



UNIVERSIDADE ESTADUAL de LONDRINA
CENTRO de CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Colegiado do CURSO de CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



**Ciências
Biológicas**
UEL

TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANA BEATRIZ GODOY

INTERAÇÃO ENTRE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO EM PLANTAS E NANOPARTÍCULAS: EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NANOPARTÍCULAS NO CRESCIMENTO BACTERIANO

Londrina – Paraná
2024

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

ANA BEATRIZ GODOY

**INTERAÇÃO ENTRE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO EM PLANTAS E NANOPARTÍCULAS:
EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE
NANOPARTÍCULAS NO CRESCIMENTO
BACTERIANO**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina como um dos requisitos à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Renata Stolf Moreira

**Londrina – Paraná
2024**

A532i Godoy, Ana Beatriz .
Interação entre Bactérias Promotoras de Crescimento em Plantas e Nanopartículas: efeito de diferentes concentrações de nanopartículas no crescimento bacteriano. / Ana Beatriz Godoy. - Londrina, 2024.
38 f. : il.

Orientador: Renata Stolf Moreira .
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, 2024.

Inclui bibliografia.

1. Fisiologia Vegetal - TCC. 2. Nanopartícula - TCC. 3. Bactérias Promotoras de Crescimento em Plantas - TCC. I. Stolf Moreira , Renata. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

CDU 574

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Renata Stolf Moreira

Prof. Dr. André Luiz Martinez de Oliveira

Me. João Pedro Batista Fernandes Cunha

Londrina, 17 de fevereiro de 2025

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmã, Rosemeire, Adalberto e Fernanda, que me apoiaram durante essa jornada acadêmica e pela oportunidade de ter um estudo de qualidade. Sem vocês eu não teria toda a segurança para estudar a 500 km de distância de casa, sabendo sempre que teria um lugar para voltar caso necessário.

Agradeço a minha orientadora, Profa. Dra. Renata Stolf Moreira por confiar em meu trabalho, pelos ensinamentos, por estar sempre aberta a novas ideias, pelo auxílio e orientação durante todo o projeto.

À Universidade Estadual de Londrina (UEL) pela formação acadêmica e ter me permitido conhecer e experienciar diversas oportunidades, conhecendo de forma mais profunda o universo acadêmico e o ensino público, fazendo parte também da minha formação pessoal.

À toda a equipe do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal (LEFIV), em especial a Isabela Thihara, pelo apoio nessa jornada do projeto, onde sempre estiveram dispostos a ajudar quando necessário.

As minhas amigas, Ana Beatriz Olivetti, Beatriz Milani e Laura Maldonado, que tive a oportunidade de conhecer em Londrina onde foram fundamentais em todos esses anos acadêmicos. Agradeço por todos os momentos, conversas, apoios e companheirismo que tivemos.

A Universidade Federal do ABC, em especial a Profa. Dra. Amedea Barozzi Seabra, pelo fornecimento de materiais essenciais para o projeto.

Aos professores do curso de Ciências Biológicas da UEL, pelos ensinamentos ao longo do curso de graduação.

Meus agradecimentos a todos, que de alguma forma, direta ou indireta, auxiliaram nesse projeto para torná-lo possível.

GODOY, Ana. **Interação entre Bactérias Promotoras de Crescimento em Plantas e nanopartículas: Efeito de diferentes concentrações de nanopartículas no crescimento bacteriano**. 2025. 38 fls. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2025.

RESUMO

A busca por tecnologias inovadoras para o reflorestamento tem impulsionado o uso de biotecnologias associadas a nanotecnologia para potencializar o desenvolvimento vegetal. Bactérias Promotoras de Crescimento em Plantas (BPCPs) desempenham papéis cruciais na absorção de nutrientes e resistência a estresses abióticos. Paralelamente, as nanopartículas (NPs) vem ganhando destaque por suas propriedades únicas, como alta reatividade e liberação controlada de compostos bioativos. No entanto, a interação entre BPCPs e NPs ainda é pouco compreendida especialmente seus efeitos no crescimento bacteriano. Este estudo avaliou a interação entre BPCPs e NPs de Zinco (Sigma Aldrich, PVA e *Myrcia oblongata*), selênio e óxido nítrico, analisando seu efeito sobre seis isolados bacterianos cultivados em DYGs, F4 e Mueller-Hinton. O crescimento bacteriano foi avaliado pelo método de microdiluição em caldo. Os resultados indicaram que as NPs de zinco e selênio não afetaram significativamente o crescimento bacteriano. No entanto, as NPs doadora de óxido nítrico (NO) tiveram efeito inibitório. No meio DYGs, as bactérias ZK e 9CL não cresceram nas concentrações de 6,4 mM e 3,2 mM de NO. No meio F4, 4CT e 114JLB foram inibidas em 6,4 mM, enquanto a 98CT não cresceu em 6,4 mM e 3,2 mM, e 112R1CT não cresceu em concentrações acima de 0,8 mM. No meio Mueller-Hinton, ZK e 9CL não cresceram em 6,4 mM, 114JLB foi inibida em 6,4 mM e 3,2 mM, e 112R1CT não cresceu em 6,4 mM, 3,2 mM e 1,6 mM. Com isso, as NPs de zinco e selênio não impactaram as BPCPs, mas as NPs de NO apresentaram efeito antimicrobiano dependente da concentração da nanopartícula, do isolado e do meio de cultura utilizado, sugerindo a necessidade de estudos específicos para definir concentrações adequadas e eficazes para a interação de NPs e BPCPs, em meios de culturas específicos.

Palavras-chave: desenvolvimento vegetal. zinco. selênio. óxido nítrico.

biotecnologia.

GODOY, Ana. **Interaction Between Plant Growth-Promoting Bacteria and Nanoparticles: Effect of Different Nanoparticle Concentrations on Bacterial Growth.** 2025. 38 pgs. Final Dissertation (Biological Sciences Undergraduation) – Londrina State University. Londrina. 2025.

ABSTRACT

The search for innovative technologies for reforestation has driven the use of biotechnologies associated with nanotechnology to enhance plant development. Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) play crucial roles in nutrient absorption and resistance to abiotic stresses. Simultaneously, nanoparticles (NPs) have gained prominence due to their unique properties, such as high reactivity and controlled release of bioactive compounds. However, the interaction between PGPB and NPs is still poorly understood, particularly regarding their effects on bacterial growth. This study evaluated the interaction between PGPB and zinc NPs (Sigma Aldrich, PVA, and *Myrcia oblongata*), selenium, and nitric oxide-releasing nanoparticles (NO-NPs), analyzing their effects on six bacterial isolates cultivated in DYGs, F4, and Mueller-Hinton media. Bacterial growth was assessed using the broth microdilution method. The results indicated that zinc and selenium NPs did not significantly affect bacterial growth. However, NO-NPs exhibited inhibitory effects. In DYGs medium, ZK and 9CL bacteria did not grow at NO concentrations of 6.4 mM and 3.2 mM. In F4 medium, 4CT and 114JLB were inhibited at 6.4 mM, while 98CT did not grow at 6.4 mM and 3.2 mM, and 112R1CT failed to grow at concentrations above 0.8 mM. In Mueller-Hinton medium, ZK and 9CL did not grow at 6.4 mM, 114JLB was inhibited at 6.4 mM and 3.2 mM, and 112R1CT failed to grow at 6.4 mM, 3.2 mM, and 1.6 mM. Thus, while zinc and selenium NPs did not impact PGPB, NO-NPs exhibited antimicrobial effects dependent on nanoparticle concentration, bacterial isolate, and culture medium, highlighting the need for specific studies to determine appropriate and effective concentrations for PGPB-NP interactions in distinct culture media.

Keywords: plant development. zinc. selenium. nitric oxide. biotechnology.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO EM PLANTAS	
2.1.1 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO	
2.1.2 SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATOS	
2.1.3 PRODUÇÃO DE SIDERÓFOROS	
2.1.4 PRODUÇÃO DE AUXINAS	
2.1.5 CONTROLE BIOLÓGICO	
2.2 NANOPARTICULAS E SUAS IMPLICAÇÕES	
2.2.1 NANOTECNOLOGIA E INTRODUÇÃO A NANOPARTÍCULAS	
2.3 Nanopartículas metálicas	
2.3.1 NANOPARTÍCULA DE ZINCO	
2.3.2 NANOPARTÍCULA DE SELÊNIO	
2.3.3 NANOPARTÍCULA DE ÓXIDO NÍTRICO	
2.4 Estudos sobre os efeitos de Nanopartículas e Bactérias	
2.5 Lacunas no Conhecimento e Relevância da Pesquisa	
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5. CONCLUSÕES.....	32
REFERÊNCIAS.....	33

1. INTRODUÇÃO

A busca por tecnologias inovadoras e sustentáveis tanto na agricultura como em técnicas de reflorestamento tem aumentado devido a degradação ambiental e mudanças climáticas, que geram a necessidade de recuperar áreas degradadas. Nesse contexto, biotecnologias associadas a nanotecnologias surgem como alternativas promissoras para melhorar o desenvolvimento vegetal e acelerar o reflorestamento (Santos et al., 2023).

As bactérias Promotoras de Crescimento em Plantas (BPCPs) são consideradas uma biotecnologia promissora devido a sua capacidade de promover o crescimento vegetal de maneira direta ou indireta. Através de mecanismos como a produção de fito-hormônios, enzimas, biofilmes e sideróforos, essas bactérias não só favorecem o crescimento das plantas, mas também aumentam a disponibilidade de nutrientes essenciais. Santos et al. (2021) destacam que a utilização dessas bactérias pode ser uma ferramenta importante para o aumento da eficiência nutricional das plantas.

Dentre os gêneros de BPCPs mais promissores estão *Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas*. Estes microrganismos têm mostrado resultados positivos no aumento da absorção de nutrientes, além de contribuírem para a resistência a estresses abióticos, como a seca. De acordo com Santos et al. (2021), essas bactérias desempenham um papel fundamental na mitigação dos efeitos adversos do déficit hídrico, otimizando o seu desenvolvimento.

Nos últimos anos, a nanotecnologia tem se destacado na agricultura, trazendo inovações para o manejo sustentável de culturas. As nanopartículas (NPs), com dimensões entre 1 e 100 nanômetros, possuem propriedades físico-químicas únicas, como alta área superficial e elevada reatividade, que as diferenciam de seus equivalentes em escala macroscópica (Kah et al., 2018). Essas características permitem que as NPs sejam aplicadas em diversas funções agrícolas, como nanofertilizantes, controle de pragas e doenças, e regulação do crescimento vegetal (Khot et al., 2012).

Entre as NPs mais promissoras estão a de zinco (ZnNPs), óxido nítrico (NO-NPs) e Selênio (SeNPs). As ZnNPs são amplamente utilizadas como nanoenriquecedores, onde promovem a absorção de micronutrientes essenciais, atuam como agente antimicrobiano e ajudam no combate de estresses bióticos e abióticos (Rajput et al., 2018). As NO-NPs são capazes de liberar óxido nítrico (NO), que atua como um sinalizador molecular, onde regula vários processos fisiológicos, como a síntese de fitohormônios e a resposta aos estresses, melhorando a tolerância das plantas a condições adversas do ambiente (Feng et al., 2016; Zhao et al., 2019). Já as SeNPs estão relacionadas a efeitos antioxidantes, melhorando a proteção contra estresses e promovendo o crescimento vegetal ao neutralizar radicais livres e reduzir os danos oxidativos (Rastogi et al., 2019).

A utilização de tecnologias inovadoras, como as NPs, pode trazer diversos benefícios as plantas, associado a interação com as BPCPs. No entanto, essa interação pode ser tanto benéfica quando prejudicial, dependendo da dosagem da nanopartícula. Em concentrações previamente definidas, as NPs podem estimular o crescimento bacteriano, promovendo uma relação benéfica entre bactérias e as plantas (Rajput et. Al., 2028; Feng et al., 2016; Zhao et al.; 2019). Por outro lado,

concentrações elevadas, que variam conforme a nanopartícula utilizada, podem ser tóxicas as BPCPs, induzindo ao estresse oxidativo e comprometendo funções metabólicas essenciais, como a fixação de nitrogênio e produção de fitohormônios (Dimkpa & Bindraban, 2018; Rastogi et al., 2019).

Diante disso, este trabalho tem como objetivo analisar a interação entre Bactérias Promotoras de Crescimento em Plantas (BPCPs) e nanopartículas de zinco, selênio e doadoras de óxido nítrico em diferentes concentrações, avaliando o efeito sobre o crescimento bacteriano. Tendo como hipótese que as nanopartículas utilizadas, em concentrações definidas, e nem os meios de cultura utilizados, não interfiram no crescimento das BPCPs.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bactérias Promotoras de Crescimento em Plantas

As bactérias promotoras de crescimento em Plantas (BPCPs) constituem um grupo diverso de microrganismos que desempenham papéis importantes no desenvolvimento das plantas. Esses microrganismos são encontrados principalmente no microbioma do solo, onde colonizam regiões como a rizosfera, rizoplano, filoplano e até tecidos internos das plantas (OLENSKA et al., 2020). Suas capacidades de colonizar diferentes ambientes dos vegetais é atribuída a rizocompetência, envolvendo a competição por nutrientes e espaço, permitindo manter populações viáveis e benéficas para as plantas (RAAIJMAKERS et al., 2009).

Os benefícios que as BPCPs proporcionam incluem efeitos diretos, como o fornecimento de nutrientes essenciais, e indiretos, como a proteção contra estresses abióticos e bióticos. Essas bactérias promovem o crescimento vegetal por meio de

processos como fixação biológica de nitrogênio (FBN), solubilização de fosfatos, produção de sideróforos e fitohormônios, além do controle biológico contra patógenos (AMBROSINI et al., 2015; dos PASSOS et al., 2014).

2.1.1 Fixação Biológica de Nitrogênio

O nitrogênio é um macronutriente essencial para todos os seres vivos. Ele compõe moléculas-chave como ácidos nucleicos, proteínas e ATP, e apesar de estar amplamente disponível na atmosfera na forma de N_2 , não pode ser assimilado diretamente pelas plantas. Desta maneira, algumas bactérias realizam a fixação biológica do nitrogênio (FBN), onde o N_2 é convertido em amônia (NH_3) através de uma enzima especializada chamada nitrogenase (DAVIES-BERNARD; FRIEDLINGSTEIN, 2020).

Além de fornecer nitrogênio, essas bactérias também são capazes de produzir fitohormônios que estimulam o crescimento radicular, favorecendo a absorção de nutrientes e água (RODRIGUES et al., 2017). Em sistemas agrícolas, a aplicação de inoculantes contendo genótipos bacterianos tem sido adotada, especialmente em culturas de milho, trigo, feijão e soja (HUNGRIA; MENDES; MERCANTE, 2013).

2.1.2 Solubilização de Fosfatos

O Fósforo é essencial para o metabolismo energético e estrutural das plantas sendo frequentemente um fator limitante devido à sua baixa disponibilidade em formas solúveis no solo. Diversos microrganismos, incluindo as BPCPs, possuem a capacidade de solubilizar o elemento fósforo que se encontra imobilizado em minerais ou na matéria orgânica, por meio da produção de ácidos orgânicos ou exoenzimas fosfatases, respectivamente (RAYMOND et al., 2020; TIAN et al., 2021).

A utilização dessas bactérias torna o fósforo mais acessível às plantas podendo promover o crescimento vegetal em solos com baixa disponibilidade deste nutriente. Existem casos em que a inoculação desses microrganismos tem sido proposta como alternativa sustentável para a redução do uso de fertilizantes fosfatados em sistemas agrícolas de alta produtividade. (ROCA et al., 2013).

2.1.3 Produção de Sideróforos

O ferro é essencial para muitos processos metabólicos, como a fotossíntese e a respiração, porém apresenta uma baixa disponibilidade no solo na forma solúvel (Fe^{3+}). Contudo, algumas BPCPs sintetizam sideróforos, compostos que quelam o ferro e o tornam disponível para absorção pelas plantas. Esses sideróforos facilitam tanto a nutrição vegetal como também podem reduzir a disponibilidade de ferro a fitopatógenos, reduzindo sua sobrevivência na rizosfera. (DIMKPA, 2016; AL SHAER et al., 2020).

Os complexos sideróforo-ferro, produzidos pelas bactérias, são absorvidos pelas raízes, aumentando a disponibilidade desse micronutriente para a planta. Além disso, algumas estirpes bacterianas apresentam propriedades bactericidas associadas aos sideróforos, que contribuem para o controle biológico (GHOSH; BERA; CHAKRABARTY, 2020).

2.1.4 Produção de Auxinas

As auxinas são fitohormônios essenciais para a regulação do crescimento vegetal, especialmente controlando a arquitetura radicular e diferenciação vascular. Diversas BPCPs, incluindo os gêneros *Azospirillum*, *Pseudomonas* e *Enterobacter*, sintetizam ácido indol-3-acético (AIA), a principal auxina envolvida em promover o

crescimento radicular e a formação de raízes secundárias (KHAN et al., 2020; TSUKANOVA et al., 2017).

Sendo assim, as auxinas bacterianas desempenham um papel importante na sinalização entre raízes e parte aérea, que influenciam processos como tropismo e dominância apical (MADHAIYAN et al., 2004).

2.1.5 Controle Biológico

Algumas BPCPs podem atuar de forma indireta na promoção do crescimento ao proteger as plantas contra patógenos. O controle biológico pode ocorrer por meio de competição por nutrientes e sítios de colonização na raiz, produção de enzimas líticas ou antibióticos, e pela secreção de sideróforos que limitam a disponibilidade de ferro para os patógenos (RAAIJMAKERS et al., 2010; BENEDUZI et al., 2012).

Estudos realizados com estirpes de *Bacillus* e *Pseudomonas* demonstraram a eficácia dessas bactérias em controlar doenças, onde reduziram perdas de produtividade e melhoraram a saúde das plantas (NEPOMOCENO; PIETROBON; CASTANHEIRA, 2021).

2.2 Nanopartículas e suas Aplicações

2.2.1 Nanotecnologia e introdução a nanopartículas

A nanotecnologia refere-se à manipulação de materiais em escala nanométrica, onde permite a criação de produtos químicos, físicos e biológicos inovadores. Este ramo envolve áreas como química, ciências dos materiais, medicina, física, engenharia e biotecnologia (Abbasi et al., 2017; Vega-Vásquez et al., 2020).

As NPs possuem tamanhos que variam entre 1 e 100 nm (Asha et al., 2016) e possuem uma elevada área de superfície específica, conferindo propriedades únicas,

como alta reatividade química, capacidades catalíticas e propriedades ópticas específicas (Krishnaraj et al., 2012). Essas características estão relacionadas ao seu tamanho reduzido e a sua estrutura superficial, podendo especialmente entrar em plantas e translocar entre raízes e partes aéreas com facilidade (Li et al., 2017).

Na agricultura, nanopartículas são estudadas para enfrentar desafios como mudanças climáticas, doenças e escassez hídrica (Fincheira et al., 2021). As NPs podem servir como fertilizantes e pesticidas, corrigindo práticas inadequadas do uso excessivo de fertilizantes químicos (Achari & Kowshik, 2018). Estudos relatam que as NPs metálicas, como as de zinco, podem aumentar a tolerância ao estresse em plantas, melhorar a fotossíntese e contribuir para a nutrição mineral, enquanto compostos encapsulados como o óxido nítrico, podem influenciar a germinação, amadurecimento de frutos e na tolerância a estresses. (Achari & Kowshik, 2018; Corpas et al., 2019).

2.3 Nanopartículas metálicas

2.3.1 Nanopartícula de Zinco

As nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) tem sido estudada em diversos setores devido às suas propriedades. Essas nanopartículas são utilizadas em produtos como protetores solares devido a sua capacidade de refletir a radiação, em tintas de pintura devido a suas propriedades antimicrobianas e fotocatalíticas, e na indústria de borracha como catalisadores (El-Feky et al., 2014; LU et al., 2015; Vance et al., 2015).

No contexto agrícola, o zinco é considerado um micronutriente essencial para as plantas, tendo um papel importante na atividade de diversas enzimas, incluindo

RNA polimerases e superóxido dismutase (Lindsay, 1972). A deficiência deste nutriente pode resultar em um crescimento reduzido nas plantas e diminuição de lidar com condições de estresse (Sharma et al., 2013).

Sendo assim, as nanopartículas de ZnO oferecem benefícios significativos, mas a sua eficácia pode ser influenciada por propriedades do solo e métodos de aplicação. Assim, é necessário considerar essas variáveis para maximizar os benefícios e evitar os possíveis efeitos adversos do uso destas nanopartículas (Jóska & Oleszczuk, 2013).

2.3.2 Nanopartícula de Selênio

As nanopartículas de selênio (SeNPs) têm atraído grande interesse devido aos seus potenciais benefícios agrônômicos. O selênio é um micronutriente que desempenha um papel crucial na agricultura, estando envolvido na tolerância das plantas contra estresses oxidativos, além de ser um componente vital para o metabolismo vegetal (Baskaran et al., 2019).

O selênio, embora seja necessário em pequenas quantidades para o crescimento vegetal, tem sido identificado como um elemento de alto potencial antioxidante, auxiliando na proteção contra os danos causados por radicais livres gerados durante os processos de estresse (Sohail et al., 2017). As NPs de selênio são uma forma inovadora para a entrega deste micronutriente, que oferecem vantagens em relação às fontes convencionais, como os sais solúveis, devido a sua alta biodisponibilidade e capacidade de liberação controlada, o que permite que as plantas absorvam o selênio de maneira mais eficiente (Zhang et al., 2019).

Estudos mostraram que a aplicação das SeNPs pode ajudar na resistência das

plantas contra estresses abióticos, como a seca, toxicidade de metais pesados e salinidade. Isso pode estar relacionado com o fato destas nanopartículas ter efeito na atividade das enzimas antioxidantes, como a catalase, peroxidase e superóxido dismutase, que desempenham um papel importante na neutralização de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Fung et al., 2020). Além do mais, o selênio, quando fornecido na forma de NPs, pode estimular a biossíntese de compostos fenólicos e proteínas, o que pode contribuir para a melhoria da resistência das plantas (Rao et al., 2019).

Sendo assim, estudos demonstraram que a eficiência da absorção de selênio pelas plantas é aprimorada com o uso das SeNPs, devido a maior área superficial dessas partículas, facilitando a sua interação com as células das plantas (Sohail et al., 2017).

Em plantas de arroz e trigo, foi observado que as NPs de selênio aumentaram o rendimento das culturas, além de promoverem maior resistência a seca e ao estresse salino (Zhang et al., 2019; Ravikumar et al., 2019). Com isso, essas nanopartículas apresentam uma ferramenta inovadora e promissora para as plantas, onde possuem o potencial de desempenhar um papel importante na agricultura.

2.3.3 Nanopartícula doadora de Óxido Nítrico

As nanopartículas doadoras de óxido nítrico (NPsNO) têm ganhado destaque por sua capacidade de fornecer esse composto de forma controlada as plantas, promovendo benefícios significativos ao desenvolvimento vegetal. O óxido nítrico (NO) é uma molécula sinalizadora que desempenha um papel no importante no metabolismo e na fisiologia das plantas, estando envolvido em processos como a germinação de sementes, crescimento radicular, senescência e resposta a estresses

ambientais (Corpas et al., 2019).

A liberação controlada de NO nas plantas é um desafio já que possui uma natureza volátil e meia-vida curta. Sendo assim, as nanopartículas doadoras de NO têm sido desenvolvidas para superar essas limitações, o que permite uma liberação gradual e eficiente do composto nas plantas (Wang et al., 2020).

No contexto da liberação de óxido nítrico (NO), um dos compostos precursores mais estudados é a S-nitrosoglutationa (GSNO), uma molécula envolvida na regulação dos níveis de NO em sistemas biológicos (Corpas et al., 2013). A GSNO atua como uma reserva intracelular de NO, desempenhando um papel crucial na sinalização a resposta ao estresse oxidativo em plantas e microrganismos (Begara-Morales et al., 2018). A estabilização e liberação controlada de GSNO podem ser aprimoradas pelo uso de nanopartículas a base de quitosana, como a promoção do crescimento vegetal e a modulação da interação entre BPCPs e plantas (Seabra et al., 2014). Dessa forma, o uso combinado de quitosana e GSNO pode representar uma abordagem, inovadora para potencializar os efeitos benéficos das nanopartículas doadoras de NO>

Estudos demonstram que NPsNO podem melhorar o crescimento e produtividade das plantas, como por exemplo, um experimento com nanopartículas de GSNO indicaram melhorias no crescimento de plantas de milho que foram submetidas a estresse salino, sendo associada ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes (Sun et al., 2019). Em plantas de arroz, foi observado que a aplicação de NPs contendo NO aumentou a absorção de nitrogênio e fósforo e melhorou a eficiência no uso da água (Chen et al., 2021).

Um outro componente utilizado para a síntese das nanopartículas doadoras de

óxido nítrico é a quitosana, um biopolímero derivado da quitina que atua como matriz estabilizadora, permitindo a liberação controlada desse composto bioativo (Singh et al., 2019). A quitosana é um subproduto amplamente reaproveitado pela indústria e apresenta propriedades notáveis, como biodegradabilidade e biocompatibilidade, tornando-se um material promissor para aplicações agrícolas e biomédicas (Kumur et al., 2004).

Sendo assim, as nanopartículas doadoras de NO representam uma ferramenta promissora para aumentar a produtividade, especialmente em cenários de mudanças climáticas e estresses ambientais crescentes, podendo ser uma solução eficaz e sustentável.

2.4 Estudos sobre o efeito de Nanopartículas e Bactérias

As BPCPs desempenham um papel crucial na sustentabilidade agrícola, promovendo o crescimento das plantas por meio de mecanismos como fixação de nitrogênio, produção de fitohormônios, solubilização de nutrientes e indução de resistência a estresses bióticos e abióticos (Lugtenberg & Kamilova, 2009). Recentemente, o uso de nanopartículas (NPs) na agricultura emergiu como uma estratégia promissora para melhorar a eficiência no uso de insumos, devido à sua alta reatividade e capacidade de liberação controlada de compostos bioativos. No entanto, a interação entre BPCPs e NPs ainda é um campo de estudo emergente, apresentando lacunas significativas no conhecimento.

As nanopartículas têm demonstrado efeitos variados sobre as bactérias que podem ser positivos ou negativos, dependendo de suas propriedades químicas e físicas, como sua composição e concentração. Estudos demonstram que NPs de óxido de zinco (ZnO) possuem propriedades antimicrobianas, podendo inibir o crescimento de

microrganismos, incluindo as BPCPs (Rai et al., 2012). Sendo assim, a interação entre BPCPs e NPs pode trazer benefícios significativos para a agricultura, onde as nanopartículas podem fornecer nutrientes diretamente para as plantas, enquanto melhoram a colonização das raízes pelas bactérias (Nair et al., 2010).

No entanto, a toxicidade das nanopartículas para as bactérias promotoras de crescimento vegetal é uma preocupação que deve ser relevada, devido a possíveis efeitos negativos observados em parâmetros como a viabilidade celular. Por exemplo, estudos demonstram que altas concentrações de NPs de prata podem inibir o crescimento de *Azospirillum brasilense*, uma BPCP amplamente utilizada na agricultura (Choudhary et al., 2020).

2.5 Lacunas no Conhecimento e Relevância da Pesquisa

Embora tenham sido realizados avanços importantes na compreensão da interação entre as NPs e as BPCPs, algumas combinações de interação podem ser danosas, dependendo da nanopartícula, das suas propriedades físico-químicas e da estirpe bacteriana utilizada, podendo ter uma resposta variada dependente destes fatores.

NPs de metais são frequentemente associadas a efeitos tóxicos em microrganismos devido a sua capacidade de induzir o estresse oxidativo. Foi relatado em estudos que a toxicidade pode ser mediada pela geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), que causam danos às membranas celulares, proteínas e DNA bacteriano (Rai et al., 2012; Choudhary et al., 2020).

Estudos demonstraram um mecanismo em que as NPs de ZnO podem penetrar na parede bacteriana, desestabilizar a membrana plasmática e interferir no

metabolismo celular, reduzindo a viabilidade de bactérias como *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* (Khan et al., 2017). De forma semelhante, NPs de prata podem se ligar a proteínas bacterianas e ao DNA, inativando processos essenciais, levando a morte celular (Choudhary et al., 2020).

Dada a variabilidade nos efeitos das NPs sobre as BPCPs, é necessário desenvolver estudos detalhados que avaliem a resposta da interação entre diferentes tipos de nanopartículas e bactérias. Estas informações são importantes para traçar diretrizes claras e baseadas em evidências para o uso de NPs para a minimizar os riscos, levando em consideração as implicações a longo prazo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Bactérias Promotoras do Crescimento em Plantas

Foram utilizados seis isolados bacterianos: *Bacillus velezensis* (ZK), 14-JLB-*Herbaspirillum* sp, 4 CT *Bacillus*, 9 CL *Streptomyces*, 98 CT *Mesorhizobium* e 112 R1 CT *Bacillus*. O isolado ZK foi descrito por Ruiz- García et al., 2005; Dunlap et al., 2016 e foi caracterizada como BPCP por Goes et al. (2012), isolado de solo agrícola. Os outros foram descritos por Serqueira (2023) provenientes de solo florestal, especificadamente da rizosfera de espécies nativas da mata atlântica, Embaúba (*Cecropia pachystachya*) e Jequitibá (*Cariniana estrellensis*).

Colônias isoladas das seis estirpes bacterianas foram cultivadas separadamente em meio líquido DYGs, descrito por Doberener et al. (1995). Elas foram cultivadas em agitadores orbitais a 180 rpm e $30 \pm 2^\circ$ C por 24 horas. Posteriormente, antes de ser utilizada, foi adicionado 1mL da suspensão cultivada em *ependorf* e centrifugada a 12.000 rpm por 2 minutos para obter um precipitado de

células. As suspensões celulares foram utilizadas como inóculo após o ajuste da concentração de células em solução salina para 0,5 da escala McFarland, com o uso do densímetro para a realização do experimento.

3.2 Nanopartículas

As suspensões de nanopartículas de zinco, selênio e de quitosana foram disponibilizadas pela Profa. Dra. Amedea Barozzi Seabra da Universidade Federal do ABC, São Paulo. As nanopartículas de óxido nítrico foram sintetizadas a partir de nanopartículas de quitosana que foram preparadas a partir do método de gelificação ionotrópica. A quitosana foi dissolvida em ácido acético (1%) e em seguida foi adicionado glutathione (GSH) na solução deixando em agitação por 90 minutos, após uma solução de tripolifosfato de sódio foi adicionada gota a gota, obtendo uma suspensão de NPs contendo 20 mM de GSH como concentração final (SILVEIRA et al., 2019). Pouco antes dessa nanopartícula ser utilizada foi adicionado nitrito de sódio (NaNO_2) à suspensão de NPs ocorrendo a nitrosação levando a formação de S-nitrosoglutathione (GSNO), que foi mantida em geladeira a 10°C por uma hora no escuro. Após esse tempo, a suspensão foi diluída em água destilada para a concentração de 25,6 mM.

As nanopartículas de Zinco foram: ZnO Sigma Aldrich (comercial), ZnO *Myrcia oblongata* (biogênica) e ZnO PVA ((poli(álcool vinílico) (química)) que para serem utilizadas foram sonicadas em 5 mL de Solução Salina Tamponada com Fosfato (PBS).

As nanopartículas de Selênio foram sintetizadas na UFABC pelos alunos da Profa. Dr. Amedea Barozzi Seabra por meio da redução química de Na_2SeO_3 com ácido ascórbico, utilizando PVA como estabilizador (Boroumand et al. 2019 e Freire et

al. 2022 com modificações). Resumidamente, 10 ml de Na_2SeO_3 12,5 mM e 10 mL de PVA 0,025% foram misturados e em seguida 30 mL de ácido ascórbico 12,5 mM foi adicionado gota a gota à mistura (1 mL min^{-1} , Minipuls 3, Gilson, Middleton WI) sob agitação magnética. Após a adição de ácido ascórbico ocorre a mudança de coloração de incolor para laranja, indicando a formação de SeNPs.

3.3 Meios de cultura

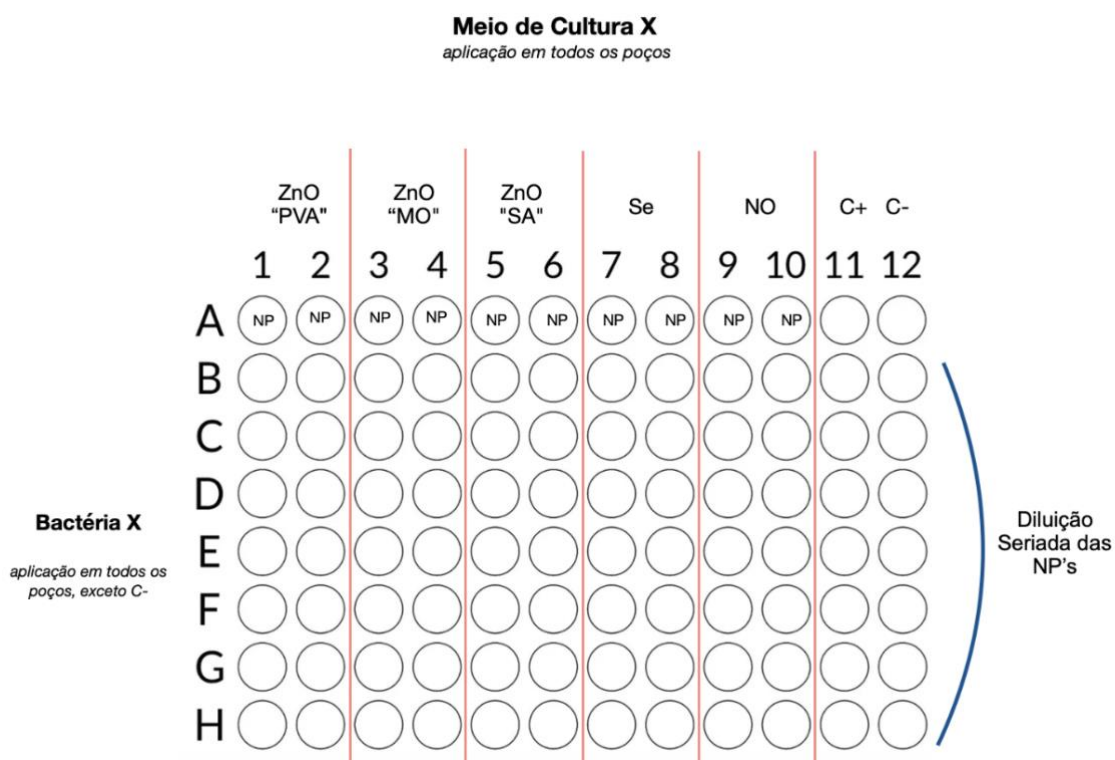
Para o cultivo das bactérias, foram utilizados três meios de cultura distintos: DYGs, F4 e Mueller-Hinton. O meio DYGs é composto por glicose, peptona, extrato de levedura, K_2HPO_4 e $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. O meio F4 contém sacarose, extrato de levedura, FeEDTA, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaCl, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NH_4NO_3 e uma solução de micronutrientes, além de agentes estruturantes como glicerina, goma xantana e polivinilpirrolidona. Já o meio Mueller-Hinton, amplamente utilizado para teste de susceptibilidade antimicrobiana, é composto por ágar, cloreto de sódio e amido, proporcionando um ambiente padronizado para o crescimento bacteriano. Esses diferentes meios foram selecionados para garantir condições adequadas de crescimento e avaliar possíveis diferenciações de crescimento das bactérias utilizadas no experimento.

3.4. Teste de microdiluição em caldo (CLSI, 2015)

Foram utilizadas placas de poliestireno de fundo U com 96 poços. Foi adicionado 100 μL de meio de cultura em todos os poços exceto nos controles, onde foi adicionado 200 μL . Posteriormente, foi adicionado a nanopartícula nos poços iniciais (1-12) e realizado a diluição seriada, transferindo 100 μL de cada diluição testada e homogeneizando adequadamente, deixando as duas últimas colunas como controle positivo e negativo, sem adição de NPs. Após, foi adicionado 100 μL do

inóculo em todos os poços (exceto o controle negativo) e as placas foram incubadas por 20 horas a 28 °C. Os resultados foram obtidos após ter realizado duas placas para cada estirpe bacteriana. A Figura 1 exemplifica do desenho experimental utilizado no teste de microdiluição.

Figura 1 — Croqui das placas de 96 poços utilizadas no experimento.



Fonte: o próprio autor.

Para a Concentração Inibitória Mínima (CIM) considera-se a menor concentração do tratamento que inibiu completamente o crescimento, definido por inspeção visual das placas de cultivo após 20 h de incubação, tendo em conta o crescimento no tratamento controle e a ausência de contaminação. A diluição seriada foi realizada com redução na concentração inicial de cada NP pela metade, tendo como concentração inicial para ZnO Sigma Aldrich, ZnO *Myrcia Oblongata*, ZnO PVA, selênio e nanopartícula doadora de óxido nítrico (NO): 330 mg/L; 400 mg/L; 440 mg/L;

200,9 mg/ml e 6,4 mM, respectivamente. O Quadro 1 exemplifica as concentrações de NPs avaliadas no teste de microdiluição:

Quadro 1 – Concentrações das nanopartículas ZnO Sigma Aldrich, ZnO *Myrcia oblongata*, ZnO PVA, Selênio (Se) e nanopartícula doadora de óxido nítrico (NO) após a realização da diluição seriada.

ZnO Sigma Aldrich	ZnO <i>Myrcia oblongata</i>	ZnO PVA	Se	NO
(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/ml)	(mM)
330	400	440	200,9	6,4
165	200	220	100,45	3,2
82,5	100	110	50,23	1,6
41,25	50	55	25,11	0,8
20,63	25	27,5	12,56	0,4
10,31	12,5	13,75	6,28	0,2
5,16	6,25	6,875	3,14	0,1
2,58	3,125	3,44	1,57	0,05

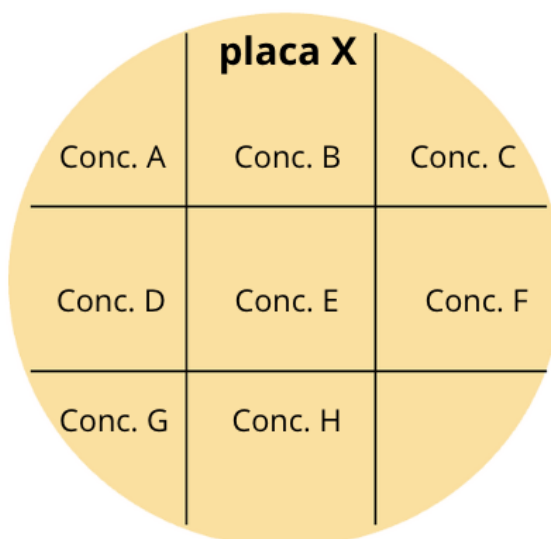
Fonte: o próprio autor

3.5 Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Placas de petri contendo meio DYGs sólido foram utilizadas para a asserção do crescimento bacteriano no teste de microdiluição, por meio do plaqueamento de cada diluição seriada avaliada para os diferentes tipos de NPs. As placas de Petri foram divididas em quadrantes que representavam os poços das placas do teste de microdiluição, como exemplificado na Figura 2. Em cada quadrante foi transferido 10 μ L da cultura coletada das placas do teste de microdiluição, e as placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas.

Após o período de incubação, foi observado em quais quadrantes o crescimento bacteriano ocorreu ou não para definir o CBM.

Figura 2 – Modelo da placa de petri utilizada no experimento. A abreviação “Conc” significa “Concentração” que foi pingada na placa.



Fonte: o próprio autor.

3.6 Análise Estatística

Para avaliar a interação entre as bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) e as nanopartículas, foram utilizadas placas de cultura como unidade amostral. O experimento foi conduzido com seis placas para cada bactéria em três diferentes meios de cultura, totalizando 18 placas por ensaio. Esse procedimento foi repetido duas vezes, resultando um total de 36 unidades amostrais analisadas. Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística utilizando o teste Qui-quadrado para verificar associações ou diferenças significativas entre as variáveis analisadas. A análise foi realizada no software RStudio, adotando um nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliadas as respostas de multiplicação celular (crescimento) de seis Bactérias Promotoras de Crescimento em Plantas (BPCPs) submetidas a cinco diferentes tipos de nanopartículas em diferentes concentrações: ZnO Sigma Aldrich, ZnO PVA, ZnO *Myrcia Oblongata*, selênio e nanopartícula doadora de óxido nítrico (NO).

Tabela 2 – Efeitos de diferentes concentrações de nanopartículas de zinco (ZnO Sigma Aldrich, ZnO PVA e ZnO *Myrcia oblongata*), Selênio (Se) e óxido nítrico (NO) sobre o crescimento de bactérias (*Bacillus velezensis* ZK, *Streptomyces* sp. 9CL, *Mesorhizobium* sp. 98CT, *Bacillus* sp. 112R1CT, *Herbaspirillum* sp. 114JLB, *Bacillus* sp. 4CT) em meio DYGs. O símbolo “+” indica o crescimento bacteriano na concentração corresponde, enquanto o símbolo “-” representa a ausência do crescimento.

Meio DYGs														
ZnO Sigma Aldrich			ZnO PVA			ZnO <i>Myrcia oblongata</i>			Selênio			NO		
[]	bactéria	efeito	[]	bactéria	efeito	[]	bactéria	efeito	[]	bactéria	efeito	[]	bactéria	efeito
330 mg/L	ZK	+	400 mg/L	ZK	+	440 mg/L	ZK	+	200,9 mg/ml	ZK	+	6,4 mM	ZK	-
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	-
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	-
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	-
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	-
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	-			
165 mg/L	ZK	+	200 mg/L	ZK	+	220 mg/L	ZK	+	100,45 mg/ml	ZK	+	3,2 mM	ZK	-
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	-
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	-
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	-
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	-
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	-			
82,5 mg/L	ZK	+	100 mg/L	ZK	+	110 mg/L	ZK	+	50,23 mg/ml	ZK	+	1,6 mM	ZK	+
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	-
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	-
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	-
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	-			
41,25 mg/L	ZK	+	50 mg/L	ZK	+	55 mg/L	ZK	+	25,11 mg/ml	ZK	+	0,8 mM	ZK	+
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	-
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	-
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
20,63 mg/L	ZK	+	25 mg/L	ZK	+	27,5 mg/L	ZK	+	12,56 mg/ml	ZK	+	0,4 mM	ZK	+
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	-
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	-
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
10,31 mg/L	ZK	+	12,5 mg/L	ZK	+	13,75 mg/L	ZK	+	6,28 mg/ml	ZK	+	0,2 mM	ZK	+
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	-
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
5,16 mg/L	ZK	+	6,25 mg/L	ZK	+	6,88 mg/L	ZK	+	3,14 mg/ml	ZK	+	0,1 mM	ZK	+
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
2,58 mg/L	ZK	+	3,125 mg/L	ZK	+	3,44 mg/L	ZK	+	1,57 mg/ml	ZK	+	0,05 mM	ZK	+
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			

Fonte: o próprio autor.

Tabela 3 – Efeitos de diferentes concentrações de nanopartículas de zinco (ZnO Sigma Aldrich, ZnO PVA e ZnO *Myrcia oblongata*), Selênio (Se) e óxido nítrico (NO) sobre o crescimento de bactérias (*Bacillus velezensis* ZK, *Streptomyces* sp. 9CL, *Mesorhizobium* sp. 98CT, *Bacillus* sp. 112R1CT, *Herbaspirillum* sp. 114JLB, *Bacillus* sp. 4CT) no meio F4. O símbolo “+” indica o crescimento bacteriano na concentração corresponde, enquanto o símbolo “-” representa a ausência do crescimento.

Meio F4														
ZnO Sigma Aldrich			ZnO PVA			ZnO <i>Myrcia oblongata</i>			Selênio			NO		
[]	bactéria	efeito	[]	bactéria	efeito	[]	bactéria	efeito	[]	bactéria	efeito	[]	bactéria	efeito
330 mg/L	ZK	+	400 mg/L	ZK	+	440 mg/L	ZK	-	200,9 mg/ml	ZK	-	6,4 mM	ZK	-
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	-
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	-
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	-
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	-			
165 mg/L	ZK	+	200 mg/L	ZK	+	220 mg/L	ZK	+	100,45 mg/ml	ZK	+	3,2 mM	ZK	+
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	-
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	-
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
82,5 mg/L	ZK	+	100 mg/L	ZK	+	110 mg/L	ZK	+	50,23 mg/ml	ZK	+	1,6 mM	ZK	+
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	-
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
41,25 mg/L	ZK	+	50 mg/L	ZK	+	55 mg/L	ZK	+	25,11 mg/ml	ZK	+	0,8 mM	ZK	+
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	-
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
20,63 mg/L	ZK	+	25 mg/L	ZK	+	27,5 mg/L	ZK	+	12,56 mg/ml	ZK	+	0,4 mM	ZK	+
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
10,31 mg/L	ZK	+	12,5 mg/L	ZK	+	13,75 mg/L	ZK	+	6,28 mg/ml	ZK	+	0,2 mM	ZK	+
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
5,16 mg/L	ZK	+	6,25 mg/L	ZK	+	6,88 mg/L	ZK	+	3,14 mg/ml	ZK	+	0,1 mM	ZK	+
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
2,58 mg/L	ZK	+	3,125 mg/L	ZK	+	3,44 mg/L	ZK	+	1,57 mg/ml	ZK	+	0,05 mM	ZK	+
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			

Fonte: o próprio autor.

Tabela 4 – Efeitos de diferentes concentrações de nanopartículas de zinco (ZnO Sigma Aldrich, ZnO PVA e ZnO *Myrcia oblongata*), Selênio (Se) e óxido nítrico (NO) sobre o crescimento de bactérias (*Bacillus velezensis* ZK, *Streptomyces* sp. 9CL, *Mesorhizobium* sp. 98CT, *Bacillus* sp. 112R1CT, *Herbaspirillum* sp. 114JLB, *Bacillus* sp. 4CT) no meio Mueller-Hinton. O símbolo “+” indica o crescimento bacteriano na concentração corresponde, enquanto o símbolo “-” representa a ausência do crescimento.

Meio Mueller-Hinton																
ZnO Sigma Aldrich			ZnO PVA			ZnO <i>Myrcia oblongata</i>			Selênio			NO				
[]	bactéria	efeito	[]	bactéria	efeito	[]	bactéria	efeito	[]	bactéria	efeito	[]	bactéria	efeito		
330 mg/L	ZK	+	400 mg/L	ZK	+	440 mg/L	ZK	+	200,9 mg/ml	ZK	+	6,4 mM	ZK	-		
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+	4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+	9	-
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+	98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+	112	-
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	-			
165 mg/L	ZK	+	200 mg/L	ZK	+	220 mg/L	ZK	+	100,45 mg/ml	ZK	+	3,2 mM	ZK	+		
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+	4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+	9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+	98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+	112	-
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	-			
82,5 mg/L	ZK	+	100 mg/L	ZK	+	110 mg/L	ZK	+	50,23 mg/ml	ZK	+	1,6 mM	ZK	+		
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+	4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+	9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+	98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+	112	-
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
41,25 mg/L	ZK	+	50 mg/L	ZK	+	55 mg/L	ZK	+	25,11 mg/ml	ZK	+	0,8 mM	ZK	+		
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+	4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+	9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+	98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+	112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
20,63 mg/L	ZK	+	25 mg/L	ZK	+	27,5 mg/L	ZK	+	12,56 mg/ml	ZK	+	0,4 mM	ZK	+		
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+	4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+	9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+	98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+	112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
10,31 mg/L	ZK	+	12,5 mg/L	ZK	+	13,75 mg/L	ZK	+	6,28 mg/ml	ZK	+	0,2 mM	ZK	+		
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+	4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+	9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+	98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+	112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
5,16 mg/L	ZK	+	6,25 mg/L	ZK	+	6,88 mg/L	ZK	+	3,14 mg/ml	ZK	+	0,1 mM	ZK	+		
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+	4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+	9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+	98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+	112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			
2,58 mg/L	ZK	+	3,125 mg/L	ZK	+	3,44 mg/L	ZK	+	1,57 mg/ml	ZK	+	0,05 mM	ZK	+		
	4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+		4 CT	+	4 CT	+
	9	+		9	+		9	+		9	+		9	+	9	+
	98	+		98	+		98	+		98	+		98	+	98	+
	112	+		112	+		112	+		112	+		112	+	112	+
114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+	114	+			

Fonte: o próprio autor.

No meio DYGs, todas as bactérias avaliadas (*Bacillus velezensis* ZK, *Streptomyces* sp. 9CL, *Mesorhizobium* sp. 98CT, *Bacillus* sp. 112R1CT, *Herbaspirillum* sp. 114JLB, *Bacillus* sp. 4CT) não apresentaram diferenças significativas no crescimento em todas as concentrações de ZnO Sigma Aldrich, ZnO *Myrcia oblongata*, ZnO PVA e selênio.

Entretanto, o crescimento das BPCPs com a nanopartícula doadora de óxido nítrico (NPsNO) mostrou um comportamento distintos. Em concentrações de 6,4 mM e 3,2 mM, as estirpes ZK e 9CL não cresceram. Esses resultados corroboram a literatura, que sugere que compostos liberadores de NO, dependendo da dose, podem atuar como agentes antimicrobianos devido a geração de espécies reativas de

nitrogênio (ERNs), que danificam as estruturas essenciais das células, como DNA, proteínas e lipídios (FANG, 2004). A ausência de crescimento no meio DYGs pode estar relacionada ao meio ser mais nutritivo e permitir um metabolismo mais ativo de bactérias, que, por sua vez, poderia facilitar a interação com as ERNs, levando a um efeito mais intenso de NO.

Em relação ao meio F4, as nanopartículas de ZnO Sigma Aldrich, ZnO *Myrcia oblongata*, ZnO PVA e selênio também não demonstraram impacto significativo no crescimento das bactérias (p -valor = 1). Embora no meio F4 essas nanopartículas não tenham afetado significativamente o crescimento bacteriano, é importante notar que estudos realizados demonstraram que SeNPs podem possuir atividade antimicrobiana. Uma revisão de Ao et al. (2023) destaca que as nanopartículas de selênio podem atuar como agentes antibacterianos, causando danos na membrana celular e estresse oxidativo (Prasathkumar et al., 2022).

Além disso, Salah et al. (2024) relatou que amostras contendo SeNPs exibiram influência antibacteriana contra várias cepas bacterianas. Portanto, embora no presente estudo as nanopartículas de selênio não tenham demonstrado impacto significativo no crescimento das bactérias analisadas, a literatura sugere que, sob diferentes condições e concentrações, elas podem exercer efeito antimicrobiano sobre as bactérias.

Por outro lado, a exposição a nanopartículas doadoras de óxido nítrico (NO) no meio F4 revelou diferenças estatisticamente significativas. Na concentração de 6,4 mM, nenhuma das estirpes bacterianas obtiveram crescimento. Este resultado sugere que a composição do meio F4, que contém uma mistura de nutrientes e agentes estruturantes, pode ter influenciado a tolerância das bactérias ao NO. O

F4 possui componentes como goma Santana e polivinilpirrolidona, que podem ter impactado a viscosidade do meio e conseqüentemente, a interação entre as bactérias e nanopartículas, modulando a resposta bacteriana e induzindo ao estresse nitrosativo, a desaminação do DNA, a nitrosação de enzimas e prejudicando funções celular e causando a apoptose celular (SILVA FILHO, 2022).

No meio Mueller-Hinton (MH), os resultados foram semelhantes aos já observados em relação as nanopartículas de ZnO e selênio, que não apresentaram efeitos significativos sobre o crescimento bacteriano.

No entanto, a NPsNO demonstrou um padrão distinto de inibição. Na concentração de 6,4 mM, a estirpe ZK, 9CL, 112R1CT e 114JLB não cresceram. Na concentração mais baixa de 3,2 mM as estirpes 114JLB e 112R1CT foram inibidas e somente a 112R1CT não cresceu na concentração de 1,6 mM. Esses dados podem reforçar a ideia de que o NO podem ser tóxicos em níveis mais elevados para as bactérias, o que está de acordo com os estudos que demonstram o efeito inibitório de ERNs em processos metabólicos essenciais de microrganismos (LU et al., 2019). Em relação ao do meio Mueller-Hinton, ele possui uma composição mais simples e padronizada, que pode ter permitido uma avaliação mais clara dos efeitos das NPNOs, sem a interferência de outros componente estruturantes, como apresentado no meio F4.

Ademais, de forma geral, o peroxinitrito (ONOO^-), composto reativo derivado do NO, pode causar danos oxidativos à maquinaria celular dos patógenos e promover reações de peroxidação lipídica. As bactérias, em resposta a esse estresse nitrosativo, podem gerar um produto da reação do NO e glutathiona intracelular, em presença do oxigênio, chamado S-nitrosoglutationa (GSNO). Esse produto atua como

um doador de NO, facilitando a trans S-nitrosilação que quando ocorre o grupo NO é transferido para outras proteínas dentro da célula, mas isso pode afetar processos fisiológicos essenciais para a sobrevivência da bactéria, dependendo de como as proteínas e processos celulares são modificados (FRIEDMAN et al., 2011).

Portanto, os resultados deste estudo sugerem que a interação entre nanopartículas doadoras de óxido nítrico (NPsNO) e as BPCPs é influenciada pela composição dos meios de cultura e pelas concentrações das nanopartículas, destacando a importância de considerar as condições de cultivo ao avaliar a interação entre as bactérias e as nanopartículas.

Tabela 5 – Valores de p obtidos a partir do teste Qui-quadrado para avaliação da significância estatística do efeito das nanopartículas de zinco (ZnO Sigma Aldrich, ZnO PVA e ZnO *Myrcia oblongata*), selênio (Se) e óxido nítrico (NO) sobre o crescimento de bactérias (ZK, 9, 8, 112, 114 e 4CT) em três meios de cultivo (DYGs, F4 e Mueller-Hinton). Os valores destacados com “*” indicam significância estatística ($p < 0,05$).

Meio DYGs			Meio F4			Meio Mueller-Hinton		
Nanopartícula	Bactéria	p-valor	Nanopartícula	Bactéria	p-valor	Nanopartícula	Bactéria	p-valor
ZnO Sigma Aldrich	ZK	1	ZnO Sigma Aldrich	ZK	1	ZnO Sigma Aldrich	ZK	1
	4CT	1		4CT	1		4CT	1
	9	1		9	1		9	1
	98	1		98	1		98	1
	112	1		112	1		112	1
	114	1		114	1		114	1
ZnO PVA	ZK	1	ZnO PVA	ZK	1	ZnO PVA	ZK	1
	4CT	1		4CT	1		4CT	1
	9	1		9	1		9	1
	98	1		98	1		98	1
	112	1		112	1		112	1
	114	1		114	1		114	1
ZnO <i>Myrcia oblongata</i>	ZK	1	ZnO <i>Myrcia oblongata</i>	ZK	0,33	ZnO <i>Myrcia oblongata</i>	ZK	1
	4CT	1		4CT	1		4CT	1
	9	1		9	1		9	1
	98	1		98	1		98	1
	112	1		112	1		112	1
	114	1		114	1		114	1
Selênio	ZK	1	Selênio	ZK	0,38	Selênio	ZK	1
	4CT	1		4CT	1		4CT	1
	9	1		9	1		9	1
	98	1		98	1		98	1
	112	1		112	1		112	1
	114	1		114	1		114	1
NO	ZK	0,03*	NO	ZK	0,08	NO	ZK	0,03*
	4CT	0,19		4CT	0,03*		4CT	1
	9	0,03*		9	1		9	0,03*
	98	0,06		98	0,03*		98	1
	112	0,15		112	0,03*		112	0,03*
	114	0,06		114	0,03*		114	0,03*

Fonte: o próprio autor.

Contudo, os resultados sugerem que as nanopartículas avaliadas, com exceção do NO, não afetam o crescimento bacteriano nas condições testadas. No entanto, a toxicidade da nanopartícula doadora de óxido nítrico em concentrações mais altas sugere sua capacidade de afetar o crescimento bacteriano de maneira dependente da espécie, por conterem diferenças genéticas ou fisiológicas.

Além disso, sugere-se que os efeitos observados variam conforme o meio de cultura utilizado, indicando que a composição do meio pode modular a resposta bacteriana a presença das nanopartículas. NO meio DYGs, o impacto do NO foi mais evidente para algumas estirpes, enquanto no meio F4 e Mueller-Hinton, certas espécies apresentaram maior resistência, possivelmente devido a disponibilidade diferenciada de nutrientes e interações química específicas.

Dessa forma, o presente estudo sugere que a capacidade antimicrobiana das nanopartículas doadoras de óxido nítrico pode ser influenciada não apenas pela espécie bacteriana, mas também pelo meio de cultivo, reforçando a importância de avaliar diferentes condições experimentais. Sendo necessário mais estudos na área para identificar a melhor concentração e condição para o crescimento de cada microrganismo junto a nanopartícula a ser utilizada.

5. CONCLUSÃO

A pesquisa demonstrou que as nanopartículas de ZnO Sigma Aldrich, ZnO PVA, ZnO *Myrcia oblongata* e selênio não afetaram significativamente o crescimento das Bactérias Promotoras de Crescimento em Plantas (BPCPs) nos meios e concentrações que foram testados. No entanto, as nanopartículas doadoras de óxido nítrico (NPsNO) apresentaram um efeito inibitório dependente da espécie e da concentração, sugerindo um potencial antimicrobiano em níveis mais elevados. Além disso, que os resultados do crescimento bacteriano podem ser influenciados pelo meio de cultura, visto que os resultados variaram conforme a composição nutricional e os componentes estruturantes de cada meio.

Sendo assim, esses resultados reforçam a necessidade de estudos futuros para definir concentrações seguras e eficazes para cada tipo de microrganismo, considerando a estirpe bacteriana e o meio de cultivo, a fim de otimizar a aplicação de nanopartículas sem comprometer o crescimento microbiano benéfico.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, E.; MILANI, M.; FAHIMI-KASHANI, N.; TAJBAKHS, S.; PARDAKHTY, A.; AKRAMI, M.; HAMBLIN, M. R. Silver nanoparticles: synthesis methods, bio-applications and properties. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 43, n. 5, p. 544-561, 2017.
- ACHARI, A.; KOWSHIK, M. Recent developments on nanotechnology in agriculture: plant mineral nutrition, health, and interactions with soil microflora. **Plant Nanotechnology**, p. 241-264, 2018.
- ALAM, H.; KHATOON, N.; RAZA, M.; GHOSH, P. C.; SARDAR, M. Synthesis and characterization of nano selenium using plant biomolecules and their potential applications. **BioNanoScience**, v. 9, p. 96–104, 2018.
- AL SHAER, M. et al. The interplay between plant growth-promoting bacteria and iron availability: Mechanisms and applications. **Applied Soil Ecology**, v. 149, p. 103504, 2020.
- AMBROSINI, A. et al. Screening of plant growth promoting rhizobacteria isolated from sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Applied Soil Ecology**, v. 91, p. 21–29, 2015.
- ASHA, S. K.; KUMAR, A. S.; RADHA, P.; SUJATHA, K. V.; SWARNALATHA, G. Nano fertilizer: novel product for enhanced nutrient use efficiency and crop productivity. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 2, n. 1, p. 60-63, 2016.
- BASKARAN, C.; VENKATESH, R.; MUTHUKUMARAN, S. Biosynthesis of selenium nanoparticles and its beneficial role in agriculture: A review. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 22, n. 2, p. 23-30, 2019.
- BEGARA-MORALES, J. C. et al. Nitric oxide buffering and conditional nitric oxide release in stress response: The emerging role of S-nitrosoglutathione and its catabolizing enzyme, S-nitrosoglutathione reductase. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1-15, 2018.
- BENEDUZI, A. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 4, p. 1044–1051, 2012.
- BOROUMAND, S.; SAFARI, M.; SHAABANI, E.; SHIRZAD, M.; FARIDI-MAJIDI, R. Selenium nanoparticles: synthesis, characterization and study of their cytotoxicity, antioxidant and antibacterial activity. **Materials Research Express**, v. 6, n. 8, p. 0850d8, 2019.
- CORPAS, F. J. et al. S-nitrosoglutathione reductase-dependent superoxide production is required for root elongation in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 6, p. 1739-1750, 2013.

CHEN, D.; SHEN, Y.; XIAO, X.; XIE, F.; ZHANG, H.; WANG, W. Effects of nitric oxide-releasing nanoparticles on nitrogen and phosphorus absorption and water use efficiency in rice. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 184, p. 45-55, 2021.

CHOUDHARY, S.; SARASWAT, D.; SONI, S. Toxicity of silver nanoparticles to *Azospirillum brasilense*: a study on growth, viability, and metabolic activity. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 14, p. 100351, 2020.

CORPAS, F. J.; BARROSO, J. B.; PALMA, J. M. Nitric oxide and hydrogen sulfide in plants: which comes first? **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 17, p. 4391-4404, 2019.

CREMONINI, E.; BOARETTI, M.; VANDECANDELAERE, I.; ZONARO, E.; COENYE, T.; LLEO, M. M.; et al. Biogenic selenium nanoparticles synthesized by *Stenotrophomonas maltophilia* SelTE02 loose antibacterial and antibiofilm efficacy as a result of the progressive alteration of their organic coating layer. **Microbial Biotechnology**, v. 11, p. 1037–1047, 2018. DOI: 10.1111/1751-7915.13260.

DAVIES-BERNARD, T.; FRIEDLINGSTEIN, P. The global nitrogen cycle: Past, present, and future. **Environmental Research Communications**, v. 2, n. 12, p. 125002, 2020.

DIMKPA, C. O. Microbial siderophores: Production, detection and application in agriculture and environment. **Environmental Microbiology Reports**, v. 8, n. 5, p. 733–742, 2016.

DIMKPA, C. O.; BINDRABAN, P. S. Nanofertilizers: New products for the industry? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 26, p. 6462–6473, 2018.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. Brasília: Embrapa-SPI, 1995. 60 p.

DOS PASSOS, J. F. et al. Bactérias promotoras de crescimento de plantas e seu potencial biotecnológico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 1239–1252, 2014.

EL-FEKY, S. A.; EL-KHORBOTLY, A.; HAMAD, H. A. ZnO nanoparticles applications in solar cells and transparent conducting films. **Renewable Energy**, v. 75, p. 123-129, 2014.

FANG, F. C. Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 10, p. 820–832, 2004.

FINCHEIRA, P.; QUIROZ, A. Microbial volatiles as plant growth inducers. **Microbiological Research**, v. 248, p. 126763, 2021.

FREIRE, B.; CAVALCANTI, Y.; LANGE, C.; PIERETTI, J.; PEREIRA, R.; GONÇALVES, M.; NAKAZATO, G.; SEABRA, A. I.; BATISTA, B. Evaluation of collision/reaction gases in single-particle ICP-MS for sizing selenium nanoparticles and assessment of their antibacterial activity. **Nanotechnology**, v. 33, n. 35, p. 355702, 2022.

FRIEDMAN, A.; et al. Susceptibility of Gram-positive and -negative bacteria to novel nitric oxide-releasing nanoparticle technology. **Virulence**, v. 2, p. 217-222, 2011.

FUNG, W. Y.; YIP, T. C.; LAI, C. M.; CHUNG, T. W. Selenium nanoparticles: Properties, synthesis, and biomedical applications. **Applied Nanoscience**, v. 10, n. 5, p. 1679-1696, 2020.

GHOSH, R.; BERA, A.; CHAKRABARTY, R. Siderophore-mediated iron acquisition by plant growth-promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 237, p. 126471, 2020.

GOES, Kelly Campos Guerra Pinheiro de et al. Biochemical and molecular characterization of high population density bacteria isolated from sunflower. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 22, n. 4, p. 437-447, 2012.

HOOPER, L. V.; GORDON, J. I. Commensal host-bacterial relationships in the gut. **Science**, v. 292, n. 5519, p. 1115–1118, 2001.

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C.; MERCANTE, F. M. A importância das bactérias fixadoras de nitrogênio para a agricultura brasileira. **Revista Ciência e Cultura**, v. 65, n. 3, p. 27–30, 2013.

JÓSKO, I.; OLESZCZUK, P. Influence of soil type and environmental conditions on ZnO, TiO₂, and Ag nanoparticles phytotoxicity. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, p. 8633–8645, 2013.

KAH, M. et al. Nanopesticides: State of knowledge, environmental fate, and exposure modeling. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 48, n. 5, p. 415–447, 2018.

KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1-27, 2004.

KHAN, I.; SAWANT, V.; MOORTHI, P. N.; MOHAMED, M. A. Mechanistic insights into zinc oxide nanoparticle-induced cytotoxicity in plant-growth-promoting rhizobacteria. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, p. 4009-4021, 2017.

KHAN, N. et al. Auxin biosynthesis by plant-associated bacteria: Impact on plant growth and development. **The Plant Journal**, v. 103, n. 3, p. 752–768, 2020.

KHOT, L. R. et al. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. **Crop Protection**, v. 35, p. 64–70, 2012.

KRISHNARAJ, C.; JAYAPRAKASH, N.; RAJ, S. P.; KALAICHELVAN, P. T.; MOHAN, N. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against Gram-positive and Gram-negative bacteria. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 8, n. 1, p. 89-97, 2012.

KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1-27, 2004.

LAZAROVITS, G.; NOWAK, J. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. **HortScience**, v. 32, n. 2, p. 188–192, 1997.

LI, J.; LONG, C.; ZHENG, Y.; LIU, F.; LI, H. A review on bio-effects of nano-TiO₂ in plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, p. 597-609, 2017.

LINDSAY, W. L. Zinc in soils and plant nutrition. **Advances in Agronomy**, v. 24, p. 147–186, 1972.

LU, C.; et al. NO signaling in bacterial pathogenesis and resistance. **Annual Review of Microbiology**, v. 73, p. 359–378, 2019.

LU, P. J. et al. Assessing the effects of nano-TiO₂ on plant growth and associated rhizosphere microbial communities. **Environmental Pollution**, v. 206, p. 482–489, 2015.

MADHAIYAN, M. et al. Influence of bioinoculants on the growth and fruit yield of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Science Horticulturae**, v. 102, p. 277–288, 2004.

NAIR, R.; VARGHESE, S. H.; NAIR, B. G.; MAEKAWA, T.; YOSHIDA, Y.; KUMAR, D. S. Nanoparticulate material delivery to plants. **Plant Science**, v. 179, n. 3, p. 154-163, 2010.

NEPOMOCENO, L. L.; PIETROBON, C. C.; CASTANHEIRA, N. L. *Bacillus* spp. como agente de biocontrole no manejo de doenças de plantas. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 16, p. 145–158, 2021.

OLENSKA, S. et al. The microbiome of the plant root: A key determinant of plant health and productivity. **Microbial Ecology**, v. 79, p. 599–612, 2020.

PRASATHKUMAR, M.; SAKTHIVEL, C.; BECKY, R.; DHRISYA, C.; PRABHA, I.; SADHASIVAM, S. Phytofabrication of cost-effective selenium nanoparticles from edible and non-edible plant materials of *Senna auriculata*: characterization, antioxidant, antidiabetic, antimicrobial, biocompatibility, and wound healing. **Journal of Molecular Liquids**, v. 367, p. 120337, 2022.

RAAIJMAKERS, J. M. et al. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in Plant Science**, v. 14, n. 8, p. 385–393, 2009.

RABEA, E. I. et al. Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 6, p. 1457-1465, 2003.

RAI, M.; YADAV, A.; GADE, A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 1, p. 76-83, 2012.

RAJPUT, V. D. et al. The role of zinc oxide nanoparticles in plant stress tolerance. **Journal of Hazardous Materials**, v. 358, p. 17–24, 2018.

RAO, S.; SHARMA, P.; BHATTACHARYA, S. Selenium nanoparticles: Role in environmental health and agriculture. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 11, p. 100218, 2019.

RASTOGI, A. et al. Selenium nanoparticles: An insight on its beneficial role in plants and microbes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 143, p. 94–104, 2019.

RAVIKUMAR, P.; RAMAKRISHNA, R.; KUMAR, R. Selenium nanoparticles in agriculture: Recent trends and perspectives. **Journal of Plant Physiology**, v. 240, p. 153007, 2019.

RAYMOND, J. et al. Phosphate solubilizing microorganisms: Mechanisms and applications. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 148, p. 107843, 2020.

ROCA, M. G. et al. Phosphate solubilization by soil microorganisms: A key to sustainable agriculture. **Agricultural Sciences**, v. 4, n. 2, p. 100–105, 2013.

RODRIGUES, C. et al. Plant growth-promoting bacteria: A promising strategy to improve yield and sustainability. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 100, 2017.

SALAH, M.; ELKABBANY, N. A. S.; PARTILA, A. M. Evaluation of the cytotoxicity and antibacterial activity of nano-selenium prepared via gamma irradiation against cancer cell lines and bacterial species. **Scientific Reports**, v. 14, p. 20523, 2024.

SANTOS, A. "Nanotechnology and biotechnology for sustainable reforestation." **Journal of Environmental Biotechnology**, 14(3), 45-58, 2023.

SANTOS, F. F. dos; SILVA, R. S.; OLIVEIRA, M. G. de. Mecanismos das bactérias promotoras do crescimento de plantas na tolerância ao déficit hídrico. **Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo**, 2021.

SEABRA, A. B. et al. Chitosan nanoparticles as nitric oxide donors: Cytotoxicity and pharmacological evaluations. **Journal of Drug Targeting**, v. 22, n. 7, p. 683-693, 2014.

SERQUEIRA, J. M. **Caracterização de uma coleção de bactérias associativas e seleção de estirpes com potencial de mitigar o estresse hídrico utilizando o tomate (*Solanum lycopersicum*) como modelo experimental**. 2023. 100 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

SHARMA, P. N.; SHARMA, S.; SHARMA, S. K. Role of zinc in plant growth and its effect on physiological processes. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 19, n. 1, p. 89-95, 2013.

SILVA FILHO, P. M. **Nanoplatforma de Sílica Mesoporosa Liberadora de Óxido Nítrico e Cianeto: Síntese, Caracterização e Avaliação da Liberação**. 2022. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

SINGH, A. et al. Recent advances in chitosan-based nanoparticles for oral drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 128, p. 85-96, 2019.

SOHAIL, M.; AYAZ, M.; NAWAZ, M. A.; SHAH, M.; SADIQ, A. Selenium nanoparticles in plant biology: Role and applications. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 125, p. 54-62, 2017.

SUN, H.; ZHAO, X.; ZHANG, Y.; DAI, Y.; XU, J. Enhancement of maize growth under salt stress by the application of nitric oxide-releasing nanoparticles. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 141, p. 123-134, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

VANCE, M. E.; KUHN, J. F.; TRACY, M. E.; MARR, L. C. Composition-dependent antimicrobial activity of engineered zinc oxide nanoparticles. **Environmental Science: Nano**, v. 2, n. 6, p. 542-552, 2015.

VEGA-VÁSQUEZ, P.; MOSIER, N. S.; IRUDAYARAJ, J. Nanoscale drug delivery systems: from concept to the clinic. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 66, p. 154-165, 2020.

WANG, J.; ZHANG, Z.; SHI, Y.; WANG, J. Advances in nitric oxide-releasing nanoparticles for agriculture applications. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 589-596, 2020.

WANG, C.; LI, X.; LIU, Y.; GAO, B. Advances in nitric oxide-releasing nanoparticles and their applications in agriculture. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2020.

ZHANG, H.; ZHANG, H.; ZHOU, J.; LU, J. Role of selenium nanoparticles in improving plant growth and stress tolerance. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 3, p. 2781-2789, 2019

ZHAO, X. et al. Nitric oxide in plants: Beneficial or toxic? **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 139, p. 378–386, 2019.