



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

MARIANY DALILA MILAN

NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA
DO TOMATEIRO E NO TRATAMENTO DE SEMENTES

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
FEVEREIRO DE 2024

MARIANY DALILA MILAN

NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA
DO TOMATEIRO E NO TRATAMENTO DE SEMENTES

Tese apresentada à Universidade Federal de
Uberlândia, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Agronomia –
Doutorado, área de concentração em Produção
Vegetal, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientadora:
Prof.^a Dr.^a Nilvanira Donizete Tebaldi

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS-BRASIL
2024

MARIANY DALILA MILAN

**NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA
DO TOMATEIRO E NO TRATAMENTO DE SEMENTES**

Tese apresentada à Universidade Federal de
Uberlândia, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Agronomia –
Doutorado, área de concentração em Produção
Vegetal, para obtenção do título de “Doutor”.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2024.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Marcus Vinicius Sampaio

ICIAG-UFU

Prof. Dr. Hugo César R. M. Catão

ICIAG-UFU

Prof. Dr. Lincon Rafael da Silva

UEG - CÂMPUS SUDOESTE

Prof^a Dr.^a Morgana Coelho Mamede

Prof.^a Dr.^a Nilvanira Donizete Tebaldi
(Orientadora)

ICIAG-UFU

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS-BRASIL
2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

M637n
2024 Milan, Mariany Dalila, 1992-
Nanopartículas no controle da mancha bacteriana do tomateiro e no
tratamento de sementes [recurso eletrônico] / Mariany Dalila Milan. -
2024.

Orientadora: Nilvanira Donizete Tebaldi.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa
de Pós-graduação em Agronomia.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2024.5025>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Agronomia. I. Tebaldi, Nilvanira Donizete, 1970-, (Orient.). II.
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-graduação em
Agronomia. III. Título.

CDU: 631

André Carlos Francisco
Bibliotecário Documentalista - CRB-6/3408



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em
Agronomia
Rodovia BR 050, Km 78, Bloco 1CCG, Sala 206 - Bairro Glória, Uberlândia-MG, CEP
38400-902
Telefone: (34) 2512-6715/6716 - www.ppgagro.iciag.ufu.br - posagro@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agronomia				
Defesa de:	Tese, 001/2024, PPGAGRO				
Data:	Vinte e oito de fevereiro de dois mil e vinte e quatro	Hora de início:	08:00	Hora de encerramento:	12:10
Matrícula do Discente:	12013AGR010				
Nome do Discente:	Mariany Dalila Milan				
Título do Trabalho:	NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA DO TOMATEIRO E NO TRATAMENTO DE SEMENTES				
Área de concentração:	Produção Vegetal				
Linha de pesquisa:	Controle e Manejo Integrado de Doenças				

Reuniu-se por videoconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agronomia, assim composta: Professores Doutores: Marcus Vinicius Sampaio - UFU; Hugo César Rodrigues Moreira Catão - UFU; Lincon Rafael da Silva - UEG; Morgana Coelho Mamede - Pesquisadora; Nilvanira Donizete Tebaldi - UFU orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr. Nilvanira Donizete Tebaldi, 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(às) 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):

Aprovada.

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

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 **Nilvanira Donizete Tebaldi, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/02/2024, às 12:13, 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 **Hugo Cesar Rodrigues Moreira Catão, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/02/2024, às 12:13, 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 **Marcus Vinicius Sampaio, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/02/2024, às 12:14, 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 **Morgana Coelho Mamede, Usuário Externo**, em 28/02/2024, às 14:07, 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 **Lincon Rafael da Silva, Usuário Externo**, em 28/02/2024, às 17:32, 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, informando o código verificador **5168388** e o código CRC **18661726**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, por ser minha fortaleza nos dias difíceis, pela saúde, sabedoria, resiliência, por cumprir mais uma promessa em minha vida e realizar mais um sonho.

Aos meus pais, Adriana e Osvaldo, as minhas avós, Divina e Arminda, aos meus irmãos e sobrinhos, obrigada por todas as orações, o apoio, o amor e a compreensão.

À técnica do Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal de Uberlândia, Lara, obrigada por todos os cafés, risos e receitas misteriosas. Você é um grande presente.

O meu muito obrigada a Júlia, ao Roberto e ao Adílio, pela companhia, conversas, ajuda e conselhos, e, principalmente, pela paciência ao me ensinarem.

A minha orientadora Nilvanira, pela parceria nessa jornada, por toda paciência, orientação e ensinamentos.

Aos professores Marcus Vinicius e Hugo Catão, que participaram da minha qualificação e da banca de defesa da tese, profissionais ímpares com os quais tive o privilégio de aprender.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia e a CAPES, pela bolsa de estudos cedida e que viabilizou a realização desse doutorado.

É inviável citar aqui cada nome, mas a todos desejo meus sinceros agradecimentos por colaborarem para que esse sonho fosse realizado, por terem contribuído para que eu me tornasse uma profissional melhor e por somarem tanta alegria e amizade na minha jornada. Muito obrigada!

⁷Bendito o homem que confia no Senhor,
e cuja confiança é o Senhor.

⁸ Porque será como a árvore plantada junto às águas,
que estende as suas raízes para o ribeiro,
e não receia quando vem o calor, mas a sua folha fica verde;
e no ano de sequeidão não se afadiga, nem deixa de dar fruto.

Jeremias 17:7-8

RESUMO

MILAN, M. D; TEBALDI, N. D. **Nanopartículas no controle da mancha bacteriana do tomateiro e no tratamento de sementes.** 2024. 113 f. Tese. (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

As bacterioses são responsáveis por grandes perdas no cultivo do tomateiro e entre os agentes patogênicos, as espécies do gênero *Xanthomonas* spp. são responsáveis por causar a mancha bacteriana no tomateiro, a principal bacteriose da cultura. O presente trabalho teve como objetivos avaliar o uso de nanopartículas (Nps) de ZnO, ZnOCl, Ag₂O, ZnO:Ag, ZnO:Cu, ZnO:K, ZnO:Mg, ZnOCl:Ag e ZnOCl:Cu no controle da mancha bacteriana do tomateiro, causada por *X. vesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *perforans* e no tratamento de sementes. Foram avaliadas a toxidez das Nps na inibição do crescimento bacteriano *in vitro*, a aplicação preventiva e curativa em plantas de tomate, bem como o tratamento de sementes na inibição de detecção e seu efeito na germinação. NPs de Ag₂O, ZnO: 0.3Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnOCl: 10Ag, ZnO: 10K inibiram o crescimento bacteriano *in vitro* *X. vesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *perforans*. As NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu e ZnOCl: 0.1Cu reduzem o número de UFC das três espécies bacterianas ao longo do tempo. A aplicação preventiva ZnO: 0.1Cu na concentração [1.5] e ZnO: 5K na [2.5] e a aplicação curativa de ZnO: 5K [1.5 e 2.5] e ZnO: 0.1Cu nas [2.5] reduzem o progresso da doença causada por *X. euvesicatoria* pv. *perforans*. Já para a espécie *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, a aplicação preventiva de ZnO: 0.1Cu [2.5] e ZnO: 5K [1.5 e 2.5], bem como a aplicação curativa ZnO: 5K [1.5 e 2.5], ZnOCl: 0.1Cu [1.5 e 2.5] e ZnO: 0.1Cu [1.5 e 2.5] reduziram significativamente o progresso da doença. A aplicação preventiva de ZnOCl: 0.1Cu [2.5] e ZnO: 0.1Cu [1.5 e 2.5] e a aplicação curativa ZnO: 5K [1.5 e 2.5], ZnOCl: 0.1Cu [2.5] e ZnO: 0.1Cu [1.5 e 2.5] apresentaram maior eficiência no controle da *Xanthomonas vesicatoria* do que o Hidróxido de cobre. Sementes tratadas com ZnO apresentaram menor porcentagem de detecção de *X. euvesicatoria* pv. *perforans*. Sementes tratadas com ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu reduziram de modo eficiente a detecção de *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*. Nenhuma das NPs reduziu a detecção de *X. vesicatoria*. Sementes de tomate inoculadas e tratadas com ZnOCl, ZnOCl: 0.1Cu apresentaram resultados semelhantes ao Hidróxido de cobre, melhorando a germinação das sementes.

Palavras-chave: Doença bacteriana. Nanopartículas dopadas. Óxido de Zinco. *Solanum lycopersicum* L.

ABSTRACT

MILAN, M.D; TEBALDI, N. D. **Nanoparticles in the control of tomato bacterial spot and seed treatment.** 2024. 113f. Thesis. (Doctorate in Agronomy – Plant Production) – Federal University from Uberlândia, Uberlândia.

Bacterioses are responsible for major losses in tomato cultivation, among the pathogens species of the genus *Xanthomonas* spp. are responsible for causing bacterial spot on tomatoes, the main bacteriosis of the crop. The objectives of this study were to evaluate the use of nanoparticles (Nps) of ZnO, ZnOCl, Ag₂O, ZnO: Ag, ZnO: Cu, ZnO: K, ZnO: Mg, ZnOCl: Ag and ZnOCl: Cu in the control of bacterial spot on tomatoes caused by *X. vesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *perforans* and in seed treatment. The toxicity of NPs in inhibiting bacterial growth *in vitro*, preventive and curative application on tomato plants, as well as seed treatment in inhibiting detection and its effect on germination were evaluated. NPs of Ag₂O, ZnO: 0.3Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnOCl: 10Ag, ZnO: 10K inhibited the *in vitro* bacterial growth of *X. vesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *perforans*. The ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu and ZnOCl: 0.1Cu NPs reduced the number of CFU of the three bacterial species over time. Preventive application of ZnO: 0.1Cu at [1.5] and ZnO: 5K at [2.5] and curative application of ZnO: 5K [1.5 and 2.5] and ZnO: 0.1Cu at [2.5] have reduced the progress of the disease caused by *X. euvesicatoria* pv. *perforans*. As for the species *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, the preventive application of ZnO: 0.1Cu [2.5] and ZnO: 5K [1.5 and 2.5], as well as the curative application ZnO: 5K [1.5 and 2.5], ZnOCl: 0.1Cu [1.5 and 2.5] and ZnO: 0.1Cu [1.5 and 2.5] have significantly reduced the progress of the disease. Preventive application of ZnOCl: 0.1Cu [2.5] and ZnO: 0.1Cu [1.5 and 2.5] and curative application of ZnO: 5K [1.5 and 2.5], ZnOCl: 0.1Cu [2.5] and ZnO: 0.1Cu [1.5 and 2.5] have been more effective at controlling *Xanthomonas vesicatoria* than copper hydroxide. Seeds treated with ZnO showed a lower percentage of detection of *X. euvesicatoria* pv. *perforans*. Seeds treated with ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnOCl and ZnOCl: 0.1Cu efficiently reduced the detection of *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*. None of the NPs have reduced the detection of *X. vesicatoria*. Tomato seeds inoculated and treated with ZnOCl, ZnOCl: 0.1Cu showed similar results to copper hydroxide, improving seed germination.

Keywords: Bacterial disease. Doped nanoparticles. Zinc oxide. *Solanum lycopersicum* L.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	13
REFERÊNCIAS	15
CAPÍTULO 1	
NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE DE <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> pv. <i>perforans</i> E NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE TOMATE	20
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	25
Obtenção do isolado de <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> pv. <i>perforans</i>	26
Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano <i>in vitro</i> com nanopartículas	26
Redução das UFC/mL em tempo de exposição às nanopartículas	28
Aplicação preventiva e curativa de nanopartículas no controle da mancha bacteriana em casa de vegetação.....	29
Inoculação, detecção da bactéria e germinação das sementes tratadas com nanopartículas	30
RESULTADOS	32
Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano <i>in vitro</i> com nanopartículas	32
Redução das UFC/mL em tempo de exposição às nanopartículas	34
Controle da mancha bacteriana com nanopartículas em casa de vegetação	36
Detecção da bactéria e germinação das sementes tratadas com nanopartículas.....	38
DISCUSSÃO	40
CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	43
CAPÍTULO 2	
NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE DE <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i> E NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE TOMATE.....	54
INTRODUÇÃO	58

MATERIAL E MÉTODOS	59
Obtenção do isolado de <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> pv. <i>euvesicatoria</i>	59
Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano <i>in vitro</i> com nanopartículas	60
Redução das UFC/mL em tempo de exposição às nanopartículas	61
Aplicação preventiva e curativa de nanopartículas no controle da mancha bacteriana em casa de vegetação.....	62
Inoculação, detecção da bactéria e germinação das sementes tratadas com nanopartículas	64
RESULTADOS	65
Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano <i>in vitro</i> com nanopartículas	65
Redução das UFC/mL em tempo de exposição às nanopartículas	69
Controle da mancha bacteriana com nanopartículas em casa de vegetação	70
Detecção da bactéria e germinação das sementes tratadas com nanopartículas.....	72
DISCUSSÃO	74
CONCLUSÃO	76
REFERÊNCIAS	77
CAPÍTULO 3	
NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE DE <i>Xanthomonas vesicatoria</i> E NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE TOMATE.....	82
INTRODUÇÃO	86
MATERIAL E MÉTODOS	88
Obtenção do isolado de <i>Xanthomonas vesicatoria</i>	88
Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano <i>in vitro</i> com nanopartículas	88
Redução das UFC/mL em tempo de exposição às nanopartículas	90
Aplicação preventiva e curativa de nanopartículas no controle da mancha bacteriana em casa de vegetação.....	91
Inoculação, detecção da bactéria e germinação das sementes tratadas com nanopartículas	93

RESULTADOS	94
Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano <i>in vitro</i> com nanopartículas	94
Redução das UFC/mL em tempo de exposição às nanopartículas	98
Controle da mancha bacteriana com nanopartículas em casa de vegetação	99
Detecção da bactéria e germinação das sementes tratadas com nanopartículas.....	101
DISCUSSÃO	103
CONCLUSÃO.....	105
REFERÊNCIAS	106

INTRODUÇÃO GERAL

Dentre as olerícolas mais produzidas no Brasil e no mundo, o tomate é o segundo colocado, ficando atrás apenas da batata (FAO, 2024). É uma fruta agrupada às hortaliças, fazendo parte do cardápio de grande parte da população. Sua planta é perene, mas possui comportamento anual, com ciclo biológico que varia entre quatro a sete meses (Filgueira, 2008). Cultivada o ano todo, adapta-se bem aos climas tropical e subtropical, com boa tolerância a determinadas variações climáticas (Dusi et al., 1993).

No Brasil, o fruto é produzido em todo país, e os estados de São Paulo, Goiás e Minas Gerais destacam-se em produtividade, pois detêm a maior parte da área produtiva e produção nacional, bem como as principais indústrias de processamento. Segundo o IBGE (2023), o Brasil produziu 3.893.643 toneladas de tomate no ano de 2023, sendo o estado de São Paulo responsável por 1.039.696 ton., Goiás com 1.026.541 ton. e Minas Gerais com 545.080 ton. As condições climáticas e de solo são os principais fatores que beneficiam essas áreas.

O cultivo do tomateiro é uma atividade de alto risco econômico e complexidade, devido ao elevado número de patógenos, que causam doenças com grande capacidade de afetar a produtividade da cultura (Nascimento et al., 2021). Os custos com o manejo fitossanitário da cultura são representativos na maioria das áreas produtivas, e os gastos com defensivos agrícolas para a produção de tomate em campo aberto podem representar de 10 a 15% dos custos totais, ocasionados tanto pelo alto custo quanto pela falta de eficiência dos produtos (Spagnuolo et al., 2021). Estima-se que as perdas causadas por doenças sejam cerca de 10 a 30% da produtividade, podendo causar a perda total da lavoura, quando não bem manejadas (TM et al., 2018).

Há uma grande variedade de patógenos que podem afetar o tomateiro e que contribuem para a diminuição da produtividade. As bacterioses são patologias importantes na cultura, e dentre as principais espécies presentes no Brasil encontra-se a *Xanthomonas* spp. causadora da mancha bacteriana em tomateiro (Somashetty et al., 2023). É umas das doenças bacterianas mais devastadoras e que provoca redução da produtividade devido à queda das folhas, flores e frutos em formação (Marcuzzo et al., 2009). Os sintomas da mancha bacteriana afetam toda as partes da planta e em qualquer estágio do desenvolvimento. Nas folhas, surgem pequenas lesões encharcadas que, de acordo com o desenvolvimento da doença, aumentam de tamanho e coalescem, causando danos aos tecidos e até mesmo sua queda mesmas. Nos frutos, por sua vez, causa escaldadura por exposição à luz solar (Lopes; Ávila, 2005).

A baixa disponibilidade de produtos registrados e eficazes dificulta o controle da bacteriose, bem como as características intrínsecas às bactérias responsáveis por provocar a patologia, como rápida disseminação, facilidade de multiplicação e eficiência de transmissão (Abrahaman et al., 2021). Além do uso de defensivos químicos, outra tática de controle é o emprego de variedades resistentes; contudo, pouco genótipos de resistência foram identificados até o momento para aplicação no mercado (Potnis et al., 2015).

O controle químico tem como ingredientes principais antibióticos e substâncias cúpricos (Qiao et al., 2020). A falta de opções para controle é um fator que influencia o uso indiscriminado de defensivos, o que causa contaminação do meio ambiente e dos produtos, o aumento da pressão de seleção de patógenos resistentes e, consequentemente, os produtos se tornam parcial ou totalmente ineficientes (Silva et al., 2021).

A necessidade de controle eficaz da mancha bacteriana no tomateiro estimula o desenvolvimento de novos produtos e controles alternativos, como o uso de nanopartículas que apresentam um grande potencial de aplicação na área agrícola. Neste sentido, as nanopartículas têm apresentado grande capacidade de controlar patógenos de plantas em comparação com pesticidas químicos (Park et al., 2006). Os produtos possuem tamanhos em escala nanométrica (1 a 100nm), ou seja, um bilionésimo do metro, representado por nm ou por 10^{-9} . As nanopartículas possuem uma área superficial maior, que influencia diretamente nas propriedades delas, deixando-as mais reativas com o meio, tornando seu uso viável e eficaz no controle de fitopatógenos, quando comparados com os defensivos agrícola tradicionais (Park et al., 2006; Elsharkawy; Mousa, 2015; Su et al., 2019).

Estudos recentes demonstram que nanopartículas de ZnO puros e dopados com Ag, Au, Cu, Fe, Mn, Ni, Mo, K ou Mg resultaram na inibição do crescimento de *Xanthomonas gardneri* (Fraga et al., 2021), assim como em Zancan (2018) a *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* e *Pantoea ananatis* (Mamede et al., 2018). Salam et al. (2017) e Dimkpa et al. (2013) apresentam a capacidade de nanopartículas de prata e óxido de zinco no controle de doenças de plantas sem causar toxicidade às plantas tratadas. Partículas à base de metais e óxidos de metais (Ealia; Saravanakumar, 2017; Gul et al. 2024), como ZnO, ZnS e MgO, foram utilizadas para o controle de doenças causadas por *Xanthomonas perforans* (Liao et al., 2019), *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Zancan, 2018), *Pantoea ananatis* (Mamede et al., 2021), *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Ballottin et al., 2017) e *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Liang et al., 2017).

O mecanismo de ação dos materiais em nanoescala sobre organismos patogênicos deve-se à alteração na permeabilidade da membrana, causando extravasamento celular; interação

com proteínas e DNA à medida que o material penetra no organismo; e liberação de compostos químicos para células do organismo patogênico (Ballottin et al., 2017). Nos últimos anos, diferentes combinações e elementos vêm sendo estudados, como óxido de zinco, óxido de manganês e dióxido de magnésio (Ogunyemi et al., 2019, 2020), prata (Gautam et al. 2020), dióxido de titânio (Mishra et al., 2020). Eles têm sido destaques como alternativa de controle de doenças bacterianas em plantas devido ao potencial inibitório.

Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de nanopartículas de ZnO e ZnOCl puros e dopados com Cu, K, Ag e Mg, em diferentes concentrações, no controle de três espécies de *Xanthomonas* spp.: *X. vesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* e *X. euvesicatoria* pv. *perforans*, causadoras da mancha bacteriana do tomateiro e no tratamento de sementes.

Exemplos:

CASTELO BRANCO, C. *Agulha em palheiro*. Rio de Janeiro: Tecnoprint, [1986?]. 100 p. (Coleção prestígio).

ESPÍRITO SANTO, Evelise Nunes do. As estratégias das agroindústrias de aves e suínos como instrumentos de competição. *Cadernos de Economia*, Chapecó, v. 4, n. 6, p. [27]-40, jan./jun. 2000.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAMAN, P.; KLEIN-GORDON, J. M.; JONES, J. B.; VALLAD, G. E. Epidemiology, diversity, and management of bacterial spot of tomato caused by *Xanthomonas perforans*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 105, n. 16-17, p. 6143-6158, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11459-9>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-021-11459-9#citeas>. Acesso em 10 jan. 2024.
- BALLOTTIN, D.; FULAZ, S.; CABRINI, F.; TSUKAMOTO, J.; DURÁN, N.; ALVES, O. L.; TASIC, L. Antimicrobial textiles: Biogenic silver nanoparticles Against *Candida* and *Xanthomonas*. **Materials Science and Engineering C**, v. 75, n. 1, p.582-589, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.02.110>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493116320070>. Acesso em 10 jan. 2024.
- DIMKPA, C. O.; MCLEAN, J. E.; BRITT, D. W.; ANDERSON, A. J. Antifungal activity of ZnO nanoparticles and their interactive effect with a biocontrol bacterium on growth antagonism of the plant pathogen *Fusarium graminearum*. **Biometals**, v. 26, p. 913-924, 2013. DOI: [10.1007/s10534-013-9667-6](https://doi.org/10.1007/s10534-013-9667-6). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23933719/>. Acesso em 10 jan. 2024.

DUSI, A. N.; LOPES, C. A.; OLIVEIRA, C. A. S.; MOREIRA, H. M.; DE MIRANDA, J. E. C.; CHARCHAR, J. M.; HORINO, Y. **A cultura do tomateiro (para mesa)**. Brasília : Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Hortalças- EMBRAPA, 1993, 92p.

EALIAS, A. M.; SARAVANAKUMAR, M. P. A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. IOP Conference Series: **Materials Science and Engineering**, v. 263, n. 3, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/263/3/032019>. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/263/3/032019/meta>. Acesso em 10 jan. 2024.

ELSHARKAWY, M. M.; MOUSA, K. M. Induction of systemic resistance against Papaya ring spot virus (PRSV) and its vector *Myzus persicae* by *Penicillium simplicissimum* GP17-2 and silica (SiO₂) nanopowder. **International journal of pest management**, v. 61, n. 4, p. 353-358, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/09670874.2015.1070930>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09670874.2015.1070930>. Acesso em 10 jan. 2024.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3ª ed. Ver. E ampli. – Viçosa. MG. Ed, UFV. 2008. 421p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Statistics of agricultural production 2017. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Acesso em 15 Fev. 2024

FRAGA, F. S.; SILVA, A. C. A.; DANTAS, N. O.; TEBALDI, N. D.; LUZ, J. M. Q. Doped zinc-oxide nanocrystals for the control of tomato bacterial spot and *Xanthomonas gardneri* in seeds. **Tropical Plant Pathology**, v. 46, p.406-413, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40858-021-00436-2>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40858-021-00436-2#citeas>. Acesso em 15 Fev. 2024.

GAUTAM, N.; SALARIA, N.; THAKUR, K.; KUKREJA, S.; YADAV, N.; YADAV, R.; GOUTAM, U. Green silver nanoparticles for phytopathogen control. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, v. 90, p. 439-446, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40011-019-01115-8>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40011-019-01115-8#citeas>. Acesso em 15 Fev. 2024.

GUL, Maria et al. Nanoparticles in plant resistance against bacterial pathogens: current status and future prospects. **Molecular Biology Reports**, v. 51, n. 1, p. 92, 2024. DOI: [10.1007/s11033-023-08914-3](https://doi.org/10.1007/s11033-023-08914-3). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38194006/>. Acesso em 15 Fev. 2024.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Série histórica da estimativa anual da área plantada, área colhida, produção e rendimento médio das lavouras**. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (2023). Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6588#resultado>

LIAO, Y.Y. et al. Nano-Magnesium oxide: A novel bactericide against copper-tolerant *Xanthomonas perforans* causing tomato bacterial spot. **Phytopathology**, v. 109, p. 52-62, 2019. DOI: 10.1094/PHYTO-05-18-0152-R. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30070617/>. Acesso em 15 de jan 2024.

LOPES, C. A.; DE ÁVILA, A. C.; DE ÁVILA, A. C. **Doenças do tomateiro**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005, 151p.

MAMEDE, M. C.; MOTA, R. P.; SILVA, A. C. A.; TEBALDI, N. D. Nanoparticles in inhibiting *Pantoea ananatis* and to control maize white spot. **Ciência Rural**, v. 52, p. e20210481, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210481>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/bqm4S6YrG3Bqyh8YBj8SR8B/?format=pdf&lang=en>. Acesso em 15 de jan 2024.

MARCUZZO, L. L.; BECKER, W. F.; FERNANDES, J. M. C. Alguns aspectos epidemiológicos da mancha bacteriana (*Xanthomonas* spp.) do tomateiro na região de Caçador/SC. **Summa Phytopathologica**, v. 35, p. 132-135, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052009000200009>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sp/a/h5ZBnXJQSS5qMcXHyrqGZf/abstract/?lang=pt>. Acesso em 15 de jan de 2024.

MISHRA, S.; YANG, X.; RAY, S.; FRACETO, L. F.; SINGH, H. B. Antibacterial and biofilm inhibition activity of biofabricated silver nanoparticles against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* causing blight disease of rice instigates disease suppression. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 36, p. 1-10, 2020. DOI: 10.1007/s11274-020-02826-1. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/339954602_Antibacterial_and_biofilm_inhibition_activity_of_biofabricated_silver_nanoparticles_against_Xanthomonas_oryzae_pv_oryzae_caus_ing_blight_disease_of_rice_instigates_disease_suppression. Acesso em 15 de jan de 2024.

NASCIMENTO, A. S.; DA SILVA, R. M.; DIPPLE, F. L.; CASAGRANDE, J. G.; TRENTO, D. A.; DA SILVA PONCE, F.; JÚNIOR, S. S. Viabilidade agroecônômica do cultivo de híbridos tomateiro de hábito determinado no período de safra e entressafra na região central Matogrossense. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, Aquidabã, v. 12, n. 12, p. 74-83, 2021. DOI: <https://orcid.org/0000-0003-2289-2217>. Disponível em <https://sustenere.inf.br/index.php/rica/article/view/6318>. Acesso em 15 de jan de 2024.

OGUNYEMI, S. O.; ABDALLAH, Y.; ZHANG, M.; FOUAD, H.; HONG, X.; IBRAHIM, E.; LI, B. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using different plant extracts and their antibacterial activity against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, Sydney, v. 47, n. 1, p. 341-352, 2019. DOI: 10.1080/21691401.2018.1557671. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/330727521_Green_synthesis_of_zinc_oxide_nanoparticles_using_different_plant_extract_and_their_antibacterial_activity_against_Xanthomonas_oryzae_pv_oryzae. Acesso em 15 de jan de 2019.

OGUNYEMI, S. O.; ZHANG, M.; ABDALLAH, Y.; AHMED, T.; QIU, W.; ALI, M. A.; LI, B. The bio-synthesis of three metal oxide nanoparticles (ZnO, MnO₂, and MgO) and their antibacterial activity against the bacterial leaf blight pathogen. **Frontiers in Microbiology**, Lausana, v. 11, p. 588326, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.588326>. Disponível

em:

<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2020.588326/full>. Acesso em 15 de jan 2024.

PARK, H. J.; KIM, S. H.; KIM, H. J.; CHOI, S. H. A new composition of nanosized silica-silver for control of various plant diseases. **Plant Pathology Journal**, Gangnamgu, v. 22, n. 3, p. 295-302, 2006. DOI: 10.5423/PPJ.2006.22.3.295. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/264018703_A_New_Composition_of_Nanosized_Silica-Silver_for_Control_of_Various_Plant_Diseases. Acesso em 15 de jan de 2024.

POTNIS, N.; TIMILSINA, S.; STRAYER, A.; SHANTHARAJ, D.; BARAK, J. D.; PARET, M. L.; JONES, J. B. Bacterial spot of tomato and pepper: diverse *Xanthomonas* species with a wide variety of virulence factors posing a worldwide challenge. **Molecular plant pathology**, Amsterdam, v. 16, n. 9, p. 907-920, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/mpp.12244>. Disponível em: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/mpp.12244>. Acesso em 15 de jan de 2024.

QIAO, K.; LIU, Q.; HUANG, Y.; XIA, Y.; ZHANG, S. Management of bacterial spot of tomato caused by copper-resistant *Xanthomonas perforans* using a small molecule compound carvacrol. **Crop protection**, v. 132, p. 105114, 2020. DOI: 10.1016/j.cropro.2020.105114. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/339369804_Management_of_bacterial_spot_of_tomato_caused_by_copper-resistant_Xanthomonas_perforans_using_a_small_molecule_compound_carvacrol. Acesso em 14 de jan de 2024.

SALAM, M. A.; OBAID, A. Y.; EL-SHISHTAWY, R. M.; MOHAMED, S. A. Synthesis of nanocomposites of polypyrrole/carbon nanotubes/silver nano particles and their application in water disinfection. **RSC advances**, v. 7, n. 27, p. 16878-16884, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7RA01033H>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/ra/c7ra01033h>. Acesso em 15 de jan de 2024.

SILVA, A. P. S.; OLIVARES, F. L.; SUDRÉ, C. P.; PERES, L. E. P.; CANELLAS, N. A.; DA SILVA, R. M.; CANELLAS, L. P. Attenuations of bacterial spot disease *Xanthomonas euvesicatoria* on tomato plants treated with biostimulants. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 8, p. 1-9, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00240-9>. Disponível em: <https://chembioagro.springeropen.com/articles/10.1186/s40538-021-00240-9>. Acesso em 19 de jan de 2024.

SOMASHETTY, S.; AKBARBASHA, R.; KRISHNAMURTHY, S.; CHOWDAPPA, S.; KONAPPA, N. M. COMPREHENSIVE REVIEW ON RECENT ADVANCES IN THE RESEARCH ON BACTERIAL LEAF SPOT IN TOMATO CAUSED BY XANTHOMONAS SPECIES. **Plant Archives**, v. 23, n. 2, p. 468-490. DOI: <https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2023.v23.no2.077>. Disponível em: <https://www.plantarchives.org/article/77%20A-COMPREHENSIVE-REVIEW-ON-RECENT-ADVANCES-IN-THE-RESEARCH-ON-BACTERIAL-LEAF-SPOT-IN-TOMATO-CAUSED-BY-XANTHOMONAS-SPECIES.pdf>. Acesso em 15 de jan de 2024.

SPAGNUOLO, A. F.; KAGI, Y. F.; MACEDO, B. R.; CAMARGO, F. E.; BARZAN, R. R.; MURAOKA, I. E.; MOURA, A.L. Análise comparativa entre o custo do manejo fitossanitário e da rentabilidade da produção de tomate orgânico e convencional em ambiente protegido. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 120, n. 1, p. 1-12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.24215/16699513e064>. Disponível em: <https://revistas.unlp.edu.ar/revagro/article/view/12210>. Acesso em 10 de jan 2024.

SU, L.; OU, Q.; CAO, L. N.; DU, Q.; PUI, D. Y. A new instrument prototype to measure the geometric surface area of nanoparticles with a time resolution of 1s. **Journal of Aerosol Science**, v. 132, p. 32-43, 2019. DOI: 10.1016/j.jaerosci.2019.03.007. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/335128011_A_new_instrument_prototype_to_measure_the_geometric_surface_area_of_nanoparticles_with_a_time_resolution_of_1s. Acesso em 10 de jan 2024.

TM, P.; PRANATHI, A.; SAIASHRITHA, K.; CHITTARAGI, N.B.; KOOLAGUDI, S. G. Tomato leaf disease detection using convolutional neural networks. In: **2018 eleventh international conference on contemporary computing (IC3)**. IEEE, 2018. p. 1-5. DOI: 10.1109/IC3.2018.8530532. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/8530532>. Acesso em: 10 de jan de 2024.

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.

CAPÍTULO 1

NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE DE *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* E NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE TOMATE

³Artigo redigido de acordo com as normas do periódico Tropical Plant Pathology.

**Nanopartículas no controle de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*
e no tratamento de sementes de tomate**

Mariany Dalila Milan¹, Nilvanira Donizete Tebaldi¹ & Anielle Christine Almeida Silva²

¹ Laboratório de Bacteriologia Vegetal, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, CEP: 38400-902, Brazil.

² Laboratório de Novos Materiais Nanoestruturados e Funcionais, Instituto de Física, Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Maceió, AL, Brasil.

Autor para correspondência: Mariany Dalila Milan, e-mail: marianydalila@hotmail.com

RESUMO: A mancha bacteriana do tomateiro pode causar perdas significativas na cultura. As nanopartículas têm sido avaliadas e apresentadas como promissoras no controle de doenças bacterianas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de nanopartículas (NPs) de ZnO, ZnOCl, Ag₂O, ZnO:Ag, ZnO:Cu, ZnO:K, ZnO:Mg, ZnOCl:Ag e ZnOCl:Cu no controle da mancha bacteriana do tomateiro, causada por *X. euvesicatoria* pv. *perforans* e no tratamento de sementes. A toxidez das Nps foi avaliada a partir da formação do halo de inibição do crescimento bacteriano *in vitro*. Para a avaliação da ação bactericida em horas, a suspensão bacteriana (10⁹ UFC/mL) foi colocada em contato com a solução de cada nanopartícula e avaliada após plaqueamento depois de 0, 1, 2, 3, 4 e 5 horas de contato. Para o controle preventivo da mancha bacteriana, as plantas foram pulverizadas com solução de nanopartículas e após 2 dias foram inoculadas com a suspensão bacteriana (10⁸ UFC/mL). Para o controle curativo, as plantas foram inoculadas e, 2 dias depois, foram pulverizadas com solução de nanopartículas. Sementes de tomate foram inoculadas com a suspensão bacteriana, tratadas com solução de nanopartículas e avaliada a detecção da bactéria e germinação das sementes. As nanopartículas de Ag₂O, ZnO: 0.3Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnO: 10K, ZnO: 0.5Mg, ZnOCl: 1Ag, ZnOCl: 5Ag, ZnOCl: 10Ag são capazes de inibir o crescimento bacteriano *in vitro* na concentração de 10 mg/mL. As NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu e ZnOCl: 0.1Cu reduzem o número de UFC ao longo do tempo. A aplicação preventiva ZnO: 0.1Cu na concentração [1.5] e ZnO: 5K na [2.5] e a aplicação curativa de ZnO: 5K [1.5e 2.5] e ZnO: 0.1Cu nas [2.5] reduzem o progresso da doença. Sementes tratadas com ZnO apresentaram menor porcentagem de detecção. Sementes de tomate inoculadas com *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*, tratadas com ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 5K, ZnOCl, ZnOCl: 0.1Cu e Hidróxido de Cobre, aumentam a porcentagem de germinação.

Palavras-chave: Mancha bacteriana; Nanopartículas; Controle alternativo; Óxido de Zinco.

ABSTRACT: Tomato bacterial spot can cause significant losses to the crop. Nanoparticles have been evaluated and have shown to be promising in the control of bacterial diseases. Therefore, the aim of this study was to evaluate the use of nanoparticles (NPs) of ZnO, ZnOCl, Ag₂O, ZnO: Ag, ZnO: Cu, ZnO: K, ZnO: Mg, ZnOCl: Ag and ZnOCl: Cu in the control of tomato bacterial spot caused by *X. euvesicatoria* pv. *perforans* and in seed treatment. The toxicity of the Nps was evaluated on the basis of the formation of a bacterial growth inhibition halo in vitro. 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 nanoparticle and evaluated after plating over 0, 1, 2, 3, 4 and 5 hours of contact. For the preventive control of bacterial spot, the plants were sprayed with the nanoparticle solution 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 the nanoparticle solution. Tomato seeds were inoculated with the bacterial suspension and treated with the nanoparticle solution, and the detection of the bacteria and seed germination were checked. The nanoparticles of Ag₂O, ZnO: 0.3Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnO: 10K, ZnO: 0.5Mg, ZnOCl: 1Ag, ZnOCl: 5Ag, ZnOCl: 10Ag are able to inhibit bacterial growth in vitro at a concentration of 10 mg/mL. The NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu and ZnOCl: 0.1Cu reduce the number of CFUs over time. Preventive application of ZnO: 0.1Cu at [1.5] and ZnO: 5K at [2.5] and curative application of ZnO: 5K [1.5 and 2.5] and ZnO: 0.1Cu at [2.5] have reduced the progress of the disease. Seeds treated with ZnO have shown a lower percentage of detection. Tomato seeds inoculated with *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*, treated with ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 5K, ZnOCl, ZnOCl: 0.1Cu and Copper Hydroxide enhanced the germination percentage.

Keywords: Bacterial spot; Nanoparticles; Alternative control; Zinc oxide.

INTRODUÇÃO

A mancha bacteriana do tomateiro é causada por quatro espécies do gênero *Xanthomonas*: *X. vesicatoria* (Jones et al. 2004), *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *perforans* (Constantin et al. 2016) e *X. hortorum* pv. *gardneri* (Morinière et al. 2020), podendo causar perdas de até 52% da produtividade em condições favoráveis (Lopes e Quezado-Soares et al. 1997; Oliveira et al. 2023).

A bactéria penetra através de aberturas naturais e/ou ferimentos na planta, e sua disseminação ocorre a curtas e longas distâncias por respingos de água da chuva, mudas e sementes contaminadas, facilitando a introdução do patógeno em áreas isentas (Marcuzzo, 2009). Ambiente com temperaturas entre 22 e 28°C e alta umidade são condições ideais para ocorrência de epidemias.

Como medida preventiva da doença, é indicado uso de sementes e mudas isentas e certificadas (Pontes et al. 2017). Para o controle químico, os produtos à base de cobre e alguns antibióticos como estreptomicina e oxitetraciclina são recomendados; no entanto, há vários relatos de baixa eficiência relacionada ao surgimento de populações de bactérias resistentes, havendo a necessidade de buscar novas opções de controle para a doença (Quezado-Duval et al. 2003), como o uso de nanopartículas.

As nanopartículas se destacam na atividade antibacteriana através de substâncias capazes de eliminar ou retardar o desenvolvimento de bactérias patogênicas (Siddiqi et al. 2018). Entre os mecanismos de ação, estão as formações de espécies reativas de oxigênio intracelular, alterações da permeabilidade das membranas, introdução de substâncias tóxicas e rompimento de membranas (Dasgupta et al. 2016; Naik et al. 2021).

As nanopartículas são produtos desenvolvidos em escala nanométrica e com dimensões de 1 a 100 nm (Abdelghany et al. 2018). A dopagem de nanopartículas é realizada através da inserção de pequenas quantidades de um elemento químico em um elemento puro na estrutura das partículas. Isso tem o objetivo de dotá-la de propriedades físico-químicas específicas (Galli,

2005). O elemento dopante é introduzido na estrutura do cristal do semicondutor, alterando os níveis de energia da transição do material (Muktaridha et al. 2021).

Nanopartículas de óxido de zinco são partículas que penetram e se movem com maior facilidade através das membranas das células e dos tecidos da planta. Suas propriedades tornam uma boa opção para controle de bactérias, e estudos prévios demonstram a capacidade de redução da severidade de doenças e efeito antibacteriano direto, além de serem consideradas não tóxicas, biologicamente compatíveis e distintas (Elsharkawy et al. 2020; Qanash et al. 2023).

Estas partículas foram relatadas no controle de doenças causadas por bactérias *Staphylococcus aureus* (Brintha e Ajitha, 2016), *Salmonella typhi* (Akbar et al. 2019), *Pseudomonas syringae* (Elsharkawy et al. 2020), *Xanthomonas gardneri* (Fraga et al. 2021), *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Abdallah et al. 2020), *Pantoea ananatis* (Mamede et al. 2021) e por fungos *Aspergillus flavus* (Ilkhechi et al. 2021), *Aspergillus niger* e *Botrytis cinerea* (Erazo et al., 2019).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo (i) avaliar o uso de nanopartículas de ZnO e ZnOCl puros e dopados com diferentes elementos dopantes e diferentes concentrações, na inibição do crescimento de *X. euvesicatoria* pv. *perforans in vitro*; (ii) avaliar o tempo de exposição da suspensão bacteriana à solução de nanopartículas para causar a morte da célula, (iii) avaliar o uso das nanopartículas no controle da mancha bacteriana do tomateiro em casa de vegetação e (iv) detectar as bactérias e porcentagem de germinação em sementes inoculadas e tratadas com nanopartículas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Bacteriologia Vegetal (LABAC) e na casa de vegetação, do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG), da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Campus Umuarama, Uberlândia-MG.

As nanopartículas foram sintetizadas e caracterizadas no Laboratório de Novos Materiais Isolantes e Semicondutores do Instituto de Física da UFU.

Obtenção do isolado de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*

O isolado *X. euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8), preservado e mantido na coleção de trabalho do LABAC, do ICIAG/UFU, foi cultivado em meio de cultura 523 (Kado e Heskett, 1970) a 28° C. Após 48 horas, a suspensão bacteriana foi preparada em água filtrada esterilizada e ajustada em espectrofotômetro para OD₅₅₀ = 0,5 (10⁹ UFC/mL).

Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano *in vitro* com nanopartículas

Para avaliar a atividade bactericida, foram avaliadas nanopartículas de ZnO e de ZnOCl puras e dopadas com diferentes concentrações de cobre (Cu), potássio (K), magnésio (Mg), prata (Ag) (Tabela 1). Como controle positivo, foi utilizado Estreptomicina (500µg.mL⁻¹) e como controle negativo a solução de NaCl 0,45%. A solução de cada nanopartícula foi preparada em água filtrada esterilizada na concentração de 10 mg/mL e diluída em série (10⁻¹ a 10⁻³).

Tabela 1. Nanopartículas puras e dopadas em suas respectivas concentrações. Uberlândia-MG, 2024.

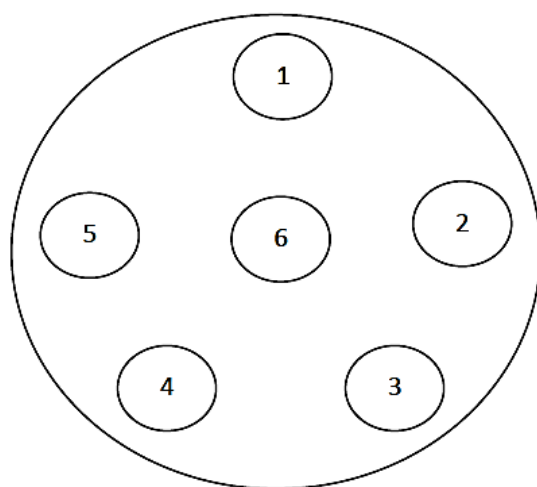
Nanopartículas dopadas	Concentração do elemento dopante (%)				Nanopartículas puras
ZnO:Ag	0.3	7	9	11	Ag ₂ O
ZnO:Cu	0.1	1	4	12	ZnO
ZnO:K	0.5	1	5	10	ZnOCl
ZnO:Mg	0.5	1	5	10	

ZnOCl:Ag	0.1	1	5	10
ZnOCl:Cu	0.1	1	5	10

ZnO:Cu: Óxido de Zinco dopado com Cobre; ZnO:K: Óxido de Zinco dopado com Potássio; ZnO:Mg: Óxido de Zinco dopado com Magnésio; ZnO:Ag: Óxido de Zinco dopado com Prata; ZnOCl:Cu: Simonkolleite dopado com Cobre; ZnOCl:Ag: Simonkolleite dopado com Prata; ZnO: Óxido de zinco; ZnOCl: Simonkolleite; AgO: Óxido de Prata.

Em placas de Petri (8 cm), foi adicionada uma camada básica de meio ágar-água 2% e meio nutritivo semissólido (0,8%) com adição de 10% da suspensão bacteriana. Sobre o meio, foram distribuídos 6 discos de papel filtro esterilizado (6 mm), 4 embebidos com 10 µL de cada nanopartícula, 1 com Estreptomicina (500µg.mL⁻¹) controle positivo e 1 NaCl 0,45% (controle negativo, com três repetições). Após 48h de incubação em estufa a 28° C, foram observados os halos de inibição e o diâmetro (cm) medido com uso de um paquímetro.

O ensaio foi conduzido em esquema fatorial 27x4 + 3, sendo 27 nanopartículas, 4 concentrações (a 10 mg/mL (SD), 1 mg/mL (10⁻¹), 0,1 mg/mL (10⁻²) e 0,01 mg/mL (10⁻³)), 2 testemunhas adicionais (estreptomicina e solução salina), com três repetições (Figura 1). As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância no software R v 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020).



Distribuição dos tratamentos:

- 1- Controle negativo - NaCl
- 2- Solução de nanopartícula sem diluição
- 3- Solução em diluição 10⁻¹
- 4- Solução em diluição 10⁻²
- 5- Solução em diluição 10⁻³
- 6- Controle positivo - Antibiótico

Figura 1. Representação esquemática do ensaio em placa de Petri.

Considerando as performances resultantes desse primeiro ensaio e o custo de síntese das nanopartículas, as de ZnO: 0.1Cu, ZnO: 0.5 K e ZnOCl: 0.1 Cu foram escolhidas para os demais ensaios.

Redução das UFC/mL em tempo de exposição às nanopartículas

Em microtubos (1,5 mL) esterilizados, foram adicionados e homogeneizados 100 µl de suspensão bacteriana (UFU B8) e 900 µl das nanopartículas a 0,1 mg/mL (ZnO: 0,1 Cu; ZnO: 5 K; ZnOCl: 0,1 Cu) onde permaneceram por 0, 1, 2, 3, 4 e 5 horas. Em seguida, a suspensão bacteriana dos tratamentos foi diluída em série (10^{-2} a 10^{-7}) e cultivada (100 µL) em meio de cultura 523, em placa de Petri, incubadas a 28° C por 72 horas. O número de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) foi quantificado. O hidróxido de cobre (2 mg/mL) foi utilizado como controle.

O ensaio utilizou delineamento inteiramente casualizado com 3 tratamentos e 3 repetições por hora de inoculação (Figura 2).

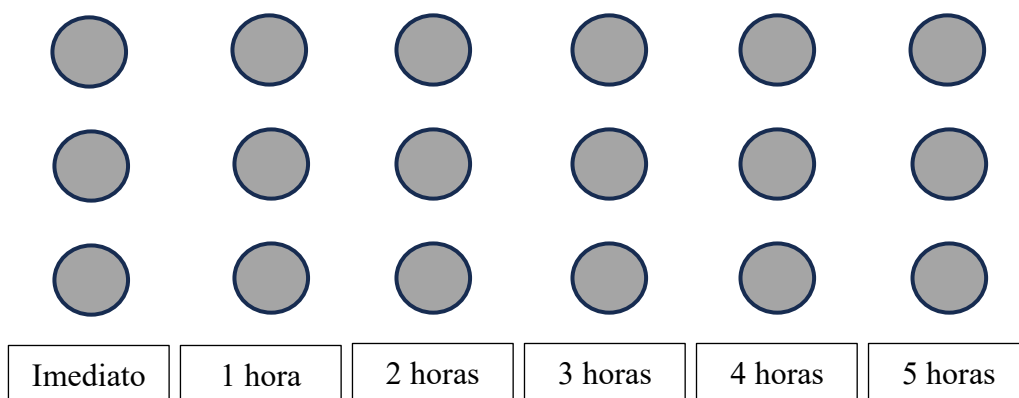


Figura 2. Esquema do cultivo da suspensão bacteriana tratada com solução de diferentes nanopartículas, em função do tempo em horas.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, ao teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$) e à análise de regressão. Isso foi feito para obtenção de modelos significativos para as médias

de unidades formadoras de colônias (UFC) em diferentes tempos, tudo isso com o auxílio do programa software R v 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020).

Aplicação preventiva e curativa de nanopartículas no controle da mancha bacteriana em casa de vegetação

Em casa de vegetação, plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada foram cultivadas em vasos de capacidade 500 mL, com solo, areia e vermiculita (3:1:1). Após 30 dias da semeadura (três - quatro folhas), as plantas da aplicação preventiva foram pulverizadas até o ponto de escoamento com as soluções das nanopartículas (ZnO 0.1Cu, ZnO 0.5 K e ZnOCl 0.1 Cu) em duas concentrações (1,5 ou 2,5 mg/mL), hidróxido de cobre (2 g/L) e água (testemunha). Dois dias após, as plantas foram inoculadas via pulverização das folhas, com a suspensão bacteriana (10^8 UFC/mL, isolado UFU B8).

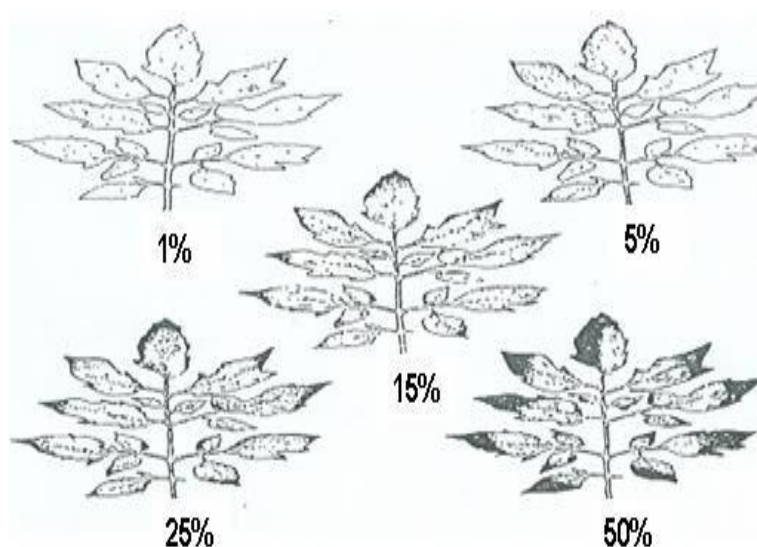
Na aplicação curativa, as plantas foram inoculadas com suspensão bacteriana descrita anteriormente. Dois dias após, foram pulverizadas com as soluções de nanopartículas e os controles positivo e negativo, como descrito anteriormente. As plantas foram mantidas em câmara úmida 24 h antes e após a inoculação. Aos quatro dias após a inoculação, elas foram pulverizadas novamente com os produtos. Aquelas pulverizadas com água (controle negativo) foram consideradas testemunhas.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial, composto de 2 aplicações (preventivo e curativo), 8 produtos [3 nanopartículas x 2 concentrações (1,5 ou 2,5 mg/mL⁻¹), água e hidróxido de cobre], com quatro repetições, sendo que um vaso contendo duas plantas foi considerado como unidade experimental.

A severidade da doença foi avaliada aos 3, 5, 8, 11, 14 e 17 dias após a inoculação, empregando-se a escala diagramática (Figura 3) (Mello et al. 1997). 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

203 usada); t é o tempo (intervalo entre as avaliações, em dias); e i representa o número de
 204 avaliações no tempo (Shaner e Finney, 1977).

205 Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram
 206 comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5 % de significância.



207

208 **Figura 3.** Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha bacteriana do tomateiro
 209 (Mello et al. 1997)

210

211 **Inoculação, detecção da bactéria e germinação das sementes tratadas com nanopartículas**

212 Sementes comerciais de tomate cv. Santa Cruz Kada sem tratamento prévio foram
 213 desinfestadas utilizando álcool 50% por 30 segundos e, em seguida, com solução de hipoclorito
 214 de sódio 1% por 3 minutos. Posteriormente, foram lavadas em água filtrada esterilizada e secas
 215 sob fluxo laminar em papel filtro autoclavado.

216 Para inoculação das sementes, o isolado UFU B8 foi cultivado em meio de cultura 523
 217 a 28° C por 48h. Em seguida, 5 mL de NaCl 0,45% foram adicionados ao crescimento bacteriano
 218 e homogeneizado usando uma alça de Drigalski. Posteriormente, 25 sementes foram
 219 adicionadas por placa, sobre o crescimento bacteriano, por 10 minutos. As sementes foram
 220 removidas e secas sobre papel de filtro em fluxo laminar. Um total de 2.100 sementes foram
 221 inoculadas para cada isolado.

As sementes inoculadas e não inoculadas, foram imersas nas soluções de nanopartículas (ZnO, ZnOCl, ZnO 0.1Cu, ZnO 0.5 K e ZnOCl 0.1 Cu) a 2,5 mg/mL, hidróxido de cobre (2 g/L) e água (controle), por 10 minutos, em seguida secas em papel de filtro.

Para detecção da bactéria nas sementes, foram utilizadas 100 sementes de cada tratamento, as quais foram divididas em 4 repetições de 25, distribuídas em placas de Petri contendo o meio cultura 523, com adição de cicloheximide (0,5 mL/mL meio de cultura) e incubadas em estufa a 28°C por 48h. Após o tempo de incubação, foi avaliado o número de sementes com presença da bactéria, determinando-se a porcentagem de detecção de sementes contaminadas. O ensaio foi em esquema fatorial 2x7, composto de 2 (sementes inoculadas ou não), 7 produtos (5 nanopartículas, hidróxido de cobre e água), com 4 repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância, utilizando o software R v 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020).

O teste padrão de germinação foi realizado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil 2009), utilizando 200 sementes para cada tratamento, com quatro repetições de 50 delas. As sementes foram colocadas sobre duas folhas de papel mata borrão, em caixas tipo gerbox. O papel foi embebido com água, equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. As sementes foram levadas ao germinador à temperatura de 20-30°C, com fotoperíodo de 12 h luz/12 h escuro. As avaliações foram realizadas pela contagem de plântulas normais emergidas, sendo a primeira e a última contagem, no quinto e 14º dia, para o vigor e germinação, respectivamente. Os resultados foram expressos em porcentagem de germinação.

O ensaio foi em esquema fatorial 2x7, composto de 2 (sementes inoculadas ou não), 7 produtos (5 nanopartículas, hidróxido de cobre e controle), com 4 repetições. As médias foram comparadas por teste de Scott-Knott a 5% de significância utilizando o no software R v 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020).

RESULTADOS

Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano *in vitro* com nanopartículas

As nanopartículas puras ZnO, ZnOCl e as dopadas ZnO:11Ag, ZnO: 0.1Cu, ZnO:1Cu, ZnO: 4Cu, ZnO: 12Cu, ZnO: 0.5K, ZnO:1K, ZnO: 5K, ZnO:10Mg, ZnO:1Mg, ZnO:5Mg, ZnOCl:0.1Ag, ZnOCl:0.1Cu, ZnOCl:10Cu, ZnOCl:1Cu e ZnOCl: 5 Cu não inibiram o crescimento de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8) nas concentrações avaliadas (10 mg/mL (SD), 1 mg/mL (10^{-1}), 0,1 mg/mL (10^{-2}) e 0,01 mg/mL (10^{-3})), além de não diferiram estatisticamente do controle negativo (Tabela 2).

As nanopartículas (NPs) Ag₂O (1,20 (SD)), ZnOCl: 5 Ag (1,27 (SD)), ZnO: 9 Ag (1,20 (SD) e 1,17 (10^{-1})) foram estatisticamente superiores às demais. As NPs de Ag₂O, ZnO: 0.3Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 10K, ZnO: 0.5Mg, ZnO: 9Ag inibiram o crescimento bacteriano sob o meio de cultura.

A NPs ZnOCl: 5 Ag (1,27), Ag₂O (1,20), ZnO: 9 Ag (1,20) e estreptomicina (1,17), apresentaram os maiores halos. O Ag₂O, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag nas concentrações SD e 10^{-1} e ZnOCl: 5 Ag, ZnOCl: 10Ag na concentração SD, não diferiram estatisticamente da estreptomicina (1,17).

Tabela 2. Halo de inibição de crescimento de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8) por nanopartículas a 10 e 0,01 mg/mL.

Nanopartícula	Diluição			
	SD	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
Ag₂O	1,20 aA*	0,90 bB*	0,70 cA*+	0,60 cA*+
ZnO	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnO:0.3Ag	0,83 aC*+	0 bD+	0 bC+	0 bB+
ZnO:7Ag	1,07 aB*	0,93 bB*	0,83 bA*+	0 cB+

ZnO:9Ag	1,20 aA*	1,17 aA*	0,40 bB*+	0 cB+
ZnO:11Ag	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnO:0.1Cu	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnO:1Cu	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnO:4Cu	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnO:12Cu	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnO:0.5K	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnO:1K	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnO:5K	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnO:10K	0,57 aD*+	0 bD+	0 bC+	0 bB+
ZnO:0.5Mg	0,33 aE*+	0 bD+	0 bC+	0 bB+
ZnO:1Mg	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnO:5Mg	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnO:10Mg	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnOCl	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnOCl: 0.1Ag	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnOCl: 1Ag	0,77 aC*+	0 bD+	0 bC+	0 bB+
ZnOCl: 5Ag	1,27 aA*	0,67 bC*+	0 cC+	0 cB+
ZnOCl: 10Ag	1,00 aB*	0,83 aB*+	0 bC+	0 bB+
ZnOCl: 0.1Cu	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnOCl: 1Cu	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnOCl: 5Cu	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+
ZnOCl: 10Cu	0 aF+	0 aD+	0 aC+	0 aB+

Adicionais

NaCl	0 B
-------------	-----

Estreptomicina 1,17 A

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Médias seguidas pelo símbolo * e + diferem do adicional água e antibiótico, respectivamente, pelo teste de Dunnet a 5% de significância.

As NPs ZnO: 0.3Ag, ZnO: 10K, ZnO: 0.5Mg e ZnOCl: 1Ag formaram halos apenas quando aplicadas na concentração 10mg.mL⁻¹ (SD). A menor média de halos foi formada pelo ZnO: 0.5Mg (0,33) na concentração de 10 mg/mL. Os halos de inibição formados com as soluções nas concentrações de 10mg/mL (SD) e o 1mg/mL(10⁻¹) variaram entre 0,33 a 1,27 cm e 0,66 a 1,16 cm, respectivamente (Figura 4).

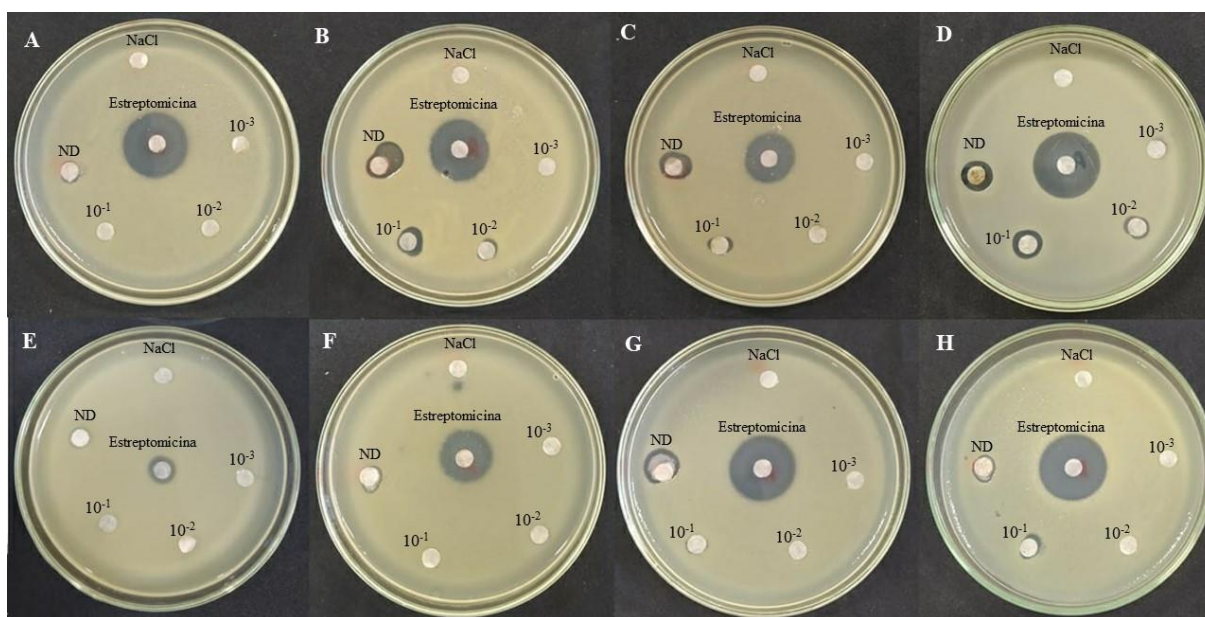


Figura 4. Halos de inibição de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8) por nanopartículas. ZnO:0,3 Ag (A), ZnO: 7 Ag (B), ZnO: 9 Ag (C), Ag₂O(D), ZnO: 10 K (E), ZnOCl: 1Ag (F), ZnOCl: 5 Ag (G), ZnOCl: 10 Ag(H).

Redução das UFC/mL em tempo de exposição às nanopartículas

As NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu e ZnOCl: 0.1Cu reduziram o número de UFC ao longo do tempo avaliado (Tabela 3). O tratamento com ZnOCl: 0.1Cu (582,3) apresentou as maiores

médias de UFC em todos os tempos avaliados. O ZnO: 0.1Cu (58,7) apresentou a menor média de UFC no tempo de 5h, diferença significativa quando comparada às demais avaliadas.

Tabela 3. Contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8) tratadas com nanopartículas sob diferentes tempos de exposição.

Tempo	ZnO:5 K	ZnO: 0.1Cu	ZnOCl: 0.1Cu
0h	386,0 aC	444,7 bD	532,3 cC
1h	272,3 aB	287,0 aC	328,3 bB
2h	153,3 aB	220,0 bC	247,3 bA
3h	140,3 aB	205,3 bB	247,3 bA
4h	135,7 aB	168,3 aB	238,3 bA
5h	114,3 bA	58,7 aA	201,3 cA
CV1%	7,34		
CV2%	12,34		

Médias seguidas por letras distintas: minúsculas na linha e maiúscula na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Os resultados da avaliação dos números de unidades formadoras de colônias em função do tempo em horas, tratadas com NPs demonstraram redução das UFC, resultaram em modelos polinomiais, sendo ZnO: 5K e ZnOCl: 0.1Cu do segundo grau positivos e ZnO: 0.1Cu do primeiro grau linear positivo. Todos os modelos foram significativos ($p \leq 0,05$) e com coeficiente de determinação (R^2) de 91% (ZnO: 0.1Cu), 92% (ZnOCl: 0.1Cu) e 97% (ZnO: 5K) (Figura 5).

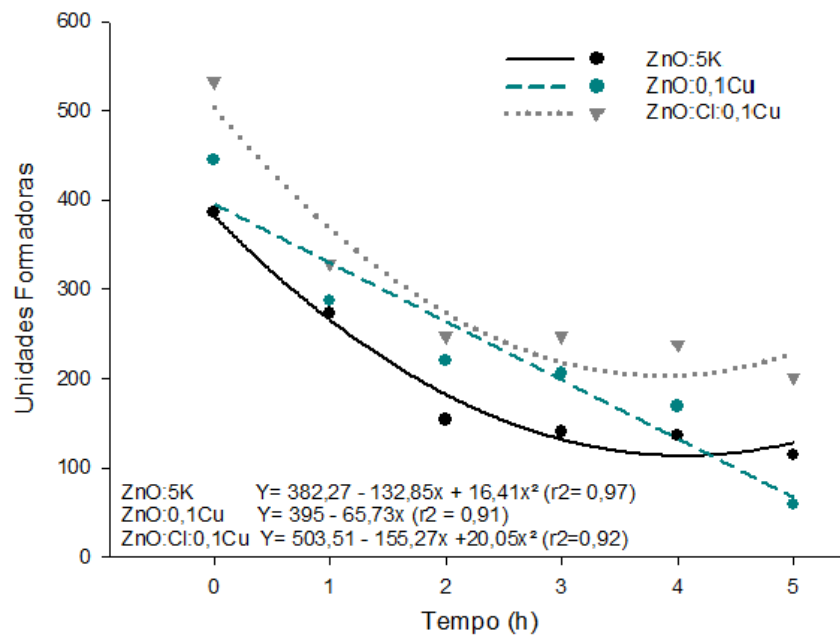


Figura 5. Unidades formadoras de colônias de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8), sob diferentes tempos de exposição, tratadas com nanopartículas distintas.

Controle da mancha bacteriana com nanopartículas em casa de vegetação

Para a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da mancha bacteriana do tomateiro, causada por *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8), a aplicação preventiva de ZnO: 5K, ZnOCl: 0.1Cu e ZnO: 0.1Cu não diferiu estatisticamente dos adicionais água e hidróxido de cobre nas duas concentrações avaliadas (Tabela 4). As NPs ZnO: 0.1Cu na concentração [1.5] e ZnO: 5K na [2.5] apresentaram maior redução da área abaixo da curva de progresso da doença, desempenho semelhante ao hidróxido de cobre.

A aplicação curativa de ZnOCl: 0.1Cu e ZnO: 0.1Cu na concentração [1.5] e ZnOCl: 0.1Cu na concentração [2.5] diferiu estatisticamente dos adicionais água e hidróxido de cobre, apresentando médias com maior incidência de sintomas. As NPs ZnO: 5K [1.5 e 2.5] e ZnO: 0.1Cu nas [2.5] apresentaram resultados semelhantes ao hidróxido de cobre na aplicação curativa.

315 **Tabela 4.** Área abaixo da curva de progresso da mancha bacteriana do tomateiro, causada por
 316 *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8) usando diferentes nanopartículas, em
 317 aplicação preventiva e curativa.

Aplicação	Nanopartícula	Concentração	
		1.5	2.5
Preventiva	ZnO: 5K	13,7 bA	10,0 aA
	ZnOCl: 0.1Cu	13,2 bA	12,0 bA
	ZnO: 0.1Cu	10,0 aA	13,0 bA
Curativa	ZnO: 5K	17,0 aA	14,0 aA
	ZnOCl: 0.1Cu	21,7 aB+#	20,5 aB+#
	ZnO: 0.1Cu	19,5 bB+#	15,2 aA
Nanopartícula	Aplicação	Concentração	
		1.5	2.5
ZnO: 5K	Preventiva	13,7 A	10,0 A
	Curativa	17,0 A	14,0 B
ZnOCl: 0.1Cu	Preventiva	13,2 A-	12,0 A
	Curativa	21,7 B+#	20,5 B+#
ZnO: 0.1Cu	Preventiva	10,0 A	13,0 A
	Curativa	19,5 B	15,2 A
Adicionais	Aplicação		
Água	Preventiva	12,5*	
	Curativa	15,2+	
Hidróxido de cobre	Preventiva	10,5-	
	Curativa	15,0#	

318 Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de
 319 Scott-Knott a 5% de significância. Médias seguidas pelo símbolo *, -, + e # diferem dos adicionais Água

Preventiva, Hidróxido Preventiva, Água Curativa e Hidróxido Curativa, respectivamente, pelo teste de Dunnet a 5% de significância.

Detecção da bactéria e germinação das sementes tratadas com nanopartículas

Nas sementes de tomate não inoculadas, não houve detecção de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8) (Figura 6). As sementes tratadas com ZnO apresentaram menor porcentagem de detecção, e se diferiram estatisticamente dos demais tratamentos avaliados (Tabela 4). As NPs ZnO: 5k, ZnOCl, ZnOCl: 0.1Cu apresentaram alta porcentagem de detecção de *Xanthomonas*, semelhante à testemunha (Tabela 5).

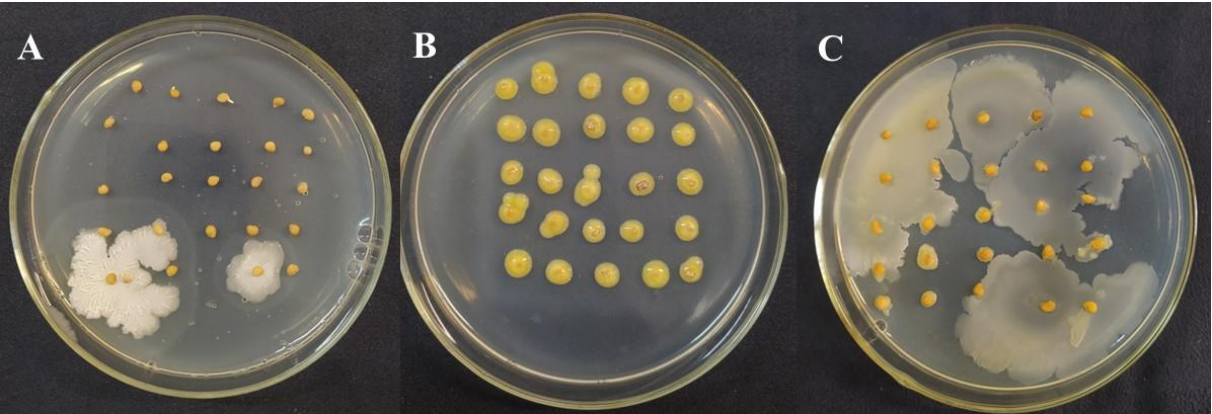


Figura 6. Detecção de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8). (A) Sementes não inoculadas. (B) Sementes inoculadas e tratadas com água. (C) Sementes inoculadas e tratadas com ZnO.

Tabela 5. Detecção de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8) em sementes inoculadas e tratadas diferentes nanopartículas.

Tratamento	Detecção (%)
ZnO	45 A
ZnO: 0.1Cu	77 B
ZnO: 5K	99 C

ZnOCl	100 C
ZnOCl: 0.1Cu	100 C
Hidróxido de cobre	62 B
Testemunha	95 C
CV%	12,24

Médias seguidas por letras distintas: maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

A germinação das sementes de tomate inoculadas com *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8), quando tratada com as diferentes nanopartículas e o Hidróxido de cobre (49 a 59%), diferiram significativamente da testemunha (20%) (Tabela 6). As sementes não inoculadas apresentaram maior porcentagem de germinação, diferindo significativamente das sementes inoculadas.

Tabela 6. Porcentagem de germinação de sementes de tomate inoculadas ou não com a bactéria *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8), e submetidas a diferentes nanopartículas.

Tratamento	Inoculação	
	Inoculada	Não Inoculada
ZnO	49 bA	72 aA
ZnO: 0.1Cu	45 bA	69 aA
ZnO: 5K	52 bA	73 aA
ZnOCl	51 bA	73 aA
ZnOCl: 0.1Cu	54 bA	72 aA
Hidróxido de cobre	59 bA	74 aA
Testemunha	20 bB	77 aA

CV%

8,79

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou o potencial bactericida de nanopartículas de Ag₂O, ZnO e ZnOCl dopadas com Ag, Mg e K para inibir o crescimento de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*. Resultados semelhantes foram apresentados por Mamede et al. (2024) nos quais NPs dopadas de ZnO e ZnOCl dopados Ag, Mg e K inibiram o crescimento de *Dickeya zea*, *Pantoea ananatis* e *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*. O trabalho de Varympopi et al (2022) também indicou que o crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* foi inibido significativamente por nanopartículas.

As NPs de Ag₂O pura, e ZnO e ZnOCl dopadas com Ag, Mg e K na concentração de 10mg.mL inibiram efetivamente o crescimento de *X. euvesicatoria* pv. *perforans*, enquanto que na mesma concentração as NPs ZnO e ZnOCl puras ou dopadas com Cu não inibiram o crescimento bacteriano, indicando que a cepa UFU B8 é resistente ao Cu. Dopagens de ZnO com íons de prata conferiram atividade bactericida às NPs. Carvalho et al. (2019) investigaram o efeito inibitório de nanopartículas de ZnO dopadas com Cu em *X. euvesicatoria* pv. *perforans* resistentes ao cobre. O isolado avaliado foi susceptível ZnO:Cu, diferindo deste trabalho.

A dopagem com Ag, Mg e K conferiu propriedades antibióticas à Np de ZnO, visto que quando aplicada de forma pura, não foi capaz de inibir o crescimento bacteriano sob o meio de cultura. As NPs e dopagens com Ag possuem excelente capacidade inibitória, pois os íons de prata são altamente tóxicos para microrganismos e são de liberação rápida. Contudo, quando utilizada como elemento dopante em óxidos metálicos, tornam-se mais estáveis (Ghosh et al. 2015). Devido aos múltiplos modos de ação e alto potencial de penetração, nanopartículas compostas de prata são classificadas como antibióticos potentes e viáveis de amplo espectro,

374 incluindo os microrganismos resistentes (Díez-Pascual et al. 2018; Ali et al. 2020;
375 Nilavukkarasi et al. 2020).

376 Np de MgO foram capazes de causar a morte bacteriana de *X. euvesicatoria* pv.
377 *perforans* no trabalho apresentado por Liao et al. (2019), de modo que os resultados
378 apresentados neste trabalho pelas NPs de ZnO dopadas com Mg foram interessantes, visto que
379 o aumento da concentração de Mg como elemento dopante não conferiu maior capacidade
380 inibitória do crescimento bacteriano. Nesse caso, a concentração de 0.5 Mg formou um pequeno
381 halo inibitório, enquanto as concentrações dopantes de 1.5 e 10 Mg não formaram halos.

382 As NPs possuem maior área superficial, o que facilita o contato e absorção pelas
383 bactérias em relação às moléculas de tamanho comum (Gul et al. 2023). Os mecanismos
384 bactericidas destas moléculas envolvem a produção de espécies reativas de oxigênio que
385 incluem ânions radicais de superóxido e peróxido de hidrogênio. Eles reagem com a parede
386 celular bacteriana causando danos, como o extravasamento de componentes celulares internos
387 e isso acarreta a morte das células (Pachaiappan et al. 2021).

388 Tais mecanismos podem explicar a redução do número médio de unidades formadores
389 de colônias de *X. euvesicatoria* pv. *perforans* quando tratadas com NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu
390 e ZnOCl: 0.1Cu ao longo do tempo. Liao et al. (2019) encontraram resultado semelhante com
391 a mesma espécie de *Xanthomonas* tratada com NPs de MgO, CuO e ZnO a 0,1 mg.mL, o que
392 reduziu gradativamente a população bacteriana. Oliveira et al. (2023) também apontaram a
393 redução de UFC de *X. hortorum* pv. *gardneri* quando exposta a Np de ZnOCl pura e dopada
394 com Ag e Cu. Os resultados evidenciam que a toxidez das nanopartículas aumenta com o tempo
395 de exposição.

396 A aplicação preventiva de NPs ZnO: 0.1Cu na concentração [1.5] e ZnO: 5K na [2.5] e
397 a curativa de ZnO: 5K [1.5e 2.5] e ZnO: 0.1Cu na [2.5] apresentou resultados semelhantes ao
398 Hidróxido de cobre nos dois modos de aplicação. Em aplicações curativas, as nanopartículas

também reduziram a severidade da mancha bacteriana (*X. euvesicatoria* pv. *perforans*) do tomate cultivado em estufa (Strayer et al. 2016). A aplicação preventiva de NPs de ZnO possui a capacidade de ativar o mecanismo de defesa da planta, além de formar uma barreira de nanopartículas no tecido vegetal que dificulta a penetração de bactérias, além de alterar a carga superficial e a hidrofobicidade das células bacterianas (Jin et al. 2003).

As concentrações NPs 1,5 e 2,5 mg/mL não apresentaram sinais de fitotoxicidade para as plantas de tomates. A concentração da solução de NPs aplicada influenciou diretamente sobre a AACPD na aplicação preventiva e curativa. O tamanho das partículas e a concentração da solução de NPs estão diretamente relacionados ao processo de distribuição do produto sobre a superfície e, consequentemente, com a eficiência de controle dele (Gudkov et al. 2020).

Sementes de tomate não inoculadas não apresentaram detecção de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*. As sementes tratadas com ZnO apresentaram menor porcentagem de detecção. O trabalho de Fraga et al. (2023) apresentou resultado semelhante, pois sementes de tomate inoculadas *X. hortorum* pv. *gardneri* e tratadas com NPs de ZnO dopadas com Mo, K e Mg inibiram o desenvolvimento bacteriano.

O uso de sementes de boa procedência e sanidade são vitais para a produção de qualquer cultura. A porcentagem de germinação das sementes de tomate foi reduzida quando elas foram inoculadas com *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU B8), enquanto que as sementes contaminadas tratadas com as nanopartículas apresentaram incremento na germinação quando comparadas à testemunha. Os tratamentos com nanopartículas tiveram ação eficaz com as sementes, e estatisticamente igual ao Hidróxido de cobre, sem apresentação de fitotoxicidade nas plântulas germinadas.

Xanthomonas spp. induz estresse oxidativo em plantas de tomate através de espécies reativas de oxigênio e formação de radicais livres (Priller et al. 2016). A produção de ROS estabelece a resposta defensiva sistêmica da planta e impulsiona a via oxidativa, induzindo,

assim, a morte celular para restringir a infecção. Contudo, as NPs são capazes de reduzir o estresse, formando uma barreira protetora e reduzindo a multiplicação bacteriana (Gupta et al. 2023).

CONCLUSÃO

Este estudo evidenciou o potencial uso de nanopartículas de ZnO puro e dopado com Ag, Cu, K, Mg, e ZnOCl puro e dopado com Ag e Cu para o controle de *X. euvesicatoria* pv. *perforans*. Para a inibição do crescimento bacteriano *in vitro*, as NPs Ag₂O, ZnO: 0.3Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnO: 10K, ZnO: 0.5Mg, ZnOCl: 1Ag, ZnOCl: 5Ag, ZnOCl: 10Ag são capazes de inibir o crescimento bacteriano *in vitro* na concentração de 10 mg/mL.

As NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu e ZnOCl: 0.1Cu reduziram o número de UFC ao longo do tempo. O tratamento com ZnO: 0.1Cu (58,7) apresentou a menor média de UFC no tempo de 5h, diferença significativa quando comparada às demais NPs.

A aplicação preventiva ZnO: 0.1Cu na concentração [1.5] e ZnO: 5K na [2.5] e a aplicação curativa de ZnO: 5K [1.5e 2.5] e ZnO: 0.1Cu na [2.5] apresentaram resultados semelhantes ao Hidróxido de cobre, reduzindo o progresso da doença.

Sementes tratadas com ZnO apresentaram menor porcentagem de detecção. A germinação das sementes de tomate reduz quando inoculadas com *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*, e o tratamento com ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 5K, ZnOCl, ZnOCl: 0.1Cu e hidróxido de cobre aumentou a porcentagem de germinação.

REFERÊNCIAS

Abdallah Y, Liu M, Ogunyemi SO, Ahmed T, Fouad H, Abdelazez A, Yan C, Yang Y, Chen J, Li, B (2020) Bioinspired green synthesis of chitosan and zinc oxide nanoparticles with strong antibacterial activity against rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Molecules: 25,

450 4795. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25204795>. Disponível em:
451 <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/20/4795>. Acesso em 14 de novembro de 2023.

452

453 Abdelghany TM, Al-Rajhi AM, Al Abboud MA, Alawlaqi MM., Ganash Magdahb A, Helmy
454 EA, Mabrouk AS (2018) Recent advances in green synthesis of silver nanoparticles and their
455 applications: about future directions. A review. *BioNanoScience*: 8, 5-16. DOI:
456 <https://doi.org/10.1007/s12668-017-0413-3>. Disponível em:
457 <https://link.springer.com/article/10.1007/s12668-017-0413-3>. Acesso em 18 de novembro de
458 2023.

459

460 Akbar A. et al. (2019) Synthesis and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles against
461 foodborne pathogens *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *Biocatalysis and*
462 *agricultural biotechnology*, 17, 36-42. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.005>.
463 Disponível em:
464 [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878818118304572?casa_token=col5Fw9](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878818118304572?casa_token=col5Fw9WqW0AAAAA:8fgyd9RA9SuT3TFGw0CENI6Hb3PbP7PzYgoqYfKXiD2V9Etr_n5HMUn)
465 [WqW0AAAAA:8fgyd9RA9SuT3TFGw0CENI6Hb3PbP7PzYgoqYfKXiD2V9Etr_n5HMUn](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878818118304572?casa_token=col5Fw9WqW0AAAAA:8fgyd9RA9SuT3TFGw0CENI6Hb3PbP7PzYgoqYfKXiD2V9Etr_n5HMUn)
466 [dRy_XyqsZAvxRT8va0w](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878818118304572?casa_token=col5Fw9WqW0AAAAA:8fgyd9RA9SuT3TFGw0CENI6Hb3PbP7PzYgoqYfKXiD2V9Etr_n5HMUn). Acesso em 02 de fevereiro de 2024.

467

468 Ali S, Perveen S, Ali M, Jiao T, Sharma AS, Hassan H, Devaraj S, Li H, Chen, Q (2020)
469 Bioinspired morphology-controlled silver nanoparticles for antimicrobial
470 application. *Materials. Science and Engineering: C*: 108, 110421. DOI:
471 <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110421>. Disponível em:
472 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493119331704>. Acesso em 20 de
473 novembro de 2023.

474

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para Análise de Sementes (RAS). Brasília: Mapa/Assessoria de Comunicação Social, 2009.
- Brintha SR, Ajitha M (2016) Síntese, atividade estrutural e antibacteriana de nanopartículas de ZnO dopadas com alumínio e níquel pelo método sol-gel. Asian Journal of Chemical Sciences 1,1–9. DOI: 10.9734/AJOCS/2016/29704. Disponível em: <https://journalajocs.com/index.php/AJOCS/article/view/72>. Acesso em 19 de outubro de 2023.
- Carvalho R, Duman K, Jones JB, Paret ML (2019) Bactericidal activity of copper-zinc hybrid nanoparticles on copper-tolerant *Xanthomonas perforans*. Scientific Reports: 9, 20124. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56419-6>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-56419-6>. Acesso em 23 de novembro de 2023.
- Constantin EC, Cleenwerck I, Maes M, Baeyen S, Van Malderghem C, De Vos P, Cottyn B (2016) Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. Plant Pathology: 65, 792–806. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppa.12461>. Disponível em: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ppa.12461>. Acesso em 10 de novembro de 2023.
- Dasgupta N, Ramalingam, C (2016) Silver nanoparticle antimicrobial activity explained by membrane rupture and reactive oxygen generation. Environmental chemistry letters: 14, 477–485. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-016-0583-1>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10311-016-0583-1>. Acesso em 21 de novembro de 2023.

500

501 Díez-Pascual AM (2018) Antibacterial activity of nanomaterials. *Nanomaterials*: 8, 359. DOI:
502 <https://doi.org/10.3390/nano8060359>. Disponível em: [https://www.mdpi.com/2079-](https://www.mdpi.com/2079-4991/8/6/359)
503 4991/8/6/359. Acesso em 01 de dezembro de 2023.

504

505 Elsharkawy M, Derbalah A, Hamza A, El-Shaer A (2020) Zinc oxide nanostructures as a control
506 strategy of bacterial speck of tomato caused by *Pseudomonas syringae* in Egypt. *Environmental*
507 *Science and Pollution Research*: 27, 19049-19057. DOI: [https://doi.org/10.1007/s11356-018-](https://doi.org/10.1007/s11356-018-3806-0)
508 3806-0. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-018-3806-0>. Acesso
509 em 15 de novembro de 2023.

510

511 Erazo A, Mosquera SA, Rodríguez-Paéz JE (2019) Synthesis of ZnO nanoparticles with
512 different morphology: study of their antifungal effect on strains of *Aspergillus niger* and
513 *Botrytis cinerea*. *Materials Chemistry and Physics*: 234, 172-184. DOI:
514 <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.05.075>. Disponível em:
515 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0254058419304729>. Acesso em 01 de
516 dezembro de 2023.

517

518 Fraga FS, Silva ACA, Dantas NO, Tebaldi, ND, Luz, JMQ (2021) Doped zinc-oxide
519 nanocrystals for the control of tomato bacterial spot and *Xanthomonas gardneri* in
520 seeds. *Tropical Plant Pathology*: 46, 406-413. DOI: [https://doi.org/10.1007/s40858-021-00436-](https://doi.org/10.1007/s40858-021-00436-2)
521 2. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40858-021-00436-2>. Acesso em
522 25 de outubro de 2023.

523

- 524 Galli G (2005) Doping the undopable. Nature: 436, 32–33. DOI:
525 <https://doi.org/10.1038/436032a>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/436032a>.
526 Acesso em 30 de outubro de 2023.
- 527
- 528 Ghosh T, Das AB, Jena B, Pradhan C (2015) Antimicrobial effect of silver zinc oxide (Ag-ZnO)
529 nanocomposite particles. Frontiers in Life Science, 8(1), 47-54. DOI:
530 <https://doi.org/10.1080/21553769.2014.952048>. Disponível em:
531 <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21553769.2014.952048#>. Acesso em 10 de
532 fevereiro de 2024.
- 533
- 534 Gudkov SV, Baimler IV, Uvarov OV, Smirnova VV, Volkov MY, Semenova AA, Lisitsyn AB
535 (2020) Influence of the Concentration of Fe and Cu Nanoparticles on the Dynamics of the Size
536 Distribution of Nanoparticles. Frontiers in Physics, 8, 622551. DOI:
537 <https://doi.org/10.3389/fphy.2020.622551>. Disponível em:
538 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphy.2020.622551/full>. Acesso em 19 de fevereiro
539 de 2024.
- 540
- 541 Gul M, Khan RS, Islam ZU, Khan S, Shumaila A, Umar S, Ditta A (2024) Nanoparticles in
542 plant resistance against bacterial pathogens: current status and future prospects. Molecular
543 Biology Reports, 51(1), 92. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08914-3>. Disponível em:
544 <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-023-08914-3>. Acesso em 19 de fevereiro de
545 2024.
- 546
- 547 Gupta S, Pandey S, Nandi SP, Singh M (2023) Modulation of ethylene and ROS-scavenging
548 enzymes by multifarious plant growth-promoting endophytes in tomato (*Solanum*

549 *lycopersicum*) plants to combat *Xanthomonas*-induced stress. *Plant Physiology and*
 550 *Biochemistry*, 202, 107982. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107982>. Disponível
 551 em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S098194282300493X>. Acesso em
 552 20 de fevereiro de 2024.

553

554 Ilkhechi NN, Mozammel M, Khosroushahi, AY (2021) Antifungal effects of ZnO, TiO₂ and
 555 ZnO-TiO₂ nanostructures on *Aspergillus flavus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*: 176,
 556 104869. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104869>. Disponível em:
 557 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048357521001000>. Acesso em 02 de
 558 janeiro de 2024.

559

560 Jin B, Wilén BM, Lant P (2003). A comprehensive insight into floc characteristics and their
 561 impact on compressibility and settleability of activated sludge. *Chemical Engineering Journal*:
 562 95, 221-234. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1385-8947\(03\)00108-6](https://doi.org/10.1016/S1385-8947(03)00108-6). Disponível em:
 563 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894703001086>. Acesso em 30 de
 564 janeiro de 2024.

565

566 Jones JB, Lacy GH, Bouzar H, Stall RE, Schaad NW (2004) Reclassification of the
 567 *Xanthomonads* associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and*
 568 *Applied Microbiology*: 27,755–762. DOI: <https://doi.org/10.1078/0723202042369884>.
 569 Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0723202005703179>.
 570 Acesso em 02 de janeiro de 2024.

571

572 Kado CI, Heskett MG (1970) Selective media for isolation of *Agrobacterium*,
 573 *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*. *Phytopathology*: 60, 969–976.

574

575 Liao YY, Strayer-Scherer AL, White J, Mukherjee A, De La Torre-Roche R, Ritchie L, Colee J,
 576 Vallad GE, Freeman JH, Jones JB, Paret ML (2019) Nano-magnesium oxide: a novel bactericide
 577 against copper-tolerant *Xanthomonas perforans* causing tomato bacterial spot. *Phytopathology*:
 578 109,52–62. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-18-0152-R>. Disponível em:
 579 <https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PHYTO-05-18-0152-R>. Acesso em 25 de março
 580 de 2024.

581

582 Lopes, C. A.; Quezado-Soares, A. M. Doenças bacterianas das hortaliças: diagnose e controle.
 583 Brasília: EMBRAPA-CNPq, 1997.

584

585 Mamede MC, Mota RP, Silva ACA, Tebaldi ND (2021) Nanoparticles in inhibiting *Pantoea*
 586 *ananatis* and to control maize white spot. *Ciência Rural*: 52, e20210481. DOI:
 587 <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210481>. Disponível em:
 588 <https://www.scielo.br/j/cr/a/bqm4S6YrG3Bqyh8YBj8SR8B/>. Acesso em 2 de fevereiro de
 589 2024.

590

591 Mamede MC, Silva ACA, Tebaldi ND (2024) *Dickeya zeae*, *Pantoea ananatis* e *Xanthomonas*
 592 *vasicola* pv. *vasculorum*: Controle com o uso de nanopartículas. *Ciência e Agrotecnologia*, 48,
 593 e018423. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-7054202448018423>. Disponível em:
 594 <https://www.scielo.br/j/cagro/a/rz4xDXD5tfHYFxmmkmPkLKw>. Acesso em 30 de junho de
 595 2024.

596

597 Marcuzzo LL (2009) Aspectos epidemiológicos de sobrevivência e de ambiente no gênero
 598 *Xanthomonas*. *Ágora: revista de divulgação científica*: 16, 13-19. DOI:

599 <https://doi.org/10.24302/agora.v16i1.3>. Disponível em:
600 <http://ojs.unc.br/index.php/agora/article/view/3>. Acesso em 30 de outubro de 2023.
601

602 Mello SCM, Takatsu A, Lopes CA (1977) Escala diagramática para avaliação da mancha-
603 bacteriana do tomateiro. Fitopatologia Brasileira: 22, 447-448.
604

605 Moriniere L, Burlet A, Rosenthal ER, Nesme X, Portier P, Bull CT, Lavire C, Fischer-Le Saux
606 M, Bertolla F (2020) Clarifying the taxonomy of the causal agent of bacterial leaf spot of lettuce
607 through a polyphasic approach leads to combine *Xanthomonas hortorum* Vauterin et al. 1995
608 and *Xanthomonas cynarae* Trebaol 2000 emend. Timilsina et al. 2019. Systematic and Applied
609 Microbiology: 43,126087. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2020.126087>. Disponível em:
610 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0723202020300382>. Acesso em 11 de
611 janeiro de 2024.
612

613 Muktaridha O, Adlim M, Suhendrayatna S, Ismail I (2021) Progress of 3d metal-doped zinc
614 oxide nanoparticles and the photocatalytic properties. Arabian Journal of Chemistry: 14,
615 103175. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103175>. Disponível em:
616 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535221001908>. Acesso em 5 de
617 janeiro de 2024.
618

619 Naik LS, Ramana Devi CV (2021). Phyto-fabricated silver nanoparticles inducing microbial
620 cell death via reactive oxygen species-mediated membrane damage. IET nanobiotechnology:
621 15, 492-504. DOI: <https://doi.org/10.1049/nbt2.12036>. Disponível em:
622 <https://ietresearch.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1049/nbt2.12036>. Acesso em 12 de
623 janeiro de 2024.

624

625 Nilavukkarasi M, Vijayakumar S, Kumar SP (2020) Biological synthesis and characterization
626 of silver nanoparticles with *Capparis zeylanica* L. leaf extract for potent antimicrobial and anti
627 proliferation efficiency. Materials Science for Energy Technologies: 3, 371-376. DOI:
628 <https://doi.org/10.1016/j.mset.2020.02.008>. Disponível em:
629 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589299120300136>. Acesso em 2 de
630 janeiro de 2024.

631

632 Oliveira NS, Silva ACA, Tebaldi ND (2023) Simonkolleite nanoparticles for seed treatment and
633 control of tomato bacterial spot caused by *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri*. Ciência e
634 Agrotecnologia: 47, e000623. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-7054202347000623>.
635 Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/ZRvt6x8n76fnV7ghyfrFvjx/>. Acesso em 28 de
636 de dezembro de 2023.

637

638 Pachaiappan R, Rajendran S, Show PL, Manavalan K, Naushad M (2021) Metal/metal oxide
639 nanocomposites for bactericidal effect: A review. Chemosphere: 272, 128607. DOI:
640 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128607>. Disponível em
641 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653520328022?via%3Dihub>.
642 Acesso em 10 de janeiro de 2024.

643

644 Pontes NC, Nascimento AR, Golynski A, Moita AW, Maffia LA, Oliveira JR, Quezado-Duval,
645 AM (2017) Volume de aplicação e eficiência do controle químico da mancha bacteriana em
646 tomateiro industrial. Horticultura Brasileira: 35, 371-376. DOI: [https://doi.org/10.1590/S0102-](https://doi.org/10.1590/S0102-053620170309)
647 [053620170309](https://doi.org/10.1590/S0102-053620170309). Disponível em:

- 648 <https://www.scielo.br/j/hb/a/vP6sWdBRTxGmDZb6NZMzpXd/>. Acesso em 10 de janeiro de
649 2024.
- 650
- 651 Priller JPR, Reid S, Konein P, Dietrich P, Sonnewald S (2016) The *Xanthomonas campestris*
652 pv. *vesicatoria* type-3 effector XopB inhibits plant defence responses by interfering with ROS
653 production. PLoS One: 11, e0159107. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159107>.
654 Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0159107>.
655 Acesso em 17 de fevereiro de 2024.
- 656
- 657 Quezado-Duval AM, Gazzoto Filho A, Leite Júnior RP, Camargo LEA (2003) Sensibilidade a
658 cobre, estreptomicina e oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana
659 do tomate para processamento industrial. Horticultura Brasileira: 21, 670-675.
- 660
- 661 R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for
662 Statistical Computing. R version 4.1.3 Vienna, Austria. 2020. Available in: <[https://www.R-](https://www.R-project.org/)
663 [project.org/](https://www.R-project.org/)>. Acesso em 24 março de 2023.
- 664
- 665 Siddiqi KS, Husen A, Rao RA (2018) A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their
666 biocidal properties. Journal of nanobiotechnology: 16, 1-28. DOI:
667 <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0334-5>. Disponível em:
668 <https://jnanobiotechnology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12951-018-0334-5#citeas>.
669 Acesso em 10 de janeiro de 2023.
- 670
- 671 Strayer A, Ocsoy I, Tan W, Jones JB, Paret ML (2016) Low concentrations of a silver-based
672 nanocomposite to manage bacterial spot of tomato in the greenhouse. Plant disease: 100, 1460-

673 1465. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-15-0580-RE>. Disponível em:
674 <https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-05-15-0580-RE>. Acesso em 5 de janeiro
675 de 2024.
676
677 Varympopi A, Dimopoulou A, Papafotis D, Avramidis P, Sarris I, Karamanidou T, Skandalis N
678 (2022) Antibacterial activity of copper nanoparticles against *Xanthomonas campestris* pv.
679 *vesicatoria* in tomato plants. International Journal of Molecular Sciences: 23, 4080. DOI:
680 <https://doi.org/10.3390/ijms23084080>. Disponível em: [https://www.mdpi.com/1422-](https://www.mdpi.com/1422-0067/23/8/4080)
681 0067/23/8/4080. Acessado em 26 de dezembro de 2023.

CAPÍTULO 2

NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE DE *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* E NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE TOMATE

³Artigo redigido de acordo com as normas do periódico *Tropical Plant Pathology*.

**Nanopartículas no controle de *X. euvesicatoria* pv *euvesicatoria*.
e no tratamento de sementes de tomate**

Mariany Dalila Milan¹, Nilvanira Donizete Tebaldi¹ & Anielle Christine Almeida Silva²

¹ Laboratório de Bacteriologia Vegetal, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, CEP: 38400-902, Brazil.

² Laboratório de Novos Materiais Nanoestruturados e Funcionais, Instituto de Física, Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Maceió, AL, Brasil.

Autor para correspondência: Mariany Dalila Milan, e-mail: marianydalila@hotmail.com

RESUMO: O desenvolvimento de alternativas de controle é de suma importância para a manutenção das áreas produtivas. Diante disso, as nanopartículas estão sendo empregadas em inúmeras áreas, entre elas o controle de fitobactérias. O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de nanopartículas (NPs) de ZnO, ZnOCl, Ag₂O, ZnO:Ag, ZnO:Cu, ZnO:K, ZnO:Mg, ZnOCl:Ag e ZnOCl:Cu no controle da mancha bacteriana do tomateiro, causada por *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* e no tratamento de sementes. Foi avaliada a toxidez das Nps na inibição do crescimento bacteriano *in vitro*, a aplicação preventiva e curativa em plantas de tomate, bem como o tratamento de sementes na inibição de detecção e seu efeito na germinação. As nanopartículas (NPs) Ag₂O, ZnO, ZnO: 0.3Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnO: 11Ag, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 1Cu, ZnO: 4Cu, ZnO: 0.5K, ZnO: 1K, ZnO: 5K, ZnO: 10K, ZnO: 0.5Mg, ZnO: 1Mg, ZnO: 5Mg, ZnOCl, ZnOCl: 0.1Ag, ZnOCl: 1Ag, ZnOCl: 5Ag, ZnOCl: 10Ag, ZnOCl: 0.1Cu, ZnOCl: 1Cu, ZnOCl: 5Cu e ZnOCl: 10Cu inibiram o crescimento bacteriano *in vitro*, enquanto ZnO: 12Cu e ZnO: 10Mg não. As NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu e ZnOCl: 0.1Cu reduziram o número de UFC ao longo do tempo. A aplicação preventiva de ZnO: 0.1Cu [2.5] e ZnO: 5K [1.5 e 2.5], bem como a aplicação curativa de ZnO: 5K [1.5 e 2.5], ZnOCl: 0.1Cu [1.5 e 2.5] e ZnO: 0,1Cu [1.5 e 2.5] em plantas inoculadas, reduziram significativamente o progresso da doença. Sementes tratadas com ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu reduziram de modo eficiente a detecção de *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* em sementes inoculadas. A inoculação de sementes de tomate com *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) reduziu a germinação. Contudo, quando tratadas com ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu, houve aumento da porcentagem de germinação.

Palavras-chave: Mancha bacteriana; Nanopartículas; Controle alternativo; Óxido de Zinco. Proteção de plantas.

ABSTRACT: The development of controlling alternatives is of the utmost importance for maintaining productive areas, given that nanoparticles have been used in a number of areas, such as the control of phytopathogens. Therefore, the aim of this study was to evaluate the use of nanoparticles (NPs) of ZnO, ZnOCl₂, Ag₂O, ZnO: Ag, ZnO: Cu, ZnO: K, ZnO: Mg, ZnOCl₂: Ag and ZnOCl₂: Cu in the control of tomato bacterial spot caused by *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* and in seed treatment. The toxicity of NPs in inhibiting bacterial growth *in vitro*, preventive and curative application in tomato plants, and seed treatment in inhibiting detection and its effect on germination were evaluated. The nanoparticles (NPs) Ag₂O, ZnO, ZnO: 0.3Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnO: 11Ag, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 1Cu, ZnO: 4Cu, ZnO: 0.5K, ZnO: 1K, ZnO: 5K, ZnO: 10K, ZnO: 0.5Mg, ZnO: 1Mg, ZnO: 5Mg, ZnOCl₂, ZnOCl₂: 0.1Ag, ZnOCl₂: 1Ag, ZnOCl₂: 5Ag, ZnOCl₂: 10Ag, ZnOCl₂: 0.1Cu, ZnOCl₂: 1Cu, ZnOCl₂: 5Cu and ZnOCl₂: 10Cu inhibited bacterial growth *in vitro*, while ZnO: 12Cu and ZnO: 10Mg did not. The ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu and ZnOCl₂: 0.1Cu NPs reduced the number of CFUs over time. The preventive application of ZnO: 0.1Cu [2.5] and ZnO: 5K [1.5 and 2.5], as well as the curative application ZnO: 5K [1.5 and 2.5], ZnOCl₂: 0.1Cu [1.5 and 2.5] and ZnO: 0.1Cu [1.5 and 2.5] on inoculated plants, significantly reduced the progress of the disease. Seeds that were treated with ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnOCl₂ and ZnOCl₂: 0.1Cu efficiently reduced the detection of *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* in inoculated seeds. The inoculation of tomato seeds with *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) has reduced germination. However, when seeds were treated with ZnOCl₂ and ZnOCl₂: 0.1Cu, the germination percentage increased.

Keywords: Bacterial spot; Alternative control; Zinc oxide. Plant protection

INTRODUÇÃO

Bactericidas à base de cobre (Cu) têm sido amplamente empregados no mundo todo e em grandes volumes para proteger a produção agrícola ao longo dos anos (La Torre et al. 2018). Contudo, devido a sua baixa adesão aos tecidos vegetais, grandes quantidades deste oligoelemento são depositadas no ambiente (Fan et al. 2011). Isso ocorre porque os produtos comerciais de cobre são baseados em formas insolúveis de hidróxido de cobre, óxido de cobre ou oxicloreto de cobre em tamanho micrométrico (Young e Santra, 2014).

A nanotecnologia está focada no desenvolvimento de inúmeros produtos para solucionar diversos problemas com eficiência e grande potencial de aplicação em muitos campos, entre eles os de antibióticos, (Chen et al. 2018). As nanopartículas (NPs) possuem como característica serem partículas que apresentam tamanhos em escala nanométrica, com dimensões externas limitada à escala de 1 a 100 nm, podendo ser orgânicas ou inorgânicas. Elas são feitas de metais e óxidos de metais (Ealias; Saravanakumar, 2017; Gul et al. 2024).

NPs à base de zinco têm sido estudadas como possíveis substitutas para bactericidas disponíveis comercialmente. Vários pesquisadores apontaram que o tamanho reduzido das partículas metálicas aumenta a ação antibacteriana. Elas possuem grande potencial para controlar patógenos de plantas em comparação com pesticidas químicos (Park et al., 2006). Trabalhos como Salam et al. (2017), e Dimkpa et al. (2013) apresentam a capacidade de nanopartículas de prata e óxido de zinco no controle de doenças de plantas sem causar toxicidade às plantas tratadas.

A mancha bacteriana do tomateiro é causada por quatro espécies do gênero *Xanthomonas*, entre elas a *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, (Constantin et al. 2016). Para controle da doença nas áreas produtivas é recomendada a aplicação de medidas preventivas como sementes e mudas isentas com certificação (Pontes et al. 2017). Em casos de contaminação das áreas, o controle químico é realizado com produtos à base de cobre; no

entanto, há vários relatos de baixa eficiência relacionada ao surgimento de populações de bactérias resistentes (Quezado-Duval et al. 2003).

Portanto, visando elucidar sobre a aplicação de nanopartículas à base de ZnO como uma nova abordagem no controle da mancha bacteriana do tomateiro causada pela *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, este trabalho teve como objetivo (i) avaliar o uso de nanopartículas de ZnO e de ZnOCl puras e dopadas com diferentes elementos dopantes e diferentes concentrações, na inibição do crescimento de *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria in vitro*; (ii) avaliar o tempo de exposição da suspensão bacteriana à solução de nanopartículas para causar a morte da célula, (iii) avaliar o uso das nanopartículas no controle da mancha bacteriana do tomateiro em casa de vegetação e (iv) detectar bactérias e porcentagem de germinação em sementes inoculadas e tratadas com nanopartículas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Bacteriologia Vegetal (LABAC) e na casa de vegetação, do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG), da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Campus Umuarama, Uberlândia-MG.

As nanopartículas foram sintetizadas e caracterizadas no Laboratório de Novos Materiais Isolantes e Semicondutores do Instituto de Física da UFU.

Obtenção do isolado de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*

O isolado *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39), preservado e mantido na coleção de trabalho do LABAC, do ICIAG/UFU, foi cultivado em meio de cultura 523 (Kado e Heskett, 1970) a 28° C. Após 48 horas, a suspensão bacteriana foi preparada em água filtrada esterilizada e ajustada em espectrofotômetro para OD₅₅₀= 0,5 (10⁹ UFC/mL).

Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano *in vitro* com nanopartículas

Para investigar a atividade bactericida, foram avaliadas nanopartículas de ZnO e de ZnOCl puras e dopadas com diferentes concentrações de cobre (Cu), potássio (K), magnésio (Mg) e prata (Ag) (Tabela 7). Como controle positivo, foi utilizado Estreptomicina ($500\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) e como controle negativo a solução de NaCl 0,45%. A solução de cada nanopartícula foi preparada em água filtrada esterilizada na concentração de 10 mg/mL e diluída em série (10^{-1} a 10^{-3}).

Tabela 7. Nanopartículas puras e dopadas em suas respectivas concentrações. Uberlândia-MG, 2024.

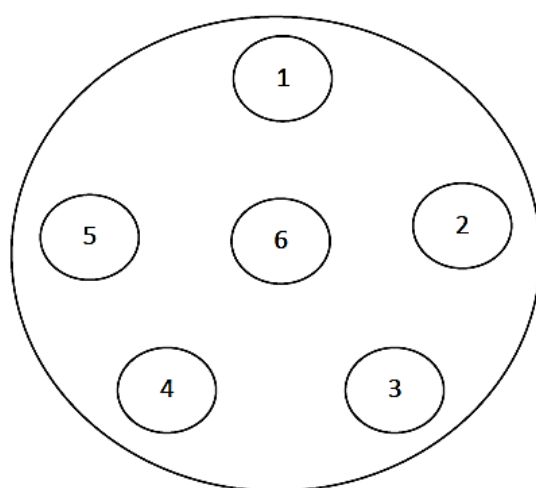
Nanopartículas dopadas	Concentração do elemento dopante (%)				Nanopartículas puras
ZnO:Ag	0.3	7	9	11	Ag ₂ O
ZnO:Cu	0.1	1	4	12	ZnO
ZnO:K	0.5	1	5	10	ZnOCl
ZnO:Mg	0.5	1	5	10	
ZnOCl:Ag	0.1	1	5	10	
ZnOCl:Cu	0.1	1	5	10	

ZnO:Cu: Óxido de Zinco dopado com Cobre; ZnO:K: Óxido de Zinco dopado com Potássio; ZnO:Mg: Óxido de Zinco dopado com Magnésio; ZnO:Ag: Óxido de Zinco dopado com Prata; ZnOCl:Cu: Simonkolleite dopado com Cobre; ZnOCl:Ag: Simonkolleite dopado com Prata; ZnO: Óxido de zinco; ZnOCl: Simonkolleite; AgO: Óxido de Prata.

Em placas de Petri (8 cm), foi adicionada uma camada básica de meio ágar-água 2% e meio nutritivo semissólido (0,8%) com adição de 10% da suspensão bacteriana. Sobre o meio, foram distribuídos 6 discos de papel filtro esterilizado (6 mm), 4 embebidos com 10 μL de cada nanopartícula, 1 com Estreptomicina ($500\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) controle positivo e 1 NaCl 0,45% (controle

negativo, com três repetições). Após 48h de incubação em estufa a 28°C, foram observados os halos de inibição e o diâmetro (cm) medido com uso de um paquímetro.

O ensaio foi conduzido em esquema fatorial $27 \times 4 + 3$, sendo 27 nanopartículas, 4 concentrações (a 10 mg/mL (SD), 1 mg/mL (10^{-1}), 0,1 mg/mL (10^{-2}) e 0,01 mg/mL (10^{-3})), 2 testemunhas adicionais (estreptomicina e solução salina) com três repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância no software R v 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020).



Distribuição dos tratamentos:

- 1- Controle negativo - NaCl
- 2- Solução de nanopartícula sem diluição
- 3- Solução em diluição 10^{-1}
- 4- Solução em diluição 10^{-2}
- 5- Solução em diluição 10^{-3}
- 6- Controle positivo - Antibiótico

Figura 7. Representação esquemática do ensaio em placa de Petri.

Considerando as performances resultantes desse primeiro ensaio e o custo de síntese das nanopartículas, as de ZnO: 0.1Cu, ZnO: 0.5 K e ZnOCl: 0.1 Cu foram escolhidas para os demais ensaios.

Redução das UFC/mL em tempo de exposição às nanopartículas

Em microtubos (1,5 mL) esterilizados, foram adicionados e homogeneizados 100 µl de suspensão bacteriana (UFU B8) e 900 µl das nanopartículas a 0,1 mg/mL (ZnO: 0,1 Cu; ZnO: 5 K; ZnOCl: 0,1 Cu), onde permanecerão por 0, 1, 2, 3, 4 e 5 horas. Em seguida, a suspensão

bacteriana dos tratamentos foi diluída em série (10^{-2} a 10^{-7}) e cultivada (100 μ L) em meio de cultura 523, em placa de Petri, incubadas a 28°C por 72 horas. O número de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) foi quantificado. O Hidróxido de cobre (2 mg/mL) foi utilizado como controle.

O ensaio utilizou delineamento inteiramente casualizado com 3 tratamentos e 3 repetições por hora de inoculação (Figura 8).

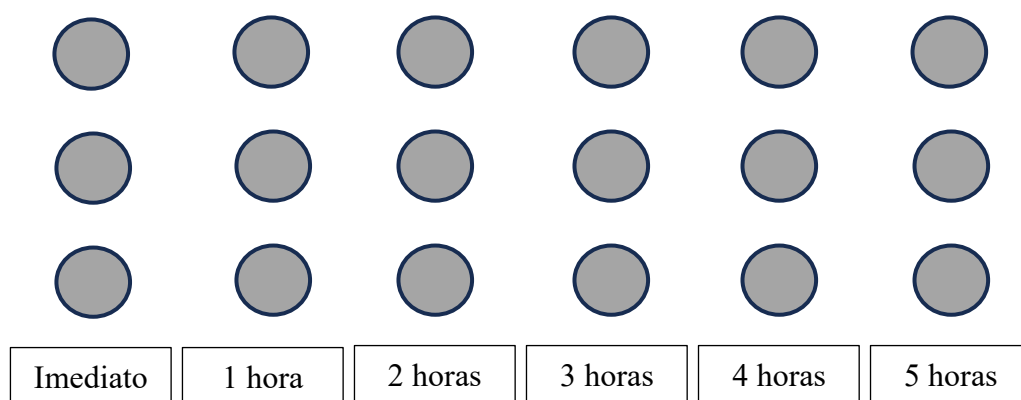


Figura 8. Esquema do cultivo da suspensão bacteriana tratada com solução de diferentes nanopartículas, em função do tempo em horas.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, ao teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$) e à análise de regressão para obtenção de modelos significativos para as médias de unidades formadoras de colônias (UFC) em diferentes tempos e com auxílio do programa software R v 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020).

Aplicação preventiva e curativa de nanopartículas no controle da mancha bacteriana em casa de vegetação

Em casa de vegetação, plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada foram cultivadas em vasos de capacidade 500 mL, com solo, areia e vermiculita (3:1:1). Após 30 dias da semeadura (três - quatro folhas), as plantas na aplicação preventiva foram pulverizadas até o ponto de

escorrimento, com as soluções das nanopartículas (ZnO 0.1Cu, ZnO 0.5 K e ZnOCl 0.1 Cu) em duas concentrações (1,5 ou 2,5 mg/mL), Hidróxido de cobre (2 g/L) e água (testemunha). Dois dias após, as plantas foram inoculadas via pulverização das folhas, com a suspensão bacteriana (10^8 UFC/mL, isolado UFU I39).

Na aplicação curativa, as plantas foram inoculadas coma suspensão bacteriana descrita anteriormente e dois dias após foram pulverizadas com as soluções de nanopartículas e os controles positivo e negativo, como descrito anteriormente. As plantas foram mantidas em câmara úmida 24 h antes e após a inoculação. Aos quatro dias após a inoculação, as plantas foram pulverizadas novamente com os produtos. Plantas pulverizadas com água (controle negativo) foram consideradas testemunhas.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial, composto de 2 aplicações (preventivo e curativo), 8 produtos [3 nanopartículas x 2 concentrações (1,5 ou 2,5 mg/mL⁻¹), água e Hidróxido de cobre), com quatro repetições, sendo considerado como unidade experimental um vaso contendo duas plantas.

A severidade da doença foi avaliada aos 3, 5, 8, 11, 14 e 17 dias após a inoculação, empregando-se a escala diagramática (Figura 9) (Mello et al. 1997). 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 (Shaner e Finney, 1977).

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

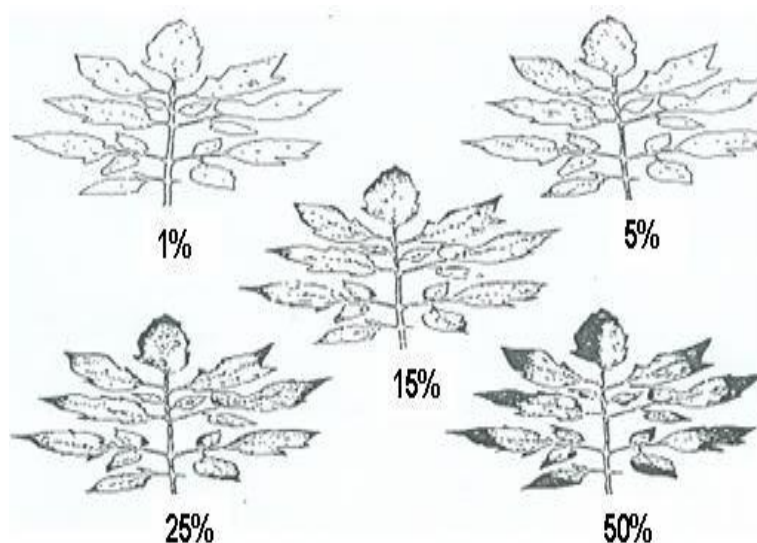


Figura 9. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha bacteriana do tomateiro (Mello et al. 1997)

Inoculação, detecção da bactéria e germinação das sementes tratadas com nanopartículas

Sementes comerciais de tomate cv. 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. Posteriormente, foram lavadas em água filtrada esterilizada e secas sob fluxo laminar em papel filtro autoclavado.

Para inoculação das sementes, o isolado UFU I39 foi cultivado em meio de cultura 523 a 28°C por 48h. Em seguida, 5 mL de NaCl 0,45% foram adicionados ao crescimento bacteriano e homogeneizado usando uma alça de Drigalski. Posteriormente, 25 sementes foram adicionadas por placa, sobre o crescimento bacteriano, por 10 minutos. As sementes foram removidas e secas sobre papel de filtro em fluxo laminar. Um total de 2.100 sementes foram inoculadas para cada isolado.

As sementes inoculadas e não inoculadas, foram imersas nas soluções de nanopartículas (ZnO, ZnOCl, ZnO 0.1Cu, ZnO 0.5 K e ZnOCl 0.1 Cu) a 2,5 mg/mL, Hidróxido de cobre (2 g/L) e água (controle), por 10 minutos, em seguida secas em papel de filtro.

Para detecção da bactéria nas sementes, foram utilizadas 100 sementes de cada tratamento, as quais foram divididas em 4 repetições de 25, distribuídas em placas de Petri contendo o meio cultura 523, com adição de cicloheximide (0,5 mL/mL meio de cultura) e incubadas em estufa a 28°C por 48h. Após o tempo de incubação, foi avaliado o número de sementes com presença da bactéria, determinando-se a porcentagem de detecção de sementes contaminadas. O ensaio foi em esquema fatorial 2x7, composto de 2 (sementes inoculadas ou não), 7 produtos (5 nanopartículas, Hidróxido de cobre e água), com 4 repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância, utilizando o software R v 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020).

O teste padrão de germinação foi realizado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil 2009), utilizando 200 sementes para cada tratamento, com quatro repetições de 50 sementes. As sementes foram colocadas sobre duas folhas de papel mata borrão, em caixas tipo gerbox. O papel foi embebido em água, equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. As sementes foram levadas ao germinador à temperatura de 20-30°C, com fotoperíodo de 12 h luz/12 h escuro. As avaliações foram realizadas pela contagem de plântulas normais emergidas, sendo a primeira e a última contagem, no quinto e 14º dia, para o vigor e germinação, respectivamente. Os resultados foram expressos em porcentagem de germinação.

O ensaio foi em esquema fatorial 2x7, composto de 2 (sementes inoculadas ou não), 7 produtos (5 nanopartículas, Hidróxido de cobre e controle), com 4 repetições. As médias foram comparadas por teste de Scott-Knott a 5% de significância, utilizando o no software R v 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020).

RESULTADOS

Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano *in vitro* com nanopartículas

As nanopartículas (NPs) ZnO: 12Cu e ZnO: 10Mg não inibiram o crescimento de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) nas concentrações avaliadas (10

mg/mL (SD), 1 mg/mL (10^{-1}), 0,1 mg/mL (10^{-2}) e 0,01 mg/mL (10^{-3})), e não diferiram estatisticamente do controle negativo (Tabela 8). As NPs Ag₂O (1,57), ZnO: 1K (1,30), ZnOCl: 0.1Cu (1,57), ZnOCl: 10Ag (1,30) e ZnOCl: 1Cu (1,40) na concentração 10mg/mL foram estatisticamente superiores às demais, e não diferiram da Estreptomicina.

As NPs de Ag₂O, ZnO, ZnO: 0.3Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnO: 11Ag, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 1Cu, ZnO: 4Cu, ZnO: 0.5K, ZnO: 1K, ZnO: 5K, ZnO: 10K, ZnO: 0.5Mg, ZnO: 1Mg, ZnO: 5Mg, ZnOCl, ZnOCl: 0.1Ag, ZnOCl: 1Ag, ZnOCl: 5Ag, ZnOCl: 10Ag, ZnOCl: 0.1Cu, ZnOCl: 1Cu, ZnOCl: 5Cu e ZnOCl: 10Cu inibiram o crescimento bacteriano na concentração 10mg/mL.

Tabela 8. Halo de inibição de crescimento de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) por nanopartículas a 10 e 0,01 mg/mL.

Nanopartícula	Diluição			
	ND	101	102	103
Ag ₂ O	1,57 aA*	0,90 bA*+	0,73 bA*+	0 cA+
ZnO	1,10 aB*	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnO: 0.3Ag	0,70 aC*+	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnO: 7Ag	1,07 aB*	0,90 aA*+	0,60 bA*+	0 cA+
ZnO: 9Ag	0,90 aB*+	0,87 aA*+	0,60 bA*+	0,4 bA+
ZnO: 11Ag	1,13 aB*	0,83 bA*+	0 cB+	0 cA+
ZnO: 0.1Cu	0,77 aC*+	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnO: 1Cu	1,17 aB*	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnO: 4Cu	1,17 aB*	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnO:12Cu	0 aE+	0 aB+	0 aB+	0 aA+
ZnO: 0.5K	1,23 aB*	0 bB+	0 bB+	0 bA+

ZnO: 1K	1,30 aA*	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnO: 5K	1,07 aB*	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnO: 10K	1,10 aB*	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnO: 0.5Mg	0,70 aC*+	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnO: 1Mg	0,27 aD+	0 aB+	0 aB+	0 aA+
ZnO: 5Mg	0,27 aD+	0 aB+	0 aB+	0 aA+
ZnO: 10Mg	0 aE+	0 aB+	0 aB+	0 aA+
ZnOCl	0,63 aC*+	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnOCl: 0.1Ag	0,87 aB*+	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnOCl: 1Ag	0,50 aC*+	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnOCl: 5Ag	1,00 aB*+	0,63 bA*+	0 cB+	0 cA+
ZnOCl: 10Ag	1,30 aA*	0,73 bA*+	0 cB+	0 cA+
ZnOCl: 0.1Cu	1,57 aA*	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnOCl: 1Cu	1,40 aA*	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnOCl: 5Cu	1,00 aB*+	0 bB+	0 bB+	0 bA+
ZnOCl: 10Cu	1,10 aB*	0 bB+	0 bB+	0 bA+
Adicionais				
Água	0 B			
Estreptomicina	1,50 A			

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Médias seguidas pelo símbolo * e + diferem do adicional água e antibiótico, respectivamente, pelo teste de Dunnet a 5% de significância.

A menor média de halos foi formada pelo ZnO: 0.5Mg (0,27) na concentração de 10 mg.mL⁻¹. Os halos de inibição formados com as soluções nas concentrações de 10mg/mL (SD) e o 1mg/mL(10⁻¹) variaram entre 0,27 a 1,57 cm e 0,63 a 0,90 cm, respectivamente (Figura 10).

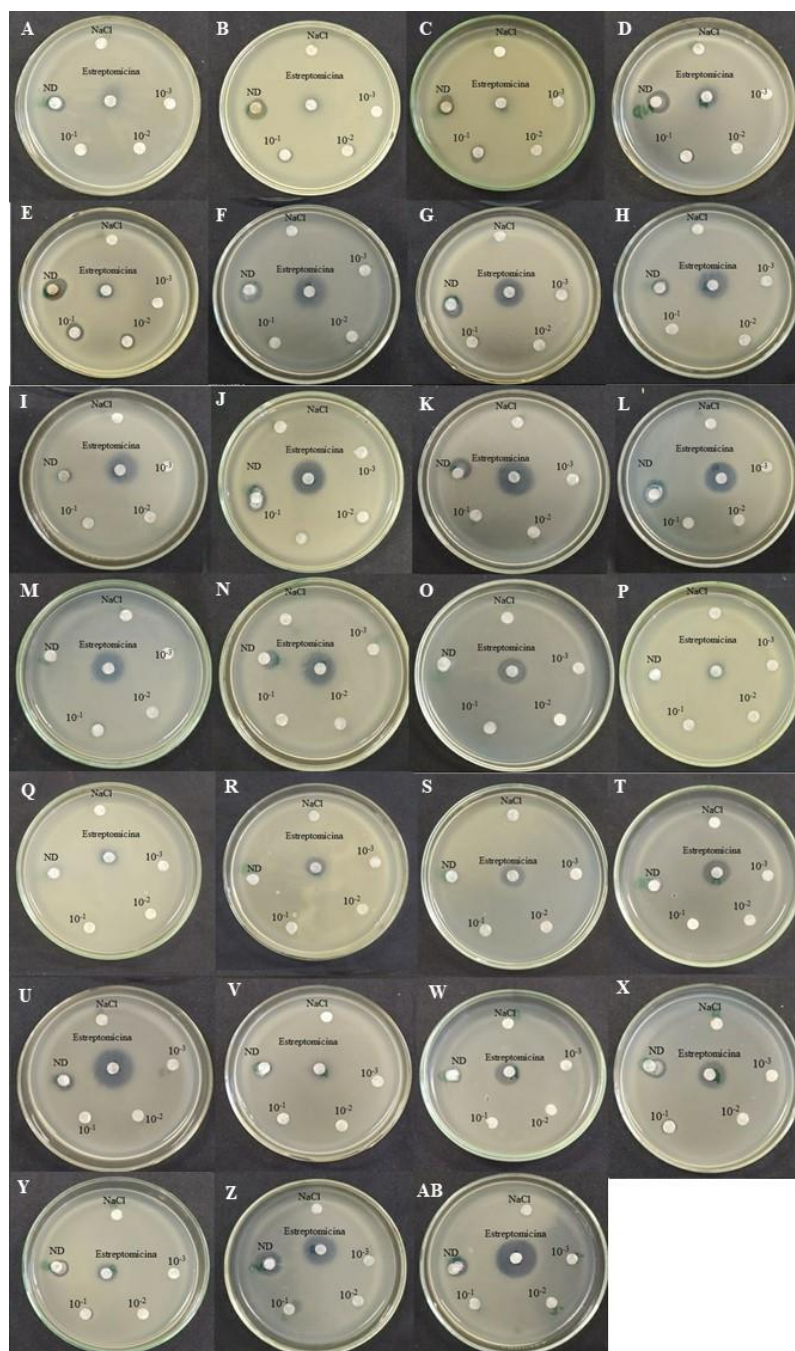


Figura 10. Halos de inibição em *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) formados por nanopartículas. ZnO:0.3 Ag (A), ZnO: 7 Ag (B), ZnO: 9 Ag (C), ZnO: 11Ag(D), Ag₂O (E), ZnO:Cu 0.1 Cu (F), ZnO: 1 Cu (G), ZnO: 4 Cu (H), ZnO: 12 Cu (I), ZnO (J), ZnO: 0.5 K (K), ZnO: 1 K (L), ZnO: 5 K (M), ZnO: 10 K (N), ZnO: 0.5 Mg (O), ZnO: 1 Mg (P), ZnO: 5 Mg (Q), ZnO: 10 Mg (R), ZnOCl (S), ZnOCl: 0.1 Ag (T), ZnOCl: 1 Ag (U), ZnOCl: 5 Ag (V), ZnOCl: 10 Ag (W), ZnOCl: 0.1 Cu (X), ZnOCl: 1 Cu (Y), ZnOCl: 5 Cu (Z), ZnOCl: 10 Cu (AB).

Redução das UFC/mL em tempo de exposição às nanopartículas

As NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu e ZnOCl: 0.1Cu reduziram o número de UFC ao longo do tempo avaliado (Tabela 9). O ZnO: 5K (0) apresentou a menor média de UFC no tempo de 5h; contudo, sem diferir estatisticamente dos demais.

Tabela 9. Contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) tratadas com nanopartículas sob diferentes tempos de exposição.

Tempo	ZnO: 5K	ZnO: 0.1Cu	ZnOCl: 0.1Cu
0	562,3 bE	513,7 cE	661,0 aF
1	296,7 cD	385,0 bD	595,3 aE
2	68,7 cC	203,0 bC	264,3 aD
3	32,3 aB	16,7 aB	51,3 aC
4	10,3 aB	12,7 aB	25,3 aB
5	0 aA	4,7 aA	4,0 aA
CV1%	10,26		
CV2%	8,0		

Médias seguidas por letras distintas: minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Os resultados da avaliação dos números de unidades formadoras de colônias em função do tempo em horas, tratadas com NPs, demonstraram redução das UFC (Figura 11), resultando em modelos polinomiais do segundo grau positivos. Todos os modelos foram significativos ($p \leq 0,05$) e com coeficiente de determinação (R^2) de 97% (ZnO: 0.1Cu), 94% (ZnOCl: 0.1Cu) e 99% (ZnO: 5K).

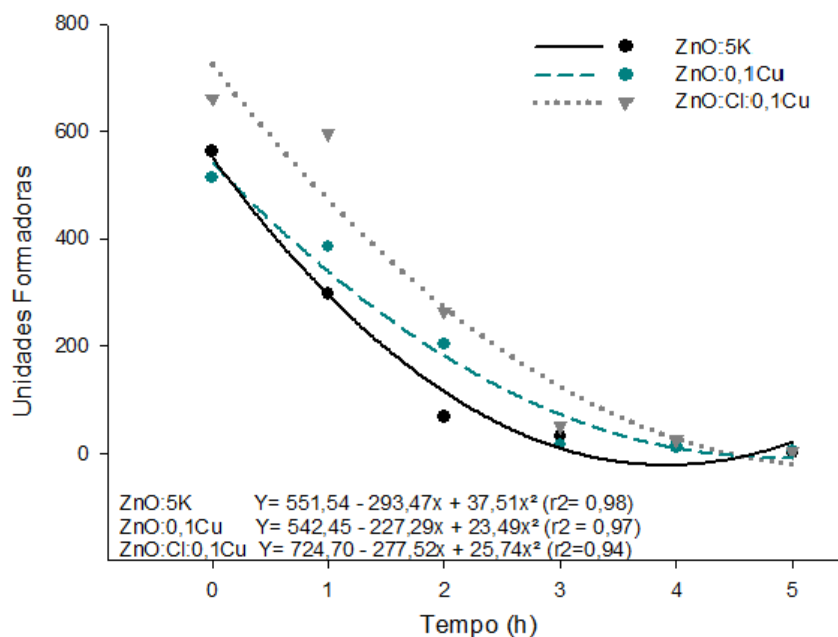


Figura 10. Unidades formadoras de colônias de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) sob diferentes tempos de exposição, tratadas com nanopartículas distintas.

Controle da mancha bacteriana com nanopartículas em casa de vegetação

Para a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da mancha bacteriana do tomateiro, causada por *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39), a aplicação preventiva de ZnO: 5K [1.5 e 2.5] e ZnO: 0.1Cu [2.5] diferiu estatisticamente da água (Tabela 10). No mesmo modo de aplicação, ZnO: 0.1Cu [2.5] e ZnO: 5K [1.5 e 2.5] diferiram da Testemunha.

A aplicação curativa de ZnO: 5K [1.5 e 2.5], ZnOCl: 0.1Cu [1.5 e 2.5] e de ZnO: 0,1Cu [1.5 e 2.5] diferiram estatisticamente dos adicionais água e Hidróxido de cobre, apresentando médias com menor incidência de sintomas. Plantas inoculadas com suspensão bacteriana e tratadas com ZnO: 0.1Cu nas [2.5] apresentaram o menor progresso de sintomas da mancha bacteriana.

Tabela 10. Área abaixo da curva de progresso da mancha bacteriana do tomateiro, causada por *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39), usando diferentes nanopartículas, em aplicação preventiva e curativa.

Aplicação	Nanopartícula	Concentração	
		1.5	2.5
Preventiva	ZnO: 5K	8,6 aA*	8,4 aA*
	ZnOCl : 0.1Cu	10,6 aA	12,5 Ab-
	ZnO: 0.1Cu	10,1 bA	7,1 aA*
Curativa	ZnO: 5K	8,2 aA+#	8,7 aB+#
	ZnOCl: 0.1Cu	11,4 aB+#	11,7 aC+#
	ZnO: 0.1Cu	11,4 bB+#	5,9 aA+#
Nanopartícula	Aplicação	Concentração	
		1.5	2.5
ZnO: 5K	Preventiva	8,6 A*	8,4 A*
	Curativa	8,2 A+#	8,7 A+#
ZnOCl: 0.1Cu	Preventiva	10,6 A	12,5 A-
	Curativa	11,4 A+#	11,7 A+#
ZnO: 0.1Cu	Preventiva	10,1 A	7,1 B*-
	Curativa	11,4 A+#	5,9 A+#
Adicionais	Aplicação		
Água	Preventiva	11,0*	
	Curativa	13,0+	
Hidróxido	Preventiva	9,2-	
	Curativa	13,2#	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Médias seguidas pelo símbolo *, -, + e # diferem dos adicionais Água

Preventiva, Hidróxido Preventiva, Água Curativa e Hidróxido Curativa, respectivamente, pelo teste de Dunnet a 5% de significância.

Detecção da bactéria e germinação das sementes tratadas com nanopartículas

Nas sementes de tomate não inoculadas, não houve detecção de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) (Figura 11). As sementes tratadas com ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu não diferiram estatisticamente do Hidróxido de cobre, reduzindo de modo eficiente a detecção de *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) em sementes inoculadas (Tabela 11).

Tabela 11. Detecção de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) em sementes inoculadas e não inoculadas, tratadas com diferentes nanopartículas.

Tratamento	Detecção (%)
ZnO	2 A
ZnO: 0.1Cu	2 A
ZnO:5k	9 B
ZnOCl	1 A
ZnOCl: 0.1Cu	3 A
Hidróxido de cobre	0 A
Testemunha	100 C
CV%	18,28

Médias seguidas por letras distintas: maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

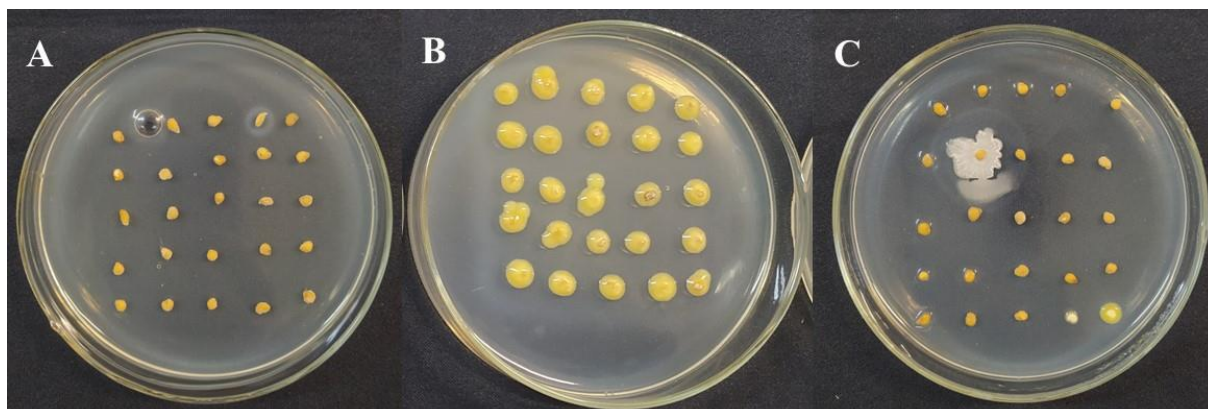


Figura 11. Detecção de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39). (A) Sementes não inoculadas. (B) Sementes inoculadas e tratadas com água. (C) Sementes inoculadas e tratadas com ZnOCl.

A inoculação de sementes de tomate com *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) reduziu a germinação para 11%. Contudo, quando tratadas com ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu, houve aumento da porcentagem de germinação, com médias similares ao Hidróxido de cobre (Tabela 12). As sementes não inoculadas apresentaram maior porcentagem de germinação, diferindo significativamente das sementes inoculadas

Tabela 12. Porcentagem de germinação de sementes de soja inoculadas ou não com a bactéria *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) e submetidas a diversos tratamentos com nanopartículas.

Tratamento	Inoculação	
	Inoculado	Não Inoculado
ZnO	22 bB	72 aA
ZnO: 0.1Cu	19 bB	69 aA
ZnO: 5K	20 bB	73 aA
ZnOCl	25 bA	73 aA

ZnOCl: 0.1Cu	29 bA	72 aA
Hidróxido de cobre	29 bA	74 aA
Testemunha	11 bB	77 aA
CV%	13,85	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou o potencial bactericida de nanopartículas de Ag_2O , ZnO e ZnOCl dopadas com Ag, Mg e K para inibir o crescimento de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*. NPs à base ou dopadas com Ag estão entre as mais estudadas quanto à síntetização, caracterização e aplicação no controle de microorganismos. Através da avaliação *in vitro*, foi possível observar que NPs de ZnOCl, quando dopadas com Ag, podem potencializar o desempenho de ZnOCl (0,63) para ZnOCl: 0.1Ag (0,87), ZnOCl: 5Ag (1,0) ZnOCl: 10Ag (1,30) na inibição do crescimento bacteriano, com o tamanho do halo aumentando de acordo com o aumento da concentração de dopagem (1,57). Resultados semelhantes foram apresentados por Mamede et al. (2024), em que a dopagem de ZnO com Ag aumentou o diâmetro dos halos em *Dickeya zeae*.

Com efeito similar ao descrito no texto acima, a dopagem de ZnOCl com Cu também proporcionou incremento na inibição do crescimento de *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, em que ZnOCl (0,63) aumentou para ZnOCl: 0.1Cu (1,57) e ZnOCl: 1Cu (1,40). Os estudos sobre mecanismo de ação de NPs Cu sugere que ocorre a liberação de íons que interagem com a parede celular da bactéria, destruindo sua constituição lipídica e gerando espécies reativas de oxigênio (Summer et al. 2024).

Outra dopagem que promoveu maior potencial de inibição foi a com K de ZnO (1,10), que aumentou o diâmetro dos halos para ZnO: 1K (1,30) e ZnO: 0.5K (1,23). Os mecanismos

de ação desta molécula ainda necessitam de maior elucidação; contudo, além dos efeitos antimicrobianos NPsK, ela tem sido investigada para aplicação como fertilizante de plantas. Os trabalhos de Fraga et al. (2021) e Mamede et al. (2024) apresentaram resultados positivos com esta NPs no controle de *X. hortorum* pv. *gardneri*, *Dickeya zea*, *Pantoea ananatis* e *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*.

NPs de ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu e de ZnOCl: 0.1Cu reduziram o número de UFC ao longo do tempo, assim como Carvalho et al. (2019) demonstraram que nanopartículas de ZnO com Cu são capazes de eliminar cepas resistentes ao cobre em 15 minutos de exposição, mesmo em pequenas concentrações.

Trabalhos anteriores NPs com Cu exibiram melhor eficiência que o produto comercial, além de não apresentarem efeito tóxico em folhas de tomate (Varympopi et al. 2022).

Para a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da mancha bacteriana do tomateiro, causada por *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, a aplicação preventiva de ZnO: 5K [1.5] e ZnO: 0.1Cu [1.5] e curativa de ZnO: 5K [1.5 e 2.5], ZnOCl: 0.1Cu [1.5 e 2.5] e ZnO: 0,1Cu [1.5 e 2.5] reduziram a severidade da doença. NPs metálicas apresentam efeitos benéficos em plantas, com a ativação de mecanismos de defesa e de absorção de micronutrientes (CARTWRIGHT et al., 2020).

NPs de ZnO podem interagir com a superfície bacteriana e/ou com o núcleo bacteriano exibindo mecanismos bactericidas distintos: alteração da viscosidade e estrutura da membrana celular que aumenta sua permeabilidade (HOU et al., 2018; SIDDIQI et al., 2018), danos à parede celular que contribuem para a entrada de compostos tóxicos no citoplasma (CZYŻOWSKA; BARBASZ, 2020) e indução de resistência da planta (ELSHARKAWY et al., 2020).

Sementes de tomate não inoculadas e tratadas com ZnO: 0.1Cu, ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu não apresentaram detecção de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, bem como

aumentaram a porcentagem de germinação, com médias similares ao Hidróxido de cobre. As NPs como tratamento de sementes de tomate reduziram significativamente os danos causados pela *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, contribuindo para a manutenção do poder germinativo das sementes. Após o estabelecimento do patógeno no hospedeiro, o controle se torna oneroso, e encontrar opções de controle para serem aplicadas no manejo da cultura e que protejam as plantas dos danos é a principal abordagem.

CONCLUSÃO

Este estudo evidenciou o potencial uso de nanopartículas de ZnO puras e dopadas com Ag, Cu, K, Mg, e de ZnOCl pura e dopada com Ag e Cu para o controle de *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*. As NPs Ag₂O, ZnO, ZnO: 0.3Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnO: 11Ag, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 1Cu, ZnO: 4Cu, ZnO: 0.5K, ZnO: 1K, ZnO: 5K, ZnO: 10K, ZnO: 0.5Mg, ZnO: 1Mg, ZnO: 5Mg, ZnOCl, ZnOCl: 0.1Ag, ZnOCl: 1Ag, ZnOCl: 5Ag, ZnOCl: 10Ag, ZnOCl: 0.1Cu, ZnOCl: 1Cu, ZnOCl: 5Cu e ZnOCl: 10Cu inibiram o crescimento bacteriano na concentração 10mg/mL, enquanto ZnO: 12Cu e ZnO: 10Mg não foram eficientes.

As NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu e ZnOCl: 0.1Cu reduziram o número de UFC ao longo do tempo. O ZnO: 5K (0) apresentou a menor média de UFC, contudo sem diferir estatisticamente dos demais.

A aplicação preventiva de ZnO: 0.1Cu [2.5] e de ZnO: 5K [1.5 e 2.5], bem como a aplicação curativa ZnO: 5K [1.5 e 2.5], ZnOCl: 0.1Cu [1.5 e 2.5] e ZnO: 0.1Cu [1.5 e 2.5] em plantas inoculadas, reduziram significativamente o progresso da doença.

Sementes tratadas com ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu reduziram de modo eficiente a detecção de *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) em sementes inoculadas.

A inoculação de sementes de tomate com *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (UFU I39) reduziu a germinação. Contudo, quando tratadas com ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu, houve aumento da porcentagem de germinação.

REFERÊNCIAS

Cartwright A, Jackson K, Morgan C, Anderson A, Britt DW (2020) A review of metal and metal-oxide nanoparticle coating technologies to inhibit agglomeration and increase bioactivity for agricultural applications. *Agronomy*: 10, 1018. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy10071018>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4395/10/7/1018>. Acesso em 12 de julho de 2024.

Chen J, Mao S, Xu Z, Ding W (2019) Various antibacterial mechanisms of biosynthesized copper oxide nanoparticles against soilborne *Ralstonia solanacearum*. *RSC advances*: 9, 3788-3799. DOI: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c8ra09186b>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2019/ra/c8ra09186b>. Acesso em 17 de abril de 2024.

Constantin EC, Cleenwerck I, Maes M, Baeyen S, Van Malderghem C, De Vos P, Cottyn B (2016) Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. *Plant Pathology*: 65, 792–806. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppa.12461>. Disponível em: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ppa.12461>. Acesso em 10 de novembro de 2023.

Czyżowska A., Barbasz A (2022) A review: zinc oxide nanoparticles—friends or enemies?. *International journal of environmental health research*: 32, 885-901. DOI: <https://doi.org/10.1080/09603123.2020.1805415>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09603123.2020.1805415>. Acesso em 12 de julho de 2024.

Dimkpa CO, McLean JE, Britt DW, Anderson AJ (2013) Antifungal activity of ZnO nanoparticles and their interactive effect with a biocontrol bacterium on growth antagonism of the plant pathogen *Fusarium graminearum*. *Biometals*: 26, 913-924. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10534-013-9667-6>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10534-013-9667-6>. Acesso de 19 de abril de 2024.

Ealia SAM, Saravanakumar MP (2017, November). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. In IOP conference series: materials science and engineering (Vol. 263, No. 3, p. 032019). IOP Publishing.

Elsharkawy M, Derbalah A, Hamza A, El-Shaer A (2020) Zinc oxide nanostructures as a control strategy of bacterial speck of tomato caused by *Pseudomonas syringae* in Egypt. *Environmental Science and Pollution Research*: 27, 19049-19057. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3806-0>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-018-3806-0>. Acesso em 15 de novembro de 2023.

Fan J, He Z, Ma LQ, Stoffella P J (2011) Accumulation and availability of copper in citrus grove soils as affected by fungicide application. *Journal of Soils and Sediments*: 11, 639-648. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11368-011-0349-0>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11368-011-0349-0>. Acesso em 25 de março de 2024.

Fraga FS, Silva ACA, Dantas NO, Tebaldi, ND, Luz, JMQ (2021) Doped zinc-oxide nanocrystals for the control of tomato bacterial spot and *Xanthomonas gardneri* in seeds. *Tropical Plant Pathology*: 46, 406-413. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40858-021-00436-2>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40858-021-00436-2>. Acesso em 25 de outubro de 2023.

Gul M, Khan RS, Islam ZU, Khan S, Shumaila A, Umar S, Ditta A (2024) Nanoparticles in plant resistance against bacterial pathogens: current status and future prospects. *Molecular*

Biology Reports, 51(1), 92. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08914-3>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-023-08914-3>. Acesso em 19 de fevereiro de 2024.

Hou J, Wu Y, Li X, Wei B, Li S, Wang X (2018) Efeitos tóxicos de diferentes tipos de nanopartículas de óxido de zinco em algas, plantas, invertebrados, vertebrados e microrganismos. Chemosphere: 193, 852-860. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.077>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653517318544>. Acesso em 12 de julho de 2024.

Kado CI, Heskett MG (1970) Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium, Erwinia, Pseudomonas, and Xanthomonas. Phytopathology: 60, 969–976.

La Torre A, Iovino V, Caradonia, F (2018) Copper in plant protection: Current situation and prospects. Phytopathologia Mediterranea: 57, 201-236. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-23407. Disponível em: <https://www.torrossa.com/en/catalog/preview/4398113>. Acesso em 29 de março de 2024.

Mamede MC, Silva ACA, Tebaldi ND (2024) *Dickeya zaeae*, *Pantoea ananatis* e *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*: Controle com o uso de nanopartículas. Ciência e Agrotecnologia, 48, e018423. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-7054202448018423>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/rz4xDXD5tfHYFxmmkmPkLKw>. Acesso em 30 de junho de 2024.

Mello SCM, Takatsu A, Lopes CA (1977) Escala diagramática para avaliação da mancha-bacteriana do tomateiro. Fitopatologia Brasileira: 22, 447-448.

Oliveira NS, Silva ACA, Tebaldi ND (2023) Simonkolleite nanoparticles for seed treatment and control of tomato bacterial spot caused by *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri*. *Ciência e Agrotecnologia*: 47, e000623. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-7054202347000623>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/ZRvt6x8n76fnV7ghyfrFvjx/>. Acesso em 28 de dezembro de 2023.

Park HJ, Kim SH, Kim HJ, Choi SH (2006) A new composition of nanosized silica-silver for control of various plant diseases. *Plant Pathology Journal*: 22, 295-302. DOI: <https://doi.org/10.5423/PPJ.2006.22.3.295>. Disponível em: <https://koreascience.kr/article/JAKO200634718413690.page>. Acesso em 17 de abril de 2024.

Pontes NC, Nascimento AR, Golynski A, Moita AW, Maffia LA, Oliveira JR, Quezado-Duval, AM (2017) Volume de aplicação e eficiência do controle químico da mancha bacteriana em tomateiro industrial. *Horticultura Brasileira*: 35, 371-376. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-053620170309>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hb/a/vP6sWdBRTxGmDZb6NZMzpXd/>. Acesso em 10 de janeiro de 2024.

Quezado-Duval AM, Gazzoto Filho A, Leite Júnior RP, Camargo LEA (2003) Sensibilidade a cobre, estreptomicina e oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana do tomate para processamento industrial. *Horticultura Brasileira*: 21, 670-675. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362003000400020>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hb/a/ZsKSpzBKsVhpSjBW4D4Lyr/?format=html&lang=pt>. Acesso em 15 de abril de 2024.

Salam MA, Obaid AY, El-Shishtawy RM, Mohamed SA (2017) Synthesis of nanocomposites of polypyrrole/carbon nanotubes/silver nano particles and their application in water

disinfection. RSC advances: 7, 16878-16884. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7RA01033H>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2017/ra/c7ra01033h>. Acesso em 18 de abril de 2024.

Siddiqi KS, Husen A, Rao RA (2018) A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. Journal of nanobiotechnology: 16, 1-28. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0334-5>. Disponível em: <https://jnanobiotechnology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12951-018-0334-5#citeas>. Acesso em 10 de janeiro de 2023.

Summer, Muhammad et al. (2024). Mode of action of biogenic silver, zinc, copper, titanium and cobalt nanoparticles against antibiotics resistant pathogens. Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials: 34, 1417-1451. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10904-023-02935-y>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10904-023-02935-y#citeas>. Acesso em 12 de julho de 2024.

Varympopi A, Dimopoulou A, Papafotis D, Avramidis P, Sarris I, Karamanidou T, Skandalis N (2022) Antibacterial activity of copper nanoparticles against *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in tomato plants. International Journal of Molecular Sciences: 23, 4080. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23084080>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/8/4080>. Acessado em 26 de dezembro de 2023.

Young M, Santra S (2014) Copper (Cu)–Silica nanocomposite containing valence-engineered Cu: a new strategy for improving the antimicrobial efficacy of Cu biocides. Journal of agricultural and food chemistry: 62, 6043-6052. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf502350w>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf502350w>. Acesso em 12 de abril de 2024.

CAPÍTULO 3

NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE DE *Xanthomonas vesicatoria* E NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE TOMATE

³Artigo redigido de acordo com as normas do periódico *Tropical Plant Pathology*.

**Nanopartículas no controle de *Xanthomonas vesicatoria* e
no tratamento de sementes de tomate**

Mariany Dalila Milan¹, Nilvanira Donizete Tebaldi¹ & Anielle Christine Almeida Silva²

¹ Laboratório de Bacteriologia Vegetal, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, CEP: 38400-902, Brazil.

² Laboratório de Novos Materiais Nanoestruturados e Funcionais, Instituto de Física, Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Maceió, AL, Brasil.

Autor para correspondência: Mariany Dalila Milan, e-mail: marianydalila@hotmail.com

RESUMO: O controle químico da mancha bacteriana do tomateiro é feito com produtos à base de cobre; contudo há muitos relatos de cepas resistentes. Como alternativa, as nanopartículas são muito promissoras na proteção de plantas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de nanopartículas (NPs) de ZnO, ZnOCl, Ag₂O, ZnO:Ag, ZnO:Cu, ZnO:K, ZnO:Mg, ZnO, ZnOCl:Ag e ZnOCl:Cu no controle da mancha bacteriana do tomateiro, causada por *X. vesicatoria* e no tratamento de sementes. Foram avaliados a toxidez das Nps na inibição do crescimento bacteriano *in vitro*, a aplicação preventiva e curativa em plantas de tomate, bem como o tratamento de sementes na inibição de detecção e seu efeito na germinação. NPs de Ag₂O, ZnO: 11Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnOCl: 0.1Ag, ZnOCl: 10Ag e ZnOCl: 1Cu foram estatisticamente superiores às demais na inibição do crescimento bacteriano. As NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu e ZnOCl: 0.1Cu reduziram o número de UFC. O ZnO: 0.1Cu (4,7) apresentou a menor média de UFC no tempo de 5h. A aplicação preventiva de ZnOCl: 0.1Cu [2.5] e ZnO: 0.1Cu [1.5 e 2.5] apresentou maior redução da área abaixo da curva de progresso da doença. A aplicação curativa ZnO: 5K [1.5 e 2.5], ZnOCl: 0.1Cu [2.5] e ZnO: 0.1Cu [1.5 e 2.5] apresentou maior eficiência no controle da *Xanthomonas vesicatoria* do que o Hidróxido de cobre. As sementes inoculadas e tratadas com NPs apresentaram alta porcentagem de detecção. Sementes de tomate inoculadas com *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217) reduziram significativamente a porcentagem de germinação, porém quando tratadas com as NPs ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 5K, ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu, apresentaram resultados semelhantes ao Hidróxido de cobre.

Palavras-chave: Mancha bacteriana; Nanopartículas; Controle alternativo; Óxido de Zinco.

ABSTRACT: The chemical control of tomato bacterial spot is done with copper-based products, nevertheless there are many reports of resistant strains, as an alternative the nanoparticles have shown to be quite promising in plant protection. Therefore, the aim of this study was to evaluate the use of nanoparticles (NPs) of ZnO, ZnOCl, Ag₂O, ZnO: Ag, ZnO: Cu, ZnO: K, ZnO: Mg, ZnO, ZnOCl: Ag and ZnOCl: Cu in the control of tomato bacterial spot caused by *X. vesicatoria* and in seed treatment. The toxicity of the NPs in inhibiting bacterial growth *in vitro*, preventive and curative application on tomato plants, and seed treatment in inhibiting detection and its effect on germination were evaluated. NPs of Ag₂O, ZnO: 11Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnOCl: 0.1Ag, ZnOCl: 10Ag and ZnOCl: 1Cu were statistically superior to the others in inhibiting bacterial growth. The NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu and ZnOCl: 0.1Cu have reduced the number of CFUs. ZnO: 0.1Cu (4.7) showed the lowest average number of CFU in 5 hours. The preventive application of ZnOCl: 0.1Cu [2.5] and ZnO: 0.1Cu [1.5 and 2.5] presented the greatest reduction in the area under the disease progress curve. For the curative application, ZnO: 5K [1.5 and 2.5], ZnOCl: 0.1Cu [2.5] and ZnO: 0.1Cu [1.5 and 2.5] have shown higher efficiency in controlling *Xanthomonas vesicatoria* than copper hydroxide. Seeds inoculated and treated with NPs have shown a high percentage of detection. Tomato seeds inoculated with *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217) significantly reduced the germination percentage, whereas when treated with the NPs ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 5K, ZnOCl and ZnOCl: 0.1Cu they showed similar results to copper hydroxide.

Keywords: Bacterial spot; Nanoparticles; Alternative control; Zinc oxide.

INTRODUÇÃO

A fruta do tomateiro tem importância econômica e social em vários países e seu cultivo é considerado de alto custo devido à alta demanda de insumos, que são empregados desde o plantio até a colheita. Além disso, há o alto risco devido à grande quantidade de insetos-praga e doenças (Loos et al., 2008; Grecco et al., 2016). Entre aquelas que afetam a cultura, a mancha bacteriana do tomateiro é a bacteriana de maior relevância, devido a sua alta taxa de disseminação e presença nas principais regiões produtivas (Abrahamian et al. 2021).

A mancha bacteriana do tomate é causada por quatro espécies do gênero *Xanthomonas* spp., sendo elas: *X. vesicatoria* (Jones et al. 2004), *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *perforans* (Constantin et al. 2016) e *X. hortorum* pv. *gardneri* (Morinière et al. 2020). Uma única área pode ser acometida por mais de uma espécie do gênero, fato que pode influenciar na dificuldade de controle da doença.

No Brasil, as espécies *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* e *X. hortorum* pv. *gardneri* tiveram a maior prevalência nos estados de Goiás e Minas Gerais. Já em um contexto mundial, sabe-se que as espécies *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* e *X. vesicatoria* possuem maior dominância (Quezado-Duval; Lopes, 2010).

Estas bactérias estão relacionadas à fitopatogênese de diferentes vegetais dentro da família da Solaneceae, como as seguintes espécies: *Capsicum frutescens*, *Lycopersicon pimpinellifolium*, *Solanum dulcamara*, *S. tuberosum*, *S. melongena*, entre outras (Jones e Stall, 1998). Elas são capazes de sobreviver em restos culturais, plantas voluntárias, plantas daninhas e sementes. Sua disseminação pode ocorrer rapidamente, favorecida pelos respingos de água, seja por sistema de irrigação ou pela chuva (Simonton et al., 2021). Temperaturas ótimas para seu desenvolvimento estão entre 24-30°C, combinadas com alta umidade, tornando áreas tropicais e subtropicais ideais para seu estabelecimento (Quezado-Duval; Lopes, 2010).

O controle químico da mancha bacteriana no tomateiro pode ser realizado através de produtos à base de cobre e antibióticos agrícolas, tais como o cloreto de benzalcônio,

estreptomicina, sulfato de cobre amoxicilina, mancozebe e acibenzolar-S-metílico (AGROFIT, 2016). Muitos estudos apontam que os antibióticos e compostos cúpricos possuem baixa eficiência na prevenção de algumas doenças no cultivo do tomateiro, e o provável fator responsável pela ineficiência seria a seleção de *Xanthomonas* spp, resistente ao resultado das práticas de controle de fitopatógenos (Itako et al., 2014).

O uso de nanopartículas (NPs) é uma forma alternativa e eficaz de controle de doenças de plantas (Elsharkawy e Mousa, 2015). Devido ao seu tamanho reduzido, as partículas produzidas em tamanhos nanométricos possuem dimensões entre 1 a 100 nm (Gul et al. 2024), e apresentam alta relação superfície-volume (Kah & Hofmann, 2014), com propriedades físicas (Silva et al., 2017) e biológicas (Reis et al., 2015) que proporcionam maior interação com a membrana celular.

Nps podem ser produzidas a partir de metalóides, óxidos metálicos, não metais e nanomateriais de carbono. Produtos à base de óxido metálico são amplamente utilizados nas áreas de física, química e biologia (Kaviya et al., 2011), nas quais sua propriedade bactericida ocorre devido à desestabilização, degradação ou dissolução da membrana celular bacteriana, permitindo que as NPs interajam com compostos celulares internos. A liberação de íons tóxicos na membrana celular bloqueia fisicamente os canais de transporte celular (Hou et al., 2018).

Um estudo anterior confirmou que a atividade antibacteriana de NPs de óxido de zinco dopado com potássio (ZnO:K), óxido de zinco dopado com magnésio (ZnO:Mg) e óxido de zinco dopado com molibdênio (ZnO:Mo) reduziu a população de *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri* em sementes de tomate (Fraga et al. , 2021). As NP devem ser biocompatíveis e específicas (Sousa et al., 2014) para evitar o desenvolvimento de bactérias patogênicas resistentes (Neves et al., 2021). Considerando a necessidade de produtos alternativos para o manejo de doenças bacterianas, este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* de NPs de ZnO e ZnOCl puras e dopadas contra *Xanthomonas*

vesicatoria, avaliar as aplicações preventivas e curativas para o controle da mancha bacteriana em plantas de tomate, bem como avaliar seu uso no tratamento de sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Bacteriologia Vegetal (LABAC) e na casa de vegetação, do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG), da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Campus Umuarama, Uberlândia-MG.

As nanopartículas foram sintetizadas e caracterizadas no Laboratório de Novos Materiais Isolantes e Semicondutores do Instituto de Física da UFU.

Obtenção do isolado de *Xanthomonas vesicatoria*

O isolado *X. vesicatoria* (UFU I217) preservado e mantido na coleção de trabalho do LABAC, do ICIAG/UFU, foi cultivado em meio de cultura 523 (Kado e Heskett, 1970) a 28°C. Após 48 horas, a suspensão bacteriana foi preparada em água filtrada esterilizada e ajustada em espectrofotômetro para OD₅₅₀= 0,5 (10⁹ UFC/mL).

Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano *in vitro* com nanopartículas

Para avaliar a atividade bactericida, foram avaliadas nanopartículas de ZnO e de ZnOCl puras e dopadas com diferentes concentrações de cobre (Cu), potássio (K), magnésio (Mg) e prata (Ag) (Tabela 12). Como controle positivo, foi utilizado Estreptomicina (500µg.mL⁻¹) e como controle negativo a solução de NaCl 0,45%. A solução de cada nanopartícula foi preparada em água filtrada esterilizada na concentração de 10 mg/mL e diluída em série (10⁻¹ a 10⁻³).

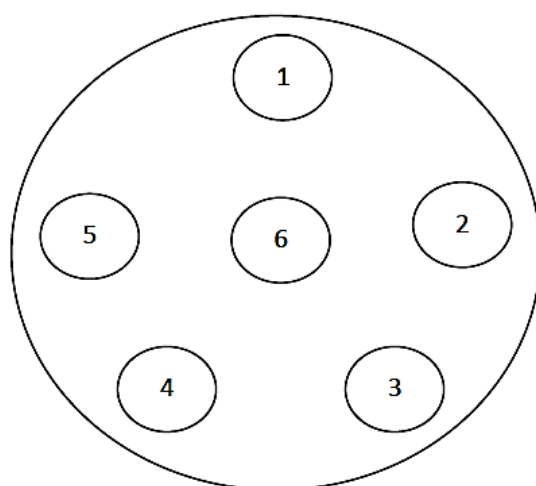
132 **Tabela 12.** Nanopartículas puras e dopadas em suas respectivas concentrações. Uberlândia-
133 MG, 2024.

Nanopartículas dopadas	Concentração do elemento dopante (%)				Nanopartículas puras
ZnO:Ag	0.3	7	9	11	Ag ₂ O
ZnO:Cu	0.1	1	4	12	ZnO
ZnO:K	0.5	1	5	10	ZnOCl
ZnO:Mg	0.5	1	5	10	
ZnOCl:Ag	0.1	1	5	10	
ZnOCl:Cu	0.1	1	5	10	

134 ZnO:Cu: Óxido de Zinco dopado com Cobre; ZnO:K: Óxido de Zinco dopado com Potássio; ZnO:Mg: Óxido de
135 Zinco dopado com Magnésio; ZnO:Ag: Óxido de Zinco dopado com Prata; ZnOCl:Cu: Simonkolleite dopado com
136 Cobre; ZnOCl:Ag: Simonkolleite dopado com Prata; ZnO: Óxido de zinco; ZnOCl: Simonkolleite; AgO: Óxido
137 de Prata.

138
139 Em placas de Petri (8 cm), foi adicionada uma camada básica de meio ágar-água 2% e
140 meio nutritivo semissólido (0,8%) com adição de 10% da suspensão bacteriana. Sobre o meio,
141 foram distribuídos 6 discos de papel filtro esterilizado (6 mm), 4 embebidos com 10 µL de cada
142 nanopartícula, 1 com Rifampicina (25µg.ml⁻¹) controle positivo e 1 NaCl 0,45% (controle
143 negativo, com três repetições). Após 48h de incubação em estufa a 28°C, foram observados os
144 halos de inibição e o diâmetro (cm) medido com uso de um paquímetro.

145 O ensaio foi conduzido em esquema fatorial 27x4 + 3, sendo 27 nanopartículas, 4
146 concentrações (a 10 mg/mL (SD), 1 mg/mL (10⁻¹), 0,1 mg/mL (10⁻²) e 0,01 mg/mL (10⁻³)), 2
147 testemunhas adicionais (estreptomicina e solução salina) com três repetições. As médias foram
148 comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância no software R v 4.0.2 (R CORE
149 TEAM, 2020).



Distribuição dos tratamentos:

- 1- Controle negativo - NaCl
- 2- Solução de nanopartícula sem diluição
- 3- Solução em diluição 10^{-1}
- 4- Solução em diluição 10^{-2}
- 5- Solução em diluição 10^{-3}
- 6- Controle positivo - Antibiótico

Figura 12. Representação esquemática do ensaio em placa de Petri.

Considerando as performances resultantes desse primeiro ensaio e o custo de síntese das nanopartículas, as de ZnO: 0.1Cu, ZnO: 0.5 K e ZnOCl: 0.1 Cu foram escolhidas para os demais ensaios.

Redução das UFC/mL em tempo de exposição às nanopartículas

Em microtubos (1,5 mL) esterilizados, foram adicionados e homogeneizados 100 µl de suspensão bacteriana (UFU B8) e 900 µl das nanopartículas a 0,1 mg/mL (ZnO: 0,1 Cu; ZnO: 5 K; ZnOCl: 0,1 Cu), onde permaneceram por 0, 1, 2, 3, 4 e 5 horas. Em seguida, a suspensão bacteriana dos tratamentos foi diluída em série (10^{-2} a 10^{-7}) e cultivada (100 µL) em meio de cultura 523, em placa de Petri, incubadas a 28°C por 72 horas. O número de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) foi quantificado. O hidróxido de cobre (2 mg/mL) foi utilizado como controle.

O ensaio utilizou delineamento inteiramente casualizado com 3 tratamentos e 3 repetições por hora de inoculação (Figura 13).

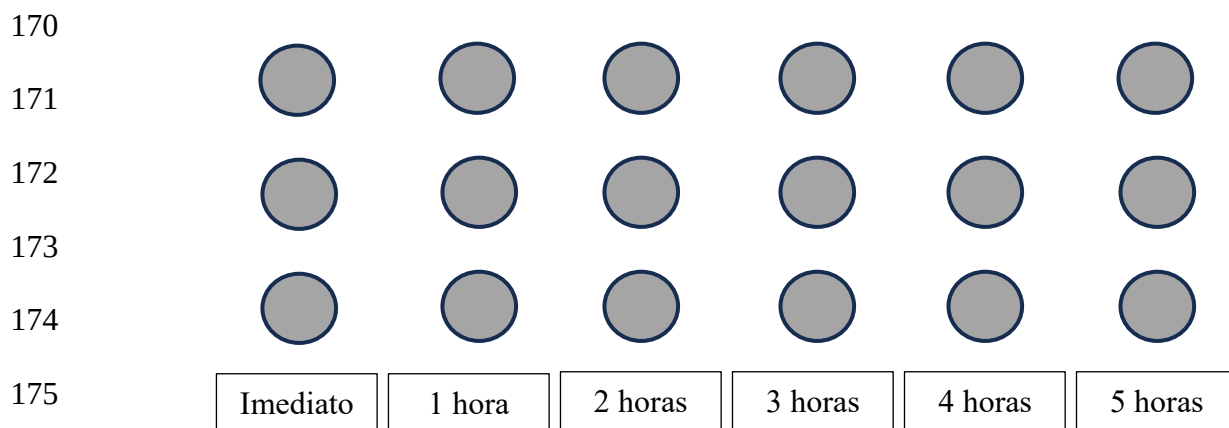


Figura 13. Esquema do cultivo da suspensão bacteriana tratada com solução de diferentes nanopartículas, em função do tempo em horas.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, ao teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$) e à análise de regressão para obtenção de modelos significativos para as médias de unidades formadoras de colônias (UFC) em diferentes tempos, com auxílio do programa software R v 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020).

Aplicação preventiva e curativa de nanopartículas no controle da mancha bacteriana em casa de vegetação

Em casa de vegetação, plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada foram cultivadas em vasos de capacidade 500 mL, com solo, areia e vermiculita (3:1:1). Após 30 dias da semeadura (três - quatro folhas), as plantas na aplicação preventiva foram pulverizadas até o ponto de escoamento, com as soluções das nanopartículas (ZnO 0.1Cu, ZnO 0.5 K e ZnOCl 0.1 Cu) em duas concentrações (1,5 ou 2,5 mg/mL), hidróxido de cobre (2 g/L) e água (testemunha). Dois dias após, as plantas foram inoculadas via pulverização das folhas, com a suspensão bacteriana (10^8 UFC/mL, isolado UFU I39).

Na aplicação curativa, as plantas foram inoculadas com a suspensão bacteriana descrita anteriormente e dois dias após foram pulverizadas com as soluções de nanopartículas e os controles positivo e negativo, como descrito anteriormente. As plantas foram mantidas em

câmara úmida 24 h antes e após a inoculação. Quatro dias após a inoculação, as plantas foram pulverizadas novamente com os produtos. Plantas pulverizadas com água (controle negativo) foram consideradas testemunhas.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial, composto de 2 aplicações (preventivo e curativo), 8 produtos [3 nanopartículas x 2 concentrações (1,5 ou 2,5 mg/mL⁻¹), água e hidróxido de cobre], com quatro repetições, sendo que um vaso contendo duas plantas foi considerado como unidade experimental.

A severidade da doença foi avaliada aos 3, 5, 8, 11, 14 e 17 dias após a inoculação, empregando-se a escala diagramática (Figura 14) (Mello et al. 1997). 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 (Shaner e Finney, 1977).

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

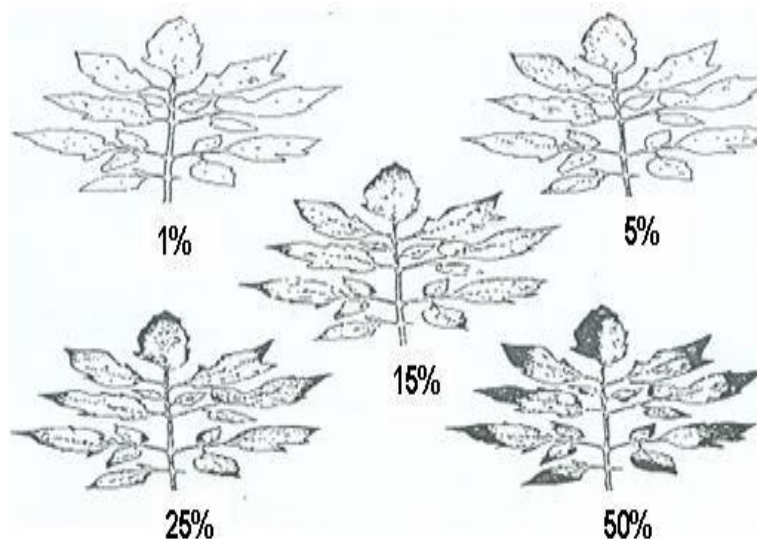


Figura 14. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha bacteriana do tomateiro (Mello et al. 1997)

Inoculação, detecção da bactéria e germinação das sementes tratadas com nanopartículas

Sementes comerciais de tomate cv. 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. Posteriormente, foram lavadas em água filtrada esterilizada e secas sob fluxo laminar em papel filtro autoclavado.

Para inoculação das sementes, o isolado UFU I39 foi cultivado em meio de cultura 523 a 28°C por 48h. Em seguida, 5 mL de NaCl 0,45% foram adicionados ao crescimento bacteriano e homogeneizado usando uma alça de Drigalski. Posteriormente, 25 sementes foram adicionadas por placa, sobre o crescimento bacteriano, por 10 minutos. As sementes foram removidas e secas sobre papel de filtro em fluxo laminar. Um total de 2.100 sementes foram inoculadas para cada isolado.

As sementes inoculadas e não inoculadas, não foram imersas nas soluções de nanopartículas (ZnO, ZnOCl, ZnO 0.1Cu, ZnO 0.5 K e ZnOCl 0.1 Cu) a 2,5 mg/mL, hidróxido de cobre (2 g/L) e água (controle), por 10 minutos, em seguida, secas em papel de filtro.

Para detecção da bactéria nas sementes, foram utilizadas 100 sementes de cada tratamento divididas em 4 repetições de 25, distribuídas em placas de Petri contendo o meio cultura 523, com adição de cicloheximide (0,5 mL/mL meio de cultura) e incubadas em estufa a 28°C por 48h. Após o tempo de incubação, foi avaliado o número de sementes com presença da bactéria, determinando-se a porcentagem de detecção de sementes contaminadas. O ensaio foi em esquema fatorial 2x7, composto de 2 (sementes inoculadas ou não), 7 produtos (5 nanopartículas, hidróxido de cobre e água) com 4 repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância utilizando o software R v 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020).

O teste padrão de germinação foi realizado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil 2009), utilizando 200 sementes para cada tratamento, com quatro repetições

de 50 sementes. Elas foram colocadas sobre duas folhas de papel mata borrão, em caixas tipo gerbox. O papel foi embebido em água, equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. As sementes foram levadas ao germinador à temperatura de 20-30 °C, com fotoperíodo de 12 h luz/12 h escuro. As avaliações foram realizadas pela contagem de plântulas normais emergidas, sendo a primeira e a última contagem, no quinto e 14º dia, para o vigor e germinação, respectivamente. Os resultados foram expressos em porcentagem de germinação.

O ensaio foi em esquema fatorial 2x7, composto de 2 (sementes inoculadas ou não), 7 produtos (5 nanopartículas, hidróxido de cobre e controle), com 4 repetições. As médias foram comparadas por teste de Scott-Knott a 5% de significância utilizando o no software R v 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020).

RESULTADOS

Halo de inibição (cm) do crescimento bacteriano *in vitro* com nanopartículas

As nanopartículas ZnO: 5K, ZnO: 0.5Mg, ZnO: 1Mg, ZnO: 5Mg, ZnO: 10Mg e ZnOCl: 0.1Cu não inibiram o crescimento de *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217) nas concentrações avaliadas (10 mg/mL (SD), 1 mg/mL (10^{-1}), 0,1 mg/mL (10^{-2}) e 0,01 mg/mL (10^{-3})), e não diferiram estatisticamente do controle negativo (Tabela 13). As nanopartículas (NPs) Ag₂O (1,10), ZnO: 11Ag (1,03), ZnO: 7Ag (0,97), ZnO: 9Ag (1,00), ZnOCl: 0.1Ag (1,20), ZnOCl: 10Ag (1,00) e ZnOCl: 1Cu (1,13) foram estatisticamente superiores às demais, não diferindo estatisticamente da Rifampicina (1,24).

261 **Tabela 13.** Halo de inibição de crescimento de *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (UFU
 262 B8) por nanopartículas a 10 e 0,01 mg/mL.

Nanopartícula	Diluição			
	ND	101	102	103
Ag ₂ O	1,10 aA*	0,93 aA*	0,80 bA*+	0,60 bA*+
ZnO	0,77 aB*+	0 bC+	0 bB+	0 bB+
ZnO: 0.3Ag	0,80 aB*+	0 bC+	0 bB+	0 bB+
ZnO: 7Ag	0,97 aA*	0,87 aA*+	0 bB+	0 bB+
ZnO: 9Ag	1 aA*	0,87 aA*+	0 bB+	0 bB+
ZnO: 11Ag	1,03 aA*	0 bC+	0 bB+	0 bB+
ZnO: 0.1Cu	0,83 aB*+	0 bC+	0 bB+	0 bB+
ZnO: 1Cu	0,87 aB*+	0 bC+	0 bB+	0 bB+
ZnO: 4Cu	0,50 aC*+	0 bC+	0 bB+	0 bB+
ZnO: 12Cu	0,87 aB*+	0 bC+	0 bB+	0 bB+
ZnO: 0.5K	0,60 aC*+	0 bC+	0 bB+	0 bB+
ZnO: 1K	0,53 aC*+	0 bC+	0 bB+	0 bB+
ZnO: 5K	0 aE+	0 aC+	0 aB+	0 aB+
ZnO: 10K	0,30 aD+	0 bC+	0 bB+	0 bB+
ZnO: 0.5Mg	0 aE+	0 aC+	0 aB+	0 aB+
ZnO: 1Mg	0 aE+	0 aC+	0 aB+	0 aB+
ZnO: 5Mg	0 aE+	0 aC+	0 aB+	0 aB+
ZnO: 10Mg	0 aE+	0 aC+	0 aB+	0 aB+
ZnOCl	0,63 aC*+	0 bC+	0 bB+	0 bB+
ZnOCl: 0.1Ag	1,20 aA*	0,77 bA*+	0 cB+	0 cB+
ZnOCl: 1Ag	0,77 aB*+	0 bC+	0 bB+	0 bB+

ZnOCl: 5Ag	0,80 aB*+	0,60 aB*+	0 bB+	0 bB+
ZnOCl: 10Ag	1,0 aA*	0,43 bB*+	0 cB+	0 cB+
ZnOCl: 0.1Cu	0 aE+	0 aC+	0 aB+	0 aB+
ZnOCl: 1Cu	1,13 aA*	0 bC+	0 bB+	0 bB+
ZnOCl: 5Cu	1,03 aA*	0 bC+	0 bB+	0 bB+
ZnOCl: 10Cu	0,40 aD*+	0 bC+	0 bB+	0 bB+

Adicionais

Água 0 B

Rifampicina 1,24 A

Médias seguidas por letras distintas: minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Médias seguidas pelo símbolo * e + diferem do adicional água e antibiótico, respectivamente, pelo teste de Dunnet a 5% de significância.

As NPs de Ag₂O, ZnO, ZnO: 0.3Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnO: 11Ag, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 1Cu, ZnO: 4Cu, ZnO: 12Cu, ZnO: 0.5K, ZnO: 1K, ZnO: 10K, ZnOCl, ZnOCl: 0.1Ag, ZnOCl: 1Ag, ZnOCl: 5Ag, ZnOCl: 10Ag, ZnOCl: 10Cu, ZnOCl: 1Cu, ZnOCl: 5 Cu inibiram o crescimento bacteriano sob o meio de cultura. A menor média de halos foi formada pelo ZnO: 10K (0,30) na concentração de 10 mg/mL. Os halos de inibição formados com as soluções nas concentrações de 10mg/mL (SD) e o 1mg/mL(10⁻¹) variaram entre 0,30 a 1,20 cm e 0,43 a 0,93 cm, respectivamente (Figura 15).



275

276 **Figura 15.** Halos de inibição em *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217) formados por
 277 nanopartículas. ZnO:0.3 Ag (A), ZnO: 7 Ag (B), ZnO: 9 Ag (C), ZnO: 11Ag(D), Ag₂O (E),
 278 ZnO:Cu 0.1 Cu (F), ZnO: 1 Cu (G), ZnO: 4 Cu (H), ZnO: 12 Cu (I), ZnO (J), ZnO: 0.5 K (K),

ZnO: 1 K (L), ZnO: 5 K (M), ZnO: 10 K (N), ZnO: 0.5 Mg (O), ZnO: 1 Mg (P), ZnO: 5 Mg (Q), ZnO: 10 Mg (R), ZnOCl (S), ZnOCl: 0.1 Ag (T), ZnOCl: 1 Ag (U), ZnOCl: 5 Ag (V), ZnOCl: 10 Ag (W), ZnOCl: 0.1 Cu (X), ZnOCl: 1 Cu (Y), ZnOCl: 5 Cu (Z), ZnOCl: 10 Cu (AB).

Redução das UFC/mL em tempo de exposição às nanopartículas

As NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu e ZnOCl: 0.1Cu reduziram o número de UFC ao longo do tempo avaliado (Tabela 14). O tratamento com ZnOCl: 0.1Cu (634,5) apresentou as maiores média de UFC em todos os tempos avaliados. O ZnO: 0.1Cu (4,7) apresentou a menor média de UFC no tempo de 5h, diferença significativa quando comparada às demais avaliadas.

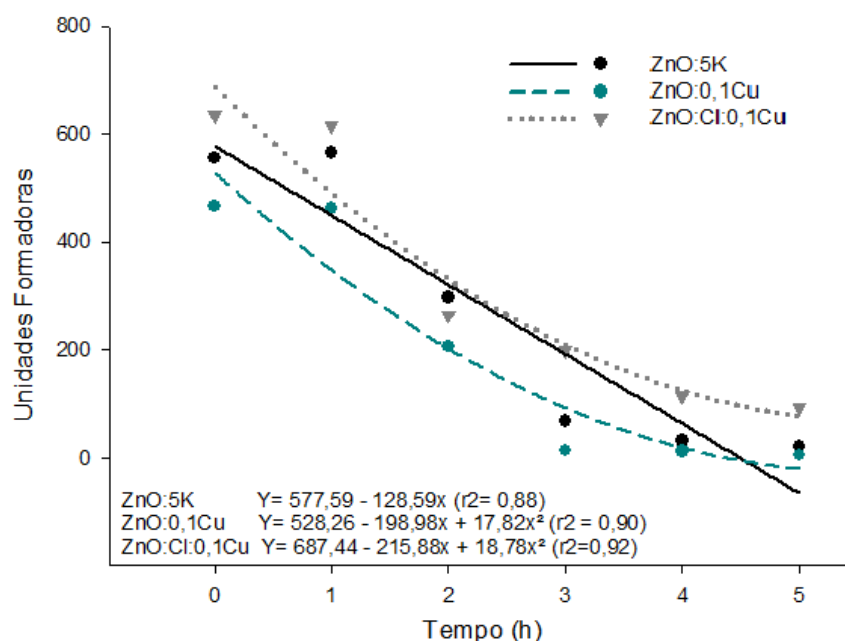
Tabela 14. Contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217) tratadas com nanopartículas sob diferentes tempos de exposição.

Tempo	ZnO:5 K	ZnO: 0.1Cu	ZnOCl: 0.1Cu
0h	555,0 bF	465,7 aE	634,0 cD
1h	564,3 bE	462,3 aD	614,3 cD
2h	296,7 bD	205,7 aC	264,3 bC
3h	68,7 bC	14,0 aB	198,7 cB
4h	32,3 bB	12,7 aB	115,3 cB
5h	19,7 bA	4,7 aA	92,7 cA
CV1%	6,05		
CV2%	8,95		

Médias seguidas por letras distintas minúsculas na linha e maiúscula na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Os resultados da avaliação dos números de unidades formadoras de colônias em função do tempo em horas, tratadas com NPs, demonstraram redução das UFC, resultando em modelos

297 polinomiais, sendo ZnO: 5K primeiro grau linear positivo, ZnOCl: 0.1Cu e ZnO: 0.1Cu do
 298 segundo grau positivos. Todos os modelos foram significativos ($p \leq 0,05$) e com coeficiente de
 299 determinação (R^2) de 90% (ZnO: 0.1Cu), 92% (ZnOCl: 0.1Cu) e 88% (ZnO: 5K) (Figura 16).



300

301 **Figura 16.** Unidades formadoras de colônias de *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217) sob
 302 diferentes tempos de exposição, tratadas com nanopartículas distintas.

303

304 Controle da mancha bacteriana com nanopartículas em casa de vegetação

305

306 Para a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da mancha bacteriana do
 307 tomateiro, causada por *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217), a aplicação preventiva de ZnO:
 308 5K [2.5], ZnOCl: 0.1Cu [1.5 e 2.5] e ZnO: 0.1Cu [1.5 e 2.5] não diferiram estatisticamente do
 309 hidróxido de cobre (Tabela 15). As NPs], ZnOCl: 0.1Cu [2.5] e ZnO: 0.1Cu [1.5 e 2.5]

310

311 A aplicação curativa ZnO: 5K [1.5 e 2.5], ZnOCl: 0.1Cu [2.5] e ZnO: 0.1Cu [1.5 e 2.5]
 312 diferiram estatisticamente dos adicionais água e hidróxido de cobre, apresentando médias com
 313 menor incidência de sintomas, ou seja, maior eficiência no controle da *Xanthomonas*
vesicatoria do que o Hidróxido de cobre.

314

315 **Tabela 15.** Área abaixo da curva de progresso da mancha bacteriana do tomateiro, causada por
 316 *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217) usando diferentes nanopartículas, em aplicação
 317 preventiva e curativa.

Aplicação	Nanopartícula	Concentração	
		1.5	2.5
Preventiva	ZnO: 5K	14,0 bC-	6,7 aA*
	ZnOCl: 0.1Cu	8,5 aB	5,5 aA*
	ZnO: 0.1Cu	3,2 aA*	4,2 aA*
Curativa	ZnO: 5K	10,0 aA+#	10,5 aB+#
	ZnOCl: 0.1Cu	13,5 aB	7,5 bA+#
	ZnO: 0.1Cu	8,7 aA+#	7,2 aA+#
Nanopartícula	Aplicação	Concentração	
		1.5	2.5
ZnO: 5K	Preventiva	14,0 B-	6,7 A*
	Curativa	10,0 A+#	10,5 B+#
ZnOCl: 0.1Cu	Preventiva	8,5 A	5,5 A*
	Curativa	13,5 B	7,5 A+#
ZnO: 0.1Cu	Preventiva	3,2 A*	4,2 A*
	Curativa	8,7 B+#	7,2 B+#
Adicionais	Aplicação		
Água	Preventiva	12,0*	
	Curativa	14,7+	
Hidróxido de cobre	Preventiva	5,0-	
	Curativa	16,7#	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Médias seguidas pelo símbolo *, -, + e # diferem dos adicionais Água Preventiva, Hidróxido Preventiva, Água Curativa e Hidróxido Curativa, respectivamente, pelo teste de Dunnet a 5% de significância.

Deteccção da bactéria e germinação das sementes tratadas com nanopartículas

Nas sementes de tomate não inoculadas, não houve detecção de *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217) (Figura 17). As sementes tratadas com NPs apresentaram alta porcentagem de detecção, não de se diferenciando estatisticamente da Testemunha. Apenas o Hidróxido de Cobre conseguiu reduzir sua média de detecção (Tabela 16).

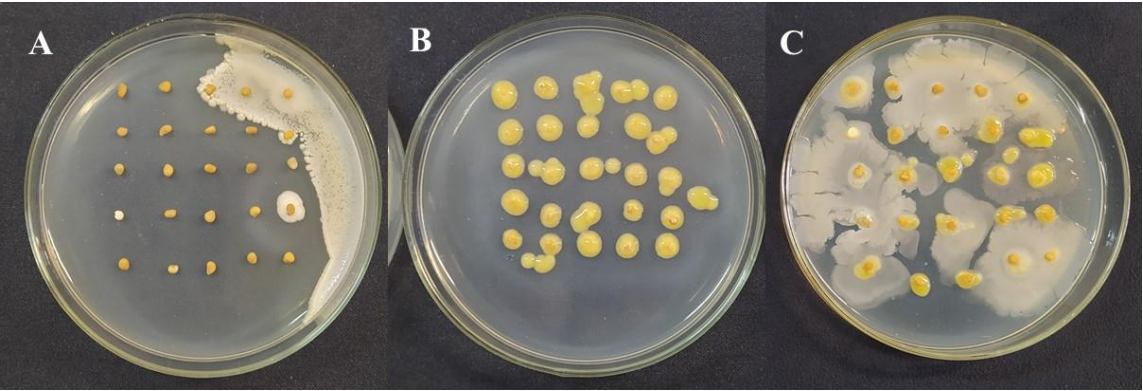


Figura 17. Detecção de *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217) (A) Sementes não inoculadas. (B) Sementes inoculadas tratadas com água. (C) Sementes inoculadas e tratadas com ZnOCl.

Tabela 16. Detecção de *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217) em sementes inoculadas tratadas diferentes nanopartículas.

Tratamento	Detecção (%)
ZnO	93 B
ZnO: 0.1Cu	93 B
ZnO: 5K	95 B
ZnOCl	99 B

ZnOCl: 0.1Cu 100 B

Hidróxido de cobre 45 A

Testemunha 100 A

CV% 6,32

Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Sementes de tomate inoculadas com *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217) reduziram significativamente a porcentagem de germinação, porém quando tratadas com as NPs ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 5K, ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu apresentaram resultados semelhantes ao Hidróxido de cobre (Tabela 17). As sementes não inoculadas apresentaram maior porcentagem de germinação, diferindo significativamente das sementes inoculadas.

Tabela 17. Porcentagem de germinação de sementes de tomate inoculadas ou não com a bactéria *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217), e submetidas a diferentes nanopartículas.

Tratamento	Inoculação	
	Inoculada	Não Inoculada
ZnO	26 bA	72 aA
ZnO: 0.1Cu	15 bB	69 aA
ZnO: 5K	22 bA	73 aA
ZnOCl	24 bA	73 aA
ZnOCl: 0.1Cu	24 bA	72 aA

Hidróxido de cobre	23 bA	74 aA
Testemunha	7 bC	77 aA
CV%	8,87	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

DISCUSSÃO

Os resultados da aplicação de nanopartículas de ZnO puras e dopadas com Ag, Cu, K, Mg, e de ZnOCl puras e dopadas com Ag e Cu para inibição do crescimento de *X. vesicatoria* variaram de acordo com a concentração da solução de NPs, demonstrando que o aumento da concentração eleva o poder de inibição do crescimento, dentre as concentrações avaliadas (10 a 0,01 mg/mL), assim como apontam Oliveira et al. (2023). A dopagem de ZnO e ZnOCl com Ag, ZnO: 11Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnOCl: 0.1Ag, ZnOCl: 10Ag resultou no aumento do diâmetro dos halos de inibição. Assim também ocorreu com os resultados de Li et al. (2015), em que os ZnO dopados com Ag apresentaram melhores desempenhos no controle de *E. coli*.

Nanopartículas com prata são antibacterianos potentes, com amplo espectro de ação, devido aos múltiplos modos de ação e alto potencial de penetração (Nilavukkarasi et al. 2020). Diferentes propriedades, como a alta relação superfície-volume, as tornam agentes antibacterianos eficazes (Abdel-Rahman et al. 2022). Elas são capazes de interagir fisicamente com as superfícies celulares de diferentes bactérias através da adesão na superfície da parede celular bacteriana e membrana, penetrarem na célula e romperem organelas intracelulares e biomoléculas, além de induzirem estresse oxidativo e modular em vias de transdução de sinal. A adesão e o acúmulo na superfície celular foram especialmente observados para bactérias Gram-negativas (Mikhailova, 2020).

As NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu e ZnOCl: 0.1Cu reduziram o número de UFC. O ZnO: 0.1Cu (4,7) apresentou a menor média de UFC no tempo de 5h. Oliveira et al. (2023) expuseram suspensões de cepas de *Xanthomonas* spp. a NPs de ZnCl puras e dopadas com 0.1 Ag e 1 Cu, reduzindo o UFC ao longo do tempo de exposição. Também neste trabalho as NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu e ZnOCl: 0.1Cu reduziram o número de UFC.

As sementes inoculadas e tratadas com NPs apresentaram alta porcentagem de detecção, não se diferenciando estatisticamente da Testemunha. Apenas o Hidróxido de Cobre conseguiu reduzir sua média de detecção. Sementes de tomate inoculadas com *Xanthomonas vesicatoria* reduziram significativamente a porcentagem de germinação, porém, quando tratadas com as NPs ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 5K, ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu, apresentaram resultados semelhantes ao Hidróxido de cobre.

As sementes inoculadas e tratadas com NPs apresentaram alta porcentagem de detecção, não se diferenciando estatisticamente da Testemunha. Apenas o Hidróxido de Cobre conseguiu reduzir sua média de detecção. Já para a avaliação de germinação, observa-se que sementes de tomate inoculadas com *Xanthomonas vesicatoria* (UFU I217) reduziram significativamente a porcentagem de germinação, porém, quando tratada com as NPs ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 5K, ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu, apresentaram resultados semelhantes ao Hidróxido de cobre.

As plântulas originadas de sementes tratadas com NPs de ZnO, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 5K, ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu não apresentaram sinais de toxidez em seus folíolos, e o índice de germinação foi superior ao das sementes que foram inoculadas e tratadas com água. As nanopartículas influenciam a taxa de germinação induzindo a síntese de material genético e proteínas, o que aumenta o acúmulo de biomassa ao sincronizar o processo de germinação com o estabelecimento inicial da cultura (Marthandan et al. 2020). Algumas culturas mostraram resposta positiva ao tratamento de sementes com nanomateriais na produção de sementes. Srivastava et al.(2014) mostraram que sementes com NPs de FeS a 80–100 mg L⁻¹ em

espinafre melhoraram a germinação e o crescimento. Da mesma forma, na cultura do trigo, sementes tratadas com ZnO aumentaram a biomassa e o rendimento de grãos (Noshad et al., 2019).

CONCLUSÃO

Este estudo evidenciou o potencial uso de nanopartículas de ZnO puras e dopadas com Ag, Cu, K, Mg, e de ZnOCl puras e dopadas com Ag e Cu para o controle de *X. vesicatoria*. As NPs de Ag₂O, ZnO, ZnO: 0.3Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnO: 11Ag, ZnO: 0.1Cu, ZnO: 1Cu, ZnO: 4Cu, ZnO: 12Cu, ZnO: 0.5K, ZnO: 1K, ZnO: 10K, ZnOCl, ZnOCl: 0.1Ag, ZnOCl: 1Ag, ZnOCl: 5Ag, ZnOCl: 10Ag, ZnOCl: 10Cu, ZnOCl: 1Cu, ZnOCl: 5 Cu inibiram o crescimento bacteriano *in vitro*; contudo, Ag₂O, ZnO: 11Ag, ZnO: 7Ag, ZnO: 9Ag, ZnOCl: 0.1Ag, ZnOCl: 10Ag e ZnOCl: 1Cu foram estatisticamente superiores às demais.

A exposição de suspensão bacteriana a NPs ZnO: 5K, ZnO: 0.1Cu e ZnOCl: 0.1Cu reduz o número de UFC. O ZnO: 0.1Cu (4,7) apresentou a menor média de UFC no tempo de 5h.

A aplicação preventiva de ZnO: 5K [2.5], ZnOCl: 0.1Cu [1.5 e 2.5] e ZnO: 0.1Cu [1.5 e 2.5] apresentaram eficiência de controle semelhante ao hidróxido de cobre. As NPs], ZnOCl: 0.1Cu [2.5] e ZnO: 0.1Cu [1.5 e 2.5] apresentaram maior redução da área abaixo da curva de progresso da doença. A aplicação curativa ZnO: 5K [1.5 e 2.5], ZnOCl: 0.1Cu [2.5] e ZnO: 0.1Cu [1.5 e 2.5] apresentou maior eficiência no controle da *Xanthomonas vesicatoria* do que o Hidróxido de cobre.

As sementes inoculadas e tratadas com NPs apresentaram alta porcentagem de detecção, não se diferindo estatisticamente da Testemunha. Apenas o Hidróxido de Cobre conseguiu reduzir sua média de detecção

Sementes de tomate inoculadas com *Xanthomonas vesicatoria* reduziram significativamente a porcentagem de germinação, porém quando tratadas com as NPs ZnO,

ZnO: 0.1Cu, ZnO: 5K, ZnOCl e ZnOCl: 0.1Cu, apresentaram resultados semelhantes ao Hidróxido de cobre.

REFERÊNCIAS

Abdel-Rahman LH, Al-Farhan BS, Abou El-ezz D, Abd-El Sayed MA, Zikry MM, Abu-Dief, AM (2022) Síntese biogênica verde de nanopartículas de prata usando extrato aquoso de moringa oleifera: acesso a poderosos agentes antimicrobianos, anticâncer, pesticidas e catalíticos. Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials: 32, 1422-1435.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s10904-021-02186-9>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10904-021-02186-9>. Acesso em 15 de julho de 2024.

Abrahamian P., Klein-Gordon JM, Jones JB, Vallad, GE (2021). Epidemiologia, diversidade e manejo da mancha bacteriana do tomateiro causada por *Xanthomonas perforans*. Microbiologia e biotecnologia aplicadas: 105, 6143-6158. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.15138>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-021-11459-9>. Acesso em 1 de julho de 2024.

AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. MAPA-Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2016. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons (acesso em dezembro 2023).

Constantin EC, Cleenwerck I, Maes M, Baeyen S, Van Malderghem C, De Vos P, Cottyn B (2016) Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. Plant

444 Pathology: 65, 792–806. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppa.12461>. Disponível em:
445 <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ppa.12461>. Acesso em 1 de julho
446 de 2024.

447

448 Elsharkawy MM, Mousa KM (2015) Induction of systemic resistance against *Papaya ring spot*
449 *virus* (PRSV) and its vector *Myzus persicae* by *Penicillium simplicissimum* GP17-2 and silica
450 (SiO₂) nanopowder. International journal of pest management: 61, 353-358. DOI:
451 <https://doi.org/10.1080/09670874.2015.1070930>. Disponível em:
452 <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09670874.2015.1070930>. Acesso em 01 de
453 julho de 2024.

454

455 Fraga FS, Silva ACA, Dantas NO, Tebaldi, ND, Luz, JMQ (2021) Doped zinc-oxide
456 nanocrystals for the control of tomato bacterial spot and *Xanthomonas gardneri* in
457 seeds. Tropical Plant Pathology: 46, 406-413. DOI: [https://doi.org/10.1007/s40858-021-00436-](https://doi.org/10.1007/s40858-021-00436-2)
458 2. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40858-021-00436-2>. Acesso em
459 02 de julho de 2024.

460

461 Grecco, ED, Pratissoli, D, Zago HB, Fragoso DFM, Carvalho, JR (2016) Management of insect
462 vectors of viruses in tomato plants using different densities of yellow traps. Journal of Life
463 Sciences: 10, 185-191. DOI: 10.17265/1934-7391/2016.04.003. Disponível em:
464 <https://pdfs.semanticscholar.org/5feb/08f93676ef61d6b652c1009f6046b08bd60f.pdf>. Acesso
465 em 01 de julho de 2024.

466

467 Gul, Maria et al (2024) Nanoparticles in plant resistance against bacterial pathogens: current
468 status and future prospects. Molecular Biology Reports: 51, 92. DOI:

- 469 <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08914-3>. Disponível em:
470 <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-023-08914-3>. Acesso em 01 de julho de 2024.
471
- 472 Hou J, Wu Y, Li X, Wei B, Li S, Wang X (2018) Toxic effects of different types of zinc oxide
473 nanoparticles on algae, plants, invertebrates, vertebrates and microorganisms. *Chemosphere*:
474 193, 852-860. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.077>. Disponível em:
475 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653517318544>. Acesso em 02 de
476 julho de 2024.
477
- 478 Itako AT, Tolentino Júnior JB, Silva Júnior TAFD, Soman, JM, Maringoni AC (2015) Chemical
479 products induce resistance to *Xanthomonas perforans* in tomato. *Brazilian Journal of*
480 *Microbiology*: 46, 701-706. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-838246320140177>.
481 Disponível em:
482 <https://www.scielo.br/j/bjm/a/cTbxFDgxJsyZCG9DyrqTgxb/?format=html&lang=en>. Acesso
483 em 01 de julho de 2024.
484
- 485 Jones JB, Lacy GH, Bouzar H, Stall RE, Schaad NW (2004) Reclassification of the
486 *Xanthomonads* associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and*
487 *Applied Microbiology*: 27,755–762. DOI: <https://doi.org/10.1078/0723202042369884>.
488 Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0723202005703179>.
489 Acesso em 01 de julho de 2024.
490
- 491 Kado CI, Heskett MG (1970) Selective media for isolation of *Agrobacterium*,
492 *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*. *Phytopathology*: 60, 969–976.

- 493 Kah M, Hofmann T (2014) Nanopesticide research: Current trends and future priorities.
494 Environment International: 63, 224-235. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.11.015>.
495 Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0160412013002754>.
496 Acesso em 01 de julho de 2024.
497
- 498 Kaviya S., Santhanalakshmi J, Viswanathan B, Muthumary J, Srinivasan K (2011) Biosynthesis
499 of silver nanoparticles using Citrus sinensis peel extract and its antibacterial
500 activity. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy: 79, 594-598.
501 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.03.040>. Disponível em:
502 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1386142511002034>. Acesso em 01 de
503 julho de 2024.
504
- 505 Li M, Zhu L, Lin D (2011) Toxicity of ZnO nanoparticles to Escherichia coli: mechanism and
506 the influence of medium components. Environmental science & technology: 4, 1977-1983.
507 DOI: <https://doi.org/10.1021/es102624t>. Disponível em [https://pubs.acs.org/doi/a](https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es102624t)
508 [bs/10.1021/es102624t](https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es102624t). Acesso em 15 de julho de 2024.
509
- 510 Loos RA, Silva DJH, Fontes PCR, Picanço MC (2008) Identificação e quantificação dos
511 componentes de perdas de produção do tomateiro em ambiente protegido. Horticultura
512 Brasileira: 26, 281-286. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362008000200031>. Disponível
513 em: <https://www.scielo.br/j/hb/a/BdHwyGZ7zD7ghFQ575s5kDS/?lang=pt&format=html>.
514 Acesso em 01 de julho de 2024.
515
- 516 Marthandan V, Geetha R, Kumutha K, Renganathan VG, Karthikeyan A, Ramalingam J (2020)
517 Seed priming: a feasible strategy to enhance drought tolerance in crop plants. International

- 518 journal of molecular sciences: 21, 8258. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21218258>.
519 Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/21/8258>, Acesso em 15 de julho de 2024.
520
- 521 Mello SCM, Takatsu A, Lopes CA (1977) Escala diagramática para avaliação da mancha-
522 bacteriana do tomateiro. Fitopatologia Brasileira: 22, 447-448.
523
- 524 Mikhailova EO (2020) Silver nanoparticles: Mechanism of action and probable bio-application.
525 Journal of functional biomaterials: 11, 84. DOI: <https://doi.org/10.3390/jfb11040084>.
526 Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-4983/11/4/84>. Acesso em 15 de julho de 2024.
527
- 528 Morinière Lucas et al (2020) Clarifying the taxonomy of the causal agent of bacterial leaf spot
529 of lettuce through a polyphasic approach reveals that *Xanthomonas cynarae* Trébaol et al. 2000
530 emend. Timilsina et al. 2019 is a later heterotypic synonym of *Xanthomonas hortorum* Vauterin
531 et al. 1995. Systematic and Applied Microbiology: 43, 126087. DOI:
532 <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2020.126087>. Disponível em:
533 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0723202020300382>. Acesso em 01 de
534 julho de 2024.
535
- 536 Neves MLR, Nunes LE, da Rocha WRV, de Azevedo Ximenes, ECP, de Azevedo Albuquerque
537 MCP (2021) A influência do quórum sensing na formação do biofilme por *Pseudomonas*
538 *aeruginosa*. Research, Society and Development: 10, e33910212659-e33910212659. DOI:
539 <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12659>. Disponível em:
540 <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/12659>. Acesso em 02 de julho de 2024.
541

- 542 Nilavukkarasi M, Vijayakumar S, Kumar SP (2020) Biological synthesis and characterization
543 of silver nanoparticles with *Capparis zeylanica* L. leaf extract for potent antimicrobial and anti
544 proliferation efficiency. *Materials Science for Energy Technologies*: 3, 371-376. DOI:
545 <https://doi.org/10.1016/j.mset.2020.02.008>. Disponível em:
546 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589299120300136>. Acesso em 14 de julho
547 de 2024.
- 548
- 549 Noshad A, Hetherington C, Iqbal M (2019) Impact of AgNPs on seed germination and seedling
550 growth: A focus study on its antibacterial potential against *Clavibacter michiganensis* subsp.
551 *michiganensis* infection in *Solanum lycopersicum*. *Journal of Nanomaterials*: 2019, 6316094.
552 DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/6316094>. Disponível em:
553 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1155/2019/6316094>. Acesso em 15 de julho de
554 2024.
- 555
- 556 Oliveira NS, Silva ACA, Tebaldi ND (2023) Simonkolleite nanoparticles for seed treatment and
557 control of tomato bacterial spot caused by *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri*. *Ciência e*
558 *Agrotecnologia*: 47, e000623. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-7054202347000623>.
559 Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/ZRvt6x8n76fnV7ghyfrFvjx/>. Acesso em 28 de
560 de dezembro de 2023.
- 561
- 562 Quezado-Duval, A. M.; Lopes, C. A. Mancha bacteriana: uma atualização para o sistema de
563 produção integrada de tomate indústria. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças 2010. 28 p. (Embrapa
564 Hortaliças. Circular Técnica, 84). Disponível em:
565 <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/882148/1/CircularTecnica84.pdf>.
566 Acesso em 01 de julho de 2024.

567

568 R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for
569 Statistical Computing. R version 4.1.3 Vienna, Austria. 2020. Available in: <[https://www.R-](https://www.R-project.org/)
570 [project.org/](https://www.R-project.org/)>. Acesso em 24 março de 2023.

571

572 Reis É.M, de Rezende AAA, Santos DV, de Oliveria PF, Nicolella HD, Tavares DC, Spanó, MA
573 (2015) Assessment of the genotoxic potential of two zinc oxide sources (amorphous and
574 nanoparticles) using the *in vitro* micronucleus test and the in vivo wing somatic mutation and
575 recombination test. Food and Chemical Toxicology: 84, 55-63. DOI:
576 <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.07.008>. Disponível em:
577 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691515300168>. Acesso em 01 de julho
578 de 2024.

579

580 Silva ACA et al (2017) Functional nanocrystals: Towards biocompatibility, nontoxicity and
581 biospecificity. In A. C. A. Silva. et al. Advances in Biochemistry & Applications in Medicine
582 IntechOpen, USA (p. 1-28). Disponível em:
583 https://www.researchgate.net/publication/318660027_Functional_Nanocrystals_Towards_Bio
584 [compatibility_Nontoxicity_and_Biospecificity](https://www.researchgate.net/publication/318660027_Functional_Nanocrystals_Towards_Bio).

585

586 Simonton TE, Robinson D, Gillard C, Jordan K, Trueman CL (2021) Transmission of
587 *Xanthomonas gardneri* to tomato seedlings during transportation and transplanting. Crop
588 Protection: 141, 105472. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105472>. Disponível em:
589 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219420304051>. Acesso em 01 de
590 julho de 2024.

591

592 Sousa CJA, Pereira MC, Almeida RJ, Loyola AM, Silva ACA, Dantas NO (2014) Synthesis
593 and characterization of zinc oxide nanocrystals and histologic evaluation of their
594 biocompatibility by means of intraosseous implants. International Endodontic Journal: 47, 416-
595 424. DOI: <https://doi.org/10.1111/iej.12164>. Disponível em:
596 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/iej.12164>. Acesso em 02 de julho de 2024.
597

598 SRIVASTAVA, Gaurav et al (2014). Seed treatment with iron pyrite (FeS₂) nanoparticles
599 increases the production of spinach. RSC Advances: 4, 58495-58504. DOI:
600 <https://doi.org/10.1039/C4RA06861K>. Disponível em:
601 <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/ra/c4ra06861k/unauth>. Acesso em 15 de
602 julho de 2024.