



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FABIANA SILVA FRAGA

CONTROLE DE *Xanthomonas* spp. COM NANOCRISTAIOS DE ZnO PUROS E  
DOPADOS NO TOMATEIRO

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2020

FABIANA SILVA FRAGA

CONTROLE DE *Xanthomonas* spp. COM NANOCRISTAIOS DE ZnO PUROS E  
DOPADOS NO TOMATEIRO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. José Magno Queiroz Luz

Coorientadora

Prof.<sup>a</sup> Dra Nilvanira Donizete Tebaldi

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2020

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

F811 Fraga, Fabiana Silva, 1993-  
2020 Controle de *Xanthomonas* spp. com nanocristais de ZnO puros e dopados no tomateiro [recurso eletrônico] / Fabiana Silva Fraga. - 2020.

Orientador: José Magno Queiroz Luz.  
Coorientadora: Nilvanira Donizete Tebaldi.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Pós-graduação em Agronomia.  
Modo de acesso: Internet.  
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2020.23>  
Inclui bibliografia.

1. Agronomia. I. Luz, José Magno Queiroz, 1967-, (Orient.). II. Tebaldi, Nilvanira Donizete, 1970-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU: 631

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agronomia				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado, 006/2020 PPGAGRO				
Data:	Dezoito de fevereiro de dois mil e vinte	Hora de início:	08:00	Hora de encerramento:	10:50
Matrícula do Discente:	11812AGR006				
Nome do Discente:	Fabiana Silva Fraga				
Título do Trabalho:	Controle de <i>Xanthomonas</i> spp. com nanocristais de ZnO puros e dopados no tomateiro.				
Área de concentração:	Fitotecnia				
Linha de pesquisa:	Produção Vegetal em Áreas de Cerrado.				

Reuniu-se na Sala 212, bloco 1CCG, Campus Glória, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agronomia, assim composta: Professores Doutores: Nilvanira Donizete Tebaldi - UFU; Alison Talis Martins Lima - UFU; Anielle Christiane Almeida Silva - UFA; José Magno Queiroz Luz - UFU orientador(a) do(a) candidato(a). Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). José Magno Queiroz Luz, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(as) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.

Documento assinado eletronicamente por **José Magno Queiroz Luz, Professor(a) do Magistério Superior**, em 18/02/2020, às 10:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

[https://www.sei.ufu.br/sei/controlador.php?acao=documento\\_imprimir\\_web&acao\\_origem=arvore\\_visualizar&id\\_documento=2034120&infra\\_siste...](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador.php?acao=documento_imprimir_web&acao_origem=arvore_visualizar&id_documento=2034120&infra_siste...) 1/2

18/02/2020

SEI/UFU - 1796529 - Ata de Defesa - Pós-Graduação



Documento assinado eletronicamente por **Nilvanira Donizete Tebaldi, Professor(a) do Magistério Superior**, em 18/02/2020, às 10:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alison Talis Martins Lima, Professor(a) do Magistério Superior**, em 18/02/2020, às 10:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Anielle Christine Almeida Silva, Usuário Externo**, em 18/02/2020, às 10:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador 1796529 e o código CRC 5F8042C7.

Aos meus pais Maria José Tavares da Silva e Daniel Fraga (*in memoriam*).

Aos meus irmãos Adriana, Ricardo e Daniela.

A minha avó Maria Abadia Tavares (*in memoriam*).

Aos meus familiares e amigos.

Dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus pelas graças alcançadas.

A minha mãe Maria José pela fé; por ser um grande exemplo de mulher, de luta e meu maior apoio.

A meu pai Daniel (*in memoriam*) que sempre esteve me iluminando onde quer que esteja. A minha pequena grande avó Maria (*in memoriam*) por ser meu maior exemplo de fortaleza e de vida.

Aos melhores irmãos desse mundo: Adriana (e família), Ricardo e Daniela pelo companheirismo, auxílio e compreensão.

A João Paulo pelo carinho, incentivo, companheirismo e paciência.

Aos meus amigos, em especial: Solange, Raquel, Morgana, Ivair, Rafael Finzi, Cíntia e Osana pelo companheirismo, apoio e suporte nos melhores e piores momentos.

As amigas e companheiras de laboratório Lara Caroline e Natália por terem sido uma das maiores bênçãos na minha vida, pelo suporte, ensinamentos, cafés e conselhos.

Ao Professor José Magno pela orientação e por possibilitar mais um passo na minha vida acadêmica.

À Professora Nilvanira que foi peça fundamental na realização desse trabalho, obrigada pelo acolhimento, amizade, tempo e paciência.

A professora Anielle por sintetizar e disponibilizar os nanocristais que foram essenciais para a realização desse trabalho.

Aos técnicos Julia e Roberto pelos auxílios em laboratório.

Aos professores Anielle e Alison pela gentileza de comporem a banca, disponibilidade e suporte.

Aos demais familiares e amigos, agradeço.

## RESUMO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é a segunda hortaliça de maior importância econômica no Brasil, porém muito afetado por doenças bacterianas. A mancha bacteriana do tomateiro causada por *Xanthomonas vesicatoria*, *X. euvesicatoria*, *X. gardneri* e *X. perforans* leva a perdas na produção e na qualidade dos frutos de tomate, além do controle químico da doença ser ineficiente. No entanto, novas alternativas de controle têm ganhado espaço, como a nanotecnologia onde os nanocristais metálicos têm sido utilizadas na agricultura principalmente na fitopatologia, como agente fungicida e bactericida. Porém, são escassas as pesquisas envolvendo o uso das nanocristais no controle da mancha-bacteriana no tomateiro. Portanto, o objetivo desse trabalho foi: (i) avaliar a toxicidade de nanocristais de óxido de zinco puros e dopados com diferentes elementos químicos em concentrações variáveis na inibição do crescimento bacteriano *in vitro*; (ii) avaliar o tempo de exposição dos nanocristais às bactérias para causar mortalidade; (iii) avaliar os controles preventivo e curativo da mancha bacteriana do tomateiro em casa de vegetação com uso de nanocristais; (iv) avaliar a inoculação das sementes com a suspensão bacteriana e o tratamento das mesmas com nanocristais na detecção e germinação das sementes. A toxicidade foi avaliada a partir da formação do halo de inibição do crescimento bacteriano *in vitro* com os nanocristais puros e dopados. Para a avaliação da ação bactericida em horas, a suspensão bacteriana ( $10^9$  UFC/mL) foi colocada em contato com a solução de cada nanocrystal e avaliada após plaqueamento após 0, 1, 2, 3, 4 e 5 horas de contato. Para o controle preventivo da mancha bacteriana as plantas foram pulverizadas com os nanocristais e após 2 dias foram inoculadas com a suspensão bacteriana ( $10^8$  UFC/mL). Para o controle curativo as plantas foram inoculadas e 2 dias depois foram pulverizadas com os nanocristais. A severidade da doença foi avaliada usando a escala diagramática e a área abaixo da curva de progresso da doença. As sementes de tomate foram inoculadas com a suspensão bacteriana e tratadas com os nanocristais e avaliadas a detecção da bactéria e germinação das sementes. Os nanocristais de ZnO puros apresentaram no geral maior capacidade de inibição no crescimento, no entanto as dopagens com os elementos Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Au, K e Ag também inibiram o crescimento bacteriano *in vitro*. O tempo de exposição da suspensão bacteriana a solução de nanocristais por 5 horas foi suficiente para a mortalidade e diminuição das UFC/mL, principalmente com nanocrystal dopado com potássio. O controle preventivo reduziu a severidade da doença nas plantas e os nanocristais de ZnO dopados com molibdênio foram eficientes para o controle da mancha bacteriana do tomateiro. As sementes inoculadas e tratadas com nanocristais apresentaram menor porcentagem de detecção de bactérias nas sementes, sendo o ZnOK reduziu significativamente a presença da bactéria nas sementes e a germinação das sementes não sofreu alteração com utilização dos nanocristais.

Palavras-chave: Dopagem; Mancha bacteriana; Nanocristais; Óxido de zinco; *Solanum lycopersicum* L.

## ABSTRACT

The tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is the second vegetable of greatest economic importance in Brazil, but very affected by bacterial diseases. The bacterial leaf spot caused by *Xanthomonas vesicatoria*, *X. euvesicatoria*, *X. gardneri* and *X. perforans* leads to losses in the production and quality of tomato fruits, in addition to the chemical control of the disease being inefficient. However, new control alternatives have gained space, such as nanotechnology, where metallic nanocrystals have been used in agriculture, mainly in phytopathology, as a fungicidal and bactericidal agent. However, researches involving the use of nanocrystals in the control of bacterial spot in tomato is scarce. Therefore, the objective of this work was: (i) evaluate the toxicity of pure and doped zinc oxide nanocrystals with different chemical elements in varying concentrations to inhibit bacterial growth *in vitro*; (ii) evaluate the exposure time of the nanocrystals to bacteria to cause mortality; (iii) evaluate the preventive and curative controls of the bacterial spot of tomatoes in a greenhouse using nanocrystals; (iv) evaluate the inoculation of the seeds with the bacterial suspension and the treatment of them with nanocrystals in the detection and germination of the seeds. Toxicity was evaluated based on the formation of a halo of inhibition of bacterial growth *in vitro* with pure and doped nanocrystals. For the evaluation of the bactericidal action in hours, the bacterial suspension ( $10^9$  CFU/mL) was placed in contact with the solution of each nanocrystal and evaluated after plating after 0, 1, 2, 3, 4 and 5 hours of contact. For the preventive control of the bacterial stain, the plants were sprayed with nanocrystals and after 2 days they were inoculated with the bacterial suspension ( $10^8$  CFU/mL). For curative control the plants were inoculated and 2 days later they were sprayed with nanocrystals. The severity of the disease was assessed using the diagrammatic scale and the area under the disease progress curve. Tomato seeds were inoculated with the bacterial suspension and treated with nanocrystals and the detection of the bacteria and germination of the seeds were evaluated. The pure ZnO nanocrystals showed, in general, greater capacity to inhibit growth, however doping with the elements Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Au, K and Ag also inhibited bacterial growth *in vitro*. The exposure time of the bacterial suspension to the nanocrystals solution for 5 hours was sufficient for mortality and decrease of CFU/mL, mainly with potassium doped nanocrystal. The preventive control reduced the disease severity in the plants and the ZnO nanocrystals doped with molybdenum were efficient for the control of the tomato bacterial spot. The seeds inoculated and treated with nanocrystals showed a lower percentage of detection of bacteria in the seeds, with ZnO K significantly reducing the presence of bacteria in the seeds and the germination of the seeds did not change with the use of nanocrystals.

Keywords: Doping; Bacterial spot; Nanocrystals; Zinc oxide; *Solanum lycopersicum* L.

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL .....	9
2.	REVISÃO DE LITERATURA .....	12
2.1	Cultura do tomateiro .....	12
2.2	Mancha bacteriana do tomateiro .....	13
2.3	Nanotecnologia .....	14
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1	Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano <i>in vitro</i> .....	18
3.2	Redução das UFC/mL em tempo de exposição aos nanocristais .....	20
3.3	Controle da mancha bacteriana com nanocristais em casa de vegetação.....	20
3.4	Inoculação, detecção e germinação em sementes tratadas com nanocristais ...	22
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	23
4.1	Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano <i>in vitro</i> .....	23
4.2	Redução das UFC/mL em tempo de exposição aos nanocristais .....	35
4.3	Controle da mancha bacteriana com nanocristais em casa de vegetação.....	36
4.4	Inoculação, detecção e germinação em sementes tratadas com nanocristais ...	38
5.	CONCLUSÃO.....	40
	REFERÊNCIAS.....	41

## **1. INTRODUÇÃO GERAL**

O tomateiro tem como centro de origem a região Andina da América do Sul englobando o Peru, Norte do Chile e Equador (ANTONIOLLO; CASTRO, 2008), é uma planta perene, porém cultivada como anual, de porte arbustivo, caule herbáceo, flexível, suculento e coberto de pelos. Pode apresentar hábito de crescimento determinado, indeterminado ou semideterminado (ALVARENGA, 2013; FILGUEIRA, 2008;).

Embora uma das hortaliças mais importantes cultivadas no Brasil, o tomateiro é sensível a doenças bacterianas, principalmente em áreas de cultivo irrigado, sendo a mancha bacteriana uma das doenças que mais comprometem a produtividade e qualidade de frutos (LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997). Outro ponto chave para a gravidade do ataque de agentes bacterianos é o fato do controle ser praticamente restrito à prevenção, utilizando basicamente produtos químicos como antibióticos e fungicidas cípricos (mais comumente) que podem não apresentar total efetividade (EMBRAPA, 2017).

A doença está associada a quatro espécies do gênero *Xanthomonas*: *X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria*, *X. gardneri* e *X. perforans*, podendo ser destrutiva em condições favoráveis para desenvolvimento da doença (alta umidade e alta temperatura) (LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997). As bactérias do gênero *Xanthomonas* são gram-negativas, aeróbicas, apresentam colônias arredondadas e amareladas (pelo pigmento xantomonadina), alta variabilidade genética e todas as espécies do gênero já descritas se apresentam como fitopatogênicas (FERREIRA; SALGADO, 1995; JUNQUEIRA, 2010).

Qualquer uma das quatro espécies causadoras da doença tem capacidade de penetrar nas plantas através de aberturas naturais como estômatos ou ferimentos no corpo da planta, sendo eles causados por equipamentos, abrasão por partículas de solo carregadas pelo vento ou até mesmo pelos próprios tratos culturais como amarrão, capação e desbrota. A doença pode ser disseminada a curtas ou longas distâncias por intermédio de respingos de água ou mudas e sementes contaminadas, respectivamente (LOPES; QUEZADO-DUVAL, 2005).

Os sintomas da mancha bacteriana ocorrem em toda a planta e em qualquer estágio de seu desenvolvimento, atacando folhas causando lesões encharcadas que posteriormente necrosam e secam causando a queda das folhas, escaldadura nos frutos por exposição a luz solar, além de levar ao abortamento e queda de flores e frutos em

desenvolvimento durante a fase reprodutiva da cultura (LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997; QUEZADO-DUVAL; LOPES, 2010;).

O controle é dificultado por diversos fatores como: baixo número de produtos químicos registrados (atualmente 23, segundo Agrofit, (2019) e fatores inerentes às bactérias causadoras da doença, como: rápida disseminação e multiplicação do patógeno além da facilidade de transmissão (NASCIMENTO, 2013). Outra opção de controle incluiria o uso de variedades resistentes, no entanto, poucos são os genótipos resistentes já identificados para uso no mercado (LOBO, 2005).

O controle químico da doença geralmente se baseia na aplicação de antibióticos ou produtos à base de cobre, porém, o uso indiscriminado dos cúpricos pode estar levando ao surgimento de populações resistentes onde os produtos estão se tornando parcialmente ou totalmente ineficientes (MIRIK et al., 2007).

A pouca disponibilidade de produtos eficazes tem propiciado a busca por alternativas de controle da mancha bacteriana, como a nanotecnologia que tem apresentado grande potencial na área agrícola com aplicações que incluem fertilizantes e produtos fitossanitários, apresentando na última década patentes baseadas em nano materiais já desenvolvidos (SERVIN et al, 2015).

Atualmente, a nanotecnologia é largamente aplicada em setores de comunicação e eletrônicos e tem chamado atenção de outras áreas como: campos da medicina, odontologia, biotecnologia, agricultura e área ambiental, catálise e indústria de alimentos. Dentro dessas áreas, as nanopartículas se sobressaem pela sua grande atividade antimicrobiológica, principalmente sua ação antibacteriana que é determinada por compostos capazes de eliminar localmente as bactérias ou por retardar seu desenvolvimento sem prejudicar o tecido circundante (GÚZMAN et al., 2009).

Segundo Furlaneto (2011) a nanotecnologia pode ser considerada uma grande inovação na agricultura e suas tecnologias, pois o uso indiscriminado de produtos fitossanitários em geral pode gerar problemas ambientais e sobre a saúde humana.

As nanopartículas de ZnO apresentam efeito nos microrganismos como o aumento intracelular de espécies reativas de oxigênio, responsável pela degradação das membranas celulares resultando no vazamento do conteúdo celular, mau funcionamento das mitocôndrias responsáveis pela respiração celular, toxicidade sobre o material genético e morte (WANG et al., 2014).

O uso de nanopartículas ou nanocrystalis dopados com elementos químicos apresenta diversos resultados importantes, demonstrando seu efeito sobre organismos

fitopatológicos como: *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Pantoea ananatis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Fusarium* spp, *Clavibacter michiganensis*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* e sobre organismos importantes para a saúde humana como: *Candida parapsilosis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, entre outras (BALLOTTIN et al., 2017; BRINTHA; AJITHA, 2016; ELMER; WHITE, 2016; LI et al., 2015; MAMEDE, 2018; MOTA, 2018; PRUCEK et al, 2011; RIVAS-CÁCERES et al., 2018; ZANCAN, 2018).

Na área agrícola a nanotecnologia ainda é considerada um campo novo e em expansão, mas se mostrando benéfico nos estudos já feitos, portanto há a necessidade de explorar o potencial oferecido por essa ciência.

O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial bactericida dos nanocristais de ZnO puros e dopados com diversos elementos químicos e em diferentes concentrações sobre a bactéria causadora da mancha bacteriana do tomateiro (*Xanthomonas* spp.) a partir das avaliações de formação de halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano *in vitro*; redução das unidades formadoras de colônia *in vitro* por tempo de exposição à solução de nanocristais; controle da mancha bacteriana do tomateiro com uso de nanocristais em casa de vegetação e inoculação, detecção e germinação de sementes tratadas com nanocristais.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Cultura do tomateiro**

O tomateiro tem como centro de origem a América do Sul mais especificamente na região andina onde podem ser encontradas muitas espécies. Sua domesticação provavelmente ocorreu no México e foi então levado para a Europa na primeira metade do século XVI. No Brasil foi introduzido no final do século XIX e é a segunda hortaliça de maior importância econômica (ANTONIOLLO; CASTRO, 2008). O tomateiro é uma planta perene, porém cultivada como anual, de porte arbustivo, caule herbáceo, flexível, suculento e coberto de pelos. Esta hortaliça está presente em diversos pratos da culinária brasileira e seu sucesso se deve à variedade apresentada por seus frutos em tamanho, cores, sabores e graus de acidez, permitindo consumo in natura além das várias formas após industrialização, como polpa de tomate, molhos e ketchup (ALVARENGA, 2013; CONSUEGRA et al., 2000; FILGUEIRA, 2008; SILVA et al., 2003; SOUZA et al., 2008).

O tomate é a hortaliça mais cultivada e consumida no mundo, apresentando grande importância socioeconômica e nutricional sendo responsável pela geração de empregos nos setores de produção e por grande parte do mercado de sementes de hortaliças (ALVARENGA et al., 2013). Os frutos de tomate são conhecidos pela sua alta importância nutricional e como alimento funcional, pois contém vitaminas do complexo A e C, cálcio, potássio e é rico em licopeno que é um importante antioxidante que auxilia na prevenção de doenças crônicas como câncer de mama, próstata e de doenças cardiovasculares (AGARWAL; RAO, 2000; SOUZA et al., 2008).

O tomateiro é amplamente produzido no Brasil, em 2018 apresentou produção de mais de 4 milhões de toneladas e em 2019 alcançou a produção de 4,3 milhões de toneladas (IBGE, 2019).

A produção brasileira está atualmente ranqueada em quinto lugar na lista de produção mundial (WORLD PROCESSING TOMATO COUNCIL, 2019) se concentrando nas regiões Centro-Oeste e Sudeste, onde o segmento de tomate para indústria (processamento) se concentra no estado de Goiás e o segmento de tomate para mesa (consumo fresco in natura) se concentra em Minas Gerais. Nos dois estados as condições de clima, solo e topografia favorecem o cultivo para cada nicho de mercado, respectivamente (SILVA-JUNIOR et al., 2015).

O tomateiro é considerado uma das hortaliças mais cosmopolitas, porque é uma das olerícolas mais amplamente disseminadas e é considerada uma cultura complexa e de elevado risco econômico, pois a produção pode ser influenciada por diversos fatores como escolha da cultivar, condições edafoclimáticas, fotoperíodo, luminosidade, tratos culturais, mão de obra e pragas e doenças (FILGUEIRA, 2007; FILGUEIRA, 2008).

## 2.2 Mancha bacteriana do tomateiro

A doença bacteriana conhecida como mancha bacteriana do tomateiro é causada por quatro espécies do gênero *Xanthomonas* em complexo ou separadamente, sendo elas *Xanthomonas euvesicatoria*, *X. vesicatoria*, *X. gardneri* e *X. perforans* (JONES et al., 2004).

A doença bacteriana no Brasil teve o seu primeiro relato descrito em municípios produtores de tomate em São Paulo (RODRIGUES NETO et al., 1984), onde estudos da epidemia em tomateiros para processamento industrial indicaram a prevalência de *Xanthomonas gardneri* como agente causal, mas segundo levantamentos há registro de aumento da prevalência de *Xanthomonas perforans* nos campos da região central do país (QUEZADO-DUVAL et al., 2004). A doença já se apresenta bem distribuída em todo território nacional nas regiões produtoras irrigadas por pivô ou aspersão (ARAÚJO et al., 2016).

Essas bactérias são altamente eficientes uma vez que, segundo Quezado-Duval e Lopes (2010), as mesmas são favorecidas em temperaturas de 22 a 27º C e alta umidade (60%), podem sobreviver em restos culturais, sementes, plantas infestantes e plantas cultivadas (como pimentão, berinjela, jiló e pimenta), dificultando assim a eliminação do inoculo no campo sem a realização de práticas específicas, porém, esses organismos não têm alta capacidade de sobrevivência no solo.

Os sintomas da mancha bacteriana podem ocorrer em toda a parte aérea da planta e em qualquer estádio de desenvolvimento. Os sintomas nas folhas aparecem em forma de áreas encharcadas que necrosam, apresentando ou não halos amarelados (clorose), posteriormente em condições favoráveis para o desenvolvimento da doença, as lesões coalescem provocando a seca das folhas, aspecto de queima e consequente queda. Com a diminuição da área foliar os frutos ficam expostos ao sol sofrendo escaldadura que pode ocasionar a diminuição dos teores de açúcares do fruto comprometendo sua qualidade visual e em sabor, além de lesões com textura áspera na casca do fruto que também

coalescem degradando o visual comercial do produto (QUEZADO-DUVAL; LOPES, 2010). Quando a doença ocorre durante a floração pode haver a queda de pedúnculos florais e frutos em desenvolvimento, ocasionando a redução da produção de frutos comerciais (LOPES, QUEZADO-SOARES, 1997).

É uma doença, assim como muitas outras causadas por bactérias, de difícil controle por diversos fatores como: variação na resposta com controle químico; poucos princípios ativos disponíveis nos produtos indicados para controle; pouca disponibilidade de cultivares resistentes; rápida disseminação quando em condições favoráveis; sobrevivência e facilidade de transmissão do patógeno (LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997).

Os produtos à base de cobre e os antibióticos (os mais comuns são estreptomicina e oxitetraciclina) que são comumente usados no Brasil com finalidade de controlar a mancha bacteriana não vem apresentando resultados satisfatórios ou promissores tornando, portanto, imprescindível a busca por alternativas e técnicas que visem o controle da doença em campo (AGUIAR et al., 2003; DUVAL et al., 2003). Atualmente além dos cúpricos e antibióticos, os princípios ativos acibenzolar-S-metil (ASM) que é um indutor de resistência na planta e os cloretos de benzalcônio que são amônias quaternárias que agem por contato e induzem resistência localizada, são indicados e registrados para o controle da mancha bacteriana (CENTRO INCUBADOR DE EMPRESAS TECNOLÓGICAS, 2010).

### **2.3 Nanotecnologia**

A nanociência estuda os materiais em escala nanométrica (1-100 nm), já a nanotecnologia engloba a produção, caracterização, classificação, manipulação e aplicação de estruturas em escala nanométrica ( $10^{-9}$  m = 1 nm) biológicas e não biológicas. Quando há a junção de nanotecnologia com a área biológica, a nanobiotecnologia, estuda o efeito das nanopartículas sobre as membranas biológicas para acesso de drogas e modificações estruturais (CHAU et al., 2007).

O uso da nanobiotecnologia ajuda a explorar as propriedades bactericidas das nanopartículas, pois a partir de seu tamanho diminuto pode haver melhor desempenho frente a produtos químicos e medicamentos comuns. As nanopartículas quando em tamanhos inferiores a 100 nm tem alta capacidade e maior eficiência biocida, pois seu

tamanho permite maiores interações com as membranas biológicas dos mocrorganismos (ALLAKER, 2010; MORONES et al, 2005).

Na escala nanométrica novas e interessantes propriedades surgem, como tolerância à temperatura, colorações e alterações químicas, mecânicas, ópticas e magnéticas, características antes não observadas em tamanho micro e/ou macroscópico. Uma das principais características é a área superficial maior da nanopartícula, possibilitando maior interação e reatividade com o sistema no qual estão inseridos (SILVA et al., 2017).

Vários óxidos de metais são estudados dentro da nanotecnologia sendo as nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) uma das mais utilizadas na indústria têxtil e farmacológica por apresentar as maiores capacidades bactericidas sobre bactérias gram-positivas e gram-negativas, alta relação superfície/volume, toxicidade seletiva (biocompatibilidade), baixo custo, síntese facilitada e baixo efeito sobre células humanas tornando-o uma alternativa interessante para utilização em diversos campos (DANG et al., 2011).

Ainda não é claro o mecanismo de ação dos materiais em escala manométrica sobre os organismos patogênicos, no entanto hipóteses são levantadas como: alteração da permeabilidade das membranas causando vazamento celular; interação com proteínas e/ou DNA a medida que o material penetra no organismo e a liberação de compostos tóxicos às células do organismo patogênico (BALLOTTIN *et al.*; 2017).

A atividade das nanopartículas de ZnO pode ser influenciada por diversos fatores como: formato, onde formas esféricas em comparação com forma bastão ou fio tem penetração dificultada nas paredes celulares dos microrganismos; tamanho, onde quanto menor dentro da escala nanométrica maior a capacidade de penetração e concentração, influenciando na atividade antimicrobiana (ZHANG et al., 2007; YAMAMOTO, 2001; YANG et al., 2009).

Reis et al (2015) indicam que o tamanho e a cristalinidade das nanopartículas de ZnO apresentam grandes diferenças genotóxicas, e que as NPs amorfas são mais tóxicas do que as cristalinas. Diante disso, neste trabalho utilizaremos NPs cristalinas (NCs), também chamadas como nanocristais (NCs). A fim de intensificar determinadas propriedades ou a criação de novas utiliza-se o processo de dopagem de nanopartículas. Por exemplo, os nanocristais de ZnO dopados com determinados íons apresentam efeitos antitumorais e bactericidas intensificados (SILVA et al., 2018). Geralmente as dopagens

são realizadas utilizando íons metálicos como: cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), níquel (Ni), molibdênio (Mo), prata (Ag) e ouro (Au) (CALLISTER JÚNIOR, 2002).

A prata, cobre, ouro, manganês, níquel, ferro e óxido de zinco são alguns exemplos de nanomateriais que em diferentes concentrações são capazes de inibir o desenvolvimento ou causar mortalidade de microrganismos, sendo eficientes contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Pantoea ananatis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, entre outras (BRINTHA e AJITHA, 2016; LI et al., 2011; MAMEDE, 2018; ZANCAN, 2018).

A nanopartículas de cobre tem alto controle de bactérias pela produção de formas reativas de oxigênio que degradam membranas, além de apresentarem uma vantagem quanto ao baixo custo para seu preparo (AHAMED et al., 2014). As nanopartículas de ferro em diferentes concentrações são capazes de controlar *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens* e *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* *in vitro* (PRUCEK et al., 2011; ZANCAN, 2018).

Nanocristais de ZnO dopados com níquel em diferentes concentrações foram capazes de induzir a formação de halos de inibição sobre *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no entanto o NiO apresentaram os menores halos e em outros estudos, o óxido não apresentou ação sobre *Fusarium* sp. em plantas de tomateiro (ELMER & WHITE, 2016; ZANCAN, 2018;).

Dentre as dopagens comumente utilizadas nas nanopartículas metálicas, algumas já apresentaram resultados eficazes principalmente na área médica, como é o caso da prata e ouro, segundo, Dastjerdi e Montazer (2010).

Por décadas, a prata tem sido conhecida por seu efeito bactericida, mas o desenvolvimento de antibióticos diminuiu suas aplicações médicas (WANG et al., 2017) por se tratar de um metal que apresenta grande capacidade antimicrobiana, tanto para bactérias, quanto para fungos além de não ser tóxica para células humanas quando em baixa (ZHANG et al., 2007). O ouro, segundo Cui et al. (2012) tem ação antimicrobiana não pela formação do O<sub>2</sub> reativo, mas por se fixar nas membranas bacterianas causando modificação na permeabilidade.

Na área médica muitos trabalhos realizados indicam sucesso com uso da nanotecnologia, como por exemplo: estudos *in vitro* com tecidos contendo membrana de nanocelulose funcionalizada com nanopartículas de prata e nitrato de cério, apresentaram redução da atividade microbiana demonstrando a possibilidade da utilização como curativo para queimaduras, sendo um grande trunfo para a engenharia tecidual (FISCHER, 2017).

Curativos para ferimentos contendo nanocompostos são bastante promissores e se mostram como uma ótima opção terapêutica na cicatrização de feridas (SILVA et al., 2017).

Na área agrícola variadas aplicações utilizando a nanotecnologia vem sido levantadas como: utilização para segurança alimentar, redução de insumos na produção, agricultura sustentável, processamento de alimentos, controle de patógenos, desenvolvimento de embalagem para alimentos, entre outros (SCHNETTLER et al., 2014).

Ballottin et al. (2017) utilizaram nanopartículas de prata para funcionalizar tecidos usados na fabricação de roupas de trabalho para funcionários de uma área de citros, buscando prevenir a entrada e disseminação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (agente causal do cancro cítrico). Foi observada a inibição e controle bacteriano mesmo após lavagem do tecido.

Araújo et al. (2015) observaram a eficiência na redução da atividade de *Pseudomonas* sp em cenouras minimamente processadas com uso de nanopartículas de prata, frente a sanitizantes comuns (hipoclorito de sódio e dicloroisocianurato de sódio).

Zancan (2018) e Mamede (2018) utilizando nanopartículas e nanocristais de ZnO puros e dopados com diferentes elementos químicos e em diferentes concentrações observaram respectivamente a inibição *in vitro* de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (agente causal da podridão negra da canola) e *Pantoea ananatis*, bactéria causadora da mancha branca no milho, indicando bom controle sobre a atividade bacteriana das mesmas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Os nanocristais de ZnO puros e dopados foram sintetizadas e caracterizadas pela Profa. Dra. Anielle Christine Almeida Silva do Laboratório de Novos Materiais Isolantes e Semicondutores do Instituto de Física da Universidade de Uberlândia. Atualmente, o Laboratório está localizado no Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Bacteriologia Vegetal (LABAC), na Casa de vegetação e na bancada externa do LABAC do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Campus Umuarama, Uberlândia MG.

#### 3.1 Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano *in vitro*

Os tratamentos realizados foram constituídos de nanocristais de ZnO puros e dopados com diferentes concentrações de ouro (Ag), prata (Au), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), níquel (Ni), potássio (K), molibdênio (Mo) e magnésio (Mg) (Tabela 1), além do controle positivo com o antibiótico cefalexina ( $500\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) e controle negativo com solução de NaCl 0,45%.

**Tabela 1.** Nanocristais puros e dopados em suas respectivas concentrações. Uberlândia - MG, 2018.

Nanocristais dopados	Concentrações de dopagem						
	0,3	0,7	1,0	3,0	7,0	9,0	11,0
ZnO:Ag	0,3	0,7	1,0	3,0	7,0	9,0	11,0
ZnO:Au	0,1	0,5	1,0	3,0	5,0	10,0	
ZnO:Cu	0,1	0,4	1,0	4,0	8,0	12,0	
ZnO:Fe	0,1	0,5	1,0	3,0	5,0	7,0	9,0
ZnO:Mn	0,2	0,4	0,8	2,0	4,0	8,0	12,0
ZnO:Ni	0,3	1,0	3,0	7,0	11,0		
ZnO:Mo	0,5	1,0	5,0	10,0			
ZnO:K	0,5	1,0	5,0	10,0			
ZnO:Mg	0,5	1,0	5,0	10,0			
Nanocristais Puros	AgO	CuO	FeO	MnO	NiO	ZnO	

ZnO:Ag: Óxido de Zinco dopado com Prata; ZnO: Au: Óxido de Zinco dopado com Ouro; ZnO: Cu: Óxido de Zinco dopado com Cobre; ZnO:Fe: Óxido de Zinco dopado com Ferro; ZnO:Mn: Óxido de Zinco dopado com Manganês; ZnO:Ni: Óxido de Zinco dopado com Níquel; ZnO:Mo: Óxido de Zinco dopado com Molibdênio; ZnO:K: Óxido de Zinco dopado com Potássio; ZnO:Mg: Óxido de Zinco dopado com Magnésio; AgO: Oxido de Prata; CuO: Óxido de Cobre; FeO: Óxido de Ferro; MnO: Oxido de Manganês; NiO: Óxido de Níquel; ZnO: Óxido de Zinco.

Para a solução de cada nanocristal foi utilizada 0,01 g/ml com água filtrada autoclavada. A partir dessa solução inicial não diluída, as diluições seriadas foram

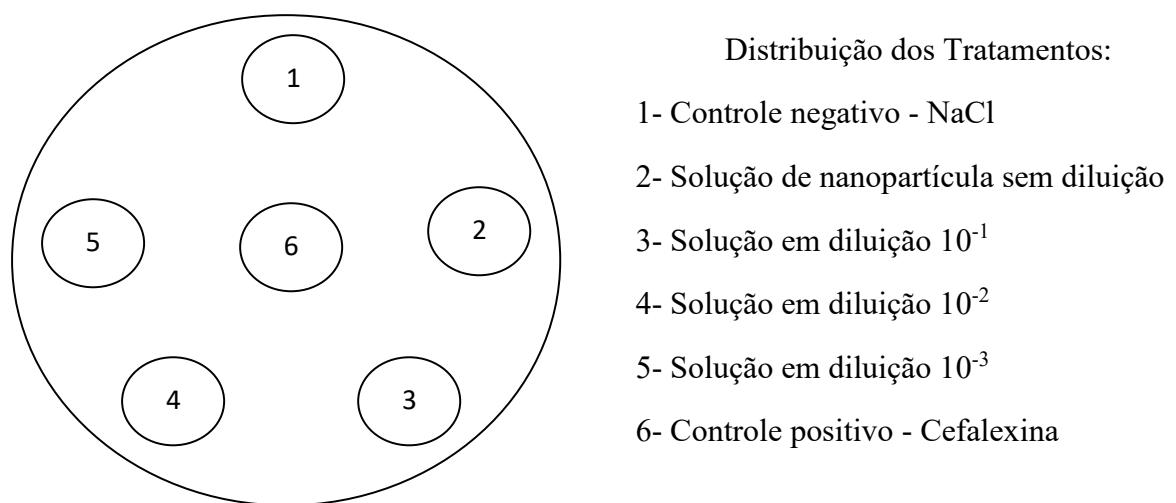
realizadas de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  para avaliar o efeito da solução e de suas respectivas diluições sobre o crescimento bacteriano.

O isolado bacteriano UFU A35 pertencente à coleção de trabalho do Laboratório de Bacteriologia Vegetal da UFU, foi cultivado em meio de cultura 523 (KADO e HESKETT, 1970). Após 48 horas foi preparada uma suspensão bacteriana em água filtrada autoclavada e ajustada em espectofotômetro para  $OD_{550}= 0,5$  ( $10^9$  UFC/mL $^{-1}$ ).

Em placas de Petri foi adicionado uma camada básica de meio ágar-água 2% e outra camada contendo meio nutritivo semissólido (0,8%) acrescida de 10% da suspensão bacteriana ( $10^9$  UFC mL $^{-1}$ ). Em seguida, 6 discos de papel de filtro esterilizado, de 6 mm de diâmetro foram colocados sobre o meio e embebidos com 10 µL de cada produto (solução de nanocristais e respectivas diluições; controle negativo com NaCl e controle positivo com cefalexina), nas diferentes concentrações, com 3 repetições para cada concentração e para cada produto. Após 48h de incubação em estufa à 28°C, foi observado a presença do halo de inibição.

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado composto por seis tratamentos com três repetições e foi avaliado a partir da formação e medição do diâmetro do halo de inibição (cm) com uso de um paquímetro. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de significância no software Sisvar (FERREIRA, 2019).

A figura abaixo representa o esquema de montagem das placas com tratamentos de nanocristais e seus respectivos controles.



**Figura 1.** Esquema de organização de tratamentos em placa de Petri.

Considerando as performances resultantes desse primeiro ensaio e o custo de síntese que algumas dopagens provavelmente teriam, os nanocristais de ZnO 0.5 Mo

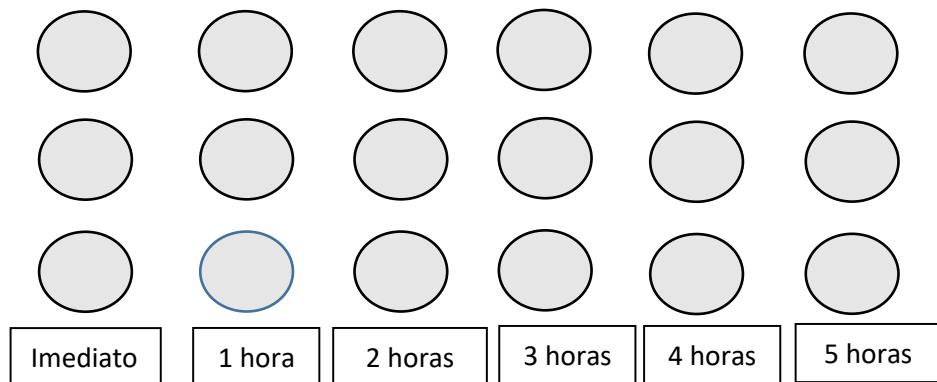
(0,5% molibdênio), ZnO 1 Mg (1% magnésio) e ZnO 1 K (1% potássio) foram escolhidas para os demais testes por serem também nutrientes essenciais e/ou benéficos na cultura do tomateiro.

### 3.2 Redução das UFC/mL em tempo de exposição aos nanocristais

O experimento consistiu em avaliar visualmente o tempo médio para a morte da bactéria indicado pela diminuição das unidades formadoras de colônia (UFC/mL), a partir da ação de contato da solução de nanocrystal (ZnO 0,5 Mo, ZnO 1 K e ZnO 1 Mg).

Em tubos de 2 mL<sup>-1</sup> esterilizados foi adicionado 100 µl da suspensão bacteriana e 900 µl dos nanocristais em diluição de 10<sup>-2</sup>. Segundo o esquema abaixo (Figura 2), a solução de nanopartículas misturada a suspensão bacteriana foi plaqueada em meio 523 imediatamente após o contato e a cada uma hora em uma nova placa até contabilizar 5 horas. As placas foram incubadas por 72 horas a 28°C e avaliadas visualmente com a contagem do número de colônias bacterianas.

O ensaio utilizou delineamento inteiramente casualizado com 3 tratamentos e 3 repetições por hora de inoculação.



**Figura 2.** Esquema do cultivo em horas da suspensão bacteriana tratada com solução de diferentes nanocristais.

### 3.3 Controle da mancha bacteriana com nanocristais em casa de vegetação

O experimento foi conduzido no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia - MG, no ano de 2019. O isolado UFU A35 de *Xanthomonas* spp. pertencentes à coleção de trabalho foi cultivado em meio de cultura 523. Após 48 h foi preparada uma suspensão bacteriana em água filtrada autoclavada e ajustada em espectrofotômetro para OD550=0,5 ( $1 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup>), posteriormente diluída para concentração de  $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>.

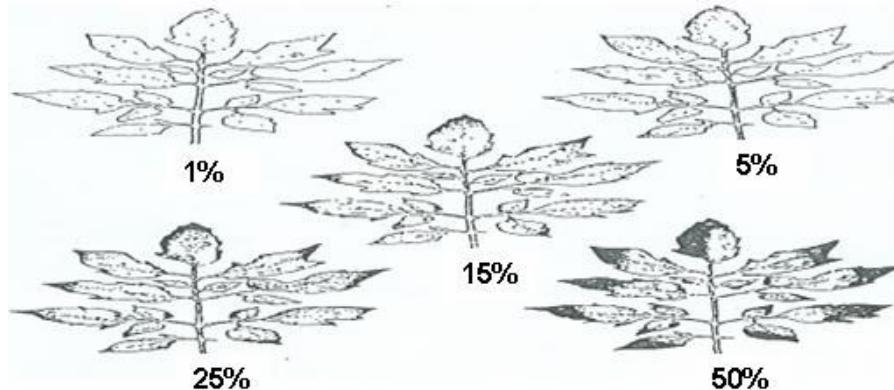
Em casa de vegetação plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada foram cultivadas em vasos com capacidade de 500 mL, com substrato solo, areia e vermiculita (3:1:1). Após 30 dias da semeadura, as plantas (três a quatro folhas), no controle preventivo foram pulverizadas até o ponto de escorrimento com as soluções de nanocristais ( $ZnO$  0,5 Mo,  $ZnO$  1 K ou  $ZnO$  1 Mg) em duas concentrações distintas (2,5 ou 5,0 mg/mL<sup>-1</sup>), além dos controles com água ou Kocide (2 g/L<sup>-1</sup>) e dois dias após as plantas, foram inoculadas via pulverização das folhas, com a suspensão na concentração de  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>.

No controle curativo, as plantas foram inoculadas com a suspensão bacteriana descrita anteriormente, e dois dias após foram pulverizadas com a solução de nanocristais, água ou Kocide. Plantas pulverizadas com água e sem inoculação foram consideradas as testemunhas.

As plantas foram mantidas em câmara úmida 24 horas antes e após a inoculação. O experimento foi em esquema fatorial, composto de 2 controles (preventivo e curativo), 5 produtos (3 nanocristais, água e Kocide), 2 concentrações da solução de nanocristais (2,5 ou 5,0 mg/mL<sup>-1</sup>), com quatro repetições, sendo considerado como unidade experimental, um vaso contendo duas plantas. A severidade da doença foi avaliada empregando-se a escala diagramática (Figura 3), aos 3, 5, 8, 11, 14 e 17 dias após a inoculação.

A Área Abaixo da Curva de Progresso de Doença (AACPD) foi calculada pela fórmula: AACPD =  $\sum ((Y_i + Y_{i+1}) / 2) (t_{i+1} - t_i)$ , onde: Y é a intensidade da doença (nota atribuída de acordo com a escala diagramática usada); t é o tempo (intervalo entre as avaliações, em dias); e i representa o número de avaliações no tempo.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de significância.



**Figura 3.** Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha-bacteriana do tomateiro (MELLO *et al.*, 1997)

### **3.4 Inoculação, detecção e germinação em sementes tratadas com nanocristais**

Sementes comerciais de tomate Santa Cruz Kada sem tratamento prévio foram desinfestadas utilizando álcool 50% por 30 segundos e em seguida com solução de hipoclorito de sódio 1% por 3 minutos. As sementes foram lavadas em água filtrada autoclavada e secas sob fluxo laminar em papel filtro autoclavado.

Os tratamentos consistiram em sementes inoculadas ou não e tratadas com três nanocristais (ZnO 0,5 Mo, ZnO 1 K ou ZnO 1 Mg).

Foram inoculadas 1200 sementes, sendo 300 sementes tratadas com a solução de cada um dos nanocristais (ZnO 0,5 Mo, ZnO 1K e ZnO 1 Mg) além de 300 sementes não tratadas após inoculação; para o grupo de sementes não inoculadas foram utilizadas 1200 sementes e divididas do mesmo modo que o grupo inoculado.

Para inoculação, a suspensão bacteriana concentrada foi preparada com solução de NaCl 0,45%. As sementes de tomate foram colocadas sobre a suspensão bacteriana em placas de Petri por 10 minutos, foi retirado o excesso com papel filtro autoclavado e então foram imersas na solução de nanocristais por 10 minutos.

As sementes não inoculadas foram deixadas por 10 minutos em solução de nanocristais, retiradas, secas em papel filtro sob o fluxo laminar. Cada ensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado.

Cada ensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições.

Para a detecção de bactérias nas sementes foi utilizado 100 sementes de cada tratamento divididas em 4 repetições de 25 e distribuídas em placas de Petri, contendo meio 523 com cycloheximide e incubadas em estufa a 28 °C por 48h. Após o tempo de incubação foi determinada a porcentagem de sementes com presença da bactéria.

Nos testes de germinação padrão utilizou-se 200 sementes de cada tratamento, divididas em 4 repetições de 50 sementes segundo a metodologia descrita nas Regras de Analise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009).

As sementes após secagem em fluxo foram distribuídas caixas tipo *Gerbox* contendo papel mata borrão umedecido com água filtrada autoclavada em volume igual 2,5 vezes o seu peso. As caixas tampadas foram levadas ao germinador à temperatura alternada de 20 – 30°C e fotoperíodo de 12h. As avaliações aconteceram aos 5 e 14 dias após incubação no germinador onde foi feita a contagem de plântulas germinadas.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano *in vitro*

Em todas as placas avaliadas o antibiótico estreptomicina não inibiu o crescimento bacteriano *in vitro*, sendo então utilizada a cefalexina em todos os ensaios, onde foi capaz de inibir o crescimento bacteriano a partir do desenvolvimento do halo de inibição (2,2 cm) e como esperado, o controle negativo utilizando a solução salina (NaCl 45%) não apresentou controle sobre a bactéria não havendo a presença do halo (0,0 cm).

Os nanocristais de ZnO dopados com cobre, ferro, magnésio, manganês, molibdênio, níquel, ouro, potássio e prata apresentaram, halos de inibição dependendo de sua concentração.

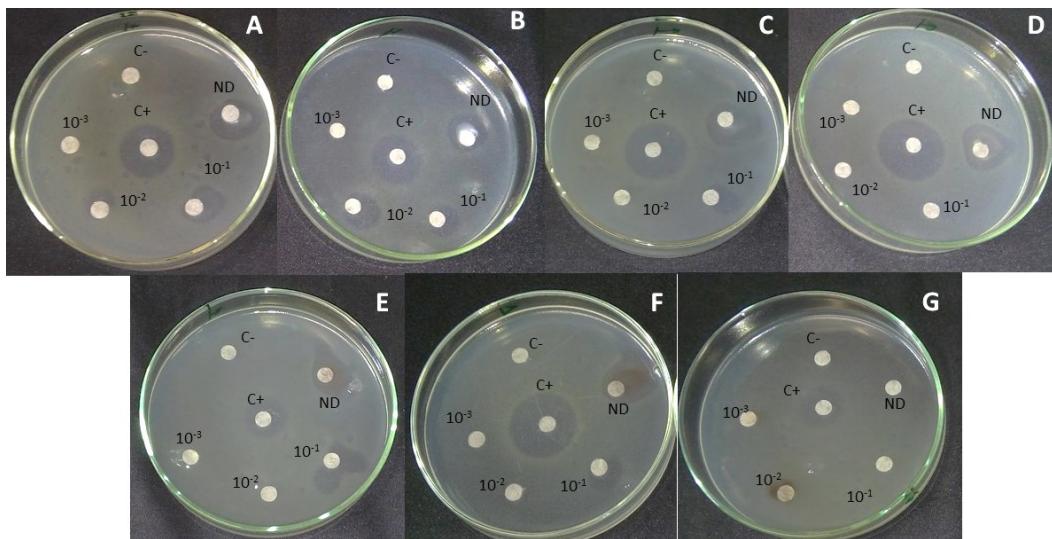
A cefalexina e o nanocrystal de ZnO puro apresentaram os maiores halos de inibição, seguido pelos nanocristais dopados com cobre nas concentrações (%) de 0,1, 0,4, 1, 4, 8 e 12. O nanocrystal de CuO não diluído apresentou os menores halos em cm (1,3 respectivamente), sendo o NaCl não capaz de formar o halo de inibição (Tabela 2).

A solução de nanocristais de forma não diluída apresentou os maiores halos de inibição, seguido pela diluição de 10 vezes ( $10^{-1}$ ) (Figura 4).

**Tabela 2.** Halo de inibição de crescimento (cm) de *Xanthomonas* spp., por nanocristais de ZnO:Cu em diferentes dopagens e diluições. Uberlândia –MG, 2018.

Amostras	Halo de inibição de crescimento de <i>Xanthomonas</i> spp. (cm)				
	Não diluída	Diluição	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$
ZnO 0,1 Cu	1,5		1,1	0,8	0,2
ZnO 0,4 Cu	1,4		1	0,7	0
ZnO 1 Cu	1,8		1,2	0	0
ZnO 4 Cu	1,9		0,7	0	0
ZnO 8 Cu	1,8		1,5	0	0
ZnO 12 Cu	1,8		0,8	0	0
CuO	1,3		0	0	0
ZnO	3		2,1	0,8	0,7
Cefalexina	2,2				2,2 a
NaCl	0				0 c
Média	1,8 A		1,0 B	0,3 C	0,1 C
CV%	55,31				

Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem pelo teste de Tukey a 0,05.



**Figura 4.** Halos de inibição de *Xanthomonas* spp. por nanocristais de ZnO puros e dopados com Cu em diferentes dopagens. (A) ZnO: 0.1 Cu, (B) ZnO: 0.4 Cu, (C) ZnO:1 Cu, (D) ZnO:4 Cu, (E) ZnO:8 Cu, (F) ZnO:12 Cu e (G) NCs de CuO.

Segundo Ahamed et al. (2014) as nanopartículas de cobre apresentam alta capacidade de controle bacteriano sendo sua síntese menos onerosa economicamente. A toxicidade do cobre pode ser explicada pela capacidade dos íons cúpricos em gerar espécies reativas de oxigênio, que causam a destruição das membranas lipídicas e danos ao DNA.

Ensaios com uso de nanocristais de ZnO dopados com diferentes dopagens de cobre foram realizados por Mamede (2018) e apresentaram capacidade de inibição do crescimento bacteriano de *Pantoea ananatis* *in vitro*, bactéria causadora da mancha branca do milho, corroborando com os resultados encontrados.

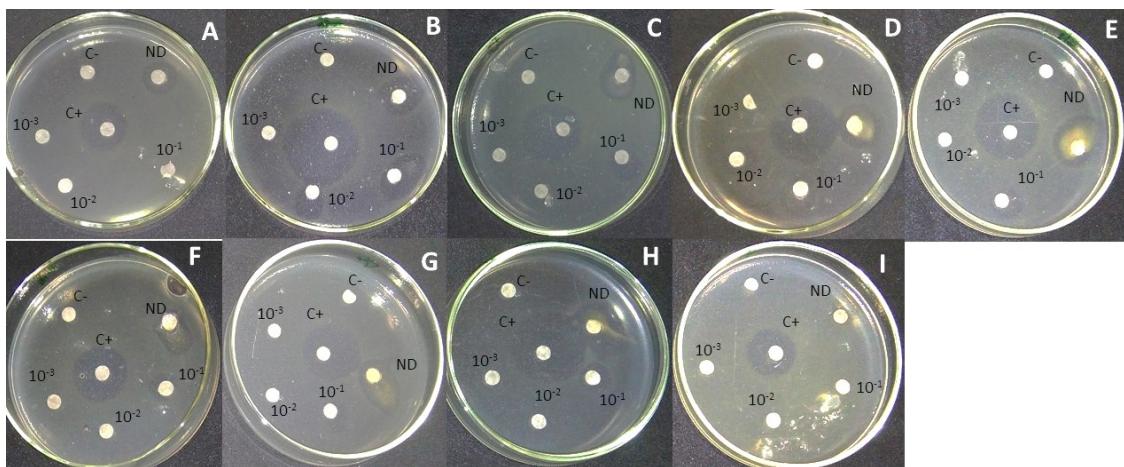
Os nanocristais dopados com Fe em todas as concentrações avaliadas além do nanocristal de óxido de ferro e do ZnO apresentaram a formação do halo inibitório em solução não diluída, exceto o NaCl (Figura 5). A cefalexina e o nanocristal puro de ZnO apresentaram os maiores halos, seguidos pelas dopagens que não apresentaram diferença estatística. O nanocristal de FeO apresentou performance menor (0,2 cm) que o controle positivo (2,2 cm), mas melhor que o controle com solução salina (0 cm) (Tabela 3).

A solução não diluída de nanocristais puros e dopados apresentou maior capacidade de inibição em todas as concentrações.

**Tabela 3.** Halo de inibição de crescimento (cm) de *Xanthomonas* spp., por nanocristais de ZnO:Fe em diferentes dopagens e diluições. Uberlândia –MG, 2018.

Amostras	Halo de inibição de crescimento de <i>Xanthomonas</i> spp. (cm)				Média
	Não diluída	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	
ZnO 0,1 Fe	1,4	1,1	0,3	0	0,7 bc
ZnO 0,5 Fe	1,6	1,4	0	0	0,7 bc
ZnO 1 Fe	1,9	1,3	0	0	0,8 bc
ZnO 3 Fe	1,6	1,2	0	0	0,7 bc
ZnO 5 Fe	2,0	0,8	0,3	0	0,8 bc
ZnO 7 Fe	1,7	1,2	0,3	0	0,8 bc
ZnO 9 Fe	2,0	0	0	0	0,5 c
ZnO 11 Fe	1,5	0,7	0	0	0,5 c
FeO	1,1	0	0	0	0,2 c
ZnO	3,0	2,1	0,8	0,7	1,7 ab
Cefalexina	2,2				2,2 a
NaCl	0				0 c
Média	1,7 A	1,0 B	0,1 C	0,0 C	
CV%	58				

Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem pelo teste de Tukey a 0,05.



**Figura 5.** Halos de inibição de *Xanthomonas* spp. por NCs de ZnO dopados com Fe em diferentes dopagens. (A) ZnO: 0,1 Fe, (B) ZnO: 0,5 Fe, (C) ZnO:1 Fe, (D) ZnO:3 Fe, (E) ZnO:5 Fe, (F) ZnO:7 Fe, (G) ZnO:9 Fe, (H) ZnO:11 Fe e (I) NCs de FeO.

As propriedades das nanopartículas que contêm ferro são capazes de controlar ou até destruir organismos patogênicos como é o caso da *E. coli* e *Pseudomonas fluorescens*,

mesmo que a quantidade do elemento ferro esteja presente em baixas concentrações (PRUCEK et al., 2011), corroborando com os resultados obtidos onde todas as concentrações de dopagem de Fe nos nanocristais de ZnO foram capazes de inibir o crescimento bacteriano.

Resultados obtidos por Zancan (2018) indicaram que nanopartículas de ZnO quando dopadas com Fe (0,05, 0,1, 0,5, 1, 3,7,9 e 11) apresentaram melhor efeito sobre o controle de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* na canola do que quando o FeO foi usado separadamente.

Os nanocristais dopados com magnésio (Tabela 4) apresentaram controle com formação de halo de inibição exceto a dopagem com 10% Mg e NaCl (Figura 6).

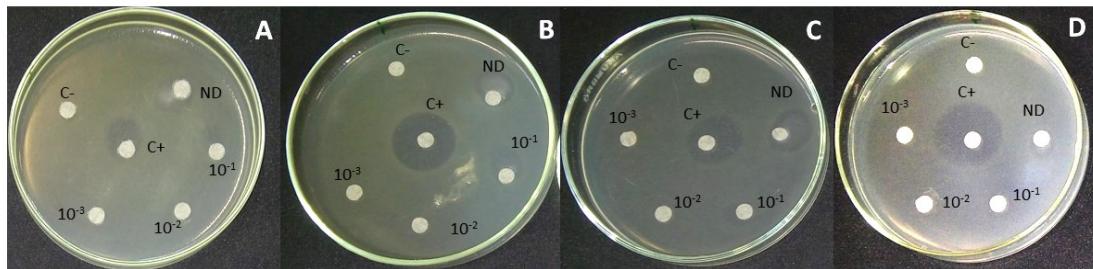
A forma não diluída apresentou as maiores médias de halos (1,5 cm) seguida pela diluição em 10x (0,7 cm), seguida pelas diluições em 100 e 1000x (0,1 cm).

**Tabela 4.** Halo de inibição de crescimento (cm) de *Xanthomonas* spp., por nanocristais de ZnO:Mg em diferentes dopagens e diluições. Uberlândia –MG, 2018.

Amostras	Halo de inibição de crescimento de <i>Xanthomonas</i> spp. (cm)				
	Diluição da nanopartícula				
	Não diluída	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	Média
ZnO 0,5 Mg	1,4	0,4	0	0	0,4 bc
ZnO 1 Mg	1,7	0,7	0	0	0,6 bc
ZnO 5 Mg	1,5	0,6	0	0	0,5 bc
ZnO 10 Mg	0,3	0	0	0	0,0 c
ZnO	3,0	2,1	0,8	0,7	1,7 ab
Cefalexina	2,2				2,2 a
NaCl	0				0 c
Média	1,5 A	0,7 B	0,1 C	0,1 C	
CV%	88				

Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem pelo teste de Tukey a 0,05.

Poucos relatos são encontrados, mas segundo Ram Prasad e Prasad (2014) nanopartículas contendo Mg provavelmente tem capacidade de controlar doenças em plantas a partir de sua atividade antimicrobiana direta pela formação de espécies reativas de oxigênio.



**Figura 6.** Halos de inibição de *Xanthomonas* spp. por nanocristais de magnésio em diferentes dopagens. (A) ZnO: 0.5 Mg, (B) ZnO:1 Mg, (C) ZnO:5 Mg e (D) ZnO:10 Mg.

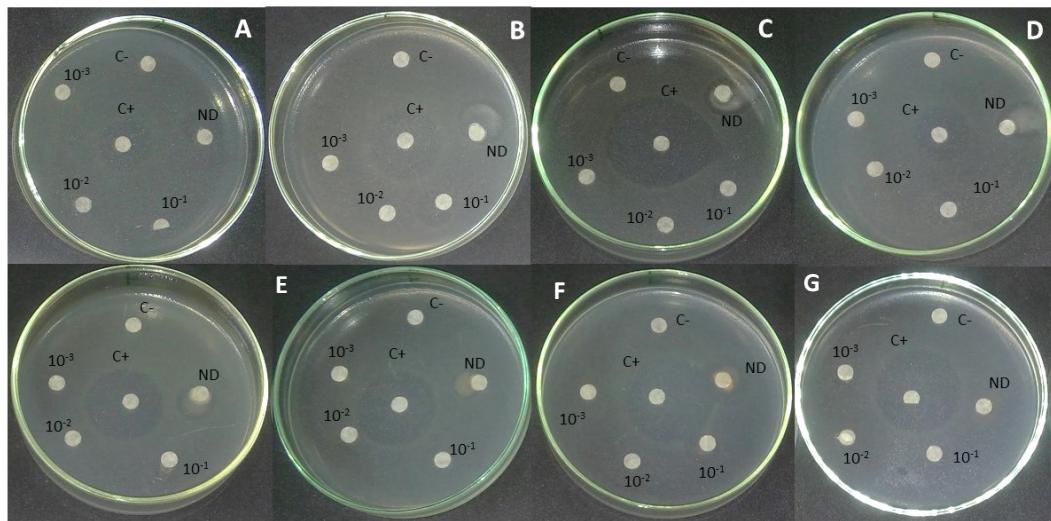
Os NCs de ZnO dopados com manganês (Mn) (Tabela 5) apresentaram halos estatisticamente iguais, tendo se sobressaído em tamanho os halos formados por ZnO, seguido pela cefalexina e pelas dopagens de manganês utilizadas nos nanocristais (Figura 7). O nanocristal puro de óxido de manganês não apresentou formação de halo em nenhuma das concentrações,

A forma não diluída e diluída 1x dos nanocristais apresentaram os maiores halos.

**Tabela 5.** Halo de inibição de crescimento (cm) de *Xanthomonas* spp., por nanocristais de ZnO:Mn em diferentes dopagens e diluições. Uberlândia –MG, 2018.

Amostras	Halo de inibição de crescimento de <i>Xanthomonas</i> spp. (cm)			
	Diluição			
	Não diluída	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>
ZnO 0.2 Mn	1,7 b A	1,7 ab A	0 a B	0 a B
ZnO 0.4 Mn	1,7 b A	1,1 b A	0 a A	0 a A
ZnO 0.8 Mn	1,4 ab A	1,0 b A	0 a B	0 a B
ZnO 2 Mn	1,7 b A	1,2 ab A	0 a B	0 a B
ZnO 4 Mn	1,9 ab A	1,3 ab A	0 a B	0 a B
ZnO 8 Mn	1,4 b A	1,2 ab A	0 a B	0 a B
ZnO 12 Mn	1,8 ab A	1,4 ab A	0 a B	0 a B
MnO	0 c A	0 c A	0 a A	0 a A
ZnO	3,0 a A	2,1 a A	0,8 a B	0,7 a B
Cefalexina	2,2 ab			
NaCl	0 c			
CV%	47			

Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem pelo teste de Tukey a 0,05.



**Figura 7.** Halos de inibição de *Xanthomonas* spp. por nanocristais de manganês em diferentes dopagens. (A) ZnO: 0.2 Mn, (B) ZnO: 0.4 Mn, (C) ZnO: 0.8 Mn, (D) ZnO:2 Mn, (E) ZnO:4 Mn, (F) ZnO:8 Mn, (G) ZnO:12 Mn e (H) NCs de MnO.

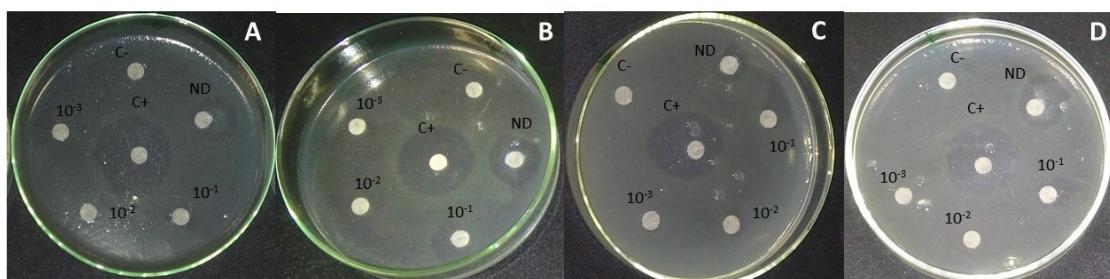
Os resultados de nanocristais de ZnO dopados com Mn foram semelhantes aos encontrados por Zancan (2018) onde todos os nanocristais, exceto o NCs de MnO inibiram o desenvolvimento *in vitro* de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, agente causal da podridão negra da canola. Já Mamede (2018) trabalhando com *Pantoea ananatis* causadora da mancha branca do milho, obteve sucesso com as nanopartículas de ZnO nas concentrações de 0.4, 0.8 e 4 de manganês de forma não diluída e 0.2, 0.4, 0.8 e 4 em solução diluída 10 vezes.

Os NCs de ZnO dopados com molibdênio (Mo) apresentaram interação não significativa entre a dopagem e a diluição, sendo as dopagens de Mo nos NCs de ZnO estatisticamente iguais as testemunhas (Tabela 6) e a melhor diluição para o controle de *Xanthomonas* spp. *in vitro* foi a solução de nanocristais de forma não diluída (Figura 8).

**Tabela 6.** Halo de inibição de crescimento (cm) de *Xanthomonas* spp., por nanocristais de ZnO:Mo em diferentes dopagens e diluições. Uberlândia –MG, 2018.

Amostras	Halo de inibição de crescimento de <i>Xanthomonas</i> spp. (cm)				
	Não diluída	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	Média
ZnO 0,5 Mo	1,9	1,1	0	0	0,7 ab
ZnO 1 Mo	1,6	1,3	0	0	0,7 ab
ZnO 5 Mo	1,5	1,2	0	0	0,6 ab
ZnO 10 Mo	1,9	0,8	0,2	0	0,7 ab
ZnO	3,0	2,1	0,8	0,7	1,7 a
Cefalexina	2,2				2,2 a
NaCl	0				0 c
Média	1,9 A	1,3 A	0,2 B	0,1 B	
CV%	66				

Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem pelo teste de Tukey a 0,05.



**Figura 8.** Halos de inibição de *Xanthomonas* spp. por nanocristais de molibdênio em diferentes dopagens. (A) ZnO: 0,5 Mo, (B) ZnO:1 Mo, (C) ZnO:5 Mo e (D) ZnO:10 Mo.

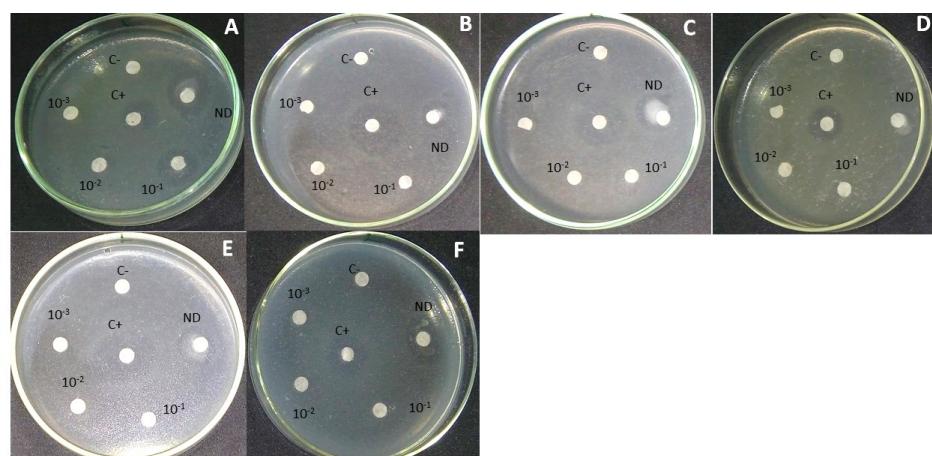
Não foram encontrados na literatura nanopartículas que utilizam molibdênio em sua composição, no entanto, segundo Filgueira (2008), o molibdênio é um micronutriente muito importante na cultura do tomateiro, auxiliando na atividade respiratória e fixação e metabolismo de nitrogênio.

Os nanocristais de ZnO dopados com níquel (Ni) não diferiram estatisticamente, no entanto, os maiores halos foram formados pela cefalexina seguido pelo ZnO puro (Tabela 7). A solução de nanocristais não diluída apresentou maior capacidade de controle da bactéria (Figura 9).

**Tabela 7.** Halo de inibição de crescimento (cm) de *Xanthomonas* spp., por nanocristais de ZnO:Ni em diferentes dopagens e diluições. Uberlândia –MG, 2018.

Amostras	Halo de inibição de crescimento de <i>Xanthomonas</i> spp. (cm)				
	Diluição da nanopartícula				
	Não diluída	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	Média
ZnO 0,3 Ni	1,9	1,5	0	0	0,8 bc
ZnO 1 Ni	1,4	0	0	0	0,3 c
ZnO 3 Ni	1,7	1,1	0	0	0,7 bc
ZnO 7 Ni	1,1	0	0	0	0,2 c
ZnO 11 Ni	1,1	0	0	0	0,2 c
NiO	2,0	0	0	0	0,5 c
ZnO	3,0	2,1	0,8	0,7	1,7 ab
Cefalexina	2,2				2,2 a
NaCl	0				0 c
Média	1,7 A	0,6 B	0,1 C	0,1 C	
CV%	69,3				

Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem pelo teste de Tukey a 0,05.



**Figura 9.** Halos de inibição de *Xanthomonas* spp. por NCs de ZnO dopados com Ni em diferentes dopagens. (A) ZnO: 0,3 Ni, (B) ZnO:1 Ni, (C) ZnO:3 Ni, (D) ZnO:7 Ni, (E) ZnO:11 Ni e (F) NCs de NiO.

Elmer & White (2016) trabalhando com mancha de *Fusarium* em plantas de tomate indicaram ausência de efeito de nanopartículas de NiO sobre o fungo.

Zancan (2018) observou a formação de halos de inibição de *Xanthomonas campesiris* pv. *campesiris* com uso de nanopartículas com Ni em diferentes dopagens, no

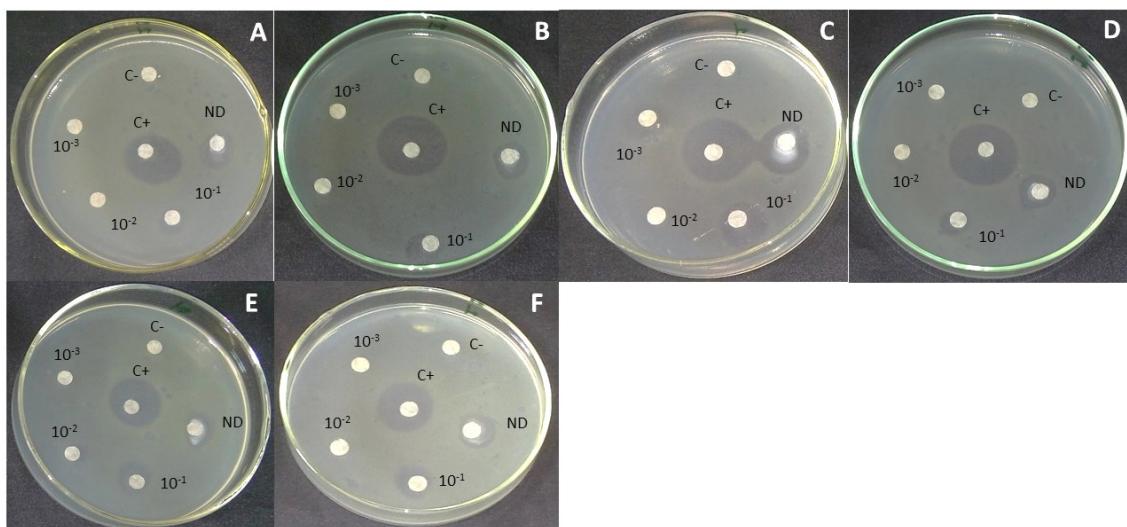
entanto, o NiO apresentou os menores halos dentro das avaliações, apresentando divergência com o resultado encontrado.

Os nanocristais de ZnO dopados com ouro (Au) não apresentaram interação significativa com as diluições utilizadas e não houve diferença estatística entre os controles e as dopagens (Tabela 8, figura 10). As soluções de nanocristais não diluídos se apresentaram superiores no controle frente às diluições.

**Tabela 8.** Halo de inibição de crescimento (cm) de *Xanthomonas* spp., por nanocristais de ZnO:Au em diferentes dopagens e diluições. Uberlândia –MG, 2018.

Amostras	Halo de inibição de crescimento de <i>Xanthomonas</i> spp. (cm)				Média
	Diluição da nanopartícula	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	
ZnO 0,1 Au	1,5	1,1	0	0	0,6 bc
ZnO 0,5 Au	1,5	1,2	0	0	0,7 bc
ZnO 1 Au	1,7	1,3	0,6	0	0,9 bc
ZnO 3 Au	1,2	0,8	0	0	0,5 bc
ZnO 5 Au	1,3	1,1	0	0	0,6 bc
ZnO 10 Au	1,7	1,3	0	0	0,7 bc
ZnO	3,0	2,1	0,8	0,7	1,7 ab
Cefalexina	2,2				2,2 a
NaCl	0				0 c
Média	1,6 A	1,3 A	0,2 B	0,1 B	
CV%	56,7				

Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem pelo teste de Tukey a 0,05.



**Figura 10.** Halos de inibição de *Xanthomonas* spp. por NCs de ZnO dopados com Au em diferentes dopagens, (A) ZnO: 0.1 Au, (B) ZnO: 0.5 Au, (C) ZnO:1 Au, (D) ZnO:3 Au, (E) ZnO:5 Au e (F) ZnO:10 Au.

Resultados de Mamede (2018) indicaram que dopagens de Au em nanocristais de ZnO demonstram o controle de *Pantoea ananatis* *in vitro*.

Zancan (2018) observou formação de halos de inibição sobre *Xanthomonas campestris* pv *campestris* *in vitro* em todas as dopagens de Au testadas (0.1, 0.5, 1, 3, 5 e 10%).

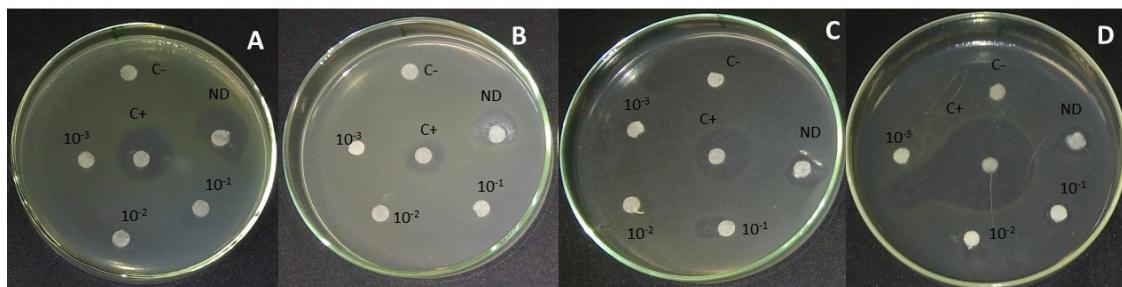
Cui et al. (2012) observaram em estudos realizados que a ação antibacteriana das nanopartículas contendo ouro advém de outros mecanismos que não seja a formação de espécies reativas de oxigênio, que é o mecanismo mais considerado para a ação das nanopartículas. Possivelmente, as nanoparticulas de ouro se fixam a membrana bacteriana causando alterações em sua permeabilidade e distúrbios celulares.

Os nanocristais de ZnO dopados com (K) (Tabela 9) apresentaram formação do halo inibitório da bactéria em todas as dopagens (Figura 11), no entanto os valores foram estatisticamente iguais ao das testemunhas. Em todas as concentrações testadas, a forma não diluída apresentou melhor desempenho frente as diluições.

**Tabela 9.** Halo de inibição de crescimento (cm) de *Xanthomonas* spp., por nanocristais de ZnO:K em diferentes dopagens e diluições. Uberlândia –MG, 2018.

Amostras	Halo de inibição de crescimento de <i>Xanthomonas</i> spp. (cm)				
	Diluição da nanopartícula				Média
	Não diluída	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	
ZnO 0.5 K	1,6	0,8	0	0	0,6 bc
ZnO 1 K	1,6	0	0	0	0,4 bc
ZnO 5 K	1,3	0,8	0,2	0	0,6 bc
ZnO 10 K	1,1	0,3	0,3	0	0,4 bc
ZnO	3,0	2,1	0,8	0,7	1,7 ab
Cefalexina	2,2				2,2 a
Nacl	0				0 c
Média	1,7 A	0,8 B	0,2 BC	0,1 C	
CV%	72.1				

Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem pelo teste de Tukey a 0,05.



**Figura 11.** Halos de inibição de *Xanthomonas* spp. por NCs de ZnO dopados com K em diferentes dopagens. (A) ZnO 0,5 K, (B) ZnO 1 K, (C) ZnO 5 K e (D) ZnO 10 K.

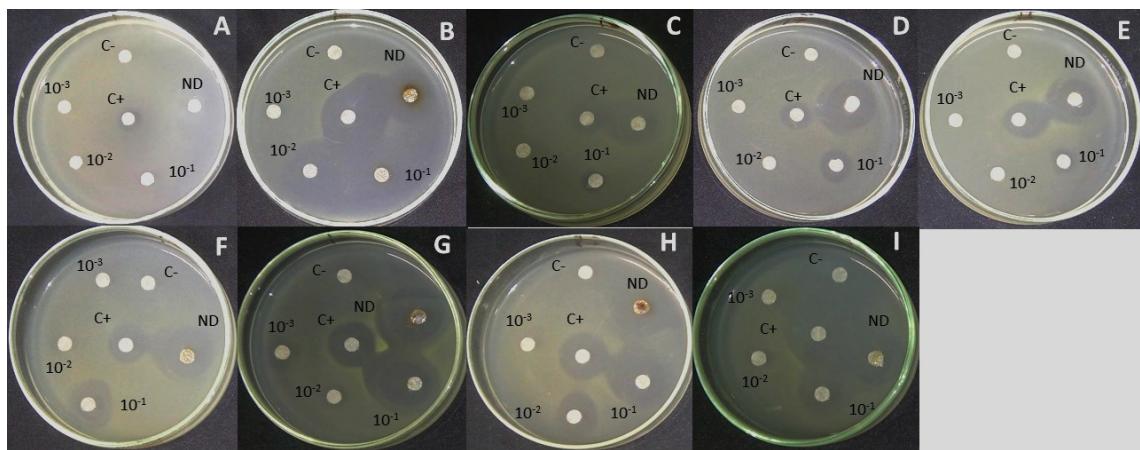
Não foram encontrados estudos na literatura que evidenciem o uso de nanopartículas dopadas com K sobre bactérias fitopatogênicas, no entanto pode-se inferir que o potássio é o nutriente mais extraído pelo tomateiro sendo importante para seu crescimento e metabolismo (FILGUEIRA, 2008).

Os nanocristais de ZnO dopados com prata (Ag) (Figura 12) não houve interação significativa com a diluição utilizada. Todas as dopagens apresentaram formação do halo de inibição, sendo apresentado pelo AgO, ZnO, cefalexina e ZnO 0,7 Ag maiores halos, mesmo sem apresentar diferença estatística (Tabela 10). Dentro das diluições utilizadas, a não diluída apresentou as maiores médias e a diluição 1000x ( $10^{-3}$ ) as menores.

**Tabela 10.** Halo de inibição de crescimento (cm) de *Xanthomonas* spp., por nanocristais de ZnO:Ag em diferentes dopagens e diluições. Uberlândia –MG, 2018.

Amostras	Halo de inibição de crescimento de <i>Xanthomonas</i> spp. (cm)				
	Diluição da nanopartícula	$10^{-3}$	$10^{-2}$	$10^{-1}$	Média
ZnO 0,3 Ag	1,8	1,0	0	0	0,7 ab
ZnO 0,7 Ag	2,3	2,3	1,8	0	1,6 a
ZnO 1 Ag	3,1	1,2	0	0	1,0 ab
ZnO 3 Ag	2,8	1,5	0,3	0	1,1 ab
ZnO 7 Ag	2,8	1,5	0,3	0	1,1 ab
ZnO 9 Ag	3,0	2,3	1,6	0	1,7 a
ZnO 11 Ag	2,7	2,4	0,5	0,4	1,5 ab
AgO	3,1	2,3	1,8	0,4	1,9 a
ZnO	3,0	2,	0,8	0,7	1,7 a
Cefalexina	2,2				2,2 a
NaCl	0				0 b
Média	2,6 A	1,8 B	0,8 C	0,1 D	
CV%	48,6				

Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem pelo teste de Tukey a 0,05.



**Figura 12.** Halos de inibição de *Xanthomonas* spp. por NCs de ZnO dopados com prata em diferentes dopagens. (A) ZnO: 0.3 Ag, (B) ZnO: 0.7 Ag, (C) ZnO:1 Ag, (D) ZnO:3 Ag, (E) ZnO:7 Ag, (F) ZnO:9 Ag, (G) ZnO:11 Ag, (H) NCs de AgO e (I) NCs de ZnO.

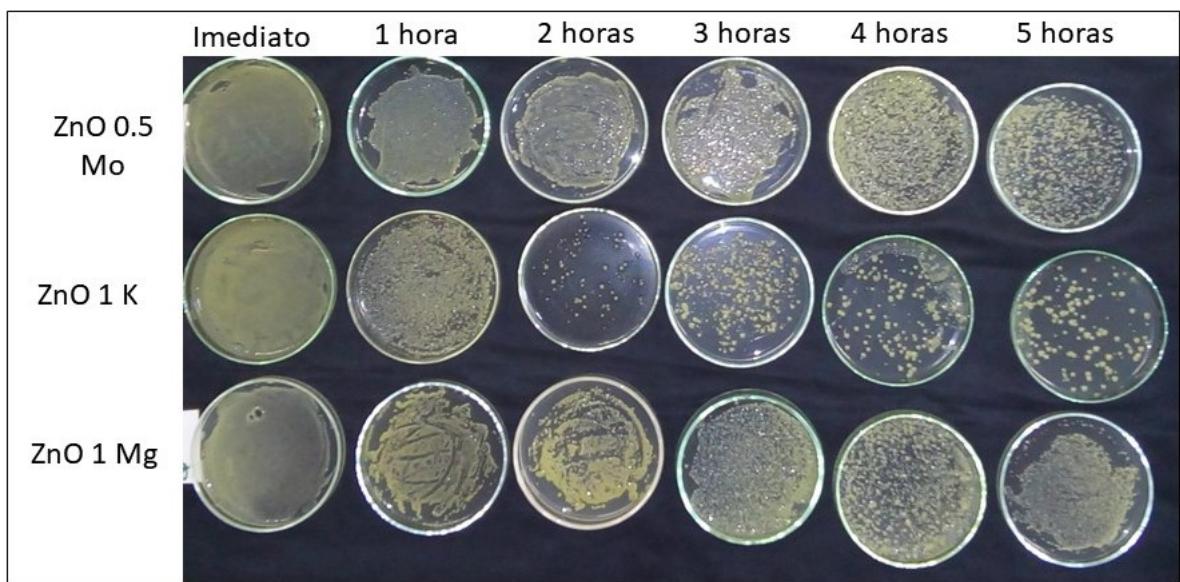
Estudos indicaram que a prata quando comparada a outros metais passíveis de utilização em nanopartículas, são capazes de possuir alta toxicidade aos microrganismos e baixa toxicidade a células animais, em baixas concentrações, além de já comprovado seu amplo espectro de atividade antimicrobiana sobre diversos organismos patogênicos como fungos, bactérias e vírus (BALAZS et al., 2004).

Mamede (2018) e Zancan (2018) apresentaram resultados semelhantes *in vitro* ao utilizarem nanopartículas de Ag na inibição de *P. ananatis* e *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, observando a formação de halos em todas as concentrações utilizadas.

Ballottin et al. (2017) utilizando nanopartículas de prata em tecidos de macacões de trabalhadores a fim de prevenir a entrada e disseminação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, a bactéria causadora do cancro cítrico observaram inibição e controle bacteriano mesmo após lavagem do tecido. Rivas-Cáceres et al. (2018) utilizando nanopartículas de prata em *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* agente causal do cancro bacteriano em tomateiro, observaram que uso da prata se apresentou como um biocida eficaz com poder inibidor da bactéria. Na indústria de alimentos, Araújo et al. (2015) observou que as nanopartículas de prata apresentaram eficiência na descontaminação de cenouras minimamente processadas em relação aos sanitizantes clorados contra a *Pseudomonas* sp.

#### 4.2 Redução das UFC/mL em tempo de exposição aos nanocristais

Ao comparar os resultados dos nanocristais de ZnO dopados com 0,5Mo, 1K e 1Mg, somente a dopagem com 1 K apresentou visualmente a capacidade de diminuir a formação das colônias bacterianas com o tempo, apresentando a média de 142 unidades formadoras de colônia, com cinco horas de contato, sendo os demais períodos não possíveis a contagem (Figura 13).



**Figura 13.** Exposição da suspensão bacteriana a diferentes nanocristais em diferentes tempos. Uberlândia –MG, 2018.

O mecanismo de ação das nanopartículas sobre as bactérias ainda não é exatamente claro, muitas hipóteses surgem e estudos tem sido feitos para esclarecimento dessa informação (DÚRAN, et al. 2016).

Uma das hipóteses é que as nanopartículas se ligam as membranas celulares dos microrganismos ou interferem na formação do biofilme protetor ao redor dos organismos diminuindo sua proteção. Outros estudos levantaram hipóteses de que as nanopartículas podem penetrar no microrganismo e interagir com compostos internos causando sua desregulação, podem liberar íons tóxicos no interior ou exterior do organismo, causando danos em sua maquinaria ou poderiam causar danos a membrana, alterando sua permeabilidade e respiração celular (AHAMED et al. 2014; BALLOTTIN, 2016; WANG et al., 2014).

#### **4.3 Controle da mancha bacteriana com nanocristais em casa de vegetação**

O controle preventivo foi mais eficiente para todos os nanocristais (15,6), apresentando menor área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) quando comparado ao controle curativo (17,8). Os nanocristais utilizados tiveram ação semelhante ao produto cúprico comercial (Tabela 12).

Em controle curativo, a menor AACPD foi atingida por plantas tratadas com solução de nanocristais de ZnO:0,5 Mo em concentração 2,5 mg/ml (18,0), sendo a AACPD menor que em plantas pulverizadas com Kocide (18,7). Já em aplicação preventiva, a concentração 5,0 mg/ml de nanocristais de ZnO:0,5 Molibdênio apresentou menor AACPD (16,2), depois do produto Kocide (15,25). Em ambos os casos a AACPD foi 0,0 para plantas testemunha (não inoculadas e pulverizadas com água).

**Tabela 11.** Área abaixo da curva de progresso da mancha bacteriana do tomateiro utilizando solução de nanocristais. Uberlândia –MG, 2019.

Amostras	Controle	
	Preventivo	Curativo
ZnO 0,5 Mo [2,5]	17,2 bcd A	18,0 b A
ZnO 0,5 Mo [5,0]	16,2 bc A	21,0 bc B
ZnO 1 K [2,5]	18,0 bcd A	21,5 c B
ZnO 1 K [5,0]	18,5 cd A	20,0 bc A
ZnO 1 Mg [2,5]	17,5 bcd A	21,5 c B
ZnO 1 Mg [5,0]	19,0 cd A	20,0 bc A
Kocide	15,2 b A	18,7 bc B
Água com inoculação	19,5 d A	19,5 bc A
Água sem inoculação	0,0 a A	0,0 a A
Média do controle	15,6 A	17,8 B
CV%	7,9	

Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem pelo teste de Tukey a 0,05.

A pulverização de nanocristais de ZnO: 0,1 Cu, 0,2 Mn, 0,5 Fe e 0,7 Ni em concentração 5 e 10 mg/mL no controle curativo e preventivo da mancha branca do milho, causado por *Pantoea ananatis* não foram observadas diferenças significativas na AACPD (Mota, 2018).

Estudos comprovam que as nanopartículas de óxido de zinco apresentam atividade antimicrobiana contra uma gama de organismos (ESPITIA et al., 2012). Apesar de ainda

não totalmente conhecido, infere-se que o mecanismo de ação dos nanocristais de ZnO esteja ligada à formação de espécies reativas de oxigênio que causa extravasamento celular pela destruição da membrana plasmática, dano celular, enzimático e sobre o material genético (SHARMA et al., 2009; WANG et al., 2014).

O tomateiro é uma planta exigente em nutrientes sendo mais absorvidos em ordem decrescente: N, K, Ca, S, P, Mg, Fe, Mn, Zn, B e Cu (EMBRAPA, 1994). A nutrição vegetal está diretamente associada a sanidade de plantas, pois com nutrição adequada pode haver a indução da formação de mecanismos de defesa fisiológica associada a formação de aminoácidos e proteínas (EMBRAPA, 2019).

Especula-se que os nanomateriais por terem uma grande área superficial possam reter com maior eficiência os elementos usados em sua dopagem (Mn, Mg, K, Ni, Ag, etc.) e, portanto, poderiam ser usados como reservatório de nutrientes com maior estabilidade a ser disponibilizado para as plantas. Observa-se que muitas nanopartículas podem vir a ser eficazes por carregarem nutrientes necessários ou benéficos, além de micronutrientes que tem capacidade de fornecer crescimento, desenvolvimento, fortalecimento e proteção as plantas, aprimorando seu potencial de sanidade (NAVARRO et al., 2008; SERVIN et al., 2015).

#### **4.4 Inoculação, detecção e germinação em sementes tratadas com nanocristais**

Em sementes não inoculadas não houve a detecção da bactéria (0%), no entanto, a detecção em sementes inoculadas foi alta (46%) (Tabela 13).

Em sementes inoculadas e tratadas, a menor detecção foi encontrada quando usado o tratamento das sementes com os nanocristais de ZnO: Mo, K e Mg, tendo os nanocristais de ZnO:1 K apresentando 13% das sementes com a presença da bactéria.

A maior porcentagem de sementes com a bactéria (87%) foi encontrada em sementes inoculadas sem tratamento o que indica a capacidade dos nanocristais de controlar as bactérias em sementes (Figura 15).

No teste padrão de germinação não houve diferença significativa entre nenhum dos tratamentos, indicando que o tratamento das sementes utilizando a solução de nanocristais de ZnO 0,5 Mo, ZnO 1 K e ZnO 1 Mg não interferiram nas taxas de germinação das sementes comerciais. No entanto pode-se citar que em geral a germinação apresentou menor que a indicada comercialmente (Tabela 14).

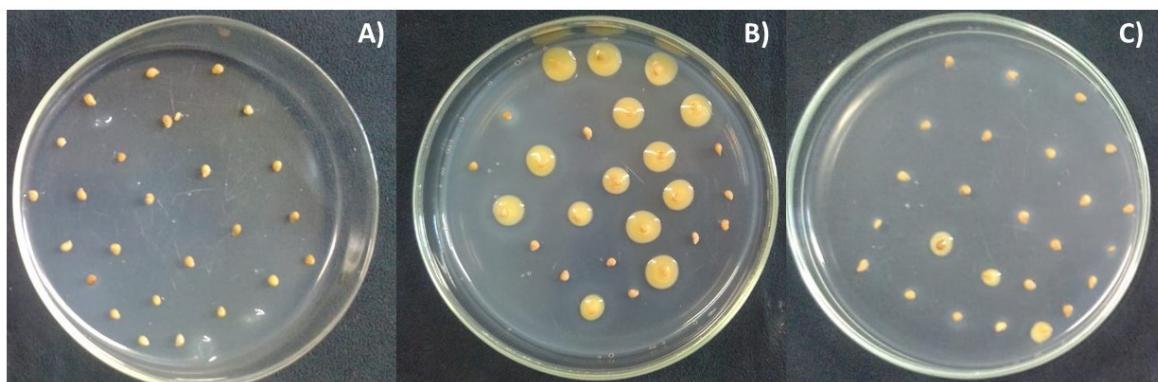
**Tabela 12.** Porcentagem de detecção de bactérias em sementes inoculadas ou não com *Xanthomonas* spp. e tratadas com solução de nanocristais de ZnO: K, Mg e Mo. Uberlândia –MG, 2019.

Produto	Sementes	
	Inoculadas	Não inoculadas
ZnO 0,5 Mo	41 b B	0 a A
ZnO 1 K	13 a B	0 a A
ZnO 1 Mg	39 b B	0 a A
Testemunha	87 c B	0 a A
Média de detecção	46 B	0 A
CV%	32,54	

Médias seguidas por letras distintas minúsculas na coluna diferem pelo teste de Tukey a 0,05.

**Tabela 13.** Porcentagem de germinação sementes inoculadas ou não com *Xanthomonas* spp. e tratadas com solução de nanocristais de ZnO: K, Mg e Mo. Uberlândia –MG, 2019.

Produto	Sementes		
	Inoculadas	Não inoculadas	Média
ZnO 0.5 Mo	59	72	66 a
ZnO 1 K	66	68	67 a
ZnO 1 Mg	69	64	67 a
Testemunha	63	66	64 a
Média	64 A	66 A	
CV%	10,51		



**Figura 14.** Detecção de *Xanthomonas* spp. em A) Sementes não inoculadas, B) sementes inoculadas e não tratadas e C) sementes inoculadas tratadas com ZnO 1K. Uberlândia – MG, 2018.

Estudos sugeriram que durante a germinação de algumas espécies de sementes há a acumulação de espécies reativas de oxigênio que podem desencadear a morte de células do endosperma e na expressão de genes específicos que enviam sinais para que haja a quebra de dormência e por fim a germinação. Quando essa concentração de espécies reativas excede a quantidade necessária pode haver a inativação do processo germinativo e diminuição do vigor das sementes (BAILLY et al., 2008).

Zancan (2018) utilizando sementes de canola naturalmente contaminadas com *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* observou que tratando as mesmas com solução de nanocristais de ZnO:11 Ag houve a presença de fitotoxicidade nas sementes diminuindo sua germinação. Essa diminuição pode ter sido ocasionada pela concentração da prata.

## **5. CONCLUSÃO**

O uso de nanocristais de ZnO puros e dopados (Ag, Au, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo e Ni) inibiram o crescimento bacteriano de *Xanthomonas* spp. *in vitro*.

A mortalidade das colônias bacterianas foi mais efetiva após cinco horas de contato entre a suspensão bacteriana e a solução de nanocristais, sendo o nanocristal de ZnO 1 K o mais eficiente para a diminuição do número de colônias.

Os nanocristais de ZnO 0,5 Mo foi mais eficiente no controle preventivo da mancha bacteriana do tomateiro em casa de vegetação.

Para o tratamento de sementes, o nanocristal de ZnO 1 K reduziu a quantidade de bactérias nas sementes de tomate inoculadas e a porcentagem de germinação das sementes não foi afetado.

Os nanocristais apresentaram controle da bactéria tanto *in vitro* quanto *in vivo*, sendo os nanocristais de ZnO 1 K uma alternativa para o controle da mancha bacteriana do tomateiro.

## REFERÊNCIAS

AGARWAL, S.; RAO, A., V. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. **CMAJ: Canadian Medical Association journal**, Ontário, v. 163, p. 739-744, out. 2000.

AGROFIT. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários**, Brasil/Ministério da Agricultura. Disponível em: [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em 20/10/2019

AGUIAR, L. A.; KIMURA, O.; CASTILHO, A. M. C.; CASTILHO, K. S. C.; RIBEIRO, R. D. L.; AKIBA, F.; CARMO, M. G. F. Efeito de formulações cúpricas e cuproorgânicas na severidade da mancha-bacteriana e na população residente de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* em pimentão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 44-50, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362003000100009>

AHAMED, M.; ALHADLAQ, H.A.; KHAN, M.M.; KARUPPIAH, P.; ALDHABI, N.A. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles. **Journal Nanomaterials**, [S. l.], v. 2014, p. 1-4, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/637858>

ALLAKER, R. P. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. **Journal of Dental Research**, Chicago, v. 89, p. 1175-1186, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1177/0022034510377794>

ALVARENGA, M. A. R. **Tomate**: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidropônia. Lavras: Editora UFLA, 2013.

ANTONIOLLO, L. R.; CASTRO, P. R. C. Tomateiro. In: CASTRO, P. R. C.; KLUGR, R. A.; SESTARI, I. **Manual de fisiologia vegetal**: fisiologia de cultivos. Piracicaba: Editora agronômica Ceres, 2008. p.747-762.

ARAÚJO, E. A.; RIBEIRO, L.; BERNARDES, P. C.; das DORES, M. T.; JÚNIOR, J. F. Q. F. Sanitização de cenoura minimamente processada com nanopartículas de prata. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 9, p.1681-1687, set. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20130820>

ARAÚJO, E. R.; COSTA, J. R.; FERREIRA, M. A. S. V.; QUEZADO-DUVAL, A. M. Widespread distribution of *Xanthomonas perforans* and limited presence of *X. gardneri* in Brazil. **Plant Pathology**, v. 66, p. 159-168, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppa.12543>

BAILLY, C.; BOUTEAU, H. EL-M.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**, France, v. 331, p. 806-814, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2008.07.022>

BALAZS, D.J.; TRIANDAFILLU, K.; WOOD, P.; CHEVOLOT, Y.; VAN DELBEN, C.; HARMS, H. Inhibition of bacterial adhesion on PVC endotracheal tubes by RF-oxygen glow discharge, sodium hydroxide and silver nitrate treatments. **Biomaterials**, v. 25, p. 2139-2151, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.08.053>

BALLOTTIN, D.; FULAZ, S.; CABRINI, F.; TSUKAMOTO, J.; DURÁN, N.; ALVES, O. L.; TASIC, L. Antimicrobial textiles: Biogenic silver janrticles against *Candida* and *Xanthomonas*. **Materials Science and Engineering C**, São Paulo, v. 75, n. 1, p.582-589, fev. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.02.110>

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes (RAS)**. Brasília: Mapa/Assessoria de Comunicação Social, 2009.

BRINTHA, S.R. e AJITHA, M. Synthesis, Structural and Antibacterial Activity of Aluminium and Nickel Doped ZnO Nanoparticles by Sol-gel Method. **Asian Journal of Chemical Sciences**, [S.l.], v. 1, n.1, p. 1-9, 2016. DOI: <https://doi.org/10.9734/AJOCs/2016/29704>

CALLISTER JÚNIOR, W. D. **Ciência e Engenharia dos Materiais**: Uma introdução. 9th ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002.

CHAU, C. F.; WU, S. H.; YEN, G. C. The development of regulations for food nanotechnology. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 18, n. 5, p. 269-280, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.01.007>

CENTRO INCUBADOR DE EMPRESAS TECNOLÓGICA. **Inovações e empreendedorismo**. Aprovado primeiro defensivo agrícola nacional para uso no cultivo de cenouras, tomates e batatas. 2010. Disponível em: <http://www.cietec.org.br/index.php?id1=30&id2=130>. Acesso: 21 fev 2020.

CONSUEGRA, O. P.; MORALES, A. C.; LATERRROT, H. E.; ANAÏS, G. B. J. **Mejora genética y manejo del cultivo del tomate para La producion em el caribe**. Habana: Ministério de La Agricultura, 2000.

CUI, Y.; ZHAO, Y.; TIAN, Y.; ZHANG, W.; LU, X.; JIANG, X. The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on Escherichia coli. **Biomaterials**, Surrey, v. 33, p. 2327-2333, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.11.057>

DANG, T. M. D.; LE, T. T. T.; BLANC, E. F.; DANG, M. C. Synthesis and optical properties of copper nanoparticles prepared by a chemical reduction method. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, [S.l.], v.2, p.1-6, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1088/2043-6262/2/1/015009>

DASTJERDI, R.; MONTAZER, M. A review on the application of inorganic nano-structured materials in the modification of textiles: focus on anti-microbial properties. **Colloids and surfaces B, Biointerfaces**, Amsterdam, v. 79, n. 1, p. 5-18, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.03.029>

DURÁN, N.; DURÁN, M.; de JESUS, M. B.; SEABRA, A. B.; FÁVARO, J. W.; NAKAZATO, G. Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, [S.l.], v. 12, n. 3, p. 789-799, abr. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.016>.

DUVAL, A. M. Q.; FILHO, A. G.; JUNIOR, R. P. L.; CAMARGO, L. E. A. Sensibilidade ao cobre, estreptomicina e oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp. associados à mancha-bacteriana do tomate para processamento industrial. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 670-675, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362003000400020>

ELMER, W. H.; WHITE, J. C. The use of metallic oxide nanoparticles to enhance growth of tomatoes and eggplants in disease infested soil or soilless medium. **Environmental Science: Nano**, [s.l.], v. 3, n. 5, p. 1072-1079, 2016. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c6en00146g>

**EMBRAPA-A cultura do tomate:** Doenças causadas por bactérias. Brasília, 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalicas/tomate-de-mesa/doencas-causadas-por-bacterias>. Acesso em: 10 out. 2019.

**EMBRAPA. A cultura do tomate:** Nutrição das plantas. Brasília, 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalicas/tomate-de-mesa/nutricao-da-planta>. Acesso em: 10 out. 2019.

**EMBRAPA. Cultivo do tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) para industrialização.** EMBRAPA - CNPH; Brasília, 1994.

ESPITIA, P. J. P.; SOARES, N. F. F.; COIMBRA, J. S. R.; ANDRADE, N. J.; CRUZ, R. S.; MEDEIROS, E. A. A. Zinc oxide nanoparticles: synthesis, antimicrobial activity and food packaging applications. **Food and bioprocess technology**, New York, v. 5, p. 1447-1464, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0797-6>

FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de biometria**, [S. l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019 Disponível em: <http://www.biometria.ufla.br/index.php/BBJ/article/view/450>. Acesso em: 10 fev. 2020. DOI: <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>

FERREIRA, L. P.; SALGADO, G. L. Bactérias, In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**.3º ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1995. cap.5, p. 97-131.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização. Viçosa: Editora UFV, 2008.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2007.

FISCHER, M. R.; GARCIA, M. C. F.; NOGUEIRA, A. L.; PORTO, L. M.; SCHNEIDER, A. L. dos S.; PEZZIN, A. P. T. Biossíntese e caracterização de nano

celulose bacteriana para engenharia de tecidos. **Matéria (Rio J.)**, Rio de Janeiro, v. 22, supl. 1, e11934, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1517-707620170005.0270>

FURLANETO, F. P. B. Nanotecnologia no setor agropecuário. **Pesquisa & Tecnologia**, São Bernardo do Campo, v. 8, 2011. Disponível em: [www.aptaregional.sp.gov.br](http://www.aptaregional.sp.gov.br). Acesso em: 17 de out. 2018.

GUZMÁN, M. G.; DILLE, J.; GODET, S. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. **International Journal of Chemical and Biomolecular Engineering**, v. 2, n. 3, p. 104-111, 2009.

IBGE. **Indicadores do IBGE**: Levantamento Sistemático da Produção Agrícola Estatística da Produção Agrícola. 2019. Disponível em: [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag\\_2019\\_jan.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag_2019_jan.pdf). Acesso em: 5 out. 2019.

JONES, J. B.; LACY, G. H.; BOUZAR, H.; STALL, R. E.; SCHAAD, N. W. Reclassification of the *Xanthomonas* associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. **Systematic of Applied Microbiology**, Amsterdam, v. 27, n. 6, p. 755-762, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1078/0723202042369884>

JUNQUEIRA, K. P. **Resistência genética e métodos alternativos de controle da bacteriose do maracujazeiro causada por Xanthomonas axonopodis pv. passiflorae**. 2010. Tese (Doutorado em Fitopatologia), Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

KADO, C. I.; HESKETT, M. G; Selective media for isolation of Agrobacterium, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*. **Phytopathology**. 1970 Jun; v. 60, n.6, p. 969-76. DOI: <https://doi.org/10.1094/Phyto-60-969>

LI, M.; ZHU, L.; LIN, D. Toxicity of ZnO nanoparticles to *Escherichia coli*: mechanism and the influence of medium components. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 45, p. 1977-1983, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1021/es102624>

LOBO, V. L. S.; GIORDANO, L. B.; LOPES, C. A. Herança da resistência à mancha-bacteriana em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**. Brasil, v. 30, n. 4, p. 343 - 349, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582005000400002>

LOPES C. A.; QUEZADO-SOARES A. M. Doenças bacterianas das hortaliças: diagnose e controle. Brasília: EMBRAPA-CNPH, 1997.

LOPES, C. A.; QUEZADO-DUVAL, A. M. Doenças Bacterianas. In: LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. de. **Doenças do tomateiro**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005. p. 54-73.

MAMEDE, M. C. **Detectação de *Pantoea ananatis* em sementes de milho e nanopartículas no controle da bactéria *in vitro***. 2018. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

MELLO, S. C.; TAKATSU, A.; LOPES, C. A. Escala diagramática para avaliação da mancha-bacteriana do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n.3, p. 447-448, 1997.

MIRIK, M; AYSAN, Y; CINAR, O. Copper resistance strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Dodge) Dye in the eastern Mediterranean region of Turkey. **Journal of Plant Pathology**, v. 89, p. 153-154, 2007.

MORONES, J. R.; ELECHIGUERRA, J. L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J. B.; RAMIREZ, J. T.; YACA- MAN, M. J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**, Bristol, v.16, p. 2346-2353, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1088/0957-4484/16/10/059>

MOTA, R. P. da. Agressividade, caracterização molecular de isolados de *Pantoea ananatis* e nanopartículas no controle da bactéria na cultura do milho. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

NASCIMENTO A. R.; SOARES JÚNIOR M. S.; CALIARI M; FERNANDES P. M.; RODRIGUES J. P. M.; CARVALHO W. T. Qualidade de tomates de mesa cultivados em sistema orgânico e convencional no estado de Goiás. **Horticultura Brasileira**, n. 31, p. 628-635, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362013000400020>

NAVARRO, E.; BAUM, U.; BEHRA, R.; HARTMANN, N. B.; FILSER, J.; MIAO, A. J.; QUIGG, U. M.; SANTSCHI, P. H.; SIGG, L. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. **Ecotoxicology**, n. 17, p. 372-386, (2008). DOI: <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0214-0>

PRUCEK, R.; TUČEK, J.; KILIANOVÁ, M.; PANÁČEK, A.; KVÍTEK, L.; FILIP, J.; KOLÁŘ, M.; TOMÁNKOVÁ, K.; ZBORIL, R. The targeted antibacterial and antifungal properties of magnetic nanocomposite of iron oxide and silver nanoparticles. **Biomaterials**, Surrey, v. 32, p. 4704-4713, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.03.039>

QUEZADO-DUVAL, A. M.; LEITE, R. P.; TRUFFI, D.; CAMARGO, L. E. A. Outbreaks of bacterial spot caused by *Xanthomonas gardneri* on processing tomato in Central-West Brazil. **Plant Disease**. n. 88, p. 157-161, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.2.157>

QUEZADO-DUVAL, A. M.; LOPES, C. A. **Mancha-bacteriana**: uma atualização para o sistema de produção integrada de tomate indústria, Embrapa hortaliças, 2010.

RAM PRASAD, V. K.; PRASAD K. S. Nanotechnology in sustainable agriculture: present concerns and future aspects. **Afr J Biotechnol**, v:13, p. 706-713, 2014. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJBX2013.13554>

BRASIL. Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**/ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 200 p.

REIS E. M.; REZENDE, A. A. A. de; SANTOS, D. V.; OLIVEIRA, P. F. de; NICOLELLA, H. D.; TAVARES, D. C.; SILVA, A. C. A.; DANTAS, N. O.; SPANÓ, M. A. Assessment of the genotoxic potential of two zinc oxide SOURCES (amorphous

and nanoparticles) using the *in vitro* micronucleus test and the *in vivo* wingsomatic test. **Food and Chemical Toxicology**, v. 84, p. 55-63, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.07.008>

RIVAS-CÁCERES, R. R.; LUIS STEPHANO-HORNEDO J.; LUGO, J.; VACA, R.; DEL AQUILA, P.; YAÑEZ-OCAMPO, G.; MORA-HERRERA, M. E.; CAMACHO DÍAZ, L. M.; CIPRIANO-SALAZAR, M.; ALABA, P. A. Bactericidal effect of silver nanoparticles against propagation of *Clavibacter michiganensis* infection in *Lycopersicon esculentum* Mill. **Microbial Pathogenesis**, Juárez, v. 115, n. 1, p.358-362, jan. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.075>

RODRIGUES NETO J; SUGIMORI MH; MALAVOLTA JUNIOR VA. Raças de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) dye, no estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.51, p.13-16, 1984.

SCHNETTLER, B.; CRISÓSTOMO, G.; MORA, M.; LOBOS, G.; MIRANDA, H.; GRUNERT, K. G. Acceptance of nanotechnology applications and satisfaction with food-related life in southern Chile. **Food Science And Technology**, Campinas, v. 34, n. 1, p.157-163, jan. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612014005000001>

SERVIN, A.; ELMER, W.; MUKHERJEE, A.; TORRE-ROCHE, R.; HAMDI, H.; WHITE, J. C.; BINDRABAN, P.; DIMPKA, C. A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. **Journal of Nanoparticle Research**, [s.l.], v. 17, n. 2, p.1-21, fev. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11051-015-2907-7>

SHARMA, V. K.; YNGARD, R. A.; LIN, Y. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. **Advances in colloid and interface science**, Amsterdam, v. 45, n. 2, p. 83-96, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2008.09.002>

SILVA, A. C.A.; ZÓIA, M. A. P.; CORREIA, L. I. V.; AZEVEDO, F. V. P. V.; PAULA, A. T.; MAIA, L. P.; CARVALHO, L. S.; CARVALHO, L. N.; COSTA, M. P. C.; GIARETTA, L. C.; RODRIGUES, R. S.; ÁVILA, V. de M.; GOULART, L. R.; DANTAS, N. O. Biocompatibility of Doped Semiconductors Nanocrystals and Nanocomposites. In: TULAY ASKIN CELIK (Turquia) (ed.). **Cytotoxicity**. Aydin: intechopen, 2018. Cap. 9. p. 149-161. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/cytotoxicity/biocompatibility-of-doped-semiconductors-nanocrystals-and-nanocomposites>. Acesso em: 26 fev. 2020.

SILVA, J. B. C.; GIODANO, L. B.; FURUMOTO, O.; BOITEUX, L. S.; FRANÇA, F. H.; VILLAS BÔAS, G. L.; CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M. A.; MARQUELLI, W.; SILVA, W. L. C. e; LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C.; NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, W. **Cultivo de tomate para industrialização**. Brasília, DF: Embrapa Hortalícias, 2003.

SILVA, M. M. P.; AGUIAR, M. I. F.; RODRIGUES, A. B.; MIRANDA, M. D. C.; ARAÚJO, M. A. M.; ROLIM, I. L. T. P.; SOUZA, A. M. A. Utilização de nanopartículas no tratamento de feridas: revisão sistemática. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, São Paulo, v. 51, n. 1, p.1-10, jul. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1980-220x2016043503272>

SILVA-JUNIOR, A. R.; RIBEIRO, W. M.; NASCIMENTO, A. R.; SOUZA, C. B. Cultivo do tomate industrial no estado de Goiás: evolução das áreas de plantio e produção. **Conjuntura Econômica Goiana**, v.34, p. 97-109, 2015.

SOUZA A. S.; BORGES S. V.; MAGALHÃES N. F.; RICARDO H. V.; AZEVEDO A. D. Spray dried tomato powder: reconstitution properties and color. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, p. 807-814, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-89132008000400019>

WANG, B.; ZHANG, Y.; MAO, Z.; YU, D.; GAO, C. Toxicity of ZnO nanoparticles to macrophages due to cell uptake and intracellular release of zinc ions. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, Stevenson Ranch, Calif., US, v. 14, p. 5688-5696, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1166/jnn.2014.8876>

WANG, L.; HU, C.; SHAO, L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, p. 1227-1249, 2017. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S121956>

WORLD PROCESSING TOMATO COUNCIL (WPTC), Atualização da Safra WPTC em 29 de outubro de 2019. Disponível em: <https://www.wptc.to/releases-wptc.php>. Acesso em: 26 fev 2020.

YAMAMOTO, O. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. **International Journal of Inorganic Materials**, [S.I], v. 3, n. 7, p. 643-646, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1466-6049\(01\)00197-0](https://doi.org/10.1016/S1466-6049(01)00197-0)

YANG. H.; LIU, C.; YANG, D.; ZHANG, H.; XI, Z. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. **Journal of Applied Toxicology**, Chichester, v. 29, n. 1, p. 69- 78, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/jat.1385>

ZANCAN, N. L. B. Terapia fotodinâmica e nanopartículas no controle de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in vitro e em sementes de canola naturalmente contaminadas. 2018. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

ZHANG, L. L.; JIANG, Y. H.; DING, Y. L.; POVEY, M.; YORK, D. Investigation into the antibacterial behavior of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). **Journal of Nanoparticle Research**, Dordrecht, v. 9, n. 3, p. 479-489, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11051-006-9150-1>