoderma* biofertilizer on the quality of flowering Chinese cabbage and the soil environment. **Scientia Horticulturae**, v. 262, p. 1-8, 2020.

JOEL, M. J. *et al.* Myconanotechnology: a sustainable means for multiple applications in environment protection. In: **Myconanotechnology and Application of Nanoparticles in Biology**. Academic Press, 2023. p. 119-137.

- KAMAL, Z. *et al.* Red blood cell membrane-camouflaged vancomycin and chlorogenic acid-loaded gelatin nanoparticles against multi-drug resistance infection mice model. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 76, p. 103706, 2022.
- KASHYAP, P. L. *et al.* Myconanotechnology in agriculture: a perspective. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 2, p. 191- 227, 2012.
- KHAMENEH, Bahman *et al.* Breakthroughs in bacterial resistance mechanisms and the potential ways to combat them. **Microbial pathogenesis**, v. 95, p. 32-42, 2016.
- KONAPPA, N. *et al.* Ameliorated Antibacterial and Antioxidant Properties by *Trichoderma harzianum* Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles. **Biomolecules** 2021, 11, 535.
- KAUR, K.; THOMBRE, R. Nanobiotechnology: methods, applications, and future prospects. In: **Nanobiotechnology**. Elsevier, 2021. p. 1-20.
- KUBICEK, C. P.; PENTTILÄ, M. E. Regulation of production of. **Trichoderma And Gliocladium, Volume 2: Enzymes, Biological Control and commercial applications**, v. 2, p. 49, 1998.
- KULLNIG-GRADINGER, Cornelia M.; SZAKACS, George; KUBICEK, Christian P. Phylogeny and evolution of the genus *Trichoderma*: a multigene approach. **Mycological Research**, v. 106, n. 7, p. 757-767, 2002.
- KUMAR, Rakesh; KUMAR, Mohit; LUTHRA, Gaurav. Fundamental approaches and applications of nanotechnology: A mini review. **Materials Today: Proceedings**, 2023.
- LAMMERS, Twan *et al.* Theranostic nanomedicine. **Accounts of chemical research**, v. 44, n. 10, p. 1029-1038, 2011.
- LEE, A. S. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Nature reviews Disease primers**, v. 4, n. 1, p. 1-23, 2018.
- LEE, Chang-Ro *et al.* Strategies to minimize antibiotic resistance. **International journal of environmental research and public health**, v. 10, n. 9, p. 4274-4305, 2013.
- LENZA, E; SANTOS, J. O.; MARACAHIPES-SANTOS, L. Species composition, diversity, and vegetation structure in a gallery forest-cerrado sensu stricto transition zone in eastern Mato Grosso, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 29, p. 327-338, 2015.
- LEVY, S.B.; MARSHALL, B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. **Nature medicine**, v. 10, n. Suppl 12, p. S122-S129, 2004.
- LEWIS, Kim. The science of antibiotic discovery. **Cell**, v. 181, n. 1, p. 29-45, 2020.
- LIU, G; THOMSEN, L.E; OLSEN, J. E. Antimicrobial-induced horizontal transfer of antimicrobial resistance genes in bacteria: A mini-review. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 77, n. 3, p. 556-567, 2022.
- LIU, Y. *et al.* Drug repurposing for next-generation combination therapies against multidrug-resistant bacteria. **Theranostics**, v. 11, n. 10, p. 4910, 2021.
- LOQMAN, Amal *et al.* *Streptomyces thinghirensis* sp. nov. as a promising path for green synthesis of silver nanoparticles: High eradication of multidrug-resistant bacteria and

catalytic activity. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 6, p. 108889, 2022.

MADAKKA, M.; JAYARAJU, N.; RAJESH, N. Mycosynthesis of silver nanoparticles and their characterization. **MethodsX**, v. 5, p. 20-29, 2018.

MAJEED, Shahnaz *et al.* Biochemical synthesis of silver nanoparticles using filamentous fungi *Penicillium decumbens* (MTCC-2494) and its efficacy against A-549 lung cancer cell line. **Chinese journal of natural medicines**, v. 14, n. 8, p. 615-620, 2016.

MARIMUTHU, Sampath *et al.* Evaluation of green synthesized silver nanoparticles against parasites. **Parasitology research**, v. 108, p. 1541-1549, 2011.

MASÍS-RAMOS, S; MELÉNDEZ-NAVARRO, P; MÉNDEZ-RODRÍGUEZ, E. Biotechnological potential of marine fungi in coastal areas of Costa Rica. **Revista Tecnología en Marcha**, v. 34, n. 2, p. 48-59, 2021.

MENDES, L.W. *et al.* Using metagenomics to connect microbial community biodiversity and functions. **Curr. Issues Mol. Biol**, v.24, p.103-118, 2017.

MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. DA. **Trichoderma: Uso na agricultura**. Brasília: Embrapa, 2019

MILAN, E; MORO, R, S. O conceito biogeográfico de ecótono. **Terra Plural**, v. 10, n. 1, p. 75-88, 2016.

MIRANDA, A.R.L. *et al.* Responses of soil bacterial community after seventh yearly applications of composted tannery sludge. **Geoderma**, v. 318, p.1-8, 2018.

MISIRLI, G. M; DE CARVALHO, P. B. F; ABRANTES, S. M. P. Nanopartículas de Prata para uso Bactericida: Fatores Extrínsecos e Intrínsecos para Aumento da Estabilidade. **Revista Virtual de Química**, v. 14, n. 5, 2022.

MUKHERJEE, B. *et al.* Preparation, characterization and in-vitro evaluation of sustained release protein-loaded nanoparticles based on biodegradable polymers. **International journal of nanomedicine**, v. 3, n. 4, p. 487-496, 2008.

MOHR, K. I. History of antibiotics research. **How to Overcome the Antibiotic Crisis: Facts, Challenges, Technologies and Future Perspectives**, p. 237-272, 2016.

NAPOLITANO, H. B. *et al.* Inovação e Biotecnologia na Biodiversidade do Cerrado. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 5, p.162, 2016.

NADEEM, S. F. *et al.* Antimicrobial resistance: more than 70 years of war between humans and bacteria. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 46, n. 5, p. 578-599, 2020.

NYSTROM, L. *et al.* Avidin–biotin cross-linked microgel multilayers as carriers for antimicrobial peptides. **Biomacromolecules**, v. 19, n. 12, p. 4691-4702, 2018.

OLIVEIRA, M. E. A. *et al.* Flora e fitossociologia de uma área de transição carrasco-caatinga de areia em Padre Marcos, Piauí. **Naturalia**, n. 22, p. 131- 150, 1997.

OLVERA-ARIPEZ, Jacqueline. *et al.* Biosynthesis of gold nanoparticles by fungi and its potential in SERS. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 47, n. 9, p. 1585-1593, 2024.

- OMRAN, B.A. *et al.* Physiochemical Properties of *Trichoderma longibrachiatum* DSMZ 16517-Synthesized Silver Nanoparticles for the Mitigation of Halotolerant Sulphate-Reducing Bacteria. **J. Appl. Microbiol**, v. 126, p.138–154, 2019.
- OWAID, M. N; IBRAHEEM, I. J. Mycosynthesis of nanoparticles using edible and medicinal mushrooms. **European Journal of Nanomedicine**, v. 9, n. 1, p. 5-23, 2017.
- PARDO, S. N. Frosi *et al.* Avaliação do potencial biotecnológico de fungos endofíticos. **Braz J Dev**, v. 8, n. 5, p. 33120-40, 2022.
- PATHAK, Jainendra. *et al.* Bionanotechnology of cyanobacterial bioactive compounds. In: **Natural Bioactive Compounds**. Academic Press, 2021. p. 115-142.
- PINHEIRO, L.C. *et al.* Composition and ecological patterns of snake assemblages in an Amazon-Cerrado Transition Zone in Brazil. **Iheringia. S. Zool**, v. 105, p.147–156, 2015.
- PRABHU, N. *et al.* Myconanotechnology in agricultural and veterinary sector. In: **Myconanotechnology and Application of Nanoparticles in Biology**. Academic Press, 2023. p. 35-53.
- PULINGAM, T. *et al.* Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 170, p. 106103, 2022.
- QAIS, F. A. *et al.* Antibacterial effect of silver nanoparticles synthesized using *Murraya koenigii* (L.) against multidrug-resistant pathogens. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v. 2019, p.1-11, 2019.
- QUINTEROS, M. A. *et al.* Silver nanoparticles: biosynthesis using an ATCC reference strain of *Pseudomonas aeruginosa* and activity as broad spectrum clinical antibacterial agents. **International journal of biomaterials**, v. 2016, n. 1, p. 5971047, 2016.
- RAILEAN-PLUGARU, V. *et al.* Study of silver nanoparticles synthesized by acidophilic strain of Actinobacteria isolated from the of *Picea sitchensis* forest soil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 120, n. 5, p. 1250-1263, 2016.
- RAJESHKUMAR, S. *et al.* Anticancer and enhanced antimicrobial activity of biosynthesized silver nanoparticles against clinical pathogens. **Journal of molecular structure**, v. 1116, p. 165-173, 2016.
- RAMI, M. R; MESKINI, M; SHARAFABAD, B.E. Fungal-mediated nanoparticles for industrial applications: synthesis and mechanism of action. **Journal of Infection and Public Health**, v. 17, n. 10, p. 102536, 2024.
- RĂUT, I. *et al.* Extracellular Biosynthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles Synthesized by Filamentous Fungi. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 11, p. 798, 2024.
- REVATHI, S. *et al.* Green synthesis and characterization of silver nanoparticles (AgNP) using *Acacia nilotica* plant extract and their anti-bacterial activity. **Food Chemistry Advances**, v. 4, p. 100680, 2024.
- RIVAS, M. P. Macrozoneamento geoambiental da bacia hidrográfica do rio Parnaíba. **Rio de Janeiro: IBGE**, 1996.

RHOADES, C.C., MILLER, S.P., SKINNER, D.L. Forest vegetation and soil patterns across glade-forest ecotones in the Knobs region of northeastern Kentucky, USA. **Am. Midl. Nat.**, v. 154, p. 1–11, 2005.

ROSSMAN, Amy Y. *et al.* Genera in Bionectriaceae, Hypocreaceae, and Nectriaceae (Hypocreales) proposed for acceptance or rejection. **IMA fungus**, v. 4, p. 41-51, 2013.

ROY, Lakshmishri; BERA, Debabrata; ADAK, Sunita. Mycosynthesized nanoparticles: role in food processing industries. **Fungal Nanobionics: Principles and Applications**, p. 287-316, 2018.

SALEM, S.; FOUDA, Amr. Green synthesis of metallic nanoparticles and their prospective biotechnological applications: an overview. **Biological trace element research**, v. 199, n. 1, p. 344-370, 2021.

SAMUELS, Gary J. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. **Mycological research**, v. 100, n. 8, p. 923-935, 1996.

SIDDIQI, K.S; HUSEN, A; RAO, R. A. K. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. **Journal of nanobiotechnology**, v. 16, p. 1-28, 2018.

SILVA, D.F.M. *et al.* Flora de uma área de cerrado ecotonal da região setentrional do Piauí. **Revista Geográfica Acadêmica**, v. 14, n. 1, p. 16-29, 2020.

SILVA-RODRIGUES, Gislaine. *et al.* Visão Geral Sobre os Produtos Naturais e suas Aplicações: Uma Revisão. **Revista CPAQV-Centro de Pesquisas Avançadas em Qualidade de Vida**, v. 16, n. 1, 2024.

SINGH, B. *et al.* Green Synthesis of Silver Nanoparticles (AgNPs) using dry Biomass of Green Alga *Chlorella Ellipsoidea* and their Photophysical, catalytic and Antibacterial Activity. **Journal of advances and scholarly research in allied education**, v. 21, n3), p. 69-75, 2024.

SINGH, R, *et al.* Bacteriogenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 99, n.11, p.4579–4593, 2015.

SHAHCHERAGHI, Nikta *et al.* Nano-biotechnology, an applicable approach for sustainable future. **3 Biotech**, v. 12, n. 3, p. 65, 2022.

SHARMA, Monika; SHARMA, Rohit. Drugs and drug intermediates from fungi: striving for greener processes. **Critical reviews in microbiology**, v. 42, n. 2, p. 322-338, 2016.

SOUZA, Thiago Batista de. **Pelos chãos do ecótono Cerrado–Caatinga: os modos de vida camponês e a salvaguarda da socioagrobiodiversidade no Sudoeste do Piauí**. 2024. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Desenvolvimento Rural) – Universidade de Brasília, Planaltina-DF, 2024.

TOMAH, A. A *et al.* The potential of *Trichoderma*-mediated nanotechnology application in sustainable development scopes. **Nanomaterials**, v. 13, n. 17, p. 2475, 2023.

TYAGI, Swati *et al.* Myconanotechnologies: an approach towards sustainable agriculture. In: **Myconanotechnology and Application of Nanoparticles in Biology**. Academic Press, 2023. p. 139-157.

- UDDANDARAO, Priyanka *et al.* Bioinspired ZnS: Gd nanoparticles synthesized from an endophytic fungi *Aspergillus flavus* for fluorescence-based metal detection. **Biomimetics**, v. 4, n. 1, p. 11, 2019.
- VANLALVENI, C. *et al.* A review of microbes mediated biosynthesis of silver nanoparticles and their enhanced antimicrobial activities. **Heliyon**, v. 10, n. 11, 2024.
- VARADAN, V. K. *et al.* **Nanoscience and nanotechnology in engineering**. World Scientific Publishing Company, 2010.
- VASILCHENKO, Alexey S. *et al.* Exploring the antibacterial action of gliotoxin: Does it induce oxidative stress or protein damage?. **Biochimie**, v. 214, p. 86-95, 2023.
- VELUSAMY, P. *et al.* Greener approach for synthesis of antibacterial silver nanoparticles using aqueous solution of neem gum (*Azadirachta indica* L.). **Industrial crops and products**, v. 66, p. 103-109, 2015.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* **Antimicrobial resistance: global report on surveillance**. World Health Organization, 2014.
- WRIGHT, G. D. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. **Advanced drug delivery reviews**, v. 57, n. 10, p. 1451-1470, 2005.
- WRIGHT, G. D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. **Nature reviews microbiology**, v. 5, n. 3, p. 175-186, 2007.
- WWF. **World Wide Fund for Nature**. Disponível em: <http://www.wwf.org.br/natureza_brasileira/questoes_ambientais/biomas/bioma_transicao/>. Acesso em: 30 out. 2024.
- YARI, Tahereh *et al.* Potential application of *Aspergillus terreus*, as a biofactory, in extracellular fabrication of silver nanoparticles. **Fuel**, v. 308, p. 122007, 2022.
- YASSIN, Mohamed A. *et al.* Biosynthesis of silver nanoparticles using *Penicillium verrucosum* and analysis of their antifungal activity. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 4, p. 2123-2127, 2021.
- ZAWADZKA, Katarzyna *et al.* Antimicrobial activity and toxicological risk assessment of silver nanoparticles synthesized using an eco-friendly method with *Gloeophyllum striatum*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 418, p. 126316, 2021.
- ZHANG, F; CHENG, W. The mechanism of bacterial resistance and potential bacteriostatic strategies. **Antibiotics**, v. 11, n. 9, p. 1215, 2022.

CAPÍTULO I: Potencial Antibacteriano, Antibiofilme e Anticancerígeno de Nanopartículas de Prata Biossintetizadas por *Trichoderma orientale*: Uma Abordagem de Síntese Verde a partir de Isolados do Ecótono Caatinga-Cerrado.

RESUMO

Fungos do gênero *Trichoderma* possuem amplo potencial de aplicação, especialmente na área agrícola, o que tem despertado o interesse científico para seu uso na síntese verde de nanopartículas. Neste estudo, nanopartículas de prata (AgNPs) foram ecologicamente biossintetizadas a partir de extratos celulares de oito linhagens de *Trichoderma* e caracterizadas por espectrofotometria UV-Vis, potencial Zeta, DLS e TEM. Entre as linhagens avaliadas, *T. orientale* UFPIT09 destacou-se por produzir AgNPs estáveis e monodispersas, com pico de ressonância plasmônica em 425 nm. A composição do meio de pré-inóculo e a temperatura influenciaram diretamente a estabilidade, o tamanho e a dispersão das partículas. Após 120 horas de síntese, as AgNPs apresentaram potencial Zeta de -38,9 mV, tamanho médio de 199 nm e PDI de 0,27. Imagens de TEM revelaram partículas esféricas com cerca de 20 nm, e a análise FTIR identificou componentes do extrato fúngico envolvidos na formação e estabilização das AgNPs. As nanopartículas demonstraram atividade antibacteriana contra 12 linhagens, incluindo cepas clínicas multirresistentes, com halos de inibição entre 5 e 14 mm, além de capacidade de erradicação de biofilmes. Testes de citotoxicidade *in vitro* revelaram atividade anticancerígena dose-dependente contra células de adenocarcinoma mamário humano (MDA-MB-231). Portanto, as AgNPs biossintetizadas por *T. orientale* UFPIT09 representam uma alternativa sustentável com potencial aplicação como agentes antibacterianos, antibiofilme e anticâncer.

1. INTRODUÇÃO

A biossíntese de nanopartículas metálicas, conhecida como síntese verde, tem se destacado como uma abordagem sustentável e eficiente na nanotecnologia, especialmente no desenvolvimento de nanopartículas de prata (AgNPs) com potencial biomédico. Essa técnica utiliza organismos vivos ou seus extratos, como plantas, bactérias e fungos, para reduzir íons metálicos a nanopartículas, eliminando a necessidade de reagentes químicos tóxicos empregados nos métodos convencionais (Isaq *et al.*, 2023; Rahmatian *et al.*, 2023).

Dentre os métodos de síntese, a abordagem *bottom-up*, baseada na auto-organização de átomos ou moléculas, permite a produção de nanopartículas com maior controle morfológico, além de favorecer a biocompatibilidade e estabilidade dos nanossistemas obtidos (Ahmed *et al.*, 2016). Nesse contexto, os fungos filamentosos do gênero *Trichoderma* têm se mostrado especialmente promissores, uma vez que secretam

metabólitos extracelulares capazes de atuar simultaneamente como agentes redutores e estabilizantes, conferindo às AgNPs propriedades únicas (Alkulabi *et al.*, 2024; Rosa *et al.*, 2024).

As AgNPs sintetizadas por fungos vêm sendo amplamente investigadas devido à sua atividade antimicrobiana, inclusive contra cepas multirresistentes, além da capacidade de inibir e erradicar biofilmes bacterianos (Majeed *et al.*, 2016; Sharma *et al.*, 2024). Além disso, essas nanopartículas apresentam efeitos anticâncer, induzindo morte celular programada por mecanismos como estresse oxidativo e interrupção do ciclo celular, o que amplia sua aplicabilidade em terapias antitumorais (Isaq *et al.*, 2023).

A caracterização físico-química das AgNPs é essencial para compreender seu comportamento biológico, técnicas como espectrofotometria UV-visível, espalhamento dinâmico de luz (DLS), potencial zeta e microscopia eletrônica de transmissão (TEM) permitem avaliar parâmetros como tamanho, forma, estabilidade coloidal e grau de dispersão, os quais influenciam diretamente sua eficácia e segurança (Bonatto *et al.*, 2021; Rahmatian *et al.*, 2023).

Diante disso, este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de oito linhagens de *Trichoderma* isoladas do ecótono Caatinga-Cerrado Piauiense na biossíntese de AgNPs, com ênfase na linhagem *Trichoderma orientale* UFPIT09, investigando suas propriedades físico-químicas, além de seu potencial antibacteriano, antibiofilme e anticâncer. Ao unir a diversidade microbiana de um ecossistema único com os avanços da nanotecnologia verde, esta pesquisa visa contribuir para o desenvolvimento de soluções biotecnológicas sustentáveis e inovadoras.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Condições de Cultivo das Linhagens Fúngicas

As oito linhagens fúngicas do gênero *Trichoderma* utilizadas neste estudo foram: *T. longibrachiatum* UFPIT02, *T. koningiopsis* UFPIT03, *Trichoderma* sp. UFPIT04, *Trichoderma* sp. UFPIT05, *Trichoderma* sp. UFPIT06, *Trichoderma* sp. UFPIT08, *T. orientale* UFPIT09 e *T. orientale* UFPIT14. Essas linhagens foram isoladas do ecótono Caatinga-Cerrado piauiense e depositadas na coleção de culturas da Universidade Federal do Piauí (França Silva *et al.*, 2020). Para preservação, foram mantidas em óleo mineral, e sua manutenção foi realizada em meio de cultura Potato Dextrose Ágar (BDA), sendo incubadas em estufa bacteriológica a 30°C por 7 dias.

2.2. Seleção das linhagens fúngicas biosintetizantes de AgNPs

Para a seleção, todas as linhagens de *Trichoderma* sp., descritas acima, foram cultivadas no meio de cultivo BDA a 30°C por 7 dias, e posteriormente transferidas para o meio de produção MS-2 (Porto *et al.*, 1996) em uma concentração celular de 10⁶ esporos/mL e incubadas a 120 rpm, 30°C por 72 horas.

2.3. Síntese verde de AgNPs

Após a incubação a biomassa foi filtrada e lavada duas vezes com água destilada estéril, 10 g da biomassa de cada fungo foram pesadas assepticamente e ressuspensas em 100 mL de água destilada estéril e submetidos à incubação em 120 rpm, 30° C por 96h. Posteriormente, a biomassa foi filtrada em bomba a vácuo e 50 mL do extrato livre de células (CFE) foi usado para síntese de AgNPs acrescidos em 50 mL de 2mM de nitrato de prata e incubados em 200 rpm a 60°C por 24h (Skanda *et al.*, 2022).

2.4. Caracterização das AgNPs por Espectrofotometria do UV-VIS

A biorredução de íons de prata foi monitorada pela mudança de cor de amarelo pálido para marrom, sendo confirmada a formação das AgNPs através da espectroscopia UV-visível avaliando a faixa de 300 a 800 nm (Sanjenbam *et al.*, 2014).

2.5. Análise por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)

As AgNPs foram avaliadas quanto à presença de biomoléculas responsáveis pela biorredução usando a análise espectral por infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) (Vertex 80v, Bruker), no modo de transmitância na faixa de números de 4000-400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} .

2.6. Análise de tamanho de partícula (DLS) e ZETA potencial

O diâmetro hidrodinâmico foi realizado medindo o espalhamento dinâmico de luz com laser de comprimento de onda 633 nm e um ângulo de espalhamento fixo de 173°. O tamanho das partículas foi medido considerando a partícula como esférica. Cada amostra foi medida três vezes para duas amostras replicadas a uma temperatura constante de $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

2.7. Microscopia eletrônica de Transmissão (MET)

Para microscopia eletrônica de transmissão (MET), as amostras foram preparadas pela abordagem drop-casting, onde dispersões de AgNPs foram diluídas em água deionizada e posteriormente depositadas em uma grade de cobre revestida de carbono, seguida de secagem em temperatura ambiente por 1 h, depois disso as imagens foram analisadas a 200 Kv e registradas em um microscópio JEOL JEM 2100 80-200 kV (Tokyo, JAPAN).

3. Atividades biológicas

3.1. Determinação da atividade antibacteriana disco difusão

A investigação do efeito inibitório *in vitro* das soluções coloidais de nanopartículas de prata e seus respectivos filtrados fúngicos foi realizada pelo método de difusão em disco padrão em Ágar Mueller Hinton (MHA) de acordo com os Padrões CLSI (CLSI 2020). Foram utilizadas 12 cepas de bactérias (ATCCs sensíveis e resistentes, e isolados

clínicos multidroga resistentes), conforme descritas na tabela 1 abaixo. Todas as linhagens de isolados clínicos selecionadas apresentaram-se resistentes a diferentes antibióticos, tais quais: amicacina, ampicilina/sulbactam, cefepima, ceftazidima, imipenem, meropenem, ciprofloxacina, benzilpenicilina, tais grupamentos são isolados bacterianos de pacientes do Hospital Otávio de Freitas (Recife-PE) e classificados como multirresistentes por método molecular e antibiograma. A identificação foi feita a partir do sistema automatizado VITEK® 2 em conformação com a ISO 7218. As 13 cepas bacterianas utilizadas estão descritas na tabela abaixo.

As cepas bacterianas foram inoculadas no meio e cultura em Brain Heart Infusion (BHI) e incubadas por 24h a 37°C. Em seguida, a suspensão bacteriana foi diluída em Brain Heart Infusion (BHI) para atingir 10^8 UFC ml⁻¹. Posteriormente, 100 µl das suspensões bacterianas padronizadas foram uniformemente esfregadas em placas contendo MHA. Assim, 10 µl das soluções coloidais de nanopartículas de prata e seus respectivos filtrados fúngicos foram usadas para umedecer os discos de papéis filtros estéreis com 6 mm de diâmetro que foram impregnados nas placas contendo os esfregaços bacterianos conforme pequenas modificações de (Roshan *et al.*, 2024). Discos do antibiótico comercial de amplo espectro Cloranfenicol (30 mcg) foram utilizados como controle positivo. Após nova incubação no tempo de 24h em 37°C os diâmetros das zonas de inibição foram medidos em mm com o auxílio de um paquímetro digital (Akinduti *et al.*, 2022).

Tabela 1 - Bactérias utilizadas no teste de antimicrobiano
Bactérias

<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC - 29212
<i>Escherichia coli</i> ATCC – 25922
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (5t)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (6t)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 5135 (4t)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC - 27852
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC - 27853
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR (8t)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR (9t)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923- MSSA
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33592-MRSA
<i>Staphylococcus aureus</i> MDR (2t)

MSSA (Sensível a meticilina) MRSA (Resistente à meticilina) MDR (multidroga resistente) códigos t (cepas clínicas).

Fonte: A autora (2024).

3.2. Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

Os valores de CIM foram determinados pelo método de microdiluição em caldo. Diluições da solução de nanopartículas foram preparadas em sete concentrações sendo a maior 10 mg/mL e a menor 1,0 mg/mL em uma placa de 96 poços com BHI e inoculadas com as cepas bacterianas que apresentaram halo de inibição na técnica de disco difusão, em uma concentração final de aproximadamente 10^6 UFC/mL. As placas foram incubadas a 37°C por 24h. A CIM foi definida como a menor concentração de nanopartículas que inibiram o crescimento visível das bactérias. Para a avaliação de CBM, alíquotas de poços que não mostraram crescimento bacteriano visível 10 µl foram posteriormente cultivadas em placas de ágar nutriente e incubadas a 37° C por 24 h. A CBM foi observada como a menor concentração de nanopartículas que não resultou em crescimento bacteriano na placa de ágar (Hudaya *et al.*, 2024).

3.3. Produção de biofilme *in vitro*

A capacidade de formar biofilme das cepas bacterianas que foram sensíveis as soluções coloidais de AgNPs foram analisadas segundo a metodologia descrita por Stepanović *et al.* (2000), o teste foi realizado em placas de 96 poços, de fundo plano e estéril foram pipetados 200 µl de cada cultura bacteriana (em triplicata em 10^6 UFC/mL), as placas foram cobertas e incubadas em 37°C por 24h, como controle negativo foi utilizado poços contendo apenas o Caldo Triptona de Soja (TSB). Em seguida, o conteúdo de cada poço foi aspirado e cada poço foi lavado três vezes com 250 mL de cloreto de sódio (0,9%) estéril. As placas foram agitadas para remover todas as bactérias não aderentes e as bactérias aderidas que restaram na placa foram fixadas com 200 µl de metanol (99%) por poço, após 15 min as placas foram esvaziadas e deixadas para secar. Posteriormente, foram adicionados 0,2 mL do corante cristal violeta (2%) por 5 min, o excesso do corante foi retirado colocando as placas sob água corrente da torneira. Após as placas serem secas ao ar, o corante ligado às células aderentes foi ressolubilizado com 160 µl de ácido acético glacial 33% (v/v). A DO de cada poço foi medida em 562 nm foram realizadas duas leituras: (I) antes do ácido acético; (II) após o ácido acético.

A classificação da capacidade de adesão das cepas bacterianas foi realizada de acordo com o método descrito por Christensen *et al.* (1985), conforme as Densidades ópticas (DOs) em que há quatro categorias: não aderente (0) se $DO \leq DOc$, fracamente (1) se $DOc < DO \leq 2 \times DOc$, moderadamente (11) se $2 \times DOc < DO \leq 4 \times DOc$, ou fortemente aderente (111) se $4 \times DOc < DO$, com base nas DOs dos filmes bacterianos.

Quadro 1- Classificação do biofilme bacteriano conforme descrito por Christensen *et al.* (1985).

$DO \leq DOc$ = Não aderente
$DOc < DO \leq 2 \times DOc$ = Fracamente aderente
$2 \times DOc < DO \leq 4 \times DOc$ = Moderadamente aderente
$4 \times DOc < DO$ = Fortemente aderente

Fonte: A autora (2025) adaptado de Stepanović *et al.* (2000).

3.4. Atividade antibiofilme

Foi realizada diante das cepas bacterianas que apresentaram capacidades moderadas ou fortes de formar biofilmes segundo a classificação de Christensen *et al.* (1985), por meio da avaliação da inibição na formação do biofilme bacteriano (MBIC) e da avaliação na erradicação do biofilme já formado (MBEC). Para a determinação da MBIC, as nanopartículas de prata em suas respectivas concentrações inibitórias mínimas e as soluções coloidais brutas foram adicionadas aos inóculos padronizados e incubados em placas de 96 poços, a 37°C por 24h. Posteriormente, a leitura foi realizada usando a técnica de cristal violeta conforme descrita anteriormente de acordo com Stepanović *et al.*, (2000).

Para determinar a MBEC os biofilmes bacterianos foram formados e após 24h os poços foram lavados para a remoção das células e permanência apenas das células aderidas, logo após as AgNPs em suas respectivas soluções coloidais e concentração inibitórias mínimas foram adicionadas às placas, juntamente com meio de cultura e depois de 24h de incubação, a 37°C, realizou-se a leitura utilizando o método do cristal violeta e a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC), conforme Nader *et al.*, (2018).

3.5. Citotoxicidade

Foram utilizadas células de Adenocarcinoma Humano da glândula mamária (MDA-MB-231) obtida do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ). A linhagem MDA foi mantida em meio de cultura L-15 de Leibovitz e F-12 (1:1) com L-glutamina 2 mM, sem bicarbonato de sódio e soro bovino fetal a uma concentração final de 10% com ausência de CO₂. As células foram contabilizadas na câmara de Neubauer para o teste de viabilidade celular.

Um ensaio de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) foi utilizado para determinar a viabilidade celular das nanopartículas de prata de *Trichoderma orientale* UFPIT09 (Mosmann, 1983). As células foram inseridas em placas de 96 poços, a uma densidade de 1×10^4 de células/mL e após 24h de incubação as amostras foram colocadas e incubadas por 24 e 48 horas nas concentrações finais de 6,2; 12,5; 25; 50; 100 e 200 µg/mL. Após o período de exposição, foi adicionado 20µL de solução de MTT (4mg/mL), e as placas foram incubadas durante 2-3h. Posteriormente, o sobrenadante foi removido e 100µL de DMSO (Dimethylsulfoxide) foram adicionados. A

absorbância foi medida em Leitor de Microplaca no comprimento de 570 nm. A citotoxicidade foi expressa em viabilidade celular: (Absorbância da população celular tratada X 100 / Absorbância da população celular não tratada) (Da Silva *et al.*, 2019).

Os resultados da atividade citotóxica foram expressos como as médias das repetições $\pm$ desvio padrão. Para análise de variância (ANOVA) foi realizado o teste de Bonferroni para comparações múltiplas. Um valor de $*p < 0,05$ foi adotado como nível de significância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Seleção das linhagens fúngicas biosintetizantes de Nanopartículas de Prata (AgNPs).

A biorredução de íons de prata, que resulta na formação de AgNPs, é caracterizada pela mudança de cor de amarelo pálido para marrom (Răut *et al.*, 2024), das oito linhagens fúngicas testadas, duas apresentaram essa alteração de coloração: *Trichoderma sp.* UFPIT08 e *Trichoderma orientale* UFPIT09. Ambas foram capazes de sintetizar AgNPs em apenas 24 horas, evidenciado pela mudança de coloração (Figura 1) e pelos picos de Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR), observados em 400 nm e 425 nm, respectivamente (figura 2), conforme demonstrado na Tabela 2.

Figura 1 - Resultado após 24h de síntese de AgNPs, em 200 rpm a 60°C utilizando o extrato celular livre de células (CFE) de oito linhagens de *Trichoderma*.



Fonte: A autora (2023).

Tabela 2- Resultado da síntese de AgNPs por linhagem fúngica testada.

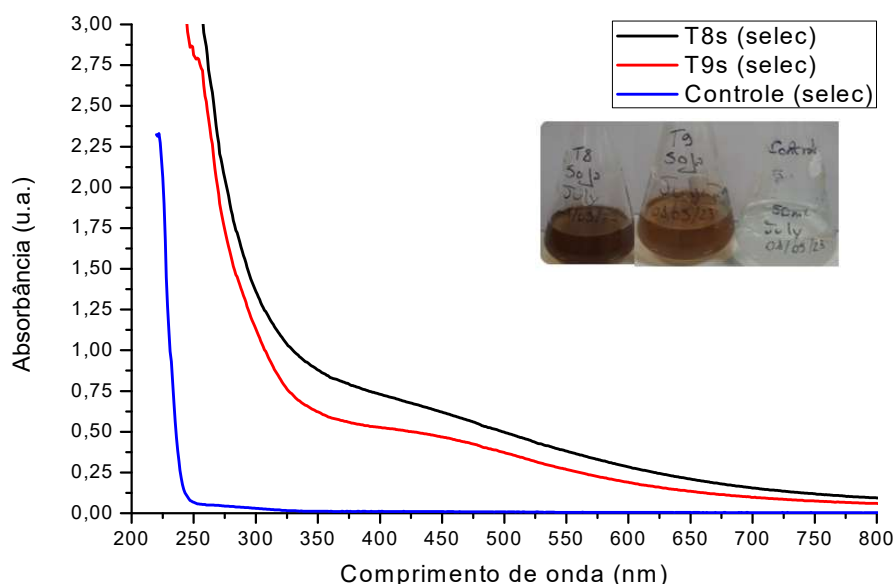
Espécies	Síntese
<i>T. longibrachiatum</i> UFPIT02	-
<i>T. Koningiopsis</i> UFPIT03	+
<i>Trichoderma sp.</i> UFPIT04	-
<i>Trichoderma sp.</i> UFPIT05	+
<i>Trichoderma sp.</i> UFPIT06	+

<i>Trichoderma sp.</i> UFPIT08	+++
<i>T. orientale</i> UFPIT09	++
<i>T. orientale</i> UFPIT14	+

(-) nenhuma alteração na coloração em relação ao controle; (+) pequena alteração na coloração; (++) moderada alteração da coloração e (+++) intensa alteração da coloração.

Fonte: A autora (2023).

Figura 2 - Gráfico da caracterização por Espectroscopia do UV-Vísivel (UV-VIS).



Fonte: A autora (2023).

A diferença na SPR das AgNPs oriundas da síntese biológica pode ser devida às vibrações mútuas da ressonância dos elétrons livres com a luz, que é influenciada por diversos parâmetros (Raja *et al.*, 2017). Resultado semelhante ao nosso foi encontrado por Kobashigawa *et al.* (2023) que ao realizar a micosíntese de AgNPs utilizando cepas psicotróficas de *Tulasnella albida*, com 7 dias de síntese, obteve pico de SPR na faixa de 400 e 430 nm, sendo característico do metal Ag.

No estudo de Gemishev *et al* (2022) foi utilizado o extrato enzimático (CFE) do fungo *Trichoderma reesei* e com 72h de síntese de AgNPs, constatou-se que a intensidade do pico, cujo máximo foi de 438 nm, aumenta com a temperatura, se tornando mais evidente na amostra cuja síntese foi obtida a 40°C. Assim, os autores concluíram que há uma dependência de temperatura mais elevada para a formação de AgNPs.

Considerando a síntese micogênica utilizando o CFE de *Trichoderma sp.* UFPIT08 e *Trichoderma orientale* UFPIT09 apresentou a coloração característica das AgNPs e que a confirmação foi evidenciada pelos picos de SPR obtidos por espectroscopia UV-visível (Figura 2), optou-se por realizar os estudos de otimização e caracterização apenas com essas duas linhagens.

Dessa forma, o tamanho médio das partículas e a estabilidade das AgNPs biossintetizadas foram estimados por um analisador de tamanho de partículas. A análise dinâmica de espalhamento de luz (DLS) prevê o tamanho das partículas em soluções

coloidais de acordo com a interação entre a luz e as nanopartículas, enquanto sua estabilidade é detectada com base na carga superficial das partículas, medida pela análise do potencial zeta (Bonatto *et al.*, 2021).

Assim, o potencial zeta para as AgNPs sintetizadas pelo *Trichoderma sp.* UFPIT08 foi de -29 mV e de -27,5 mV para o *Trichoderma orientale* UFPIT09, sendo consideradas de estabilidade moderada, podendo se agregarem com o tempo (Silva, 2019). A análise do DLS revelou que as AgNPs do *Trichoderma sp.* UFPIT08 possuem um tamanho médio de 167,6 nm e as do *Trichoderma orientale* UFPIT09 170,1 nm.

No entanto, o tamanho determinado pela análise DLS é geralmente maior que o tamanho relacionado calculado a partir de SEM/TEM, uma vez que o DLS reflete o tamanho hidrodinâmico. Em seu estudo Loqman *et al.* (2022) ressaltou que o tamanho das partículas dos AgNPs foi maior quando utilizada a técnica DLS em relação às imagens obtidas na Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). Todavia, a aglomeração das nanopartículas ou a baixa dispersão das mesmas aumentam dramaticamente o valor médio do DLS, e, portanto, geralmente contradizem os resultados do SEM/TEM (Ceylan *et al.*, 2021).

Porém, no presente estudo o índice de polidispersidade (PDI), para as AgNPs sintetizadas pelo *Trichoderma sp.* UFPIT08 foi de 0,192 e para as AgNPs do *Trichoderma orientale* UFPIT09 foi de 0,308, indicando que as nanopartículas são altamente monodispersas, ou seja, possuem tamanhos uniformes.

4.2. Caracterização das AgNPs por: Espectrofotometria do UV-VIS, Análise de tamanho de partícula (DLS) e ZETA potencial

Os resultados da caracterização das AgNPs, obtidas a partir do CFE do *Trichoderma sp.* UFPIT08 e do *Trichoderma orientale* UFPIT09 com o tempo de 120h de síntese estão expressos na tabela 3 abaixo.

Tabela 3 – Resultado da caracterização das AgNPs do *Trichoderma sp.* UFPIT08 e do *Trichoderma orientale* UFPIT09

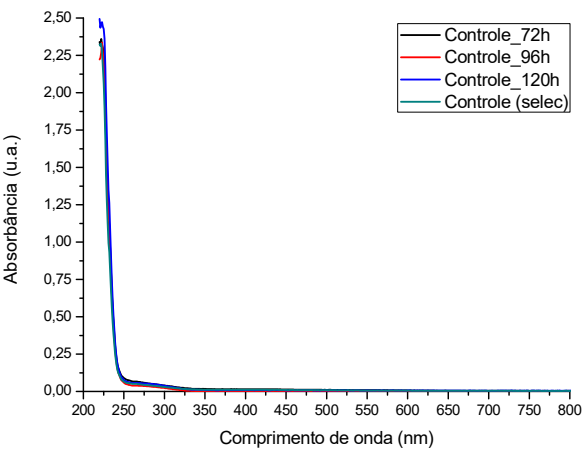
Condições	Absorbância (nm)	DLS (nm)	PDI	ZETA (Mv)
Controle	NH*	NR*	NR*	NR*
<i>Trichoderma sp.</i> UFPIT08 BDA 25°C	400	208,9	0,527	-33,3
<i>Trichoderma sp.</i> UFPIT08 BDA 30°C	400	NR*	NR*	NR*
<i>Trichoderma sp.</i> UFPIT08 Aveia 30°C	410*	202,66	0,447	-30,8
<i>Trichoderma sp.</i>	NH*	306,63	0,46	-38,2

UFPIT08 Malte				
30°C				
Trichoderma sp.	390	444,3	0,686	-48,7
UFPIT08				
Sabouraud 25				
°C				
T. orientale	425	199,86	0,276	-38,9
UFPIT09 BDA				
30°C				
T. orientale	410	269,66	0,483	-26,2
UFPIT09 Aveia				
30°C				
T. orientale	NH*	453	0,657	-53,8
UFPIT09 Aveia				
25°C				

*NH= Não Houve; NR= Não realizado;

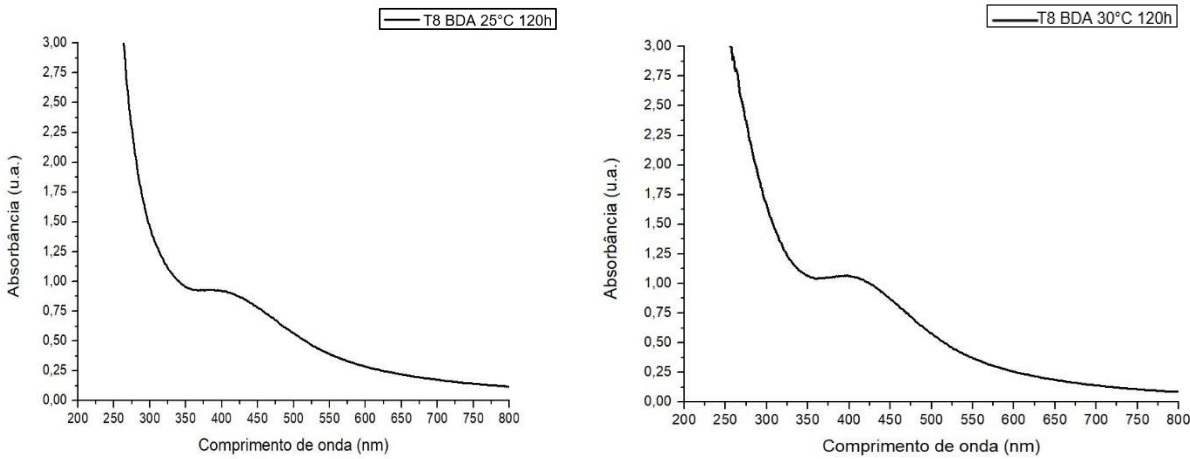
Fonte: A autora (2025).

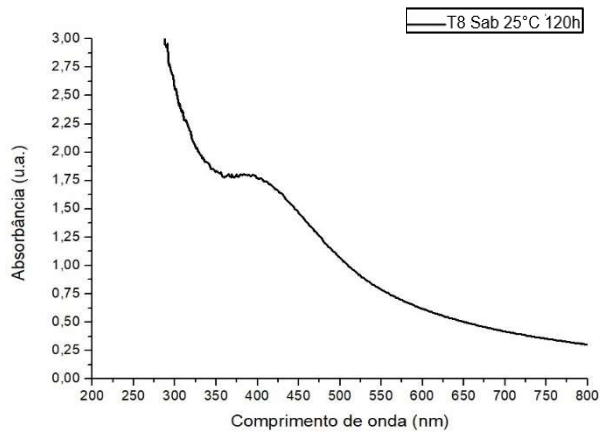
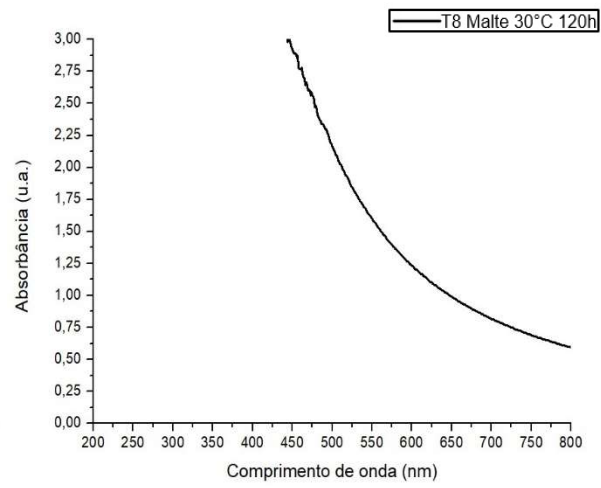
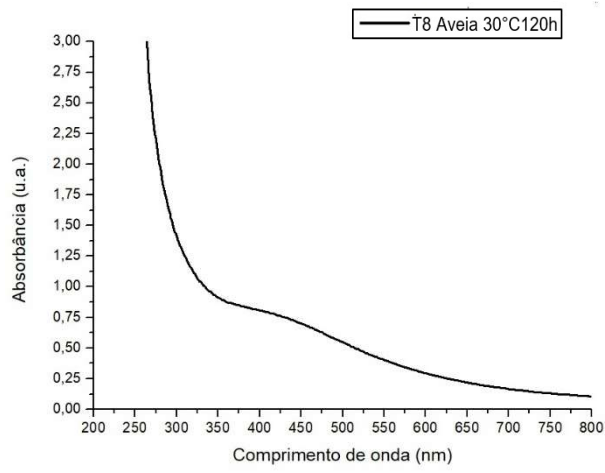
Figura 3A- Gráficos da Espectrofotometria do UV-Vis do grupo controle.



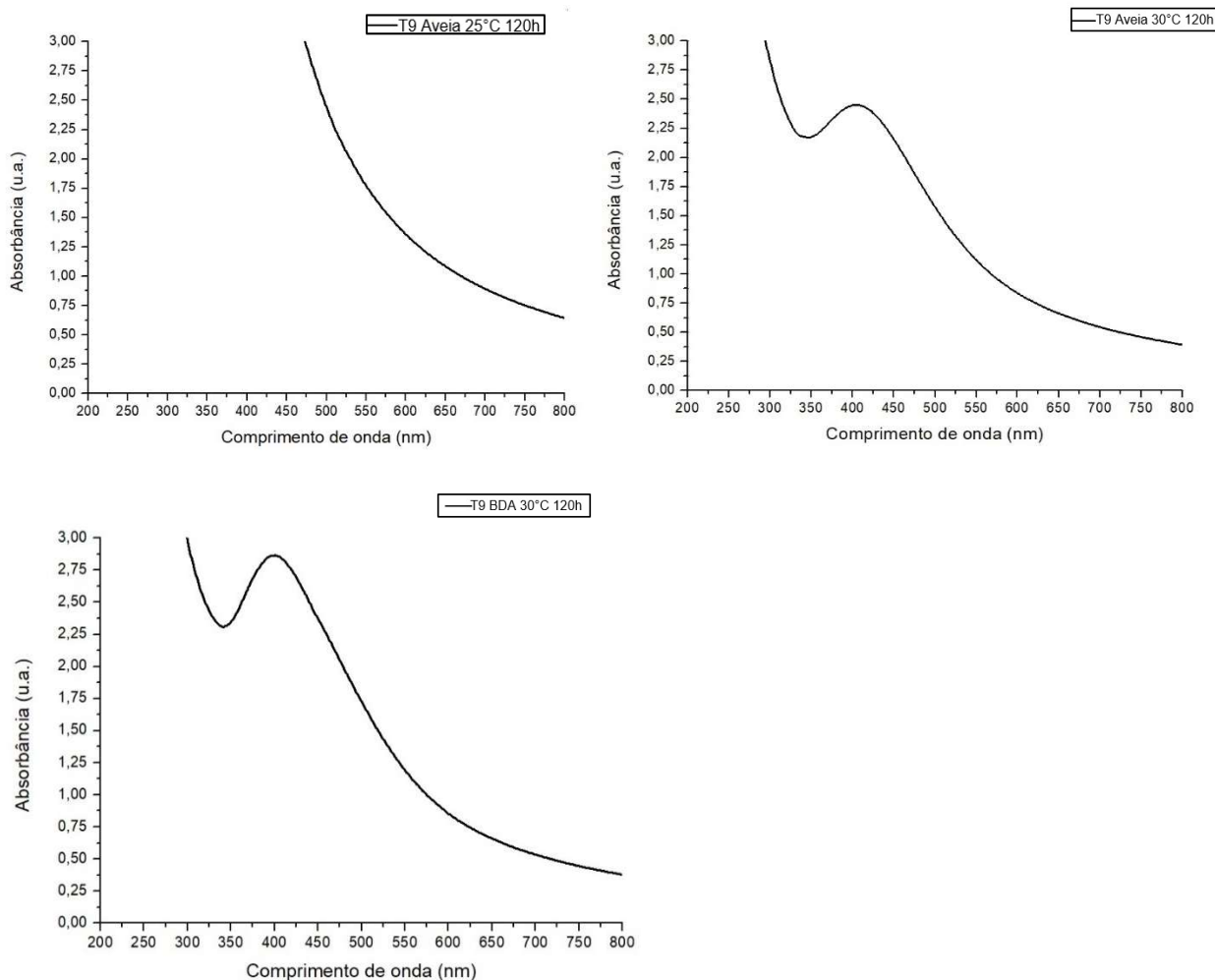
Fonte: A autora (2025)

Figura 3 B- Gráficos da Espectrofotometria do UV-Vis do *Trichoderma* sp. UFPIT08





Fonte: A autora (2025).

Figura 3C- Gráficos da Espectrofotometria do UV-Vis do *Trichoderma orientale* UFPIT09

Fonte: A autora (2025).

Está bem estabelecido na literatura que as AgNPs apresentam bandas SPR na faixa de 400-500 nm, e que são muito sensíveis e altamente dependentes de parâmetros como tamanho, formato das nanopartículas, concentração de AgNO_3 e tipo de biomoléculas presentes no extrato biológico (Vinayagam *et al.*, 2018).

Diante disso, e conforme exposto na Tabela 3, no caso do *Trichoderma sp. UFPIT08*, apenas a condição de pré-inóculo no meio de cultivo com extrato de malte a 30°C não promoveu a síntese de AgNPs. Já para o *Trichoderma orientale UFPIT09*, a formação de SPR não foi observada somente na condição de pré-inóculo no meio de cultivo de aveia a 30°C.

De acordo com Kobashigawa *et al.* (2023), a intensidade do pico plasmônico (SPR) é proporcional à concentração de AgNPs produzidas, ou seja, maior absorbância indica maior produção dessas nanopartículas. Nesse contexto, o pico de maior absorbância para o *Trichoderma sp. UFPIT08* ocorreu na condição de pré-inóculo em meio Sabouraud a 25°C. No entanto, essa condição apresentou um índice de polidispersidade (PDI) de 0,686, indicando que a dispersão das partículas não é homogênea, o que torna essa amostra desfavorável para estudos de aplicabilidade.

Para o *Trichoderma orientale* UFPIT09, o pico mais intenso foi observado na condição de pré-inóculo em meio BDA a 30°C, que apresentou PDI abaixo de 0,3 e potencial zeta de -38 mV, sendo considerada monodispersa e altamente estável. Essa condição foi escolhida para estudos futuros com aplicações biotecnológicas, já que valores absolutos de potencial zeta iguais ou superiores a 30 mV indicam alta estabilidade. Essa estabilidade decorre da carga superficial das partículas, que oferece estabilidade elétrica às nanopartículas (Silva, 2019).

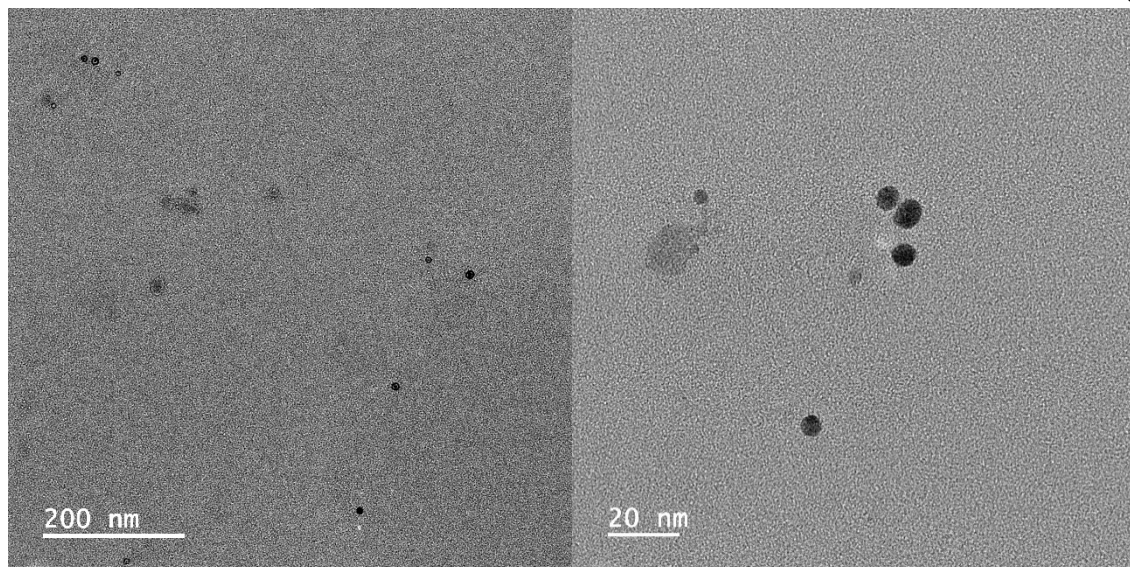
Além disso, Sharma *et al.* (2018) destacam que os espectros de absorção de espécies biogênicas apresentam bandas no UV devido às moléculas de proteína presentes no extrato biológico. Esse fato permite inferir que as biomoléculas são afetadas pelas condições de pré-inóculo do microrganismo, o que pode justificar a síntese de AgNPs com o *Trichoderma orientale* UFPIT09 no meio de aveia a 30°C, mas não a 25°C. Essa observação está em consonância com Vinayagam *et al.* (2018), que afirmam que as nanopartículas de prata são altamente sensíveis e dependem das biomoléculas presentes no extrato biológico.

4.3 Caracterização das AgNPs do *Trichoderma orientale* UFPIT09 por microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Os tamanhos obtidos pela técnica DLS geralmente são superiores aos valores calculados a partir de imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM), pois o DLS mede o tamanho hidrodinâmico das nanopartículas em soluções coloidais, com base na interação entre a luz e as partículas suspensas, enquanto SEM e TEM utilizam a amostra no estado seco. (Bonatto *et al.*, 2021; Ceylan *et al.*, 2021).

Nesse viés a análise TEM é o método mais preciso para determinar a morfologia e o tamanho de nanoestruturas (Loqman *et al.*, 2022). Dessa forma, as imagens TEM (Fig 4) revelaram que as AgNPs possuem tamanho médio de cerca de 20 nm, são esféricas e monodispersas. Resultado que corrobora com os achados de Loqman *et al.* (2022) cujos tamanhos das AgNPs medidos por DLS também foram consideravelmente maiores do que os registrados por MET.

Figura 4 - Imagens TEM das AgNPs de *Trichoderma orientale* UFPIT09

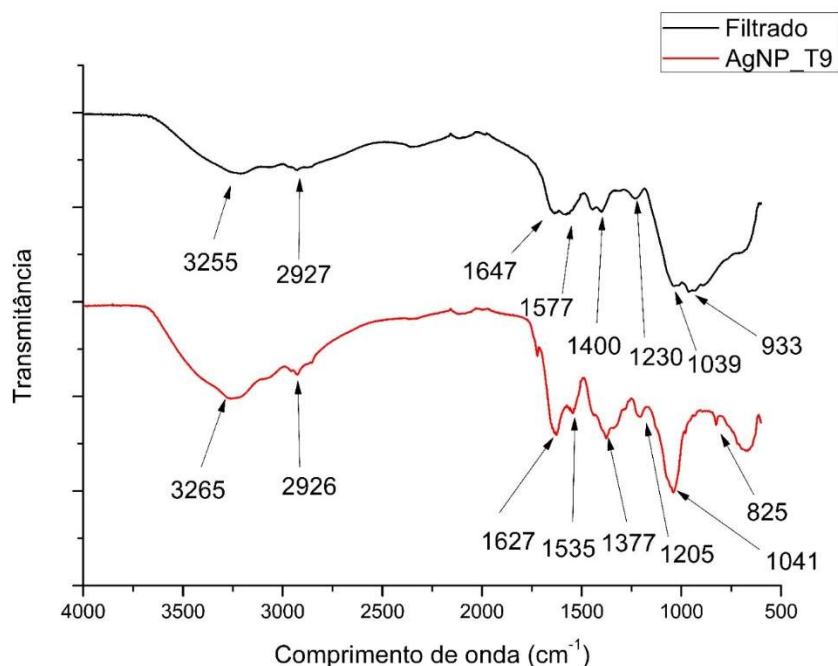


Fonte: A autora (2025).

4.4. Investigação de fitoquímicos que formam as AgNPs

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) foi usada para determinar a identificação das biomoléculas ativas presentes nos extratos do filtrado celular fúngico (CFE) e das soluções coloidais de AgNPs, esses espectros de FT-IR são mostrados na figura 5.

Figura 5 – Espectros FTIR do CFE e das AgNPs de *Trichoderma orientale* UFPIT09.



Fonte: A autora (2025).

A banda larga em 3255 cm^{-1} no filtrado, está associada à vibração de estiramento de grupos hidroxila (O-H) de compostos fenólicos e álcool, nas AgNPs, essa banda aparece ligeiramente deslocada para 3265 cm^{-1} , indicando uma possível interação desses grupos com as nanopartículas, em que o deslocamento sugere o envolvimento de compostos fenólicos e proteínas na estabilização das AgNPs (Rahmatian *et al.*, 2023). Os picos em 2927 cm^{-1} (filtrado) e 2926 cm^{-1} (AgNPs) estão associados à vibração do alongamento C-H (aldeído) (Isaq *et al.*, 2023). No filtrado, o pico em 1647 cm^{-1} pode

estar relacionado ao estiramento C=O de proteínas (ligações amida I) e ao estiramento C=C de compostos fenólicos e flavonoides. Nas AgNPs, esse pico aparece em 1627 cm^{-1} e 1535 cm^{-1} , com um deslocamento significativo, sugerindo que proteínas e compostos fenólicos desempenham um papel fundamental na redução e estabilização das nanopartículas (Alkulabi *et al.*, 2024).

O pico em 1577 cm^{-1} no filtrado pode estar associado a vibrações de anéis aromáticos e estiramento C=N de proteínas (Isaq *et al.*, 2023; Rosa *et al.*, 2024), nas AgNPs, picos adicionais em 1535 cm^{-1} e 1377 cm^{-1} podem indicar a presença de compostos fenólicos e flavonoides adsorvidos à superfície das nanopartículas, reforçando a ideia de estabilização por biomoléculas (Majeed *et al.*, 2016). No filtrado, os picos em 1230 cm^{-1} e 1039 cm^{-1} estão relacionados a vibrações C-O de polissacarídeos e proteínas, já nas AgNPs, esses picos são deslocados para 1205 cm^{-1} e 1041 cm^{-1} , sugerindo que polissacarídeos também podem estar envolvidos na estabilização das nanopartículas (Vidhu *et al.*, 2024).

O pico em 933 cm^{-1} no filtrado pode estar associado a estruturas heterocíclicas ou ligações C-H fora do plano de compostos fenólicos (Mohanta *et al.*, 2020). Nas AgNPs, os picos em 825 cm^{-1} e 1041 cm^{-1} podem indicar interações entre biomoléculas e a superfície das nanopartículas, além da presença de ligações Ag-O (Rahmatian *et al.*, 2023).

4.5. Atividade antibacteriana

O presente estudo avaliou o potencial antibacteriano das AgNPs biossintetizadas pelo *Trichoderma orientale* UFPIT09 e constatou que o filtrado fúngico do *Trichoderma orientale* UFPIT09 não exibiu atividade bactericida diante das cepas testadas. Já as AgNPs biossintetizadas pelo *Trichoderma orientale* UFPIT09 exibiram potencial bactericida contra cepas padrão ATCC (*Staphylococcus aureus* Atcc 25923-MSSA, *Staphylococcus aureus* Atcc 29213- MSSA; *Staphylococcus aureus* Atcc 33592-MRSA, *Escherichia coli* Atcc 25922, *Pseudomonas aeruginosa* Atcc 27853, *Pseudomonas aeruginosa* Atcc 27852, bem como isolados bacterianos humanos resistentes a medicamentos, como MRSA, conforme detalhado na Tabela 4.

Esses resultados foram evidenciados pela formação de zonas de inibição, variando de 5 a 14 mm diante de onze das treze cepas bacterianas estudadas, cujos resultados podem ser constatados na tabela 4 abaixo. Foram notificadas zonas de inibição com tamanhos variando de 5 a 14mm, comparáveis com AgNPs produzidas a partir de *Aspergillus niger* contra cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* (16 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (20 mm) e *Klebsiella pneumoniae* (12 mm) (Sharma *et al.*, 2024). Entretanto, a maioria das cepas bacterianas utilizadas no presente estudo são de

isolados clínicos multirresistentes a medicamentos, como pode ser constatado na tabela 4 abaixo.

A ação antibacteriana das AgNPs do *Trichoderma orientale* demonstrou maior eficácia, constatada pela medição dos halos de inibição, diante das cepas de *Klebsiella pneumoniae* MDR, seguidas pela cepa de *Escherichia coli* Atcc 25922 e *Staphylococcus aureus* Atcc 25923-MSSA, conforme pode ser observado no gráfico 1.

Tabela 4 – Resultado da atividade antibacteriana da solução coloidal de AgNPS sintetizadas pelo *Trichoderma orientale* UFPIT09 utilizando a técnica de disco difusão.

Bactérias	Controle (Cloranfenicol 30 mcg)	<i>Trichoderma orientale</i> UFPIT09
<i>Staphylococcus aureus</i> Atcc 25923-MSSA	20,2 mm	11,15 mm
<i>Staphylococcus aureus</i> Atcc 29213- MSSA	23,5 mm	10,75 mm
<i>Staphylococcus aureus</i> Atcc 33592-MRSA	9,45 mm	10,4 mm
<i>Staphylococcus aureus</i> MDR	19,85 mm	7,0 mm
<i>Escherichia coli</i> Atcc 25922	31,4 mm	11,8 mm
<i>Enterococcus faecalis</i> Atcc 29212	14,8 mm	--
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (6t)	8,1 mm	13,95 mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR (5t)	5,00 mm	12, 5 mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 5135 (4t)	23,6 mm	11,3 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Atcc 27853	10,45 mm	7,0 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Atcc 27852	12,8 mm	5,0 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR (8t)	--	--
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR (9t)	7,2 mm	4,9 mm

--*: Não houve formação de halo de inibição

Fonte: A autora (2024).

As cepas bacterianas cujas AgNPs biossintetizadas por *Trichoderma orientale* UFPIT09 apresentaram halos de inibição significativos foram selecionadas para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Para *Staphylococcus aureus* Atcc 33592-MRSA e *Staphylococcus aureus* MDR a CIM foi de 10 mg, sendo a máxima testada, pois de acordo com Nader *et al.* (2018) considera-se válido em termos de prospecção terapêutica a concentração máxima tolerável para atividade antimicrobiana de extratos vegetais é de 100 mg/mL. Já para a cepa *Staphylococcus aureus* Atcc 25923-MSSA a CIM foi de 5,5 mg, em que o extrato coloidal de AgNPs 100% puro também foi eficaz para a inibição bacteriana.

Diante das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* Atcc 27853 a CIM foi de 2,5 mg, entretanto, o extrato coloidal de AgNPs na concentração de 100% e 50% permitiram o crescimento de colônias isoladas. Já para *Pseudomonas aeruginosa* Atcc 27852 a CIM foi de 4,0 mg, e frente a cepa clínica de *Pseudomonas aeruginosa* MDR (9t) a CIM foi a menor testada neste estudo, 1 mg, em que o extrato coloidal de AgNPs na concentração de 100% e 50% também foram eficazes para a inibição bacteriana.

Constata-se que as análises foram bem sucedidas, quando os resultados estão em consonância com os dados da técnica de disco difusão, pois o maior halo de inibição foi diante da cepa clínica *Klebsiella pneumoniae* MDR cuja CIM também foi a menor testada, sendo de 1 mg, em que o extrato coloidal de AgNPs na concentração de 100% e 50% foram eficazes para a inibição bacteriana, já para a cepa de *Escherichia coli* Atcc 25922 a CIM foi de 4,0 mg.

4.6. Atividade antibiofilme

Das quatro cepas bacterianas testadas, somente as linhagens *Staphylococcus aureus* Atcc 25923-MSSA e *Escherichia coli* Atcc 25922 apresentaram a capacidade de produzir biofilme fortemente e moderadamente aderente, respectivamente, sendo assim foi analisada a capacidade das AgNPs biossintetizadas pelo *Trichoderma orientale* UFPIT09 em inibir a formação desses biofilmes (MBIC) e em erradicar a formação dos biofilmes já formados (MBEC). A concentração inibitória mínima das AgNPs inibiu 100% a formação do biofilme bacteriano formado por *Staphylococcus aureus* Atcc 25923-MSSA, enquanto que a solução coloidal de AgNPs permitiu a formação do biofilme de *S. aureus* Atcc 25923 de forma moderadamente aderente. Já para a bactéria *Escherichia coli* Atcc 25922 a concentração inibitória mínima também inibiu 100% a formação do biofilme bacteriano, enquanto as soluções coloidais das AgNPs permitiram a formação do biofilme fracamente aderente.

Tanto as CIM quanto os extratos coloidais das AgNPs do *Trichoderma orientale* UFPIT09 tiveram 100% de eficácia na erradicação dos biofilmes bacterianos fortemente aderente formados por *Staphylococcus aureus* Atcc 25923-MSSA e moderadamente aderente formados por *Escherichia coli* Atcc 25922.

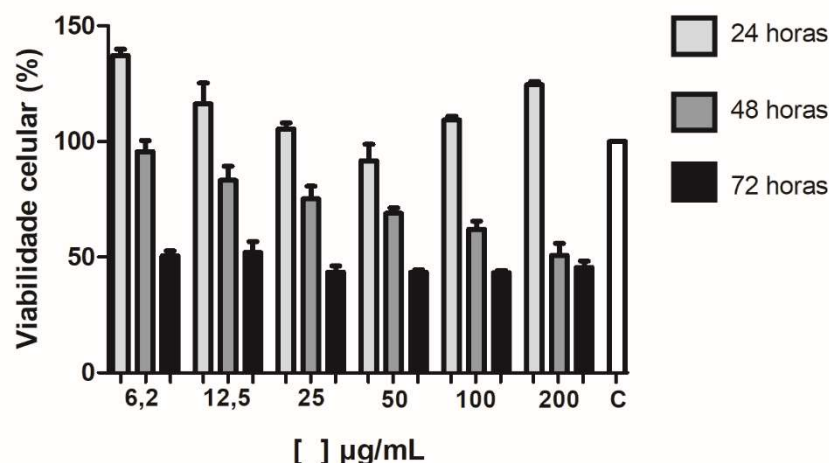
4.7. Citotoxicidade e potencial anticâncer

Foi utilizado o teste de Bonferroni para comparações múltiplas em que o valor de $*p < 0,05$ foi adotado como nível de significância, o efeito de citotoxicidade das AgNPs em células de câncer de mama MDA-MB-231 foi avaliado e pode ser observado na figura 6. Assim, constatou-se que com exceção do tempo de 48 e 72h na concentração de 200 ug/mL todos os demais dados diferem significativamente do controle e também diferem entre si, ou seja, levando em consideração a mesma concentração em diferentes tempos.

Frequentemente é relatado na literatura que a viabilidade celular abaixo de 50% é interpretada como um sinal de toxicidade (Angoth *et al.*, 2014; Ahmadian *et al.*, 2009), no

presente estudo a viabilidade celular foi inferior a 50% nas concentrações de 25, 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$ os ensaios de 72h, indicando potencial anticâncer para a célula testada. Estando em consonância com o estudo de Ahire *et al.* (2024) em que AgNPs com cobertura de amina exibiram toxicidade seletiva significativa contra células de câncer de mama MDA-MB-231 em uma concentração de 40 $\mu\text{g/mL}$, resultando em viabilidade celular de menos de 50%, indicando seu potencial como terapêutica anticâncer.

Figura 6 - Gráfico da viabilidade celular das células de MDA-MB-231 diante de diferentes concentrações de AgNPs do *Trichoderma orientale* UFPIT09 nos tempos de 24h, 48h e 72h.



Fonte: A autora (2025).

5. Conclusão

Portanto, entre as oito linhagens fúngicas de *Trichoderma* analisadas, *Trichoderma orientale* UFPIT09 se destacou na biossíntese extracelular de AgNPs estáveis e monodispersas, com potencial promissor para aplicações biomédicas. Os resultados evidenciam sua eficácia especialmente no combate a infecções bacterianas resistentes, no controle de biofilmes e como um possível agente anticâncer, demonstrando o potencial do gênero *Trichoderma* como uma alternativa viável e inovadora na área da biotecnologia.

6. REFERÊNCIAS

- ADELEKE, B. S. *et al.* Biosynthesis of nanoparticles using microorganisms: A focus on endophytic fungi. **Heliyon**, v. 10, n.21, p. 39636, 2024.
- AHIRE, Jayshree H. *et al.* Amine-terminated silver nanoparticles exhibit potential for selective targeting of triple-negative breast cancer. **Applied Nano**, v. 5, n. 4, p. 227-244, 2024.
- AHMADIAN, Somaieh *et al.* Cellular toxicity of nanogenomedicine in MCF-7 cell line: MTT assay. *Journal of visualized experiments: JoVE*, n. 26, p. 1191, 2009.
- AHMED, S. *et al.* A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. **Journal of advanced research**, v. 7, n. 1, p. 17-28, 2016.
- AKINDUTI, P. A. *et al.* Antibacterial activities of plant leaf extracts against multi-antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* associated with skin and soft tissue infections. **BMC complementary medicine and therapies**, v. 22, n. 1, p. 47, 2022.
- ALKULABI, Huda Mohammed Maatab; GHOBEL, Maryam; TABRIZI, Masoud Homayouni. A study of bioengineered piperine-loaded silver-bovine serum albumin nanoparticles and determining anticancer effects, anti-inflammatory and anti-oxidant properties against cancer cells. **Journal of Molecular Liquids**, v. 393, p. 123559, 2024.
- ANGOTH, BHIKKU *et al.* Cytotoxicity evaluation of carbon nanomaterials on human cell lines using MTT assay. **Int. J. Pharm. Pharm. Sci**, v. 20104, n. 6, p. 379-382, 2014.
- BONATTO, I. C *et al.* Influência de diferentes tipos de nanopartículas de prata na biodegradação da fração orgânica de resíduos sólidos urbanos. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 26, n. 1, p. 11-19, 2021.
- CEYLAN, Ramazan *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extracts of three *Sideritis* species from Turkey and evaluations bioactivity potentials. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 21, p. 100426, 2021.
- CHRISTENSEN, G. D. *et al.* Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. **Journal of clinical microbiology**, v. 22, n. 6, p. 996-1006, 1985.
- CLSI, C. L. S. I. M100-ED29: 2021 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. *Clsi*, v. 40, p. 50-51, 2020.
- DA SILVA, Marllyn Marques *et al.* Effect of acute exposure in swiss mice (*Mus musculus*) to a fibrinolytic protease produced by *Mucor subtilissimus* UCP 1262: An histomorphometric, genotoxic and cytological approach. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 103, p. 282-291, 2019.
- FRANÇA SILVA, H. *et al.* Bioprospection of *Trichoderma* spp. originating from a Cerrado-Caatinga ecotone on *Colletotrichum truncatum*, in soybean. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 15, n. 1, 2020.
- GEMISHEV, Orlin *et al.* Green synthesis of stable spherical monodisperse silver nanoparticles using a cell-free extract of *Trichoderma reesei*. **Materials**, v. 15, n. 2, p. 481, 2022.

HUDAYA, I. R. *et al.* Biofabrication of silver nanoparticles using *Artocarpus heterophyllus* leaves extract: Characterization and evaluation of its antibacterial, antibiofilm, and antioxidant activities. **Journal of Crystal Growth**, v. 644, p. 127827, 2024.

ISAQ, Mona *et al.* Biogenic synthesized silver nanoparticles using fungal endophyte *Cladosporium oxysporum* of *Vateria indica* induce apoptosis in human colon cancer cell line via elevated intracellular ROS generation and cell cycle arrest. **Journal of Molecular Liquids**, v. 386, p. 122601, 2023.

KOBASHIGAWA, Jesica M. *et al.* Mycosynthesis of silver nanoparticles using psychrotrophic strains of *Tulasnella albida* Bourdot & Galzin from the South Orkney Islands (Antarctica). **Revista Argentina de Microbiología**, v. 55, n. 4, p. 307-316, 2023.

LOQMAN, Amal *et al.* *Streptomyces thinghirensis* sp. nov. as a promising path for green synthesis of silver nanoparticles: High eradication of multidrug-resistant bacteria and catalytic activity. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 6, p. 108889, 2022.

MAJEED, Shahnaz *et al.* Biochemical synthesis of silver nanoparticles using filamentous fungi *Penicillium decumbens* (MTCC-2494) and its efficacy against A-549 lung cancer cell line. **Chinese journal of natural medicines**, v. 14, n. 8, p. 615-620, 2016.

MOHANTA, Yugal Kishore *et al.* Anti-biofilm and antibacterial activities of silver nanoparticles synthesized by the reducing activity of phytoconstituents present in the Indian medicinal plants. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1143, 2020.

NADER, Talita Thomaz *et al.* Atividade antibiofilme de substâncias de *Croton urucurana* em *Staphylococcus aureus* isolado de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, p. 1713-1719, 2018.

PORTO, A. L. F.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; LIMA FILHO, J. L. Effects of culture conditions on protease production by *Streptomyces clavuligerus* growing on soy bean flour medium. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 60, p. 115-122, 1996.

RAJA, Selvaraj; RAMESH, Vinayagam; THIVAHARAN, Varadavenkatesan. Green biosynthesis of silver nanoparticles using *Calliandra haematocephala* leaf extract, their antibacterial activity and hydrogen peroxide sensing capability. **Arabian journal of chemistry**, v. 10, n. 2, p. 253-261, 2017.

RAHMATIAN, Nasrin *et al.* *Echinophora platyloba* extract-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Fine-tuning the size towards enhanced catalytic and antibacterial properties. **Journal of Molecular Liquids**, v. 391, p. 123327, 2023.

RĂUT, I. *et al.* Extracellular Biosynthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles Synthesized by Filamentous Fungi. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 11, p. 798, 2024.

ROSA, M. *et al.* Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using grape stalk extract. **Journal of Molecular Liquids**, v. 403, p. 124927, 2024.

ROSHAN, M. *et al.* Antimicrobial and antibiofilm effect of cannabinoids from *Cannabis sativa* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) causing bovine mastitis. **International Microbiology**, p. 1-14, 2024.

SANJENBAM, P.; GOPAL, J. V.; KANNABIRAN, K. Anticandidal activity of silver nanoparticles synthesized using *Streptomyces* sp. VITPK1. **Journal de mycologie médicale**, v. 24, n. 3, p. 211-219, 2014.

SHARMA, Garima *et al.* Antimicrobial potential of silver nanoparticles synthesized using medicinal herb *Coptidis rhizome*. **Molecules**, v. 23, n. 9, p. 2268, 2018.

SHARMA, Kiran; DAKSHINAMOORTHY, Balakumaran Manickam; JAGADEESWARI, S. Characterization Studies and Antimicrobial Efficacy of Silver Nanoparticles Synthesized Using *Aspergillus niger*: A Biological Driven Approach. **Uttar Pradesh Journal of Zoology**, v. 45, n. 13, p. 100-112, 2024.

SILVA, Victória Corrêa da. **Síntese biogênica de nanopartículas de prata por fungos marinhos: seleção, otimização, caracterização, atividade antimicrobiana e potencial toxicidade em organismo aquático**. 2019. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade de Ambientes Costeiros) - Universidade Estadual Paulista, São Vicente-SP, 2019.

SKANDA, S. *et al.* Proficient mycogenic synthesis of silver nanoparticles by soil derived fungus *Aspergillus melleus* SSS-10 with cytotoxic and antibacterial potency. **Journal of Microbiological Methods**, v. 199, p. 106517, 2022.

STEPANOVIĆ, S. *et al.* A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. **Journal of microbiological methods**, v. 40, n. 2, p. 175-179, 2000.

VIDHU, V. K.; PHILIP, Daizy. Spectroscopic, microscopic and catalytic properties of silver nanoparticles synthesized using *Saraca indica* flower. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 117, p. 102-108, 2014.

VINAYAGAM, Ramesh; VARADAVENKATESAN, Thivaharan; SELVARAJ, Raja. Green synthesis, structural characterization, and catalytic activity of silver nanoparticles stabilized with *Bridelia retusa* leaf extract. **Green Processing and Synthesis**, v. 7, n. 1, p. 30-37, 2018.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, diante dos resultados obtidos, foi possível comprovar o potencial biotecnológico do fungo *Trichoderma orientale* UFPIT09 na biossíntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs) estáveis, com ação antibacteriana, antibiofilme e potencial anticâncer, ampliando suas possíveis aplicações biomédicas, sobretudo no combate à resistência bacteriana.

Além do avanço científico e tecnológico, a relevância desta pesquisa também reside na valorização do ecótono Cerrado-Caatinga, um ambiente exclusivamente brasileiro de grande importância ecológica e ainda pouco explorado biotecnologicamente. A descoberta de microrganismos promissores nesse bioma ressalta a riqueza e o potencial inexplorado da biodiversidade nacional para a inovação científica e o desenvolvimento de novas tecnologias sustentáveis.

Dessa forma, este estudo contribui significativamente para o fortalecimento da pesquisa científica brasileira ao demonstrar que biorecursos nativos podem ser estratégicos para a indústria da biotecnologia, promovendo alternativas sustentáveis à síntese convencional de nanomateriais. Além disso, reforça a necessidade da preservação desse ecossistema único, visto que sua biodiversidade pode ser a chave para avanços tecnológicos e biomédicos. No âmbito social e industrial, os achados desta pesquisa podem impulsionar novas soluções para desafios globais, como a resistência antimicrobiana, ao mesmo tempo em que fomentam o desenvolvimento sustentável e a valorização da biotecnologia nacional.