

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE MESTRADO**

**SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE E  
SUA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA CONTRA *Colletotrichum*  
sp. E *Alternaria* sp., DE FRUTOS DE MAMÃO.**

**RAILDA SANTOS DE JESUS**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
JULHO - 2022**

**SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE E SUA  
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA CONTRA *Colletotrichum* sp. E  
*Alternaria* sp., DE FRUTOS DE MAMÃO.**

**RAILDA SANTOS DE JESUS**

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2019

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito final para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Agrárias.  
(Área de Concentração: Fitotecnia).

**Orientador:** Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança

**Coorientador:** Prof.Dr. Saulo Alves Santos de Oliveira

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA**

**JULHO-2022**

## FICHA CATALOGRÁFICA

J58s	Jesus, Railda Santos de
	Síntese verde de nanopartículas de cobre e sua atividade antifúngica contra <i>Colletotrichum sp.</i> E <i>Alternaria sp.</i> , de frutos de mamão / Railda Santos de Jesus._Cruz das Almas, BA, 2022.
	73f.
	Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas – Mestrado em Ciências Agrárias
	Orientador: Professor Doutor Carlos Augusto Dórea Bragança Coorientador: Professor Doutor Saulo Alves Santos de Oliveira
	1. Pragas agrícolas – controle biológico. 2. Mamão – fungicida. 3. Carica papaya L. – Biossíntese. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.
	CDD: 632.92

Ficha elaborada pela Biblioteca Central de Cruz das Almas - UFRB.  
Responsável pela Elaboração – Patrícia Verônica Nascimento Dias Fernandes (Bibliotecária - CRB5 /1353).  
(os dados para catalogação foram enviados pela usuária via formulário eletrônico).

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE MESTRADO**

**SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE E SUA  
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA CONTRA *Colletotrichum* sp. E *Alternaria*  
sp., DE FRUTOS DE MAMÃO.**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO  
DE RAILDA SANTOS DE JESUS**

Realizada em 15 de Julho de 2022

Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Examinador interno (Orientador)

Prof. Dr. Rafael Oliva Trocoli  
IFBAIANO  
Examinador externo

Dr. Leonardo de Oliveira Barbosa  
JCO Bioprodutos  
Examinador externo

## **DEDICATÓRIA**

Dedico essa dissertação a Deus, minha família e amigos, que sempre estiveram presentes em minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, pela conclusão de mais uma etapa, oriunda de muita dedicação e esforço, pelos sonhos que se concretizam e pelo dom da vida.

Aos meus pais (Marly e Ari) e minha irmã Raiana, por sempre me apoiarem principalmente nesta etapa, a qual foi marcada por um cenário muito difícil e me ajudaram a suportar as adversidades, acreditando sempre no meu potencial.

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias pela realização do curso e aos professores pelos conhecimentos transmitidos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança, pela atenção, dedicação, orientação e ensinamentos. Sempre serei grata!

Aos técnicos que estiveram comigo durante a execução do trabalho, em especial a Carol, Candice e Fabrício, a minha gratidão pela amizade e pela dedicação.

Aos meus amigos da Clínica Fitossanitária Edgar Santos Filho, em especial Leilane, João, Thayná e Irene, meus agradecimentos pela ajuda, pelas palavras de incentivo e por acreditarem que tudo iria caminhar bem. A minha gratidão!

Um agradecimento especial aos meus amigos, que me apoiaram nos momentos mais difíceis, em especial Manoela Paz, Gilvanda Leão, Joyce Brito, Jamyle Almeida, Gisele Moreira e Juan.

A todos que de forma direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, muito obrigado.

*“N3o desista, n3o pare de crer”. (Ludmila Ferber)*

## SUMÁRIO

	Página
<b>RESUMO</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>1</b>
<b>ARTIGO 1</b>	
SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE COM EXTRATOS VEGETAIS E SEU POTENCIAL PARA O CONTROLE de <i>Colletotricum</i> sp.....	24
<b>ARTIGO 2</b>	
POTENCIAL DE NANOPARTÍCULAS BIOSINTETIZADAS COM EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE <i>Alternaria</i> sp.....	48
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>63</b>



# **SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE E SUA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA CONTRA *Colletotrichum* sp. E *Alternaria* sp., DE FRUTOS DE MAMÃO.**

Autora: Railda Santos de Jesus

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança

**RESUMO:** A antracnose e mancha de alternaria são doenças pós-colheita que causam podridão e perdas na qualidade de frutos, como o mamão. As principais formas de manejo é o uso de produtos químicos e tratamentos físicos, porém não são suficientes para mitigar os danos ocasionados pelas doenças fúngicas. A síntese verde de nanopartículas com extratos vegetais, mostra-se uma técnica promissora para o controle de doenças pós-colheita, além de ser ambientalmente segura e econômica. O presente estudo teve por objetivo, verificar a síntese verde de nanopartículas de cobre e seu potencial *in vitro* contra *Colletotrichum* sp. e *Alternaria* sp., isolados de mamão. Para síntese verde, foram utilizados 10mL de extratos aquosos de folhas de eucalipto (EUC), melão-de-são-caetano (MSC), tomilho (TOM), coentro (COE) e botões florais de cravo (CR) e 100mL de sulfato de cobre penta hidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) a 10mM. Os extratos, foram avaliados quanto aos teores de fenólicos e flavonoides totais antes e depois da síntese, constatando uma redução desses compostos depois da adição do  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . A síntese de nanopartículas de cobre (CuNPs) foi confirmada através da mudança de cor e espectrofotometria UV-visível. Os tratamentos CuNPs-MSC e CuNPs-EUC chegaram a representar cerca de 50% do valor de inibição micelial em relação ao fungicida (oxicloreto de cobre), nas concentrações de 150, 900 e 600 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente. As nanopartículas estudadas apresentaram maior potencial inibitório quando comparada com o controle  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , para *Colletotrichum* sp. Já para *Alternaria* sp., as CuNPs-MSC e CuNPs- COE nas concentrações de 150 e 900 mg mL<sup>-1</sup> teve uma redução cerca de 20% no crescimento micelial quando comparadas ao fungicida. Os extratos apresentam potencial como agentes redutores de íons de cobre. As nanopartículas de cobre biossintetizadas, apresentam potencial antifúngico para *Colletotrichum* sp., porém com um baixo potencial para *Alternaria* sp.

**Palavras-chave:** Biossíntese, nanotecnologia, *Carica papaya* L., pós-colheita.

# **GREEN SYNTHESIS OF COPPER NANOPARTICLES AND THEIR ANTIFUNGAL ACTIVITY AGAINST *Colletotrichum* sp. AND *Alternaria* sp., FROM PAPAYA FRUITS.**

Author: Railda Santos de Jesus

Advisor: Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança

**ABSTRACT:** Anthracnose and alternaria leaf spot are post-harvest diseases that cause rot and loss of fruit quality, such as papaya. The main forms of management are the use of chemical products and physical treatments, but they are not enough to mitigate the damage caused by fungal diseases. The green synthesis of nanoparticles with plant extracts is a promising technique for the control of post-harvest diseases, in addition to being environmentally safe and economical. The present study aimed to verify the green synthesis of copper nanoparticles and their in vitro potential against *Colletotrichum* sp. and *Alternaria* sp., isolated from papaya. For green synthesis, 10mL of aqueous extracts of eucalyptus leaves (EUC), melon-de-são-caetano (MSC), thyme (TOM), coriander (COE) and clove flower buds (CR) and 100mL of sulfate were used copper penta hydrate ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) at 10mM. The extracts were evaluated for the levels of phenolics and total flavonoids before and after the synthesis, noting a reduction of these compounds after the addition of  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . The synthesis of copper nanoparticles (CuNPs) was confirmed through color change and UV-visible spectrophotometry. The treatments CuNPs-MSC and CuNPs-EUC came to represent about 50% of the mycelial inhibition value in relation to the fungicide (copper oxychloride), at concentrations of 150, 900 and 600 mg mL<sup>-1</sup>, respectively. The studied nanoparticles showed higher inhibitory potential when compared to the control  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , for *Colletotrichum* sp. As for *Alternaria* sp., CuNPs-MSC and CuNPs-COE at concentrations of 150 and 900 mg mL<sup>-1</sup> had a reduction of about 20% in mycelial growth when compared to the fungicide. The extracts have potential as copper ion reducing agents. The biosynthesized copper nanoparticles have antifungal potential for *Colletotrichum* sp., but a low potential for *Alternaria* sp.

**Keywords:** Biosynthesis, nanotechnology, *Carica papaya* L., post-harvest.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### 1. *Carica papaya*

#### 1.1. Importância econômica

Pertencente à família Caricaceae e originário da América Central, o mamão (*Carica papaya* L.) é uma das frutas tropicais e subtropicais com grande importância econômica, valor nutricional e um dos mais consumidos no Brasil (PARVEN et al., 2020; RODRIGUES et al., 2021; SHARMA et al., 2020). Em 2018, ocupou a quinta posição, com cerca de 1,8 kg ano<sup>-1</sup> de consumo *per capita* (SERAFINI et al., 2021).

A cultura é explorada em mais de 60 países e o Brasil foi o terceiro maior produtor atingindo um total de 1.161.808 t colhidos em 27.556 ha em 2019 (FAOSTAT, 2021; ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI e FRUTI, 2021). Estima-se que o crescimento da produção mundial aumente 2,1% ao ano, alcançando uma produção de 16,6 milhões de toneladas em 2029 (FAO, 2020). O México é o maior exportador mundial. No ano de 2020 foi responsável por 29,19% da exportação mundial, já o Brasil representou 28,45% da exportação, sendo também um importante exportador (TRIDGE, 2022).

No Brasil, as regiões com maior produção são Nordeste (54,9%) e Sudeste (40,3%). O estado do Espírito Santo é o maior produtor, com 403.278 t ano<sup>-1</sup> em uma área colhida de 6.874 ha, seguido da Bahia, que produziu 390.075 t ano<sup>-1</sup> em 9.638 ha, e Ceará com 118.717 t ano<sup>-1</sup> em 1.992 ha, respectivamente em 2019 (IBGE, 2022).

O cultivo de mamão, devido a sua rentabilidade, curto período entre o plantio e a colheita e seu rendimento por hectare, tem importância socioeconômica por gerar empregos e renda. A atividade exige mão de obra constante no manejo e comercialização, além disso, os plantios são renovados, em média, a cada dois ou três anos (NOMURA et al., 2019).

Percebe-se que nos últimos anos os sistemas de cultivo do mamão no Brasil foram melhorados razoavelmente com a implementação de novas tecnologias. No entanto, ainda existem muitas barreiras à expansão do cultivo, como doenças e a insuficiência de cultivares disponíveis para plantio que atendam às demandas do

mercado interno e externo, além do desenvolvimento de tecnologias de pós-colheita e a redução de resíduos químicos (OLIVEIRA e MEISSNER FILHO, 2021).

## **1.2. Pós-colheita**

Os consumidores sempre foram muito exigentes quanto a boa aparência e tamanho dos frutos, mas a preocupação com a segurança alimentar tem levantado a questão quanto a qualidade dos produtos comercializados (SOUZA, ATAÍDE, e SILVA, 2017). O mamão possui ótimas propriedades sensoriais, mas que podem ser influenciadas pelas condições de cultivo, estágio de maturação no momento da colheita e pelas técnicas pós-colheita (MARTELLETO, et al., 2021).

O mamão é um fruto climatérico, e o seu rápido processo de maturação e a casca delicada (VILAPLANA et al., 2020) podem causar modificações na qualidade e conservação. O amadurecimento do mamão após a colheita envolve vários processos metabólicos, inicialmente, o mamão está maduro, rígido e não comestível, e poucos dias após a colheita, o fruto agora comestível, torna-se doce, macio e aromático. Contudo, um processo de amadurecimento descontrolado do fruto, pode levar ao amolecimento da polpa, modificações na cor da casca e da polpa e a um forte aroma, todo esse processo está atrelados ao aumento da produção de etileno levando a perdas pós-colheita (ESCAMILLA-GARCÍA et al., 2018). O mamão deve ser colhido no estágio ideal de maturação, pois quando colhido antes, o processo de maturação é afetado, e se a colheita ocorrer em estágio avançado, a vida de prateleira e a qualidade, além do transporte e manuseio, são afetados (SOUZA, ATAÍDE e SILVA, 2017).

Ainda se tem muitas restrições relacionadas à pós-colheita do mamão que limitam a sua comercialização, mesmo que muitas tecnologias venham sendo utilizadas (ZERPA-CATANHO et al., 2017). O mamão é formado por cerca de 89,7% de água, ou seja, é um fruto muito perecível, seu amadurecimento e amolecimento ocorre em um tempo muito curto, em torno de três dias, deixando os frutos suscetível a danos físicos e invasões de agentes fitopatogênicos (HUTCHINSON et al., 2018). Segundo Parven et al. (2020), a perecibilidade do fruto pode ser atribuída a redução do peso por causa da respiração e transpiração, amolecimento da polpa, perda da qualidade em consequência do ataque de

microrganismos e modificações no conteúdo de açúcares. De acordo com Zerpa-Catanho et al. (2017), o processo de amolecimento tem sido atrelado à degradação ou alteração da parede celular causada por enzimas como poligalacturonase, endoglucanases, pectinametilesterase, glucanases, endoxilanases, galactosidase e xilosidase.

As perdas pós-colheita do mamão causadas por patógenos podem chegar a 50% antes mesmo de serem disponibilizadas aos consumidores, e conseqüentemente, acaba prejudicando o desenvolvimento da economia local (DEMARTELAERE et al., 2017). O mamão é propenso a danos físicos por causa de sua epiderme fina e delicada, essas lesões são uma via de entrada para os fitopatógenos, além de induzirem a produção de etileno, e conseqüentemente, favorecer ainda mais a maturação e amolecimento do fruto. Em resumo, as lesões reduzem a vida pós-colheita das frutas maduras (HUTCHINSON et al., 2018).

As doenças ocasionadas por fungos como *Colletotrichum* spp., *Lasiodiplodia* spp. Pat., *Fusarium* spp., *Alternaria alternata*, *Stemphylium* sp., *Phomopsis* sp., *Aspergillus* sp., *Pestalotiopsis* sp. (HELAL, HOSEN e SHAMSI, 2018), *Asperisporium caricae* (SHREEDEVASENA et al., 2019), *Cladosporium* sp., *Rhizopus stolonifer*, *Cercospora papayae*, *Phytophthora palmivora*, *Penicillium* sp. (OLIVEIRA e MEISSNER FILHO, 2022) e *Corynespora cassiicola* (VENTURINI et al., 2014) também causam perdas de frutos de mamão durante a pós colheita.

## **2. Doenças pós-colheita**

### **2.1. Antracnose - *Colletotrichum* sp.**

Durante o período da pós-colheita, patógenos que causam podridão em frutos, depreciam a aparência geral e a qualidade. Espécies do gênero *Colletotrichum* são os mais comuns (PERALTA-RUIZ et al., 2020). A antracnose é um problema mundial, os sintomas da doença ocorrem em folhas e frutos de diversas espécies vegetais (ZAKARIA et al., 2021). No entanto, a infecção é mais grave em importantes frutas temperadas, subtropicais e tropicais (manga, abacate e mamão), as perdas na produção, podem chegar a cerca de 90% (VALENZUELA et al., 2015; FENG et al., 2019), ocorrendo na pré e pós-colheita.

*Colletotrichum* é um gênero que pertencem ao filo Ascomycota e classe Sordariomycetes (KIM e SHIM, 2019) o gênero abrange uma diversidade de espécies como endófitas ou patógenos de plantas (CANNON et al., 2012; BARONCELLI et al., 2017; MASI et al., 2017), podendo adaptar-se a diferentes estilos de vida como hemibiotrófico, necrotrófico, biotrófico (HACQUARD et al., 2016).

Diversos fatores podem afetar a infecção e disseminação do patógeno, como umidade, temperatura, condição do fruto e concentração do inóculo. A disseminação de *Colletotrichum* sp. ocorre por meio da dispersão de conídios, passivamente por respingos da chuva e vento (MAEDA e NELSON, 2014). A infecção do fungo advém da germinação de conídios aderidos à superfície do fruto, que formam apressório e penetração diretamente à cutícula ou por aberturas naturais (estômatos, lenticelas, feridas ou abscisão de tecido cicatricial) (SINGH e SHARMA, 2018; KUMAR E KUDACHIKAR, 2018). Esse processo ocorre ainda no campo, permanecendo em estado latente até a pós-colheita, quando as condições ambientais e fisiológicas do hospedeiro se encontram propícias para sua reativação e posterior desenvolvimento (KUMAR E KUDACHIKAR, 2018).

Durante a fase inicial da infecção, o fungo pode ser considerado biotrófico, mas depende da espécie (SUDHEERAN et al., 2020). Na fase necrotrófica, as hifas secundárias se desenvolvem, colonizando assim o tecido dos frutos, ocorrendo a morte significativa das células vegetais e a formação de lesões típicas da antracnose (PLOETZ e FREMAN, 2009; CANNON et al., 2012)

Os sintomas da antracnose em mamoeiro são caracterizados por lesões afundadas de caráter circular e tons de marrom-escuro, em alguns casos, áreas de coloração alaranjada formadas pelas massas de acérvulos e conídios que recobrem a lesão (BAZIE et al., 2014; DIAS et al., 2020). Em condições favoráveis, pequenas lesões podem se unir e formar a podridão, atingindo parte do fruto ou causando necrose completa (FISCHER et al., 2019).

Existem diferentes espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose no mamoeiro. No Brasil tem sido relatado as espécies *C. acutatum* (PERES et al., 2002), *C. brevisporum* (VIEIRA et al., 2013) e *C. karstii* (DAMM et al., 2009). Além dessas, outras espécies foram relatadas recentemente. Dias et al. (2020) avaliando frutos de mamão coletados em São Luís do Maranhão, em 2018 com sintomas típicos da doença descreveram a espécie *C. okinawense*. Viera et al.

(2020) relataram a espécie *C. truncatum* encontrada em frutos coletados no estado da Bahia.

A antracnose pode, portanto, ser considerada uma doença relevante para a fruticultura, pois seus danos são irreversíveis podendo dificultar o fornecimento de frutas frescas aos consumidores e causar danos econômicos.

## **2.2. Mancha de alternaria- *Alternaria* sp.**

*Alternaria* sp., é um fungo saprofítico e patogênico que causa uma série de doenças em diversas culturas, afetando principalmente frutas e vegetais em estágios de maturação e colhidos (YUAN et al., 2019), além de leguminosas e cereais, tendo como consequência grandes perdas econômicas na agricultura (FREIRE et al., 2017).

O gênero *Alternaria* é constituído por cerca de 1.000 espécies descritas e 275 nomes estão em uso atual (SOMMA et al., 2019), apresentam conídios grandes, multicelulares e melanizados, com esporos largos na base e afunilados no final (ERAM et al., 2018). Estes esporos são produzidos em conidióforos em cadeias que podem se ramificar ou levar a conidióforos secundários que produzem outros esporos (PUVACA et al., 2020).

*Alternaria* sp., destaca-se entre os principais fungos que apresentam micotoxinas, prejudicando a qualidade dos frutos e composição dos nutrientes, como a espécie *A. alternata* capaz de produzir mais de 30 micotoxinas, podendo afetar a saúde dos consumidores e ocasionar problemas na segurança alimentar (PATRIARCA, 2019; RODRÍGUEZ-ROMERO, et al., 2019).

Em frutos de mamão, a dispersão dos conídios de *Alternaria alternata* ocorre em condições ambientais favoráveis, por meio do vento e água da chuva (GARGANESE et al., 2019). Estes germinam e infectam os frutos através de ferimentos ou aberturas naturais, permanecendo latente até o estágio de maturação (LI, BI e NA, 2007). Os sintomas apresentam lesões circulares e ovais à medida que ocorre a esporulação do fungo. As manchas tornam-se escuras na superfície dos frutos, podendo avançar para uma podridão interna (PAULL et al, 1997; DANTAS, 2016), sob condições ideais, os sintomas podem aparecer dentro de 24 horas após a infecção (THOMMAR et al., 2003).

### 3. Controle de doenças pós-colheita

A maioria das estratégias de manejo de doenças pós-colheita existentes é dependente do uso de fungicidas sintéticos. No Brasil, são poucos os fungicidas registrados pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA para o controle de doenças de mamão em pós-colheita. Dentre estes, o Magnate® 500 EC (imazalil – imidazol), Tecto® SC (thiabendazol – benzimidazol) para controle de *C. gloeosporioides* e *A. alternata* (AGROLINK, 2022). Outros fungicidas também são usados para o controle da antracnose em diversas culturas, como o Sportak® 450 EC (prochloraz – imidazolilcarboxamida), mancozeb e carbendazim (CHECHI et al., 2019; SENGUPTA et al., 2020).

Esses componentes químicos apresentam ação curativa e preventiva, capazes de erradicar, reduzir qualquer fitopatógeno que possa comprometer a produção (SONGA e OKONKWO, 2016; FENG et al., 2019). A aplicação ocorre por meio da pulverização na fase da pré-colheita, uma vez que os frutos climatéricos são mais perecíveis e suscetíveis a infecções (BOTELHO et al., 2016). Desta forma, previne a esporulação, germinação e formação de hifas infecciosas de fungos associados às podridões (SINGH e SHARMA, 2018).

No entanto, o uso em excesso e contínuo desses componentes químicos tem sido associado a riscos à saúde do homem, devido aos resíduos expostos em alimentos e a contaminação do ambiente (AYÓN-REYNA et al., 2017) além disso, a ocorrência de fenômenos de resistência e aumento da patogenicidade também são presenciados (TIAN et al., 2016). Em estudos Alvarez et al. (2017) constataram a resistência de *Botrytis cinerea* ao tiofanato-metil e iprodione na produção de morango, no México. Yang et al. (2019) constataram a resistência cruzada de *A. alternata* para os fungicidas mancozeb e difenoconazol. Ling et al. (2010), relataram a resistência de *C. gloeosporioides* para mancozeb, em citros.

Na perspectiva de minimizar a incidência e danos ocasionados por patógenos em pós-colheita em frutos de mamão estratégias de controle, são utilizadas. O uso do tratamento térmico é uma das técnicas mais empregadas (BORDOH et al., 2020), está por sua vez, consiste na imersão em água quente, vapor de calor e ar quente forçado (USALL et al., 2016). No entanto, pode alterar e degradar as propriedades químicas, nutricionais e textura do fruto (ZHANG et al., 2019) além do alto consumo de energia.



O ozônio é uma técnica empregada para desinfestar a água e controlar microrganismos causadores de doenças (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2013). Alguns estudos foram realizados para avaliar a capacidade desta técnica de controlar doenças pós-colheita, como a antracnose. Ong et al. (2015) constataram que o tratamento com ozônio pode inibir o crescimento de esporos de *C. gloeosporioides* e controlando a incidência de antracnose em mamão. Silva-Neto et al. (2019) também constataram a eficiência do uso do ozônio na redução da gravidade da antracnose. Apesar de apresentar efeitos positivos no controle de doenças, no Brasil, no entanto, não há legislação específica sobre a forma de utilização dessa técnica no setor alimentício (KAWANO et al., 2016).

A utilização de microrganismos antagonistas no controle de fitopatógenos atua por diversos mecanismos, como competição, micoparasitismo, produção de antibióticos e indução de respostas de defesa (JINAL e AMARESAN, 2020). Gowtham et al. (2018) provou que *B. amyloliquefaciens* foi capaz de melhorar o crescimento das plantas e induzir resistência em pimentas contra a doença da antracnose. Apesar do benefício ecológico que os agentes de controle biológico tende a oferecer, algumas limitações importantes, como temperatura, umidade, faixa estreita de atividade, dentre outros dificulta a utilização de biocontrole em campo, devido a variabilidade significativa (CARMONA-HERNANDEZ et al., 2019).

Devido à variedade de compostos bioativos e naturais como os metabólitos, voláteis e enzimas ativas de microrganismos, os extratos de plantas também se tornam uma alternativa promissora no controle de doenças fúngicas pós-colheita (SARKHOSH et al., 2018), pois estes podem atuar de diferentes maneiras sobre o patógeno, como por exemplo na parede celular, podendo romper a barreira de permeabilidade da membrana celular e inibir a respiração (MBILI et al., 2015).

Estudos relatam o potencial de extratos vegetais no controle de fitopatógenos. Venturo et al. (2011) relataram à atividade fungitóxica de extratos aquoso de cravo da Índia com inibição acima de 50% no crescimento micelial para os patógenos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium solani*, *Cercospora kikuchii* e *Phomopsis* sp. Já Hassan et al. (2021) na pulverização de mudas de pimenta-do-reino com extrato aquoso de cravo, constataram a redução na infecção do mofo preto ocasionada pelo patógeno *A. alternata*. Toubá, Zakaria e

Tahereh (2012) constataram a atividade antifúngica de extrato de coentro no controle de *Phoma exigua*, *Fusarium nygamai* e *Rhizoctonia solani in vitro*.

Mesmo apresentando diversas vantagens quando comparadas aos produtos químicos, a aplicação prática do uso de extratos vegetais, torna-se restrita, uma vez que, a escassez do controle de qualidade, monitoramento de possíveis substâncias tóxicas, estudos em relação a métodos de extração com solventes não tóxicos, precisam ser elucidadas (SANTOS et al, 2013). Além disso, os extratos vegetais apresentam baixa estabilidade desses compostos no ambiente e a baixa biodisponibilidade em comparação com produtos químicos sintéticos (JIMÉNEZ-REYES et al., 2019).

Os compostos fitoquímicos têm sido amplamente conhecidos por conter um potencial antifúngico promissor, englobando práticas ecologicamente viáveis e seguras para o homem e o ambiente (DA CRUZ CABRAL et al., 2013). A atividade antifúngica das plantas é atribuída principalmente à presença de metabólitos secundários como alcalóides, fenóis, flavonóides e terpenóides (BHUTIA et al., 2016). Além disso, a presença de fitocompostos como polióis, terpenóides e polifenóis em plantas tem mostrado atividade promissora como biorredutores e estabilizadores de íons metálicos (KIRUBAHARAN et al., 2012; OVAIS et al., 2018).

#### **4. Nanotecnologia e sua aplicabilidade na agricultura**

A nanotecnologia refere-se a materiais que possuem qualquer tamanho entre 1 a 100 nm. Este nanomaterial é de grande interesse devido ao seu tamanho extremamente pequeno e por apresentarem uma grande área de superfície, o que resulta em diferenças químicas e físicas em suas características. Em resumo, a nanotecnologia pode ser definida como a compreensão, manipulação e controle de materiais com dimensões abaixo de 100 nm, de modo que suas características físicas, químicas e biológicas possam ser melhoradas (SINGH, GAUD e JAYBHAYE, 2020).

As nanopartículas podem ser sintetizadas por três métodos principais: físicos, quando o agente redutor é uma fonte física como a corrente elétrica; químicos, quando os agentes redutores são compostos químicos; e biológicos, quando são utilizados organismos como agentes redutores. Sendo que os métodos químicos se dividem em duas classes, métodos químicos tradicionais e métodos

químicos verdes (MOHAMED, 2020). A maior parte dos métodos químicos tradicionais utilizados possuem altos custos e podem ser tóxicos, limitando muito a aplicabilidade das nanopartículas sintetizadas (KAUR et al., 2018; SINGH, GAUD e JAYBHAYE, 2020). Já os métodos químicos verdes são geralmente não tóxicos, ecológicos e mais econômicos (MOHAMED, 2020).

A nanotecnologia verde é um processo considerado seguro e eficiente no uso de energia, assim, reduzindo a geração de resíduos. Nanopartículas sintetizadas a partir de diferentes fontes biológicas podem ser aplicadas na agricultura, na farmacologia, entre outras áreas. Nesse método de síntese, diversos microrganismos podem ser utilizados (PRASAD, BHATTACHARYYA e NGUYEN, 2017), como por exemplo, *Staphylococcus aureus* foi utilizado para sintetizar nanopartículas de ZnO (RAUF et al., 2017). Elbeshehy, Elazzazy e Aggelis (2015) utilizaram isolados de *Bacillus* spp. para sintetizar nanopartículas de prata. Ahmed, Hamzah e Maarooif (2018) obtiveram nanopartículas de prata sintetizadas com *Fusarium oxysporum*. Já Elamaw, Al-Harbi e Hendi (2018) fizeram a síntese de nanopartículas de prata utilizando *Trichoderma longibrachiatum*. As algas, *Sargassum polycystum* (RAMASWAMY, NARENDHRAN e SIVARAJ, 2016) e *Botryococcus brauniiipara* (ARYA et al., 2018) foram utilizadas para produzir nanopartículas de cobre. No entanto, a síntese com microrganismos envolve técnicas de isolamento de alto custo, e que tende a contaminação.

As plantas, em contraste com os microrganismos, apresentam maior redução e estabilização devido a presença de fitoquímicos, além de ser um processo de uma etapa, simples e mais barato (AHMAD et al., 2019; PANDIT et al., 2022). Os extratos das plantas, *Eucalyptus* sp. (KOLEKAR et al., 2015), *Syzygium aromaticum* (RAJESH et al., 2018), *Thymus vulgaris* (BALCIUNAITIENE et al., 2021), *Coriandrum sativum* (ASHRAF et al., 2019), *Momordica charantia* (QAMAR et al., 2020), *Carica papaya* L. (CHEN et al., 2019), *Eichhornia crassipes* (VANATHI et al., 2016), *Matricaria chamomilla* L. (OGUNYEMI et al., 2019) e *Azadirachta indica* A. (AHMAD et al., 2016) e *Acalypha indica* (KRISHNARA et al., 2012) mostraram-se eficientes na síntese de nanopartículas metálicas.

A nanotecnologia tem várias aplicações na agricultura, possui muitas vantagens em relação aos produtos convencionais, como maior eficiência de uso, diminuição de insumos e menor toxicidade para o ambiente e o ser humano (FU et al., 2020). Pode ser usada como nanofertilizantes (DIMKPA e BINDRABAN, 2017),

para melhorar a eficiência de herbicidas (OLIVEIRA et al., 2015), na pós-colheita de frutas (ROBLEDO et al., 2018), como nanobiossensores (WIBOWO et al., 2018) e no controle de fitopatógenos (GRAHAM et al., 2016).

O uso de nanopartículas como agentes antimicrobianos no manejo de doenças, pode ser feito de duas formas, pela ação direta das nanopartículas ou com a aplicação, geralmente em pequenas quantidades, de nanopartículas para induzir a imunidade inata da planta, e assim, suprimir a doença (FU et al., 2020). No entanto, a utilização da nanotecnologia na agricultura requer pesquisas adicionais, como a de toxicidade antes de sua comercialização e aplicação em campo (ELIZABATH et al., 2019).

#### **4.1. Síntese verde de nanopartículas com extratos de plantas**

A síntese verde de nanopartículas metálicas a partir de extratos vegetais apresenta diversas vantagens: as plantas são amplamente distribuídas, fáceis de obter, seguras de manusear, ricas em compostos fenólicos, açúcares, enzimas e proteínas, que atuam como agentes redutores e estabilizantes na síntese de nanopartículas (SINGH, GAUD e JAYBHAYE, 2020). No entanto, devido à presença de vários fitoconstituintes no extrato, o mecanismo específico desse fenômeno não foi elucidado. Esse método de síntese tem grande potencial de pesquisa no desenvolvimento de antimicrobianos adequados para a agricultura, é mais rápido que o uso de bactérias ou fungos, além disso, diferentes partes ou produtos de plantas podem ser utilizados para a obtenção de extratos (CASTILLO-HENRÍQUEZ et al., 2020; NASROLLAHZADEH e SAJADI, 2015).

A atividade microbiana de nanopartículas metálicas a partir de extratos podem apresentar efeito antimicrobiano variável em função, além dos bioativos, do tamanho das partículas. Ogunyemi et al. (2019) utilizaram extrato de flores de *Matricaria chamomilla* L., folhas de *Olea europaea* e frutos vermelhos *Lycopersicon esculentum* M. para sintetizar nanopartículas de zinco. Os autores observaram que nanopartículas produzidas pelo extrato de *O. europaea* (40,5 nm a 124,0 nm) apresentaram tamanho menor que as produzidas pelos demais extratos (*M. chamomilla* L. e *L. esculentum* M), o que contribui para a sua maior atividade antibacteriana contra *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, utilizando uma concentração de 16,0 µg mL<sup>-1</sup>.

Além do efeito estar associado ao tamanho da nanopartícula, a concentração também pode influenciar no controle do microorganismo. Alam et al. (2019) comprovaram efeito antibacteriano de nanopartículas de ferro sintetizadas com extratos de folhas de *Skimma laureola* contra a murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*, sendo que o efeito foi dependente da concentração das nanopartículas, quanto maior era a concentração menor era a gravidade da doença. O extrato dos frutos de *Myristica fragans* foi eficiente na síntese de nanopartículas de prata, e as nanopartículas produzidas apresentaram boa atividade antibacteriana (SASIDHARAN et al., 2020).

Dentre as várias opções, as nanopartículas de cobre e óxido de cobre têm atraído muita atenção devido às suas propriedades mecânicas, elétricas, térmicas, magnéticas e catalíticas únicas, bem como sua ampla aplicabilidade em muitas áreas, incluindo aplicações agrícolas (MOHAMED, 2020). Além disso, a disponibilidade e o custo do cobre o tornam a melhor escolha para uma variedade de aplicações em comparação com os metais como a prata e o ouro. O uso do cobre como agente antimicrobiano é conhecido há bastante tempo, sendo um agente eficiente e de baixa toxicidade (RAJESH et al., 2018).

As nanopartículas obtidas apresentaram forma esférica com 20 a 80 nm e grande potencial antifúngico e antibacteriano. O extrato de *Magnolia kobus* proporciona a biossíntese de nanopartículas de cobre estáveis, apresentando tamanho de 37 a 110 nm e boa atividade antibacteriana (LEE, SONG e KIM, 2013). As nanopartículas de cobre biossintetizadas com *Cissus arnotiana* apresentaram tamanho médio entre 60 a 90 nm, forma esférica e atividades antibacterianas e antioxidantes significativas (RAJESHKUMAR et al., 2019). Shah et al. (2022) conseguiram sintetizar nanopartículas de óxido de cobre utilizando extrato de *Calotropis procera*, espécie com propriedades antimicrobianas e rica em fitoquímicos. O efeito inibitório contra *Rhizopus oryze* e *Escherichia coli* foi maior na concentração de 100µg/mL.

Em um outro estudo, nanopartículas do cobre foram sintetizadas com brotos de *Syzygium aromaticum*. Devido a presença de fitoquímicos, foi possível constatar a redução e estabilização das nanopartículas e que apresentaram boa atividade bactericida e fúngica (RAJESH et al., 2018). No estudo avaliando a biossíntese de nanopartículas de cobre com extratos de *Citrus sinensis*, Divte et al. (2019)

confirmaram o extrato de *C. sinensis* como agente redutor e seu potencial como atividade antifúngica contra *Colletotrichum capsici*.

Diante do exposto, a síntese de nanopartículas metálicas com o uso de extratos vegetais tem apresentado resultados promissores no controle de microorganismos. Além disso, é uma alternativa que pode ser adotada para a redução de perdas associadas à doenças de pós-colheita e reduzir o uso de fungicidas sintéticos

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**AGROLINK.** Disponível:

[https://www.agrolink.com.br/problemas/antracnose\\_1510.html](https://www.agrolink.com.br/problemas/antracnose_1510.html). Acesso em: 10 janeiro de 2022.

AHMAD, H.; KALYANARAMAN, R.; ASHIQ, H. S.; ARIF, H. B.; KALYANARAMAN, V. "Study of bio-fabrication of iron nanoparticles and their fungicidal property against phytopathogens of apple orchards." **IET nanobiotechnology**, v.11, n. 3, p. 230-235, 2017.

AHMAD, S.; MUNIR, S.; ZEB, N.; ULLAH, A.; KHAN, B.; ALI, J.; ALI, S. Green nanotechnology: A review on green synthesis of silver nanoparticles—An ecofriendly approach. **International journal of nanomedicine**, v. 14, p. 5087, 2019.

ALAM, T.; KHAN, R. A. A.; ALI, A.; SHER, H.; ULLAH, Z.; ALI, M. Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles via *Skimmia laureola* and their antibacterial efficacy against bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. **Materials Science and Engineering: C**, v. 98, p. 101-108, 2019.

ALVAREZ, A.; SILVA, H.V.; LEYVA, S.G.; MARBAN, N.; REBOLLAR, A. Resistance of *Botrytis cinerea* from strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) to fungicides in Michoacan Mexico. **Agrociencia**, Chapingo, v.51, n.7, p.783–798, 2017.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI & FRUTI. 2021 / Benno Bernardo Kist... [et al.] – Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, p. 104, 2021. Disponível em: <[https://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2021/04/HORTIFRUTI\\_2021.pdf](https://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2021/04/HORTIFRUTI_2021.pdf)> Acesso em: mar. 2022.

ARYA, A.; GUPTA, K.; CHUNDAWAT, T. S.; VAYA, D. Biogenic synthesis of copper and silver nanoparticles using green alga *Botryococcus braunii* and its antimicrobial activity. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v. 2018, p. 1-9, 2018.

ASHRAF, A.; ZAFAR, S.; ZAHID, K.; SHAH, M. S.; AL-GHANIM, K. A.; AL-MISNED, F.; MAHBOOB, S. Synthesis, characterization, and antibacterial potential of silver nanoparticles synthesized from *Coriandrum sativum* L. **Journal of infection and public health**, v. 12, n. 2, p. 275-281, 2019.

AYÓN-REYNA, L. E., GONZÁLEZ-ROBLES, A., RENDÓN-MALDONADO, J. G., BÁEZ- FLORES, M. E., LÓPEZ-LÓPEZ, M. E., & VEGA-GARCÍA, M. O. Application of a hydrothermal-calcium chloride treatment to inhibit postharvest anthracnose development in papaya. **Postharvest Biology and Technology**, v. 124, p. 85-90, 2017.

BALCIUNAITIENE, A.; VISKELIS, P.; VISKELIS, J.; STREIMIKYTE, P.; LIAUDANSKAS, M.; BARTKIENE, E.; LELE, V. Green synthesis of silver

nanoparticles using extract of *Artemisia absinthium* L., *Humulus lupulus* L. and *Thymus vulgaris* L., physico-chemical characterization, antimicrobial and antioxidant activity. **Processes**, v. 9, n. 8, p. 1304, 2021.

BARONCELLI, R.; TALHINHAS, P.; PENSEC, F.; SUKNO, S. A.; LE FLOCH, G.; THON, M. R. The *Colletotrichum acutatum* species complex as a model system to study evolution and host specialization in plant pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2001, 2017.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; SIVAKUMAR, D.; BELLO-PÉREZ, A.; VILLANUEVA-ARCE, R.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M. A review of the management alternatives for controlling fungi on papaya fruit during the postharvest supply chain. **Crop Protection**, v. 49, p. 8-20, 2013.

BAZIE, S.; AYALEW, A.; WOLDETSADIK, K. Integrated management of postharvest banana anthracnose (*Colletotrichum musae*) through plant extracts and hot water treatment. **Crop Protection**, v. 66, p. 14-18, 2014.

BHUTIA, D. D.; ZHIMO, Y.; KOLE, R.; SAHA, J. Antifungal activity of plant extracts against *Colletotrichum musae*, the post harvest anthracnose pathogen of banana cv. Martaman. **Nutrition and Food Science**, v. 46, n. 1, p. 2, 2016.

BORDOH, P. K.; ALI, A.; DICKINSON, M.; SIDDIQUI, Y.; ROMANAZZI, G. A review on the management of postharvest anthracnose in dragon fruits caused by *Colletotrichum* spp. **Crop Protection**, v. 130, p. 1-7, 2020.

BOTELHO, L. N. S.; ROCHA, D. A.; BRAGA, M. A.; SILVA, A.; DE ABREU, C. M. P. Quality of guava cv. 'Pedro Sato' treated with cassava starch and cinnamon essential oil. **Scientia horticultrae**, v. 209, p. 214-220, 2016.

CANNON, P. F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S. *Colletotrichum* - current status and future directions. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 181–213, 2012.

CARMONA-HERNANDEZ, S.; REYES-PÉREZ, J. J.; CHIQUITO-CONTRERAS, R. G.; RINCON-ENRIQUEZ, G.; CERDAN-CABRERA, C. R.; HERNANDEZ-MONTIEL, L. G. Biocontrol of postharvest fruit fungal diseases by bacterial antagonists: a review. **Agronomy**, v. 9, n. 3, p. 121, 2019.

CASTILLO-HENRÍQUEZ, L.; ALFARO-AGUILAR, K.; UGALDE-ÁLVAREZ, J.; VEGA-FERNÁNDEZ, L.; MONTES DE OCA-VÁSQUEZ, G.; VEGA-BAUDRIT, J. R. Green synthesis of gold and silver nanoparticles from plant extracts and their possible applications as antimicrobial agents in the agricultural area. **Nanomaterials**, v. 10, n. 9, p. 1763, 2020.

CHECHI, A.; STAHLCKER, J.; DOWLING, M. E.; SCHNABEL, G. Diversity in species composition and fungicide resistance profiles in *Colletotrichum* isolates from apples. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 158, p. 18-24, 2019.



- CHEN, J., SHUYU, M.; ZHIFENG, X., WEI, D. Various antibacterial mechanisms of biosynthesized copper oxide nanoparticles against soilborne *Ralstonia solanacearum*. **RSC advances**, v.9, n. 7, p. 3788-3799, 2019.
- DA CRUZ CABRAL, L.; PINTO, V. F.; PATRIARCA, A. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. **International journal of food microbiology**, v. 166, n. 1, p. 1-14, 2013.
- DAMM, U.; WOUDEBERG, J. H. C.; CANNON, P. F.; CROUS, P. W. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. **Fungal Diversity**, v. 39, p. 45, 2009.
- DANTAS, A. M. M. **Controle alternativo de doenças pós-colheita em mamão formosa 'TAINUNG 01'**. 2016. 66f. Dissertação (Mestrado em Fiotecnia) – Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, 2016.
- DEMARTELAERE, A. C. F.; NASCIMENTO, L. C. D.; GUIMARÃES, G. H. C.; SILVA, J. A. D.; LUNA, R. G. D. Elicitors on the control of anthracnose and post-harvest quality in papaya fruits. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, p. 211-217, 2017.
- DIAS, L. R. C.; BRITO, R. A. D. S.; MELO, T. A.; SERRA, I. M. R. S. First report of papaya fruit anthracnose caused by *Colletotrichum okinawense* in Brazil. **Plant Disease**, v. 104, n. 2, p. 573-573, 2020.
- DIMKPA, C. O.; BINDRABAN, P. S. Nanofertilizers: new products for the industry?. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 66, n. 26, p. 6462-6473, 2017.
- DIVTE, P. R.; SHENDE, S.; LIMBALKAR, O. M.; KALE, R. A. Characterization of biosynthesised copper nanoparticle from *Citrus sinensis* and in-vitro evaluation against fungal pathogen *Colletotrichum capsici*. **IJCS**, v. 7, n. 5, p. 325-330, 2019.
- ELAMAWI, R. M.; AL-HARBI, R. E.; HENDI, A. A. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Trichoderma longibrachiatum* and their effect on phytopathogenic fungi. **Egyptian journal of biological pest control**, v. 28, n. 1, p. 1-11, 2018.
- ELBESHEHY, E. K.F.; ELAZZAZY, A. M.; AGGELIS, G. Silver nanoparticles synthesis mediated by new isolates of *Bacillus* spp., nanoparticle characterization and their activity against Bean Yellow Mosaic Virus and human pathogens. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 453, 2015.
- ELIZABATH, A.; BABYCHAN, M.; MATHEW, A. M.; SYRIAC, G. M. Application of nanotechnology in agriculture. **International Journal of Pure & Applied Bioscience**, v. 7, n. 2, p. 131-9, 2019.
- ERAM, D.; ARTHIKALA, M. K.; MELAPPA, G.; SANTOYO, G. *Alternaria* species: endophytic fungi as alternative sources of bioactive compounds. **Italian Journal of Mycology**, v. 47, p. 40-54, 2018.

ESCAMILLA-GARCÍA, M.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, M. J.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, H. M.; DELGADO-SÁNCHEZ, L. F.; GARCÍA-ALMENDÁREZ, B. E.; AMARO-REYES, A.; REGALADO-GONZÁLEZ, C. Effect of an edible coating based on chitosan and oxidized starch on shelf life of *Carica papaya* L., and its physicochemical and antimicrobial properties. **Coatings**, v. 8, n. 9, p. 318, 2018.

FAO. 2020. Major tropical fruits - Preliminary market results 2019. Rome. Disponível em: < <https://www.fao.org/home/en/> > Acesso em: abr. 2022

FAOSTAT. **Crops – Papaya** Food Agric. Organ. United Nations (2021). Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>> Acesso em: abr. 2022

FENG, G.; ZHANG, X. S.; ZHANG, Z. K.; YE, H. C.; LIU, Y. Q.; YANG, G. Z.; ... ZHANG, J. Fungicidal activities of camptothecin semisynthetic derivatives against *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro and in mango fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 147, p. 139-147, 2019.

FISCHER, I. H.; MORAES, M. F. D.; FIRMINO, A. C.; AMORIM, L. Detection and epidemiological progress of quiescent avocado diseases. **Ciência Rural**, v. 49, 2019.

FREIRE, M. G.; MUSSI-DIAS, V.; MATTOSO, T. C.; HENK, D. A.; MENDES, A. C.; MACEDO, M. L.; SAMUELS, R. I. Survey of endophytic *Alternaria* species isolated from plants in the Brazilian restinga biome. **IOSR J Pharm Biol Sci**, v. 12, p. 84-94, 2017.

FU, L.; WANG, Z.; DHANKHER, O. P.; XING, B. Nanotechnology as a new sustainable approach for controlling crop diseases and increasing agricultural production. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 2, p. 507-519, 2020.

GARGANESE, F.; SANZANI, S. M.; DI RELLA, D.; SCHENA, L.; IPPOLITO, A. Pre-and postharvest application of alternative means to control *Alternaria* Brown spot of citrus. **Crop Protection**, v. 121, p. 73-79, 2019.

GOWTHAM, H. G.; MURALI, M.; SINGH, S. B.; LAKSHMEESHA, T. R.; MURTHY, K. N.; AMRUTHESH, K. N.; & NIRANJANA, S. R. Plant growth promoting rhizobacteria-*Bacillus amyloliquefaciens* improves plant growth and induces resistance in chilli against anthracnose disease. **Biological control**, v. 126, p. 209-217, 2018.

GRAHAM, J. H.; JOHNSON, E. G.; MYERS, M. E.; YOUNG, M.; RAJASEKARAN, P.; DAS, S.; SANTRA, S. Potential of nano-formulated zinc oxide for control of citrus canker on grapefruit trees. **Plant disease**, v. 100, n. 12, p. 2442-2447, 2016.

HACQUARD, S.; KRACHER, B.; HIRUMA, K.; MÜNCH, P. C.; GARRIDO-OTER, R.; THON, M. R.; ... O'CONNELL, R. J. Survival trade-offs in plant roots during colonization by closely related beneficial and pathogenic fungi. **Nature communications**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2016.

HASSAN, A. K.; ABDUL-KARIM, E. K.; AL-KUWAITI, N. A.; SALEH, N. M. Efficacy assessment of black pepper and clove extracts against sunflower seeds black rot

disease caused by *Aspergillus* spp. **International Journal of Agricultural and Statistical Sciences**, v. 17, n. 1, p. 2239-2244, 2021.

HELAL, R. B.; HOSEN, S.; SHAMSI, S. Mycoflora associated with post-harvest disease of papaya (*Carica papaya* L.) and their pathogenic potentiality. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 47, n. 3, p. 389-395, 2018.

HUTCHINSON, M. J.; OUKO, J. R.; AMBUKO, J.; OWINO, W. O.; SUBRAMANIAN, J. Effects of hexanal dip on the post-harvest shelf life and quality of papaya (*Carica papaya* L.) fruit. **Tropical Agriculture**, v. 95, n. 1, 2018.

IBGE -Instituto. Brasileiro de Geografia e Estatística (2022). Produção agrícola municipal -PAM: 2019. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/pt/inicio.html> > Acesso em: abr. 2022.

JIMÉNEZ-REYES, M. F.; CARRASCO, H.; OLEA, A. F.; SILVA-MORENO, E. Natural compounds: A sustainable alternative to the phytopathogens control. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 64, n. 2, p. 4459-4465, 2019.

JINAL, N. H.; AMARESAN, N. Evaluation of biocontrol *Bacillus* species on plant growth promotion and systemic-induced resistant potential against bacterial and fungal wilt-causing pathogens. **Archives of microbiology**, v. 202, n. 7, p. 1785-1794, 2020.

KAUR, P. Biosynthesis of nanoparticles using eco-friendly factories and their role in plant pathogenicity: a review. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 2, n. 1, p. 63-73, 2018.

KAWANO, B. R.; DA SILVA, R. F.; DE VARGAS MORES, G.; CUGNASCA, C. E. Tecnologias para a conservação pós-colheita. **AgroANALYSIS**, v. 36, n. 11, p. 29-30, 2016.

KIM, J. W.; SHIM, S. H. The fungus *Colletotrichum* as a source for bioactive secondary metabolites. **Archives of pharmacal research**, v. 42, n. 9, p. 735-753, 2019.

KIRUBAHARAN, C. J.; KALPANA, D.; LEE, Y. S.; KIM, A. R.; YOO, D. J.; NAHM, K. S.; KUMAR, G. G. Biomediated silver nanoparticles for the highly selective copper (II) ion sensor applications. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 51, n. 21, p. 7441-7446, 2012.

KOLEKAR R.; BHADE, S.; KUMAR, R.A.; REDDY, P.R.; SINGH, R.A. PRADEEPKUMAR K. Biosynthesis of copper nanoparticles using aqueous extract of *Eucalyptus* sp. plant leaves. **Current Science**, v. 109, n. 2, p. 255-257, 2015.

KRISHNARAJ, C.; RAMACHANDRAN, R.; MOHAN, K.; KALAICHELVAN, P.T. Optimization for rapid synthesis of silver nanoparticles and its effect on phytopathogenic fungi. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 93, p. 95 – 99, 2012.

KUMAR, A.; KUDACHIKAR, V. B. Antifungal properties of essential oils against anthracnose disease: A critical appraisal. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 125, n. 2, p. 133-144, 2018.

LEE, H.; SONG, J. Y.; KIM, B. S. Biological synthesis of copper nanoparticles using *Magnolia kobus* leaf extract and their antibacterial activity. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 88, n. 11, p. 1971-1977, 2013.

LI, Y. C.; BI, Y.; AN, L. Z. Occurrence and latent infection of *Alternaria* rot of *Pingguoli* pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd. cv. Pingguoli) fruits in Gansu, China. **Journal of phytopathology**, v. 155, n. 1, p. 56-60, 2007.

LING, J.; PENG, A.; SONG, X.; CHEN, X. Bioassay of 17 fungicides against *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. **Guangdong Agricultural Sciences**, v.1 2010.

MAEDA, C. N. S.; NELSON, S. Anthracnose of papaya in Hawai'i. Mānoa (US): **College of Tropical Agriculture and Human Resources**, p, 324-333, 2014.

MARTELLETO, L.A.P.; MARTELLETO, M.S.; VAZ, A.F.D.S.; DE SOUSA ANTUNES, L.F. Produção e qualidades físico-químicas do mamão do grupo 'solo' conduzido em diferentes ambientes de proteção em sistema orgânico. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 14, n. 1, p. 1-11, 2021.

MASI, M.; CIMMINO, A.; BOARI, A.; TUZI, A.; ZONNO, M.C.; BARONCELLI, R.; VURRO, M.; EVIDENTE, A. *Colletochlorins* E and F, new phytotoxic tetrasubstituted pyran-2-one and dihydrobenzofuran, isolated from *Colletotrichum higginsianum* with potential herbicidal activity. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 65, n. 6, p. 1124-1130, 2017.

MBILI, N.; VRIES, F.; OPARA, U. L.; LENNOX, C. Chemical composition and antifungal activity of Citrus and lemongrass essential oils in combination with cold storage regimes against *Botrytis cinerea*. **IOBC-WPRS Bulletin**, v. 110, p. 165-168, 2015.

MOHAMED, E. A. Green synthesis of copper & copper oxide nanoparticles using the extract of seedless dates. **Heliyon**, v. 6, n. 1, p. e03123, 2020.

NASROLLAHZADEH, M.; SAJADI, S. M. Green synthesis of copper nanoparticles using *Ginkgo biloba* L. leaf extract and their catalytic activity for the Huisgen [3+ 2] cycloaddition of azides and alkynes at room temperature. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 457, p. 141-147, 2015.

NOMURA, M.; PEREIRA FILHO, J.M.; COSTA, E.M.; PEREIRA, L.S; VENTURA, M.V.A. Avaliação de diferentes quantidades de hidrogel na produção de mudas de mamão papaya. **Ipê Agronomic Journal**, v. 3, n. 1, p. 19-25, 2019.

OGUNYEMI, S. O; ABDALLAH, Y.; ZHANG, M.; FOUAD, H.; HONG, X.; IBRAHIM, E.; MASUM, M.M.I.; HOSSAIN, A.; MO, J.; 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**, v.47, n.1, p. 341 – 352, 2019.

OLIVEIRA, A. M. G.; MEISSNER FILHO, P. E. **A cultura do mamoeiro**. Brasília, DF: Embrapa, p. 426, 2021.

OLIVEIRA, AMG; MEISSNER FILHO, P. E. **Mamoeiro do grupo solo: cultivo, colheita, pós-colheita e comercialização**. Brasília, DF: Embrapa, p.137-171, 2022.

OLIVEIRA, H.C.; STOLF-MOREIRA, R.; MARTINEZ, C.B.R.; GRILLO, R.; DE JESUS, M.B.; FRACETO, L.F. Nanoencapsulation enhances the post-emergence herbicidal activity of atrazine against mustard plants. **PLoS One**, v. 10, n. 7, p. e0132971, 2015.

ONG, M. K.; ALI, A. Antifungal action of ozone against *Colletotrichum gloeosporioides* and control of papaya anthracnose. **Postharvest Biology and Technology**, v. 100, p. 113-119, 2015.

OVAIS, M.; KHALIL, A. T.; ISLAM, N. U.; AHMAD, I.; AYAZ, M.; SARAVANAN, M.; ... MUKHERJEE, S. Role of plant phytochemicals and microbial enzymes in biosynthesis of metallic nanoparticles. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 102, n. 16, p. 6799-6814, 2018.

PANDIT, C.; ROY, A.; GHOTEKAR, S.; KHUSRO, A.; ISLAM, M.N.; EMRAN, T.B.; LAM, S.E.; KHANDAKER, M.U.; BRADLEY, D.A. Biological agents for synthesis of nanoparticles and their applications. **Journal of King Saud University-Science**, v. 34, n. 3, p. 101869, 2022.

PARVEN, A.; SARKER, M. R.; MEGHARAJ, M.; MEFTAUL, I. M. Prolonging the shelf life of Papaya (*Carica papaya* L.) using *Aloe vera* gel at ambient temperature. **Scientia Horticulturae**, v. 265, p. 109228, 2020.

PATRIARCA, A. Fungi and mycotoxin problems in the apple industry. **Current Opinion in Food Science**, v. 29, p. 42-47, 2019.

PAULL, R.E.; NISHIJIMA, W.; REYES, M.; CVALETTTO, C. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). **Postharvest biology and technology**, v. 11, n. 3, p. 165-179, 1997.

PERALTA-RUIZ, Y.; TOVAR, C.G.; SINNING-MANGONEZ, A.; BERMONT, D.; CORDERO, A.P.; PAPARELLA, A.; CHAVES-LÓPEZ, C. *Colletotrichum gloeosporioides* inhibition using chitosan-Ruta graveolens L essential oil coatings: Studies in vitro and in situ on *Carica papaya* fruit. **International Journal of Food Microbiology**, v. 326, p. 108649, 2020.

PERES, N. A.; KURAMAE, E. E.; DIAS, M. S.; DE SOUZA, N. L. Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. **Journal of Phytopathology**, v. 150, n. 3, p. 128-134, 2002.

PLOETZ, R. C.; FREEMAN, S. Foliar, floral and soilborne diseases. **Litz RE (2nd ed.). The mango: botany, production and uses. CAB International, Wallingford, United Kingdom. p. 231-302, 2009.**

PRASAD, R.; BHATTACHARYYA, A.; NGUYEN, Q. D. Nanotechnology in sustainable agriculture: recent developments, challenges, and perspectives. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1014, 2017.

PUVAČA, N.; BURSIĆ, V.; VUKOVIĆ, G.; BUDAKOV, D.; PETROVIĆ, A.; MERKURI, J.; AVANTAGGIATO, G.; CARA, M. Ascomycete fungi (*Alternaria* spp.) characterization as major feed grains pathogens. **Journal of Agronomy, Technology and Engineering Management** v. 3, p. 499-505, 2020.

QAMAR, H.; REHMAN, S.; CHAUHAN, D.K.; TIWARI, A.K.; UPMANYU, V. Green synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanomaterial derived from *Momordica charantia*. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 2541, 2020.

RAJESH, K. M.; AJITHA, B.; REDDY, Y. A. K.; SUNEETHA, Y.; REDDY, P. S. Assisted green synthesis of copper nanoparticles using *Syzygium aromaticum* bud extract: Physical, optical and antimicrobial properties. **Optik**, v. 154, p. 593-600, 2018.

RAJESHKUMAR, S.; MENON, S.; KUMAR, S.V.; TAMB UWALA, M.M.; BAKSHI, H.A.; MEHTA, M.; SATIJA, S.; GUPTA, G.; CHELLAPPAN, D.K.; THANGAVELU, L.; DUA, K. Antibacterial and antioxidant potential of biosynthesized copper nanoparticles mediated through *Cissus arnotiana* plant extract. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 197, p. 111531, 2019.

RAMASWAMY, S. V. P.; NARENDHRAN, S.; SIVARAJ, R. Potentiating effect of ecofriendly synthesis of copper oxide nanoparticles using brown alga: antimicrobial and anticancer activities. **Bulletin of Materials Science**, v. 39, n. 2, p. 361-364, 2016.

RAUF, M.A.; OWAIS, M.; RAJPOOT, R.; AHMAD, F.; KHAN, N.; ZUBAIR, S. Biomimetically synthesized ZnO nanoparticles attain potent antibacterial activity against less susceptible *S. aureus* skin infection in experimental animals. **RSC advances**, v. 7, n. 58, p. 36361-36373, 2017.

ROBLEDO, N.; LÓPEZ, L.; BUNGER, A.; TAPIA, C.; ABUGOCH, L. Effects of antimicrobial edible coating of thymol nanoemulsion/quinoa protein/chitosan on the safety, sensorial properties, and quality of refrigerated strawberries (*Fragaria x ananassa*) under commercial storage environment. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, n. 8, p. 1566-1574, 2018.

RODRIGUES, J.P.; DE SOUZA COELHO, C.C.; SOARES, A.G.; FREITAS-SILVA, O. Current technologies to control fungal diseases in postharvest papaya (*Carica papaya* L.). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 36, p. 102128, 2021.

RODRÍGUEZ-ROMERO, V.M.; VILLANUEVA-ARCE, R.; TREJO-RAYA, A.B.; BAUTISTA-BAÑOS, S. Chitosan and *Pseudomonas fluorescens* extracts for

*Alternaria alternata* control in tomato (*Solanum lycopersicum*). Mex. **Revista mexicana de fitopatología**, v. 37, n. 2, p. 202-219, 2019.

SANTOS, P.; PRANDO, M.; MORANDO, R.; PEREIRA, G. V.; KRONKA, A. Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, 2013.

SARKHOSH, A.; SCHAFFER, B.; VARGAS, A. I.; PALMATEER, A. J.; LOPEZ, P.; SOLEYMANI, A.; FARZANEH, M. Antifungal activity of five plant-extracted essential oils against anthracnose in papaya fruit. **Biological Agriculture & Horticulture**, v. 34, n. 1, p. 18-26, 2018.

SASIDHARAN, D.; NAMITHA, T.R.; JOHNSON, S.P.; JOSE, V.; MATHEW, P. Synthesis of silver and copper oxide nanoparticles using *Myristica fragrans* fruit extract: Antimicrobial and catalytic applications. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 16, p. 100255, 2020.

SENGUPTA, P.; SEN, S.; MUKHERJEE, K.; ACHARYA, K. Postharvest diseases of Indian gooseberry and their management: a review. **International Journal of Fruit Science**, v. 20, n. 2, p. 178-190, 2020.

SERAFINI, S.; SOARES, J.G.; PICOLI, F.; DINON, A.Z.; DA SILVA ROBAZZA, W.; PAULINO, A.T. Aspectos e peculiaridades da produção comercial de mamão (*Carica papaya* Linnaeus) no Brasil: estratégias para o futuro da cultura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. e544101220551-e544101220551, 2021.

SHAH, I.H.; ASHRAF, M.; SABIR, I.A.; MANZOOR, M.A.; MALIK, M.S.; GULZAR, S.; ASHRAF, F.; IQBAL, J.; NIU, Q.; ZHANG, Y. Green synthesis and Characterization of Copper oxide nanoparticles using *Calotropis procera* leaf extract and their different biological potentials. **Journal of Molecular Structure**, v. 1259, p.1-10 2022.

SHARMA, A.; BACHHETI, A.; SHARMA, P.; BACHHETI, R.K. HUSEN, A. Phytochemistry, pharmacological activities, nanoparticle fabrication, commercial products and waste utilization of *Carica papaya* L.: A comprehensive review. **Current Research in Biotechnology**, v. 2, p. 145-160, 2020.

SHREEDEVASENA, S.; MANORANJITHAM, S. K.; RAJENDRAN, L.; PARIMALADEVI, R. Detection and Molecular Characterization of Black Spot Disease of Papaya (*Carica papaya* L.) Incited by *Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 8, n. 6, p. 511-517, 2019.

SILVA NETO, O. P. D.; PINTO, E. V. D. S.; OOTANI, M. A.; SILVA JUNIOR, J. L. D.; LIMA, J. L. D. S. B.; SOUSA, A. E. D. D. Ozone slows down anthracnose and increases shelf life of papaya fruits. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, 2019.

SINGH, A.; GAUD, B.; JAYBHAYE, S. Optimization of synthesis parameters of silver nanoparticles and its antimicrobial activity. **Materials Science for Energy Technologies**, v. 3, p. 232-236, 2020.

- SINGH, D.; SHARMA, R. R. Postharvest diseases of fruits and vegetables and their management. In: **Postharvest disinfection of fruits and vegetables**. Academic Press, 2018. p. 1-52.
- SOMMA, S.; AMATULLI, M.T.; MASIELLO, M.; MORETTI, A.; LOGRIECO, A.F. *Alternaria* species associated to wheat black point identified through a multilocus sequence approach. **International Journal of Food Microbiology**, v. 293, p. 34-43, 2019.
- SONGA, E. A.; OKONKWO, J. O. Recent approaches to improving selectivity and sensitivity of enzyme-based biosensors for organophosphorus pesticides: A review. **Talanta**, v. 155, p. 289-304, 2016.
- SOUZA, J. M. A.; ATAÍDE, E. M.; SILVA, M. S. Qualidade pós-colheita e correlação entre características físicas e químicas de frutos de mamoeiro comercializados em Serra Talhada-PE. **Magistra**, v. 26, n. 4, p. 554-560, 2017.
- SUDHEERAN, P.K.; OVADIA, R.; GALSARKER, O.; MAOZ, I.; SELA, N.; MAURER, D.; FEYGENBERG, O.; OREN SHAMIR, M.; ALKAN, N. Glycosylated flavonoids: fruit's concealed antifungal arsenal. **New Phytologist**, v. 225, n. 4, p. 1788-1798, 2020.
- THOMMA B.P. *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. **Molecular Plant Pathology**, v. 4, n. 4, p. 225-236, 2003.
- TIAN, S.; TORRES, R.; BALLESTER, A.R.; LI, B.; VILANOVA, L.; GONZÁLEZ-CANDELAS, L. Molecular aspects in pathogen-fruit interactions: Virulence and resistance. **Postharvest Biology and Technology**, v. 122, p. 11-21, 2016.
- TOUBA, E. P.; ZAKARIA, M.; TAHEREH, E. Atividade antifúngica de extratos de especiarias em água fria e quente contra patógenos fúngicos de Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) *in vitro*. **Patogênese microbiana**, v. 52, n. 2, pág. 125-129, 2012.
- TRIDGE (2022). Papaya: 2019-2020. Disponível em: <  
<https://www.tridge.com/intelligences/papaya> > Acesso em: abr. 2022.
- USALL, J.; IPPOLITO, A.; SISQUELLA, M.; NERI F. Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 122, p. 30-40, 2016.
- VALENZUELA, N.L.; ANGEL, D.N.; ORTIZ, D.T.; ROSAS, R.A.; GARCÍA, C.F.O.; SANTOS, M.O. Biological control of anthracnose by postharvest application of *Trichoderma* spp. on maradol papaya fruit. **Biological Control**, v. 91, p. 88-93, 2015.
- VANATHI, P.; RAJIV, P.; SIVARAJ, R. Synthesis and characterization of Eichhornia-mediated copper oxide nanoparticles and assessing their antifungal activity against plant pathogens. **Bulletin of Materials Science**, v.39, n. 5, p. 1165-1170, 2016.



VENTURINI, M. T.; SANTOS, L. C.; SANTOS, T. R.; LUZ, E. D. M. N. Infecção natural por *Corynespora cassiicola* em acessos de mamoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 40, p. 284-287, 2014.

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, B. C. A.; BERGAMIN, A. C. Antifungal activity of plant extracts on the development of plant pathogens. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.

VIEIRA, W.A.S.; NASCIMENTO, R.J.; MICHEREFF, S.J.; HYDE, K.D.; CÂMARA, M.P.S. First report of papaya fruit anthracnose caused by *Colletotrichum brevisporum* in Brazil. **Plant Disease**, v. 97, n. 12, p. 1659-1659, 2013. VIERIA, W.A.S.; DOS SANTOS NUNES, A.; VELOSO, J.S.; MACHADO, A.R.; BALBINO, V.Q.; DA SILVA, A.C.; GOMES, A.Â.M.; DOYLE, V.P. CÂMARA, M.P.S. *Colletotrichum truncatum* causing anthracnose on papaya fruit (*Carica papaya*) in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 15, n. 1, p. 1-3, 2020.

VILAPLANA, R.; CHICAIZA, G.; VACA, C.; VALENCIA-CHAMORRO, S. Combination of hot water treatment and chitosan coating to control anthracnose in papaya (*Carica papaya* L.) during the postharvest period. **Crop Protection**, v. 128, p. 105007, 2020.

WIBOWO, K.M.; SAHDAN, M.Z.; RAMLI, N.I.; MUSLIHATI, A.; ROSNI, N.; TSEN, V.H.; SAIM, H.; AHMAD, S.A.; SARI, Y.; MANSOR, Z. Detection of *Escherichia coli* bacteria in wastewater by using graphene as a sensing material. **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, (v. 995, n. 1, p.1-7, 2018.

YANG, L. N.; HE, M. H.; OUYANG, H. B.; ZHU, W.; PAN, Z. C.; SUI, Q. J.; ZHAN, J. Cross-resistance of the pathogenic fungus *Alternaria alternata* to fungicides with different modes of action. **BMC microbiology**, v. 19, n. 1, p. 1-10, 2019.

YUAN, S.; YAN, J.; WANG, M.; DING, X.; ZHANG, Y.; LI, W.; CAO, J.; JIANG, W. Transcriptomic and metabolic profiling reveals 'Green Ring' and 'Red Ring' on jujube fruit upon postharvest *Alternaria alternata* infection. **Plant and Cell Physiology**, v. 60, n. 4, p. 844-861, 2019.

ZAKARIA, L. Diversity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease in tropical fruit crops—A review. **Agriculture**, v. 11, n. 4, p. 297, 2021.

ZERPA-CATANHO, D.; ESQUIVEL, P.; MORA-NEWCOMER, E.; SÁENZ, M.V.; HERRERA, R.; JIMÉNEZ, V.M., Transcription analysis of softening-related genes during postharvest of papaya fruit (*Carica papaya* L. 'Pococi' hybrid). **Postharvest biology and technology**, v. 125, p. 42-51, 2017.

ZHANG, M.; LIU, W.; LI, C.; SHAO, T.; JIANG, X.; ZHAO, H.; AI, W. Postharvest hot water dipping and hot water forced convection treatments alleviate chilling injury for zucchini fruit during cold storage. **Scientia Horticulturae**, v. 249, p. 219-227, 2019.

## ARTIGO 1

### SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE COM EXTRATOS VEGETAIS E SEU POTENCIAL PARA O CONTROLE de *Colletotricum* sp.<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico *Scientia Horticulturae* em versão na língua inglesa.

## **Síntese de nanopartículas de cobre com extratos vegetais e seu potencial para o controle de *Colletotrichum* sp.**

**Resumo:** A antracnose causada por *Colletotrichum* spp., é responsável por grandes perdas na pós-colheita de frutos, como o mamão. O principal método de controle é o uso de fungicidas, que, de modo excessivo, pode ocasionar riscos à saúde e ao ambiente. A síntese verde de nanopartículas representa uma alternativa viável para o manejo de doenças pós-colheita, afim de reduzir o uso de produtos químicos. O objetivo desse estudo, foi verificar a síntese de nanopartículas de cobre (CuNPs) com extratos vegetais e avaliar sua atividade antifúngica contra *Colletotrichum* sp. Extratos aquosos de coentro (COE), tomilho (TOM), melão-de-são-caetano (MSC), eucalipto (EUC) e botões florais de cravo (CR) foram avaliados em seus teores de compostos fenólicos e flavonoides. O progresso da reação entre o sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  -10mM) e os extratos aquosos foi monitorado por observação visual na mudança de cor e espectroscopia UV-visível. Estas nanopartículas de cobre sintetizadas foram avaliadas *in vitro* contra *Colletotrichum* sp., em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e seis concentrações. O oxiclureto de cobre (Recop®) a 1250 mg mL<sup>-1</sup> e  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  foram utilizados como controles positivos. As CuNPs-MSC e CuNPs-EUC apresentaram uma inibição micelial média de 31,93 e 34,62 nas concentrações 900 mg mL<sup>-1</sup> e 600mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente, quando comparadas ao oxiclureto de cobre. Para todas as concentrações de CuNPs-MSC e CuNPs-CR ocorreu diferença significativa para o potencial de inibição no crescimento micelial, quando comparadas com as concentrações de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . Os menores valores para ED50 e ED90 foi verificado para as CuNPs-MSC, CuNPs-EUC e CuNPs-CR. O presente estudo utilizou uma técnica simples com precursores naturais, sem ausência de reagentes tóxicos e econômica para síntese de nanopartículas de cobre com potencial para o controle de *Colletotrichum* sp.

**Palavras-chave:** Antracnose, extratos vegetais, biossíntese, nanotecnologia, bioatividade

## **Copper nanoparticles synthesis with plant extracts and their potential to control *Colletotrichum* sp.**

**Abstract:** Anthracnose caused by *Colletotrichum* spp. is responsible for large post-harvest losses of fruits such as papaya. The main method of control is the use of fungicides, which can cause health and environmental risks due to excessive use. The green synthesis of nanoparticles represents a viable alternative for the management of post-harvest diseases, in order to reduce the use of chemicals. The aim of this study was to verify the synthesis of copper nanoparticles (CuNPs) with plant extracts and to evaluate their antifungal activity against *Colletotrichum* sp. Aqueous extracts of coriander (COE), thyme (TOM), bitter melon (MSC), eucalyptus (EUC) and clove flower buds (CR) were evaluated for their content of phenolic compounds and flavonoids. The progress of the reaction between copper sulfate ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  -10mM) and aqueous extracts was monitored by visual observation of color change and UV-visible spectroscopy. These synthesized copper nanoparticles were evaluated in vitro against *Colletotrichum* sp., in a completely randomized design with five treatments and six concentrations. Copper oxychloride (Recop®) at 1250 mg mL<sup>-1</sup> and  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  were used as positive controls. CuNPs-MSC and CuNPs-EUC showed an average mycelial inhibition of 31.93 and 34.62 at concentrations of 900 mg mL<sup>-1</sup> and 600 mg mL<sup>-1</sup>, respectively, when compared to copper oxychloride. For all concentrations of CuNPs-MSC and CuNPs-CR, there was a significant difference for the inhibition potential in mycelial growth, when compared with the concentrations of  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . The lowest values for ED50 and ED90 were verified for CuNPs-MSC, CuNPs-EUC and CuNPs-CR. The present study used a simple technique with natural precursors, without the absence of toxic reagents and economical for the synthesis of copper nanoparticles with potential for the control of *Colletotrichum* sp.

**Keywords:** Anthracnose, plant extracts, biosynthesis, nanotechnology, bioactivity.

## 1. INTRODUÇÃO

A antracnose é considerada uma importante doença pós-colheita no mamão. A doença é ocasionada por espécies do gênero *Colletotrichum* (MAHADEVAKUMAR et al., 2019). Nos frutos maduros, os sintomas da antracnose são caracterizados por lesões necróticas e afundadas de cor salmão em sua superfície, presença de anéis concêntricos de acérvulos pretos e conídios laranja (VIEIRA et al., 2020).

O controle químico continua sendo o principal método de manejo de doença. No entanto, os impactos que podem ser ocasionados a saúde humana, ao ambiente e o aumento de patógenos resistentes tornam-se motivos para buscar novas estratégias tecnológicas para o manejo da doença (DROBY et al., 2009; KUMAR E KUDACHIKAR, 2018), levando em consideração o tempo de vida útil dos frutos após a colheita e uma gestão ecológica que reduza o uso de produtos químicos.

O uso de extratos vegetais, por exemplo, apresenta propriedades antifúngicas que pode inibir o crescimento de microrganismos fitopatogênicos (SITARA et al., 2011) devido variedade de compostos fitoquímicos. As biomoléculas presentes em extratos de plantas são capazes de reduzir os íons metálicos e estabilizá-los em nanopartículas em um processo de síntese verde (AHMED et al., 2016) o que tem se mostrado uma tecnologia promissora, pois é considerado um método rápido, quando comparado ao de síntese com microrganismos, disponibilidade de matéria prima barata e sustentável (LETCHUMANAN et al., 2021).

Diferentes nanopartículas (NPs) têm sido estudadas para verificar a formação e o potencial antimicrobiano e antifúngico. Elumalai e Velmurugan, (2015) verificaram a síntese de óxido de zinco (ZnO NPs) utilizando extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*(L.) e o potencial antimicrobiano em bactérias Gram positivas e Gram negativas e leveduras, destacando a *Staphylococcus aureus* como mais suscetível a NPs de ZnO com uma zona de inibição variando entre 14,4 e 23 mm. O potencial de nanopartículas de cobre, sintetizadas com extrato de folha de *Calotropis procera* foi constatado sobre *Rhizopus oryzae* sendo a concentração de 100 µg/mL com uma inibição de 3,63 mm (SHAH et al., 2022). A atividade antifúngica de nanopartículas também foram testadas para oomicetos. Ali et al. (2015) verificaram o potencial de nanopartículas de prata sintetizadas com extratos

de *Artemisia absinthium* no crescimento micelial de espécies de *Phytophthora* spp.

Dentre os metais utilizados, o cobre apresenta custo relativamente baixo e mais econômico quando comparado com a prata, por exemplo (JIA et al., 2012). A nanotecnologia inclui a síntese e o desenvolvimento de diversos nanomateriais, podendo ser eficaz na redução de aplicação de doses de agrotóxicos (KHAN e RIZVI, 2014) o que mostra-se uma atividade propícia ao desenvolvimento sustentável da agricultura e na segurança alimentar. Diante do abordado, o objetivo desse trabalho foi sintetizar nanopartículas de cobre a partir de extratos vegetais e avaliar a inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp., agente causal da antracnose em mamão.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal e Obtenção dos extratos

A obtenção dos extratos vegetais aquosos se deu a partir de folhas secas e trituradas de tomilho (*Thymus vulgaris*), eucalipto (*Eucalyptus* sp.), coentro (*Coriandrum sativum*) e melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) e botões florais de cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*). Os vegetais foram coletados ou adquiridos no comércio local de Cruz das Almas-BA.

O material foi seco a 50 °C por três dias em estufa e triturado em liquidificador industrial até a consistência de pó. Após trituração, 10 g de cada material foram retirados separadamente em um béquer contendo 100 mL de água destilada esterilizada. O béquer foi imerso em banho ultrassônico (Elma Ultrasonic S10H (typ), f.: 50/60 Hz, P.: 90 W, Alemanha) que foi sonicado por 30 min a 30°C (MOREIRA et al., 2018).

As amostras foram transferidas para tubos de 50 mL esterilizados e centrifugadas (modelo DTR-16000-BI) a 3000 rpm por 10 min (ILIGER et al., 2020) para separação das partículas sólidas da solução extratora. Após esse processo, os resíduos foram descartados e os sobrenadantes (solução extratora aquosa) foram coletados e filtrados em papel filtro (Whatman nº 42) e armazenados a 4 °C para posterior uso.

### Determinação dos compostos fenólicos

A análise para detecção de compostos fenólicos seguiu a metodologia de Anjos et al. (2022) com modificações. Os compostos fenólicos totais foram determinados utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. Foi adicionado 200µL de reagente Folin-Ciocalteu em 100 µL da amostra diluída (1: 5) e 1 mL de uma solução saturada de carbonato de sódio. Após 1h de reação na ausência de luz, o volume foi transferido para uma cubeta de vidro de 1 cm de percurso ótico. A absorbância da solução resultante foi lida a 750 nanômetro (nm) em um espectrofotômetro e comparada com uma curva de calibração, previamente

preparada usando ácido gálico como padrão. As análises foram realizadas em triplicata.

### **Determinação dos flavonoides totais**

A determinação dos flavonoides seguiu a metodologia proposta por Anjos et al. (2022) com modificações. Uma alíquota de 1mL das amostras foi transferida para balões volumétricos de 10 mL, contendo 2,0 mL de uma solução etanólica de  $\text{AlCl}_3$  (5%, m v<sup>-1</sup>). O volume foi completado com uma solução hidroalcoólica (40%, v v<sup>-1</sup>). Após os procedimentos esperou-se 30 min antes de realizar as leituras em um espectrofotômetro TECNAL® a 408 nm. A curva de calibração para determinar a concentração de flavonoides totais foi feita com o padrão de quercetina. As análises foram realizadas em triplicata.

### **Síntese de nanopartículas de cobre**

Para síntese de nanopartículas de cobre com extratos vegetais, 10 mL de cada extrato aquoso (folhas e botões florais) foram adicionados a 100 mL da solução aquosa de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  à 10mM. As misturas foram constantemente agitadas em agitador magnético por 1h. Em seguida, as soluções foram autoclavadas, a 120 °C por 15 min. Após o processo de autoclavagem, as amostras foram transferidas para tubos de 50mL e centrifugadas a 5000 rpm (modelo DTR-16000-BI) por 25 min. Os sobrenadantes das soluções foram decantados e os resíduos foram lavados com água destilada esterilizada. Os precipitados assim obtidos foram secos em estufa a 60 °C por 12 h (ILIGER et al., 2020).

### **Caracterização das nanopartículas**

A detecção preliminar da formação de nanopartículas de cobre (CuNPs) sintetizadas com coentro (CuNPs-COE), tomilho (CuNPs-TOM), melão-de-são-caetano (CuNPs-MS), eucalipto (CuNPs-EUC) e cravo (CuNPs-CR) foram observada pela mudança visual de cor. Os tratamentos foram caracterizados pela avaliação de espectroscopia UV-visível em espectrofotômetro USB4000-XR1-ES resolução de 1,3nm. Para essa análise 2mL das soluções dos tratamentos foram



postas em cubetas de quartzo e lidas no espectrofotômetro no comprimento de onda na faixa de 200 a 800 nm (AMJAD et al., 2021). O extrato também foi analisado para desconsiderar qualquer interferência na banda de absorção das nanopartículas.

### **Obtenção do Isolado de *Colletotrichum* sp.**

O isolado de *Colletotrichum* sp. foi obtido de frutos de mamão com tecidos infectados. Os fragmentos foram mergulhados em solução de hipoclorito de sódio a 1% por 1 min e, em seguida, foram transferidos para uma solução de álcool a 70% por 1 min. Após a desinfestação, os fragmentos foram lavados com água destilada esterilizada e transferidos sob condições assépticas para as placas de Petri de 90 mm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) e cultivados por 5 dias. O isolado foi identificado com base em suas características culturais e morfológicas, como a cor das colônias e a forma dos seus esporos usando microscópio de luz. Após a identificação, procedeu-se o teste de patogenicidade por meio da inoculação do isolado em fruto de mamão. Para isso, a superfície do fruto foi tratada com hipoclorito de sódio a 1% por 2 min e, em seguida, lavados com água esterilizada. A inoculação foi realizada por meio da deposição de um disco de meio contendo micélio sobre o fruto. Após esse procedimento, o fruto foi mantido em câmara úmida por 48h até o desenvolvimento das lesões. Em seguida, procedeu-se o isolamento em meio de cultura BDA, os fungos foram mantidos em câmara BOD a 27 ° C por 10 dias para posterior uso.

### **Efeito antifúngico de nanopartículas de cobre biossintetizadas**

Para a avaliação da atividade antifúngica, as nanopartículas de cobre sintetizadas foram testadas nas concentrações de 20, 80, 150, 300, 600 e 900 mg mL<sup>-1</sup>. Como controle positivo, usou-se o oxiclreto de cobre (Recop®) a 1250 mg mL<sup>-1</sup> e CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (concentração). As suspensões de nanopartículas foram adicionadas ao meio BDA fundido nas respectivas concentrações. O meio incorporado foi então vertido em placas de Petri esterilizadas sob condições assépticas. O meio BDA sem incorporação de nanopartículas e controles foi usado como testemunha. Discos de micélio de 5 mm retirados de cultura com 10 dias de

idade foram colocados no centro de cada placa seguido de incubação a  $27 \pm 1$  °C por 8 dias. Observações sobre o diâmetro micelial de fungo foram registradas aos quatro e oito dias de incubação no sentido diametricamente oposto, com auxílio de uma régua. A inibição do crescimento (%) foi calculada usando a fórmula abaixo:

Onde,

$$I = \frac{DC - DT}{DC} \times 100$$

I = porcentagem de inibição (%); DC = Diâmetro do crescimento no controle (mm);

T = Diâmetro crescimento no tratamento (mm)

### **Análise estatísticas**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 repetições por tratamento. Os dados de percentual de inibição relativa à testemunha foram submetidos a análise de regressão linear simples. Os valores de intercepto ( $\alpha$ ) e coeficiente angular ( $\beta$ ) obtidos de cada regressão foram utilizados na equação  $Y=\alpha+\beta X$  para calcular a DE50 (dose efetiva para inibição de 50% do crescimento micelial). Os dados foram também submetidos a análise de variância e ao teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). A média de cada tratamento foi comparada com o controle positivo oxiclóreto de cobre por meio do teste t de Student ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Detecção de compostos fenólicos totais e flavonoides dos extratos vegetais

A análise fitoquímica dos extratos indicou a presença de fenólicos e flavonoides em todos os extratos aquosos. O extrato de cravo apresentou um maior teor de fenólicos totais e flavonoides, seguido do extrato de eucalipto e tomilho (tabela 1).

Observou-se que após a síntese de nanopartículas ocorreu uma redução dos compostos fenólicos, evidenciando sua ação redutora para o  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , principalmente para os extratos de eucalipto e cravo em (79,81 e 69,58%, respectivamente). Para a classe dos flavonoides, notou-se um papel redutor acentuado para todos os extratos, destacando principalmente o MSC com uma redução de 96,10%, seguido do cravo com 95,76%, coentro 94,17% e tomilho com 89,02%. A presença de fenólicos e flavonoides nos extratos podem ser os principais responsáveis pelo processo de biorredução do cobre (DEEPAK et al., 2019). Segundo Marslin et al. (2018), os flavonoides apresentam uma boa participação no processo de síntese verde.

**Tabela 1-** Análise fitoquímica do extrato de folha de tomilho, eucalipto, melão-de-são-caetano (MSC) e botões florais de cravo.

Extratos* aquoso	Fenólicos totais <sup>1</sup>		Flavonoides <sup>2</sup>	
	Antes	Após síntese	Antes	Após síntese
Tomilho	43,37	27,08	12,94	1,42
Eucalipto	63,47	12,81	5,72	0,392
MSC	7,58	6,74	3,67	0,143
Cravo	86,15	26,21	16,60	0,702
Coentro	15,24	7,81	4,79	0,279

<sup>1</sup> Concentração expressa em mg de Ac. Gálico  $\text{g}^{-1}$ ; <sup>2</sup> Concentração expressa em mg de Quercetina  $\text{g}^{-1}$ . MSC: melão-de-são-caetano.

A presença de compostos fitoquímicos nos extratos vegetais, principalmente flavonoides e fenóis, são de grande valia para o processo de síntese verde de nanopartículas metálicas (NASEER et al., 2020), pois apresentam perspectivas econômicas, uma vez que, reduzem o uso de produtos químicos utilizados na formação de nanopartículas com métodos químicos, é viável ecologicamente, possuem propriedades antioxidantes e antibacterianas.

Estudos comprovaram a eficácia desses extratos como agente redutor de cobre. Rajesh et al. (2018) verificaram a formação de nanopartículas de cobre sintetizadas com extratos de *Syzygium aromaticum*. Nasrollahzadeh et al. (2016) comprovaram que o extrato aquoso de folhas de *Thymus vulgaris* L pode atuar tanto como agente redutor quanto como agente capeador de óxido de cobre (CuO). Asghar e Asghar, (2020) afirmam que o extrato aquoso de *Eucalyptus camaldulensis* é um agente redutor de nanopartículas de cobre (CuNPs). Apesar de ter apresentado baixos teores de fenólicos totais e flavonoides, os extratos de melão- de-são-caetano e coentro também podem atuar como agentes redutores de CuNPs. Qamar et al. (2020) e Ekezie et al. (2017) constataram a redução de íons de cobre utilizando extrato de *Momordica charantia*. Sarkar et al. (2021) verificaram a síntese de nanopartículas de óxido de cobre com extratos de *Coriandrum sativum*.

### **Síntese de nanopartículas de cobre com extratos vegetais**

A mudança na cor da mistura é o primeiro indicador para a formação de NPs metálicas. Após a adição dos extratos de folhas (coentro, tomilho, eucalipto, MSC) e botão floral de cravo percebe-se uma leve alteração de cor na solução de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  após 1h (Fig. 1, C) quando comparado com a soluções aquosas dos extratos (Fig.1, A) demonstrando a possível presença de cobre na solução. A solução combinada, foi submetida a uma temperatura de 120 °C, a fim de favorecer o processo de formação das nanopartículas na solução. Após o processo de autoclavagem, nota-se uma coloração mais intensa das soluções e formação de precipitados (Fig.1, D). A mudança de cor está associada com a interação entre os elétrons de condução das nanopartículas metálicas e os fótons incidentes (JANA et al., 2016), ou seja, ao fenômeno de ressonância plasmônica de superfície (SPR) (KRITHIGA et al., 2013).

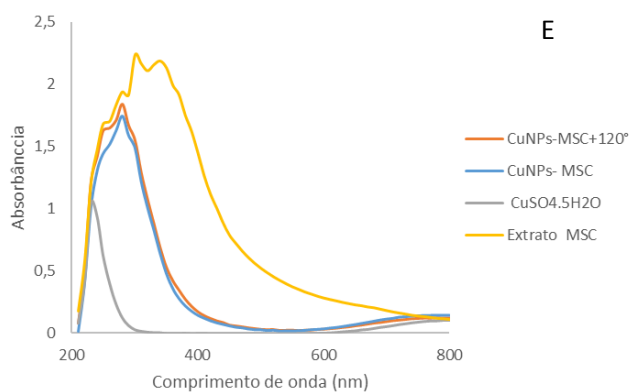
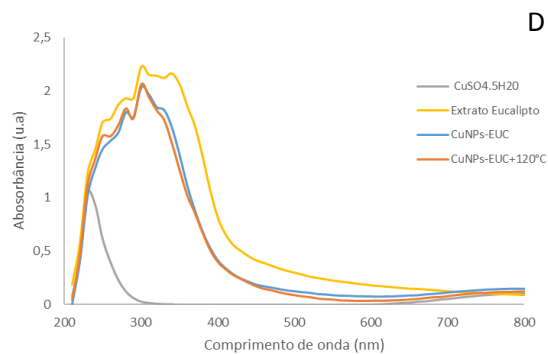
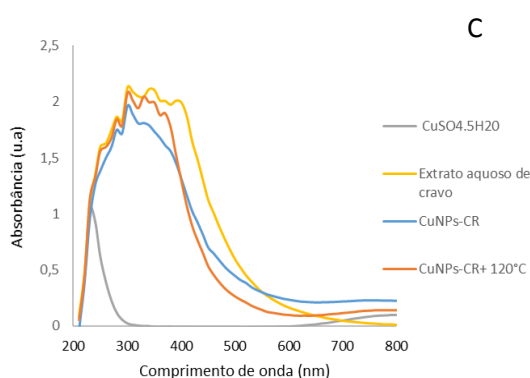
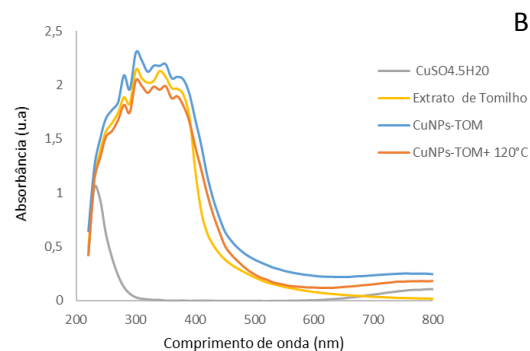
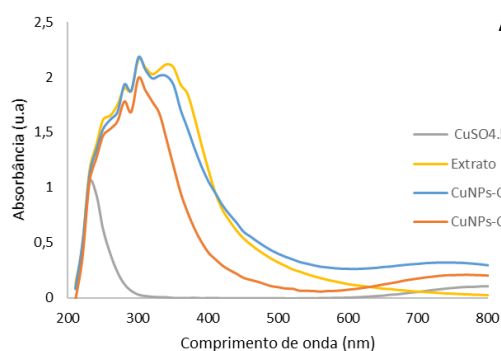


**Figura 1** - Indicação de cor da síntese e de nanopartículas de cobre A) extrato aquoso; B) solução de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (10mM); C) Alteração da cor dos extratos 1h após a adição de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; D) Alteração da cor dos extratos após reação de síntese e autoclavagem ( $120^\circ\text{C}/15\text{min}$ ).

Para verificar o efeito dos extratos na redução do  $\text{CuSO}_4$  em nanopartículas de cobre (CuNPs), foi realizada uma avaliação por espectroscopia UV-Visível nos comprimentos de onda de 200-800nm, técnica utilizada para averiguar a redução do íon  $\text{Cu}^+$ . A Figura 2 mostra os espectros de absorção UV-vis registrados para o extrato de coentro (A), tomilho (B), cravo (C), eucalpto (D) e MSC (E) antes e após o período de síntese, antes e após o tratamento térmico e a reação com  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  10mM. Como observado, o espectro de absorção UV-visível da solução contendo os extratos de coentro, cravo, tomilho, eucalpto e MSC antes da adição do  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (curva amarela) apresentaram dois picos de absorção máxima em 300-350nm; 310-350nm; 310-340nm; 310-350nm e 310-350nm, respectivamente. Após a adição de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  sem o tratamento térmico (curva azul) observou-se uma redução das bandas entre 290-300nm, 300nm, 280-300nm, 280-310nm e 280nm. Para a síntese submetida a temperatura de  $120^\circ\text{C}$  (curva laranja), as reduções das bandas foram observadas nos comprimentos de 280-300nm, 310-340nm, 290-310nm, 290-310nm, 250-280nm respectivamente.

Acredita-se que as absorbâncias com picos em torno de 300-340nm, podem estar associados à presença de proteínas, enzima, compostos fenólicos e flavonoide, elementos característicos da redução de íons de  $\text{CuSO}_4$  (JAIN et al.,

2009; NASROLLAHZADEH et al., 2016). Nasrollahzadeh et al. (2016) verificaram picos de absorbância máxima (285-342nm) para extratos de folhas de tomilho. Os autores afirmaram que a absorbância está associada às transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  e essas ligações absorventes demonstram a presença de polifenóis como fonte antioxidante para a síntese verde de nanopartículas.



**Figura 2-** Espectro de absorção UV-vis de CuNPs preparados com extrato de coentro (A), tomilho (B), cravo (C), eucalipto (D) e melão-de-são-caetano-MSC (E). Os extratos e a solução de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , foram usados como controle (curva amarela e cinza do gráfico). As curvas azuis (sem tratamento térmico) e laranja (com tratamento de  $120^\circ\text{C}/15\text{min}$ ) são da solução formada no final da reação após 1h.

Nesse estudo, absorbância de CuNPs variaram entre 290-310nm. Outros autores relataram que as nanopartículas de CuO podem absorver em comprimento de onda que variam de 200-300nm (SIVARAJ et al., 2014). Ahmad et al. (2020) encontram um pico de absorção entre 260nm e uma baixa faixa de absorção em 650nm para nanopartículas de óxido cuproso ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) e óxido cúprico (CuO). Mali et.al (2020) trabalhando na síntese nanopartículas de cobre com extratos de *Celastrus paniculatus* Willd, obtiveram um pico de absorção de 269nm. David et al. (2017) na biossíntese de nanopartículas de cobre com extratos de folhas de MSC, observaram que um pico de absorção de 246nm comprova a formação de CuONPs.

Vale ressaltar que a variação da absorção do comprimento de onda depende do agente redutor, tempo de reação, concentração e pH da solução. Padma et al. (2018) estudando CuNPs sintetizadas com extratos vegetais de *Ricinus communis*, *Punica granatum*, *Psidium guajava*, *Eucalyptus globules*, *Ocimum tenuiflorum*, *Tagetes* sp., *Phyllanthus emblica* relataram uma absorção máxima de 450 nm em 30 min da reação. Os autores verificaram também, a síntese com diferentes partes vegetais (folhas, cascas de frutas, sementes e flores) de *Punica granatum* constaram que à medida que a concentração de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  aumenta (1 mM, 5 mM, 10 mM e 20 mM) a densidade óptica das nanopartículas sintetizadas a partir do extrato concentrado de casca de frutas aumentou até 10 mM e depois diminuiu. Rajesh et al. (2018) observaram uma absorção máxima de 580 nm utilizando *S. aromaticum* com acetato cúprico.

### **Potencial Antifúngico das CuNPs biossintetizado com extratos vegetais**

No presente estudo, CuNPs biossintetizadas foram usadas para verificar a atividade antifúngica. Na tabela 2, observa-se que independente do extrato utilizado

na síntese de nanopartículas, o tratamento controle (Oxicloreto de cobre) apresentou a maior porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp., se diferenciando dos demais tratamentos. Quanto as concentrações de CuNPs, a CuNPs-MSM proporcionou maior inibição de crescimento na concentração 900mg mL<sup>-1</sup>, chegando a representar aproximadamente 50% do valor de inibição do fungicida. No entanto, não se diferenciou da concentração 150mg mL<sup>-1</sup> e 600mg mL<sup>-1</sup>. Para as concentrações de CuNPs-EUC o valor de inibição encontrado na concentração 600mg mL<sup>-1</sup> chegou a representar 54,52% do valor do controle, sendo que este se diferenciou das demais concentrações.

Os possíveis mecanismos de ação das CuNPs, podem estar relacionados com o tamanho das partículas e a quantidade de compostos bioativos disponíveis no extrato vegetal. Segundo Zare et al. (2019) quanto menor o tamanho da nanopartícula maior a atividade antimicrobiana, devido relação superfície/volume e quantidade de compostos bioativos disponíveis no extrato vegetal, do mesmo modo que, nanopartículas menores apresentam facilidade de adentrar na célula do patógeno. Esses fatores podem contribuir para mudanças na estrutura e função da célula do fungo (MALI et al., 2020).

No entanto, outros estudos utilizando nanopartículas bioconjugadas com extratos de eucalipto e MSM demonstraram-se eficazes no controle de patógenos. Illiger et al. (2021) avaliaram o controle da podridão dos frutos em pimenta causada por *Colletotrichum capsici* utilizando nanopartículas de cobre sintetizadas com extrato de *Eucalyptus globulus*. Nesta abordagem, as nanopartículas proporcionaram melhores resultados em comparação fungicidas padrão (Oxicloreto de cobre e Carbendazim), as concentrações 500 e 1000 ppm, com uma inibição de 85,19% e 93,75%. Qamar et al. (2020) observou um efeito moderado no controle *Trichophyton rubrum* com uma zona de inibição de 12mm utilizando nanopartículas bioconjugadas com MSM.



**Tabela 2-** Efeito de nanopartículas no crescimento micelial de *Colletotrichum* sp., após 8 dias de incubação.

CuNPs	20	80	150	300	600	900
	mg mL <sup>-1</sup>					
<b>MSC</b>	1,80**e	21,62**d	30,25*bc	23,62**cd	29,00***bc	31,93***b
<b>EUC</b>	1,37**e	1,50 <sup>ns</sup> /e	14,25 <sup>ns</sup> /cd	3,12 <sup>ns</sup> /de	34,62***b	17,00 <sup>ns</sup> /c
<b>CR</b>	24,28***b	8,57**c	29,71*b	23,00**b	27,71***b	26,57***b
<b>COE</b>	13,75***c	22,75***b	21,25 <sup>ns</sup> /b	23,75**b	7,50 <sup>ns</sup> /c	28,00***b
<b>TOM</b>	23,14***bc	17,42***c	25,71 <sup>ns</sup> /bc	19,71*bc	24,00***bc	28,00***b
<b>CuSO<sub>4</sub>. 5H<sub>2</sub>O</b>	0	0	20,2	5,6	12,18	13,59
<b>Oxicloreto de Cobre</b>	63,5a					

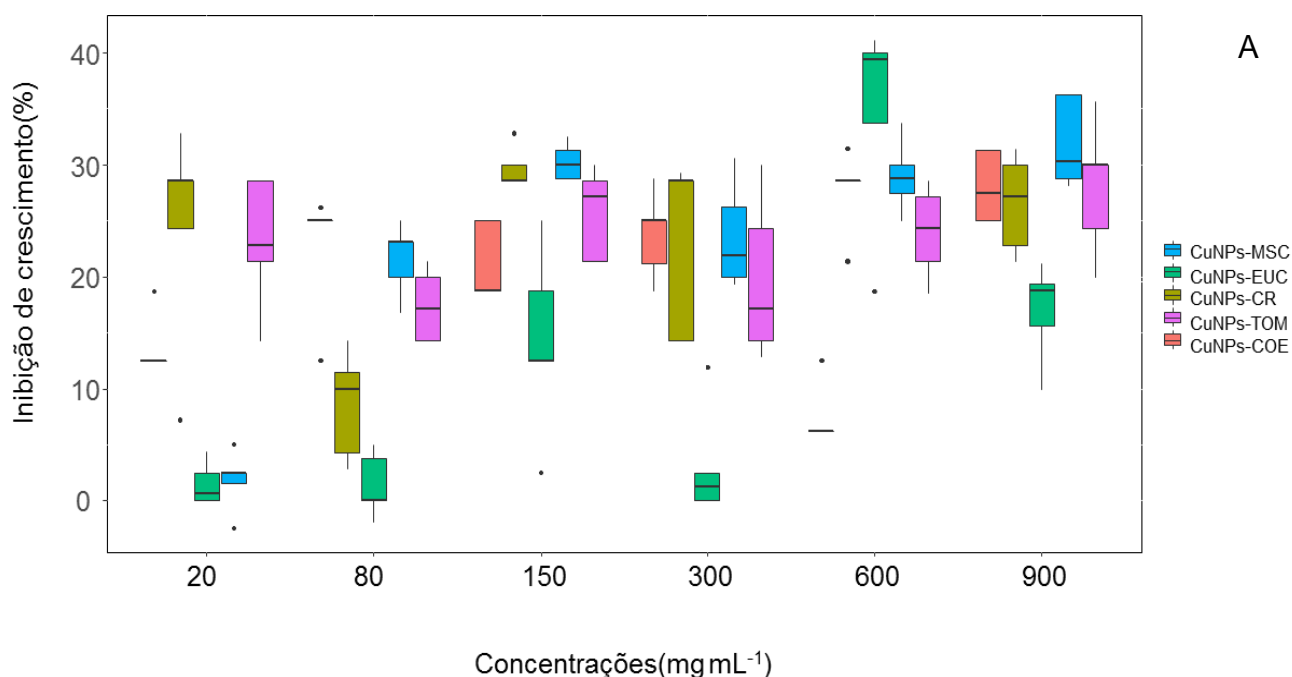
Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. \*\* significativo a 5% pelo teste t \*\*\* significativo a 1% pelo teste t.

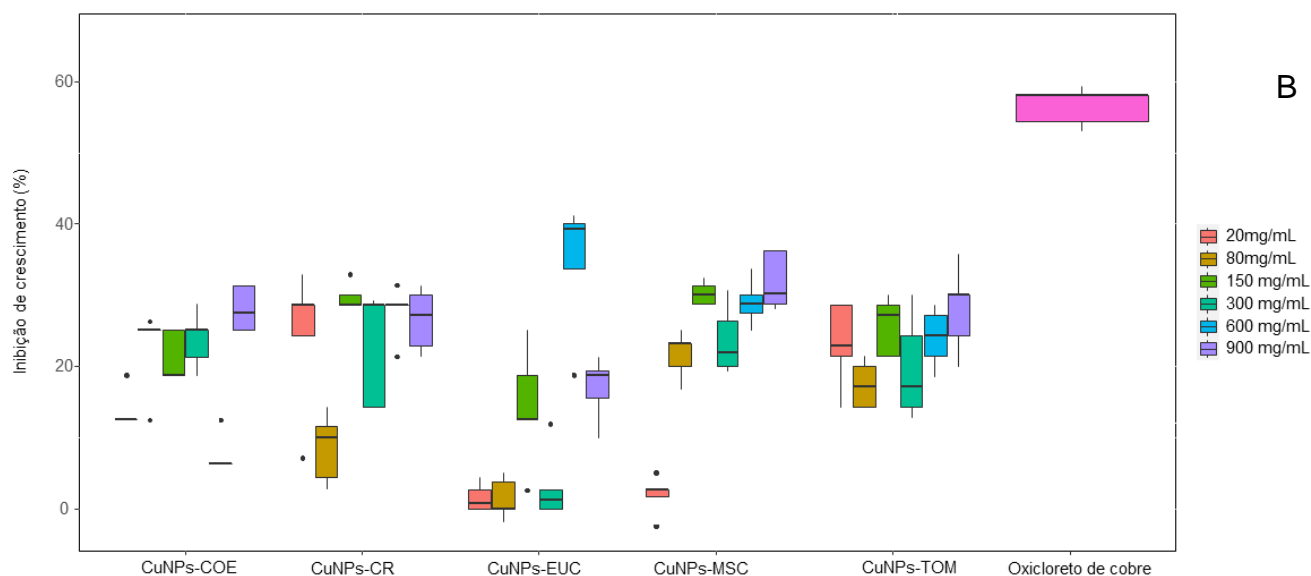
A atividade antifúngica máxima das CuNPs-CR foi encontrada nas concentrações de 20mg mL<sup>-1</sup>, 150mg mL<sup>-1</sup>, 300mg mL<sup>-1</sup>, 600mg mL<sup>-1</sup> e 900mg mL<sup>-1</sup>, que não diferiram entre si. As CuNPs-COE apresentaram maiores inibições nas concentrações de 80mg mL<sup>-1</sup> e 150mg mL<sup>-1</sup>, 300mg mL<sup>-1</sup> e 900mg mL<sup>-1</sup>, que não se diferenciaram entre si. A atividade antifúngica das CuNPs-TOM foram maiores nas concentrações 20mg mL<sup>-1</sup>, 150mg mL<sup>-1</sup>, 600mg mL<sup>-1</sup> e 900mg mL<sup>-1</sup>, que não diferenciaram entre si. Rajesh et al. (2018) observaram um efeito de fungicida contra *Penicillium* spp. com uma zona de inibição de 6 mm, na concertação de 16 µl de volume de CuNPs biossintetizadas com extrato de cravo. Weisany et al. (2019), no estudo de nanoencapsulação com óleo essencial de tomilho e endro em nanopartículas de cobre (NPs), constataram uma inibição máxima no crescimento micelial de *C. nymphaeae* na concentração de 600 ppm após 6 dias de incubação. Balciunaitiene et al. (2021) estudaram o efeito de nanopartículas de prata sintetizadas com extratos de tomilho e constaram a eficácia deste no controle cepas

bacterianas. Os autores enfatizaram a importância do tamanho da partícula formada e ação desta na parede celular das bactérias.

Ainda na tabela 2, encontra-se os resultados do teste t não pareado entre as concentrações das nanopartículas biossintetizadas e concentrações do  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . Para todas concentrações CuNPs-MSc e CuNPs-CR, ocorreu diferença significativa quando comparada com as concentrações de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , indicando que as nanopartículas biossintetizadas apresentaram uma maior inibição. Diferente das CuNPs-EUC que apresentaram significância apenas para concentrações 20 e  $600\text{mg mL}^{-1}$ . Já CuNPs-COE e CuNPs-TOM, não apresentaram significância apenas na concentração  $150\text{mg mL}^{-1}$ . Mali et al. (2020) constatam a ineficácia do  $\text{CuSO}_4$  (1%) na inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum*.

Houve variação da inibição do crescimento micelial em função dos extratos em cada concentração testada, com destaque para CuNPs-Eu, CuNPs-TOM e CuNPs-MSc (Figura 1- A e B).





**Figura 3-** Box Plot resumindo o efeito de nanopartículas no crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. após 8 dias de incubação.

Apesar de não conter informações precisas sobre qual o mecanismo de ação das nanopartículas de cobre nas células fúngicas, alguns autores elucidam teorias sobre as suas possíveis funções. A natureza física do mecanismo de ação das nanopartículas está relacionada com o magnetismo eletrostático, uma vez que, as nanopartículas apresentam capacidade de se fixar na parede celular, o que irá permitir uma maior facilidade de penetração, ocasionando desintegração de membranas e alteração do funcionamento de proteínas (CHAKRAPANI et al., 2014; TRIPATHI et al., 2017).

Mecanismos químicos também são observados com a ação dessas nanopartículas metálicas em células fúngicas. Estudos afirmam que durante a interação entre as nanopartículas e as células fúngicas ocorre a indução ao estresse oxidativo, favorecido pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) e, conseqüentemente, a morte celular (WEISANY et al., 2019). Pariona et al. (2019) avaliando o efeito de nanopartículas de cobre em patógenos de plantas constataram que houve alterações na morfologia dos micélios dos fungos *F. solani*, *Neofusicoccum* sp. e *F. oxysporum*. Os autores observaram diferentes níveis de danos nas paredes celulares, o que ocasiona vazamento do conteúdo intracelular e a diminuição do tamanho das hifas, indicando que o estresse oxidativo

causado pelas nanopartículas de cobre pode ter afetado a síntese de algum constituinte estruturalmente importante da parede celular dos fungos. Ashraf et al. (2020) estudando nanopartículas de prata sintetizadas com extratos de *Melia azedarach* também propuseram que a deformação do micélio ocorreu pela ação de nanomateriais, com alterações morfológicas na célula, como danos na superfície e inflamação, bem como perda da integridade da parede celular, em *Fusarium oxysporum*.

Houve variação nos valores de ED50 e ED90 entre os extratos (Tabela 3). A menor ED50 foi CuNPs-MSD, seguido por CuNPs-EUC e CuNPs-CR. O valor de ED90 seguiu a ordem CuNPs-EUC, CuNPs-MSD e CuNPs-CR, com os valores de CuNPs-EUC (3460,2 mg mL<sup>-1</sup>) e CuNPs-MSD (3547,1 mg mL<sup>-1</sup>) próximos.

**Tabela 3-** Dose efetiva de nanopartículas de cobre para inibição de 50% e 90% do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp.

Tratamento	ED50 ( mg mL <sup>-1</sup> )	ED90 ( mg mL <sup>-1</sup> )
CuNPs-COE	8764,1	19810,0
CuNPs-TOM	4240,1	10015,4
CuNPs-CR	3314,6	7770,0
CuNPs-MSD	1632,3	3547,1
CuNPs-EUC	1861,4	3460,2

Diante dos resultados obtidos nesse estudo, é necessário compreender os mecanismos de ação das nanopartículas sobre o patógeno, além de realizar outras análises que ajudam a compreender essa interação. Embora os resultados neste trabalho sejam considerados preliminares, podem ser úteis como referência em trabalhos futuros.

## CONCLUSÃO

Com base na avaliação visual e das curvas de espectro de absorção UV-vis, houve a redução de íons de cobre com possível formação de nanopartículas;

As nanopartículas obtidas a partir dos extratos de folhas de coentro, melão-de-são-caetano, tomilho eucalipto e botões florais de cravo reduzem parcialmente o crescimento micelial *Colletotrichum* sp.;

As CuNPs-MSM teve um bom desempenho em relação aos tratamentos estudados.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, H.; VENUGOPAL, K.; BHAT, A.H.; KAVITHA, K.; RAMANAN, A.; RAJAGOPAL, K.; MANIKANDAN, E. Enhanced biosynthesis synthesis of copper oxide nanoparticles (CuO-NPs) for their antifungal activity toxicity against major phyto-pathogens of apple orchards. **Pharmaceutical Research**, v. 37, n. 12, p. 1-12, 2020.
- AHMED, S.; AHMAD, M.; SWAMI, B. L.; IKRAM, S. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. **Journal of advanced research**, v. 7, n. 1, p. 17-28, 2016.
- ALI, M.; KIM, B.; BELFIELD, K. D.; NORMAN, D.; BRENNAN, M.; ALI, G. S. Inhibition of *Phytophthora parasitica* and *P. capsici* by silver nanoparticles synthesized using aqueous extract of *Artemisia absinthium*. **Phytopathology**, v. 105, n. 9, p. 1183-1190, 2015.
- AMJAD, R.; MUBEEN, B.; ALI, S.S.; IMAM, S.S.; ALSHEHRI, S.; GHONEIM, M.M.; KAZMI, I. Green Synthesis and Characterization of Copper Nanoparticles Using *Fortunella margarita* Leaves. **Polymers**, v. 13, n. 24, p. 4364, 2021.
- ANJOS, G.L.; MOREIRA, G.C.; CARNEIRO, C.N.; DIAS, F.D.S. Effect of phyto-regulators on the composition of phenolic compounds in chili peppers (*Capsicum frutescens*) and exploratory analysis. **Scientia Horticulturae**, v. 292, p. 110660, 2022.
- ASGHAR, M. A.; ASGHAR, M. A. Green synthesized and characterized copper nanoparticles using various new plants extracts aggravate microbial cell membrane damage after interaction with lipopolysaccharide. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 1168-1176, 2020.
- ASHRAF, H.; ANJUM, T.; RIAZ, S.; NASEEM, S. Microwave-assisted green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Melia azedarach* for the management of *Fusarium* wilt in tomato. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 238, 2020.
- BALCIUNAITIENE, A.; VISKELIS, P.; VISKELIS, J.; STREIMIKYTE, P.; LIAUDANSKAS, M.; BARTKIENE, E.; LELE, V. Green synthesis of silver nanoparticles using extract of *Artemisia absinthium* L., *Humulus lupulus* L. and *Thymus vulgaris* L., physico-chemical characterization, antimicrobial and antioxidant activity. **Processes**, v. 9, n. 8, p. 1304, 2021.
- CHAKRAPANI, V.; AHMED, K.B.A.; KUMAR, V.V.; GANAPATHY, V.; ANTHONY, S.P.; ANBAZHAGAN, V. A facile route to synthesize casein capped copper nanoparticles: an effective antibacterial agent and selective colorimetric sensor for mercury and tryptophan. **RSC Advances**, v. 4, n. 63, p. 33215-33221, 2014.
- DAVID, S. A.; RAJADURAI, S. I.; KUMAR, S. V. Biosynthesis of copper oxide nanoparticles using *Momordica charantia* leaf extract and their characterization.

**International Journal of Advanced Research in Science, Engineering and Technology**, v. 6, p. 313-320, 2017.

DEEPAK, P.; AMUTHA, V.; KAMARAJ, C.; BALASUBRAMANI, G.; AISWARYA, D.; PERUMAL, P. Chemical and green synthesis of nanoparticles and their efficacy on cancer cells. In: Green synthesis, characterization and applications of nanoparticles. **Elsevier**, 2019. p. 369-387.

DROBY, S.; WISNIEWSKI, M.; MACARISIN, D.; WILSON, C. Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm?. **Postharvest biology and technology**, v. 52, n. 2, p. 137-145, 2009.

EKEZIE, F.G.C.; SUNEETHA, W.J.; MAHESWARI, K.U.; KUMARI, B.A.; PRASAD, T.N.V.K.V. Green Synthesis of Copper Nanoparticles Using *Momordica charantia* Fruit Extracts and Evaluation of Their Anti-Microbial Efficacy. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 4, p. 99-109, 2017.

ELUMALAI, K.; VELMURUGAN, Sivasangari. Green synthesis, characterization and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles from the leaf extract of *Azadirachta indica* (L.). **Applied Surface Science**, v. 345, p. 329-336, 2015.

ILIGER, K. S.; SOFI, T. A.; BHAT, N. A.; AHANGER, F. A.; SEKHAR, J. C.; ELHENDI, A. Z.; KHAN, F. Copper nanoparticles: Green synthesis and managing fruit rot disease of chilli caused by *Colletotrichum capsici*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 2, p. 1477-1486, 2021

JANA, J.; GANGULY, M.; PAL, T. Enlightening surface plasmon resonance effect of metal nanoparticles for practical spectroscopic application. **RSC advances**, v. 6, n. 89, p. 86174-86211, 2016.

JIA, B.; MEI, Y.; CHNG, L.; ZHOU, J.; ZHANG, L. Preparation of copper nanoparticles coated cellulose films with antibacterial properties through one-step reduction. **ACS applied materials & interfaces**, v. 4, n. 6, p. 2897-2902, 2012

KHAN, M. R.; RIZVI, T. F. Nanotechnology: scope and application in plant disease management. **Plant Pathology Journal (Faisalabad)**, v. 13, n. 3, p. 214-231, 2014.

KRITHIGA, N.; JAYACHITRA, A.; RAJALAKSHMI, A. Synthesis, characterization and analysis of the effect of copper oxide nanoparticles in biological systems *Indian Journal of NanoScience* v. 1, p. 6-15, 2013.

KUMAR, A.; KUDACHIKAR, V. B. Antifungal properties of essential oils against anthracnose disease: a critical appraisal. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 125, n. 2, p. 133-144, 2018.

LETCHUMANAN, D.; SOK, S. P.; IBRAHIM, S.; NAGOOR, N. H.; ARSHAD, N. M. Plant-based biosynthesis of copper/copper oxide nanoparticles: an update on

their applications in biomedicine, mechanisms, and toxicity. **Biomolecules**, v. 11, n. 4, p. 564, 2021.

MAHADEVAKUMAR, S.; CHANDANA, C.; JANARDHANA, G. R. First report of *Colletotrichum truncatum* associated with anthracnose disease on tuberose (*Polianthes tuberosa*) in India. **Crop Protection**, v. 118, p. 1-5, 2019.

MALI, S. C.; DHAKA, A.; GITHALA, C. K.; TRIVEDI, R. Green synthesis of copper nanoparticles using *Celastrus paniculatus* Willd. leaf extract and their photocatalytic and antifungal properties. **Biotechnology Reports**, v. 27, p. e00518, 2020.

MARSLIN, G.; SIRAM, K.; MAQBOOL, Q.; SELVAKESAVAN, R.K.; KRUSZKA, D.; KACHLICKI, P.; FRANKLIN, G. Secondary metabolites in the green synthesis of metallic nanoparticles. **Materials**, v. 11, n. 6, p. 940, 2018.

MOREIRA, G. C.; DOS ANJOS, G. L.; CARNEIRO, C. N.; RIBAS, R. F.; DIAS, F. D. S. Phenolic compounds and photosynthetic activity in *Physalis angulata* L. (Solanaceae) in response to application of abscisic acid exogenous. **Phytochemistry Letters**, v. 40, p. 96-100, 2020.

NASEER, A.; ALI, A.; ALI, S.; MAHMOOD, A.; KUSUMA, H. S.; NAZIR, A.; IQBAL, M. Biogenic and eco-benign synthesis of platinum nanoparticles (Pt NPs) using plants aqueous extracts and biological derivatives: environmental, biological and catalytic applications. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 9, n. 4, p. 9093-9107, 2020.

NASROLLAHZADEH, M.; SAJADI, S. M.; ROSTAMI-VARTOONI, A.; HUSSIN, S. M. Green synthesis of CuO nanoparticles using aqueous extract of *Thymus vulgaris* L. leaves and their catalytic performance for N-arylation of indoles and amines. **Journal of colloid and interface science**, v. 466, p. 113-119, 2016.

PADMA, P. N.; BANU, S. T.; KUMARI, S. C. Studies on green synthesis of copper nanoparticles using *Punica granatum*. **Annual Research & Review in Biology**, p. 1-10, 2018.

PARIONA, N.; MTZ-ENRIQUEZ, A. I.; SÁNCHEZ-RANGEL, D.; CARRIÓN, G.; PARAGUAY-DELGADO, F.; ROSAS-SAITO, G. Green-synthesized copper nanoparticles as a potential antifungal against plant pathogens. **RSC advances**, v. 9, n. 33, p. 18835-18843, 2019.

QAMAR, H.; REHMAN, S.; CHAUHAN, D. K.; TIWARI, A. K.; UPMANYU, V. Green synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanomaterial derived from *Momordica charantia*. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 2541, 2020.

RAJESH, K. M.; AJITHA, B.; REDDY, Y. A. K.; SUNEETHA, Y.; REDDY, P. S. Assisted green synthesis of copper nanoparticles using *Syzygium aromaticum* bud extract: Physical, optical and antimicrobial properties. **Optik**, v. 154, p. 593-600, 2018.



SARKAR, N.; SHARMA, R. S.; KAUSHIK, M. Innovative application of facile single pot green synthesized CuO and CuO@ APTES nanoparticles in nanopriming of *Vigna radiata* seeds. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 11, p. 13221-13228, 2021.

SHAH, I. H.; ASHRAF, M.; SABIR, I. A.; MANZOOR, M. A.; MALIK, M. S.; GULZAR, S.; ZHANG, Y. Green synthesis and Characterization of Copper oxide nanoparticles using *Calotropis procera* leaf extract and their different biological potentials. **Journal of Molecular Structure**, v. 1259, p. 132696, 2022.

SITARA, U.; HASAN, N. Studies on the efficacy of chemical and non chemical treatments to control mycoflora associated with chilli seed. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 1, p. 95-110, 2011.

SIVARAJ, R.; RAHMAN, P. K.; RAJIV, P.; SALAM, H. A.; VENCKATESH, R. Biogenic copper oxide nanoparticles synthesis using *Tabernaemontana divaricate* leaf extract and its antibacterial activity against urinary tract pathogen. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 133, p. 178-181, 2014.

TRIPATHI, Durgesh Kumar et al. (Ed.). Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms: **Concepts and Controversies**: Volume 1. 2017.

VIEIRA, W.A.S.; BEZERRA, P.A.; DA SILVA, A.C.; VELOSO, J.S.; CÂMARA, M.P.S.; DOYLE, V.P. Optimal markers for the identification of *Colletotrichum* species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 143, p. 106694, 2020.

WEISANY, W.; SAMADI, S.; AMINI, J.; HOSSAINI, S.; YOUSEFI, S.; MAGGI, F. Enhancement of the antifungal activity of thyme and dill essential oils against *Colletotrichum nymphaeae* by nano-encapsulation with copper NPs. **Industrial Crops and Products**, v. 132, p. 213-225, 2019.

ZARE, M.; NAMRATHA, K.; THAKUR, M. S.; BYRAPPA, K. Biocompatibility assessment and photocatalytic activity of bio-hydrothermal synthesis of ZnO nanoparticles by *Thymus vulgaris* leaf extract. **Materials Research Bulletin**, v. 109, p. 49-59, 2019.

## ARTIGO 2

### POTENCIAL DE NANOPARTÍCULAS BIOSINTETIZADAS COM EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE *Alternaria* sp.

---

<sup>1</sup>Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*.

## **Potencial de nanopartículas de cobre biossintetizadas com extratos vegetais no controle de *Alternaria* sp.**

**Resumo:** *Alternaria* sp. é um dos fungos associados a podridões em diversas culturas, incluindo o mamão. Algumas espécies desse gênero produzem toxinas que causam danos em frutos e, conseqüentemente, limitam a sua comercialização causando perdas econômicas. Métodos alternativos de controle têm sido estudados, a fim de minimizar as perdas pós-colheita, como o uso de nanopartículas metálicas sintetizadas com extratos vegetais. Nesse sentido, nanopartículas (NPs) de cobre (Cu) foram sintetizadas com extratos vegetais de coentro (COE), tomilho (TOM), melão-de-são-caetano (MSC), eucalipto (EUC) e botões florais de cravo (CR) para avaliação do potencial antifúngico contra *Alternaria* sp. isolado de frutos de mamão. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e seis concentrações. O oxiclreto de cobre (Recop®) a 1250 mg mL<sup>-1</sup> foi utilizado como controle positivo. O fungicida (Oxicloreto de Cobre), apresentou melhores resultados quando comparados com os tratamentos. As nanopartículas CuNPS-MSC e CuNPs-COE nas concentrações de 150 e 900 mg mL<sup>-1</sup> causaram reduções do crescimento micelial acima de 20% quando comparadas com o controle. Para os demais tratamentos com CuNPs-EUC, CuNPs-TOM e CuNPs-CR a redução do crescimento micelial foi inferior a 20%. Nesse estudo, observou-se que mesmo aumentando a concentração de CuNPs, não ocorreu um efeito fungicida significativo. Os menores valores para ED50 e ED90 foram encontrados para CuNPs-MSC, CuNPs-COE e CuNPs-CR. CuNPs-MSC foi mais eficaz contra *Alternaria* sp. com um menor valor de ED50 (5675,4 mg mL<sup>-1</sup>).

**Palavras-chave:** Pós-colheita, síntese verde, atividade antifúngica, *Carica papaya*.

## Potential of copper nanoparticles biosynthesized with plant extracts to control *Alternaria* sp.

**Abstract:** *Alternaria* sp. is one of the fungi associated with rot in several crops, including papaya. Some species of this genus produce toxins that damage fruits and, consequently, limit their commercialization causing economic losses. Alternative control methods have been studied in order to minimize post-harvest losses, such as the use of metallic nanoparticles synthesized with plant extracts. In this sense, copper (Cu) nanoparticles (NPs) were synthesized with plant extracts of coriander (COE), thyme (TOM), bitter melon (MSC), eucalyptus (EUC) and clove flower buds (CR) to evaluate the antifungal potential against *Alternaria* sp. papaya fruit isolated. The design used was completely randomized with five treatments and six concentrations. Copper oxychloride (Recop®) at 1250 mg mL<sup>-1</sup> was used as a positive control. The fungicide (Copper Oxychloride) showed better results when compared to the treatments. The CuNPS-MSC and CuNPs-COE nanoparticles at concentrations of 150 and 900 mg mL<sup>-1</sup> caused reductions in mycelial growth above 20% when compared to the control. Treatments with CuNPs-EUC, CuNPs-TOM and CuNPs-CR reduced mycelial growth less than 20%. In this study, it was observed that even increasing the concentration of CuNPs, there was no significant fungicide effect. The lowest values for ED50 and ED90 were found for CuNPs-MSC, CuNPs-COE and CuNPs-CR. CuNPs-MSC was more effective against *Alternaria* sp. with a lower ED50 value (5675.4 mg mL<sup>-1</sup>).

**Keywords:** Post-harvest, green synthesis, antifungal activity, *Carica papaya*.

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Alternaria* está associado a doenças em diversas culturas, como a podridão em frutos, como no mamão (*Carica papaya* L.). Algumas espécies desse gênero são capazes de produzir toxinas que causam danos em frutos e, conseqüentemente, limitam a sua comercialização causando perdas econômicas (LOGRIECO et al., 2009). As doenças pós-colheita tendem a ser formadas a partir de infecções latentes que perduram até o amadurecimento dos frutos ou infecção iniciada durante ou após a colheita devido a estresses, senescência ou ferimentos (SUTTON et al., 2014).

O principal método de controle de podridão de pós-colheita é a aplicação de fungicidas, entretanto, o uso contínuo afeta não só os padrões de qualidade e a segurança alimentar, mas também podem causar a seleção de patógenos resistentes (VITALE et al., 2021). Nesse sentido, novas tecnologias estão sendo estudadas a fim de minimizar o uso desses produtos químicos, como a nanotecnologia. Esta tecnologia apresenta grande potencial para o setor agrícola, sendo uma alternativa viável para controle de doenças em plantas por meio do uso de nanomateriais (RAI e INGLE, 2012).

Os mecanismos de ação de nanopartículas sobre fungos ainda não foram explanadas, no entanto, estudos demonstram potencial para o controle de patógenos. Como por exemplo, o efeito de nanopartículas obtidas a partir da redução de cobre, zinco e prata com diferentes extratos vegetais no controle de fungos como *Fusarium* sp. *Colletotrichum gloesporioides* e *Alternaria citri* (BRAMHANWADE et al., 2016; AGUILAR-MÉNDEZ et al., 2011; SARDAR et al., 2022). Fungos desses gêneros são constantemente associados a doenças de pós-colheita.

Na biossíntese de nanopartículas, a síntese verde destaca-se como método ecologicamente correto que não requer produtos químicos tóxicos, pois a síntese por meios físicos e químicos tem elevado custo e pode produzir substâncias tóxicas (GABA, VARMA e GOEL, 2021). As plantas apresentam constituintes no extrato vegetal como polióis, terpenóides, polifenóis que são responsáveis pela biorredução de íons metálicos (OVAIS et al., 2018). Essas substâncias, além de promoverem a redução de íons, apresentam potencial de controle de fungos

associados às doenças de pós-colheita, por apresentarem uma rica fonte de conservantes e biocidas (MASTINO et al., 2021).

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo sintetizar nanopartículas de cobre com extratos vegetais, a fim de estudar suas propriedades antifúngicas contra *Alternaria* sp.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal e Obtenção dos extratos

A obtenção dos extratos vegetais aquosos se deu a partir de folhas secas e trituradas de tomilho (*Thymus vulgaris*), eucalipto (*Eucalyptus* sp.), coentro (*Coriandrum sativum*) e melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) e botões florais de cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*). Os vegetais foram coletados ou adquiridos no comércio local de Cruz das Almas-BA.

O material foi seco a 50 °C por três dias em estufa e triturado em liquidificador industrial até a consistência de pó. Após trituração, 10 g de cada material foram retirados separadamente em um béquer contendo 100 mL de água destilada esterilizada. O béquer foi imerso em banho ultrassônico (Elma Ultrasonic S10H (typ), f.: 50/60 Hz, P.: 90 W, Alemanha) que foi sonicado por 30 min a 30 °C, de acordo com a metodologia adaptada por Moreira et al. (2018).

As amostras foram transferidas para tubos de 50 mL esterilizados e centrifugadas (modelo DTR-16000-BI) a 3000 rpm por 10 min (ILIGER et al., 2020) para separação das partículas sólidas da solução extratora. Após esse processo, os resíduos foram descartados e os sobrenadantes (solução extratora aquosa) foram coletados e filtrados em papel filtro (Whatman nº 42) e armazenados a 4 °C para posterior uso.

### Síntese de nanopartículas de cobre

Para síntese de nanopartículas de cobre com extratos vegetais, 10 mL de cada extrato aquoso (folhas e botões florais) foram adicionados a 100 mL da solução aquosa de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  à 10mM. As misturas foram constantemente agitadas em agitador magnético por 1h. Em seguida, as soluções foram autoclavadas, a 120 °C por 15 min. Após o processo de autoclavagem, as amostras foram transferidas para tubos de 50mL e centrifugadas a 5000 rpm (modelo DTR-16000-BI) por 25 min. Os sobrenadantes das soluções foram decantados e os resíduos foram lavados com água destilada esterilizada. Os precipitados assim obtidos foram secos em estufa a 60 °C por 12 h (ILIGER et al., 2020).

### **Obtenção do Isolado de *Alternaria* sp.**

O isolado de *Alternaria* sp., foi obtido de frutos de mamão com tecidos infectados. Os fragmentos foram mergulhados em solução de hipoclorito de sódio a 1% por 1 min e, em seguida, foram transferidos para uma solução de álcool a 70% por 1 min. Após a desinfestação, os fragmentos foram lavados com água destilada esterilizada e transferidos sob condições assépticas para as placas de Petri de 90 mm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) e cultivados por 5 dias. O isolado foi identificado com base em suas características culturais e morfológicas, como a cor das colônias e a forma dos seus esporos usando microscópio de luz. Após a identificação, procedeu-se o teste de patogenicidade por meio da inoculação do isolado em fruto de mamão. Para isso, a superfície do fruto foi tratada com hipoclorito de sódio a 1% por 2 min e, em seguida, lavados com água esterilizada. A inoculação foi realizada por meio da deposição de um disco de meio contendo micélio sobre o fruto. Após esse procedimento, o fruto foi mantido em câmara úmida por 48h até o desenvolvimento das lesões. Em seguida, procedeu-se o isolamento em meio de cultura BDA, os fungos foram mantidos em câmara BOD a 27 ° C por 10 dias para posterior uso.

### **Efeito antifúngico de Nanopartículas de cobre bio-sintetizadas**

Para a avaliação da atividade antifúngica, as nanopartículas de cobre sintetizadas foram testadas nas concentrações de 20, 80, 150, 300, 600 e 900 mg mL<sup>-1</sup>. Como controle positivo, usou-se o oxicleto de cobre (Recop®) a 1250 mg mL<sup>-1</sup>. As suspensões de nanopartículas foram adicionadas ao meio BDA fundido nas respectivas concentrações. O meio incorporado foi então vertido em placas de Petri esterilizadas sob condições assépticas. O meio BDA sem incorporação de nanopartículas e controles foi usado como testemunha. Discos de micélio de 5 mm retirados de cultura com 10 dias de idade foram colocados no centro de cada placa seguido de incubação a 27 ± 1 °C por 8 dias. Observações sobre o diâmetro micelial de fungo foram registradas aos quatro e oito dias de incubação no sentido diametricamente oposto, com auxílio de uma régua. A inibição do crescimento (%) foi calculada usando a fórmula abaixo:



Onde,

$$I = \frac{DC - DT}{DC} \times 100$$

I = porcentagem de inibição (%); DC = Diâmetro do crescimento no controle (mm);  
T = Diâmetro crescimento no tratamento (mm)

### **Análises estatísticas**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 repetições por tratamento. Os dados de percentual de inibição relativa à testemunha foram submetidos a análise de regressão linear simples. Os valores de intercepto ( $\alpha$ ) e coeficiente angular ( $\beta$ ) obtidos de cada regressão foram utilizados na equação  $Y=\alpha+\beta X$  para calcular a DE50 (dose efetiva para inibição de 50% do crescimento micelial). Os dados foram também submetidos a análise de variância e ao teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). A média de cada tratamento foi comparada com o controle positivo oxiclóreto de cobre por meio do teste t de Student ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença na inibição do crescimento micelial de *Alternaria* sp. em função dos extratos e das concentrações (Tabela 1). Entretanto, o controle com fungicida (Oxicloreto de Cobre), apresentou melhores resultados quando comparados com os tratamentos. Nos tratamentos de CuNPs-MSc e CuNPs- COE as concentrações de 150 e 900mg mL<sup>-1</sup> causaram reduções do crescimento acima de 20%. Para os tratamentos de CuNPs-EUC, CuNPs-CR e CuNPs-TOM a redução do crescimento micelial foi inferior a 20%. Os resultados indicaram uma resposta independente da dose, mesmo aumentando a concentração de NPs, não ocorreu um efeito fungicida significativo.

**Tabela 1-** Efeito de nanopartículas no crescimento micelial de *Alternaria* sp. após 8 dias de incubação.

CuNPs	20	80	150	300	600	900
	mg mL <sup>-1</sup>					
<b>MSc</b>	1,87 <sup>c</sup>	7,75 <sup>c</sup>	16,50 <sup>b</sup>	0,62 <sup>c</sup>	6,37 <sup>c</sup>	15,75 <sup>b</sup>
<b>EUC</b>	1,75 <sup>bc</sup>	6,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>c</sup>	0,5 <sup>bc</sup>	0,00 <sup>c</sup>	5,00 <sup>bc</sup>
<b>CR</b>	1,00 <sup>c</sup>	0,05 <sup>c</sup>	3,75 <sup>bc</sup>	4,00 <sup>bc</sup>	0,05 <sup>c</sup>	8,00 <sup>b</sup>
<b>COE</b>	6,75 <sup>bcd</sup>	3,25 <sup>d</sup>	14,50 <sup>b</sup>	8,50 <sup>bcd</sup>	6,00 <sup>c</sup>	13,5 <sup>bc</sup>
<b>TOM</b>	8,25 <sup>b</sup>	5,25 <sup>c</sup>	8,75 <sup>b</sup>	12,12 <sup>b</sup>	6,25 <sup>bc</sup>	0,5 <sup>c</sup>
<b>Oxicloreto de cobre</b>	62,12 <sup>a</sup>					

Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O baixo potencial inibitório da *Alternaria* sp. pode estar relacionado com a constituição da parede celular do fungo. Espécies de *Alternaria*, são capazes de produzir melaninas de coloração vermelha, marrons ou pretas e são formadas pela polimerização oxidativa de compostos fenólicos ou indólicos (KHEDE et al, 2012). Essa melanina fúngica acumula-se na parede celular de conídios e hifas atuando com um mecanismo de defesa contra antifúngicos (EISENMAN e CASADEVALL, 2012), o que pode ter dificultado a passagem das CuNPs da

camada externa para interna da parede celular. A ação contra antifúngicos da presença de melanina na parede celular de *Alternaria* sp. foi descrita por Fernandes et al. (2016). Os autores constataram que a deposição de melanina nas paredes celulares de *A. infectoria* aumentou em resposta a nikcomicina-Z, caspofungina e itraconazol.

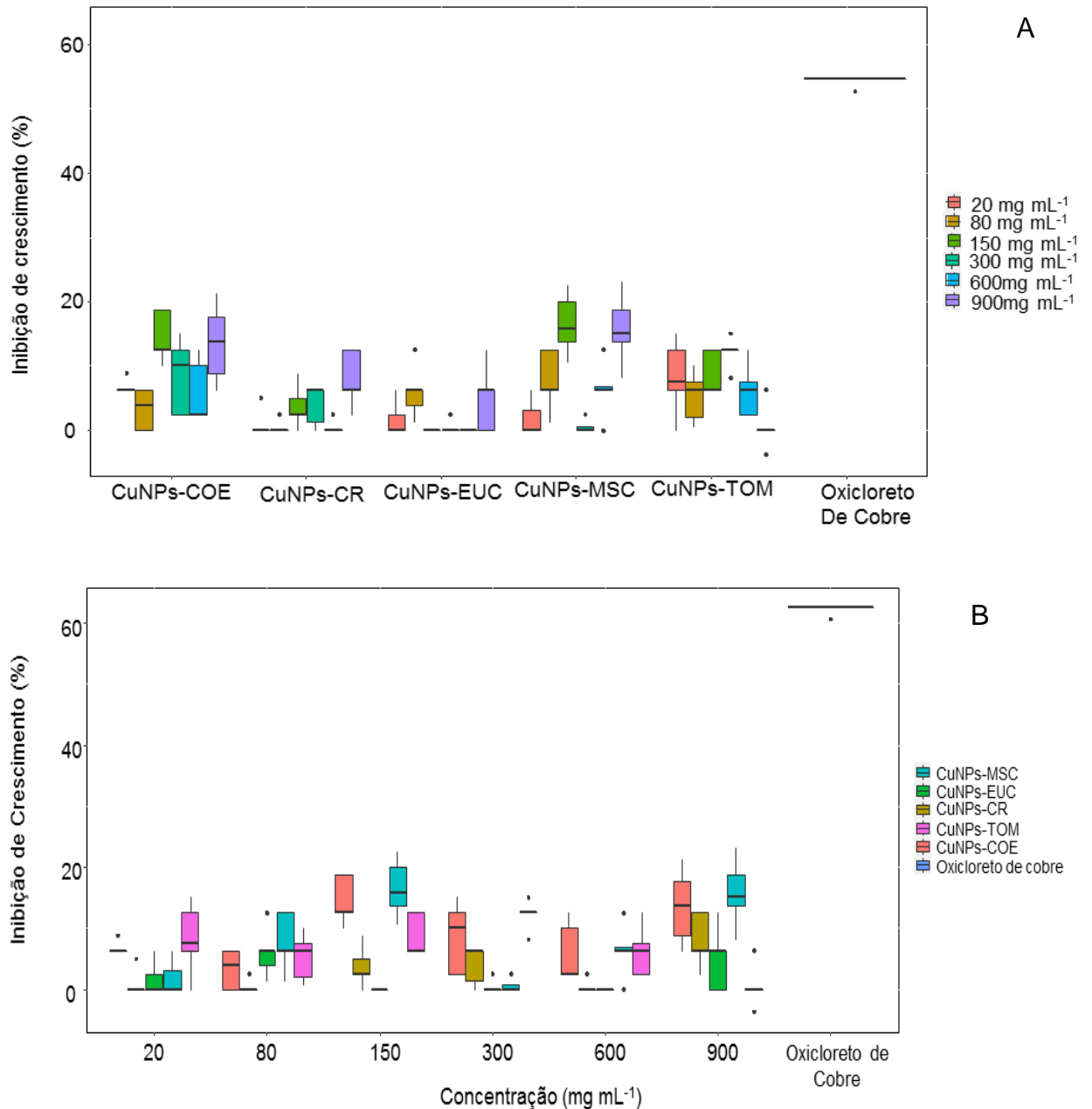
Outro fator que pode ter influenciado em nenhum ou baixo potencial inibitório, resulta na concentração de nanopartículas de cobre, que nesse estudo pode ter sido considerada baixa para *Alternaria* sp. Estudos relatam que a inibição do crescimento micelial de *Alternaria* sp. acima de 50% pode ser evidenciado em altas concentrações. Banik e Pérez-de-Luque, (2017) estudando o efeito de nanopartículas de cobre em patógenos de plantas, observaram que em baixas concentrações (100 mg L<sup>-1</sup>) *A. alternata* apresentou 23% de inibição e quando submetida a dosagens mais altas (800 mg L<sup>-1</sup>) inibiu completamente o crescimento micelial.

Diferentes resultados foram encontrados demonstrando que o efeito antifúngico de nanopartículas contra espécies de *Alternaria* sp. variando em função dos extratos, dos íons reduzidos e das concentrações. Sardar et al. (2022) por exemplo, verificaram a atividade antifúngica de NPs-CuO sintetizadas com extrato da casca de limão, para *Alternaria citri*, e observaram a inibição de 18,5 a 50 mm do crescimento micelial em concentrações variando de 10 mg mL<sup>-1</sup> a 100 mg mL<sup>-1</sup>.

Outros estudos também observaram o potencial antifúngico de nanopartículas metálicas para *Alternaria* sp. Mostafa et al. (2020) constaram que as nanopartículas de prata (AgNPs) biossintetizadas com extratos de cascas de romã e laranja inibiu o crescimento micelial da *A. solani* com 16,14 e 12,52 cm, respectivamente, na concentração de 100 µg mL<sup>-1</sup>. Os autores verificaram também que os micélios tratados com os AgNPs a 100 µg mL<sup>-1</sup> biossintetizadas a partir de extrato de casca de romã proporcionaram desintegração e deterioração do citoplasma, quebra da membrana celular e parede celular e o colapso das hifas da *A. solani*. Dhiman et al. (2021) desmontaram que nanopartículas de óxido de zinco fitofabricadas utilizando extrato aquoso de folhas de *Terminalia bellerica* (Tb-ZnO Np's) na concentração de 200 ppm inibiu 95% do crescimento micelial de *A. brassicae*, os autores observaram

também propriedade esporicida de Tb-ZnO Np's devido a deformação, diminuição do tamanho e da quantidade dos esporos.

Houve variação da inibição do crescimento micelial em função dos extratos em cada concentração testada, com destaque para CuNPs-MSC e CuNPs- COE (Figura 1- A e B).



**Figura 1-** Box Plot resumindo o efeito de nanopartículas no crescimento micelial de *Alternaria* sp. após 8 dias de incubação. A: Agrupamento dos Box Plots por nanopartículas sintetizadas. B: Agrupamento dos Box Plots por concentração das diferentes nanopartículas sintetizadas.

Houve variação nos valores calculados de ED50 e ED90 entre os extratos (Tabela 2). A menor ED50 foi CuNPs-MSD, seguido de CuNPs-CR e CuNPs-COE. O valor de ED90 seguiu a ordem CuNPs-MSD, CuNPs-CR e CuNPs-COE. O tratamento de CuNPs-MSD foi mais eficaz contra *Alternaria* sp. com um menor valor de ED50.

**Tabela 2-** Dose efetiva de nanopartículas de cobre para inibição de 50% e 90% do crescimento micelial de *Alternaria* sp.

Tratamento	ED50 ( mg mL <sup>-1</sup> )	ED90 ( mg mL <sup>-1</sup> )
CuNPs-COE	8625,2	16657,7
CuNPs-CR	8844,7	16074,8
CuNPs-MSD	5675,4	10772,8
CuNPs-EUC	44459,8	81385,2

As nanopartículas de cobre podem ser consideradas seguras, no entanto, é necessária uma quantidade mínima de íons de cobre juntamente com as enzimas essenciais do corpo humano para não ocasionar danos (SANTINI et al., 2014). Deve-se ressaltar que por ser patógeno de pós colheita, teste *in vivo* em frutos de mamão são necessários, uma vez que, os vegetais absorvem e armazenam íons de cobre nas partes comestíveis e não comestíveis e quantidades excessivas, pode ocasionar danos à saúde humana através do consumo (MALEKI e ZARASVAND, 2008).

## CONCLUSÃO

As nanopartículas biossintetizadas com extratos de folhas de coentro, melão-de-são-caetano, tomilho, eucalipto e botões florais de cravo apresentaram baixo potencial de inibição para *Alternaria* sp.

## REFERÊNCIAS

AGUILAR-MÉNDEZ, M. A.; MARTÍN-MARTÍNEZ, S.; ORTEGA-ARROYO, L.; COBIÁN-PORTILLO, G.; SÁNCHEZ-ESPÍNDOLA, E. Synthesis and characterization of silver nanoparticles: effect on phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 13, n. 6, p. 2525-2532, 2011.

ANJOS, G.L.; MOREIRA, G.C.; CARNEIRO, C.N.; DIAS, F.D.S. Effect of phyto regulators on the composition of phenolic compounds in chili peppers (*Capsicum frutescens*) and exploratory analysis. **Scientia Horticulturae**, v. 292, p. 110660, 2022.

BANIK, S.; PÉREZ-DE-LUQUE, A. In vitro effects of copper nanoparticles on plant pathogens, beneficial microbes and crop plants. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 15, n. 2, p. e1005-e1005, 2017.

BRAMHANWADE, K.; SHENDE, S.; BONDE, S.; GADE, A.; RAI, M. Fungicidal activity of Cu nanoparticles against *Fusarium* causing crop diseases. **Environmental chemistry letters**, v. 14, n. 2, p. 229-235, 2016.

DHIMAN, S.; SINGH, S.; VARMA, A.; GOEL, A. . Phytofabricated zinc oxide nanoparticles as a nanofungicide for management of Alternaria blight of Brassica. **BioMetals**, v. 34, n. 6, p. 1275-1293, 2021.

EISENMAN, H. C.; CASADEVALL, A. Synthesis and assembly of fungal melanin. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 93, n. 3, p. 931-940, 2012.

FERNANDES, C.; PRADOS-ROSALES, R.; SILVA, B. M.; NAKOUZI-NARANJO, A.; ZUZARTE, M.; CHATTERJEE, S.; GONÇALVES, T. Activation of melanin synthesis in *Alternaria infectoria* by antifungal drugs. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 60, n. 3, p. 1646-1655, 2016.

GABA, S.; VARMA, A.; GOEL, A. Protective and curative activity of biogenic copper oxide nanoparticles against *Alternaria* blight disease in oilseed crops: a review. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v.129, p. 215–229, 2021.

ILIGER, K. S.; SOFI, T. A.; BHAT, N. A.; AHANGER, F. A.; SEKHAR, J. C.; ELHENDI, A. Z.; KHAN, F. Copper nanoparticles: Green synthesis and managing fruit rot disease of chilli caused by *Colletotrichum capsici*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 2, p. 1477-1486, 2021

KHEDER, A. A.; AKAGI, Y.; AKAMATSU, H.; YANAGA, K.; MAEKAWA, N.; OTANI, H.; KODAMA, M. Functional analysis of the melanin biosynthesis genes ALM1 and BRM2-1 in the tomato pathotype of *Alternaria alternata*. **Journal of general plant pathology**, v. 78, n. 1, p. 30-38, 2012.

LOGRIECO, A.; MORETTI, A.; SOLFRIZZO, M. *Alternaria* toxins and plant diseases: an overview of origin, occurrence and risks. **World Mycotoxin Journal**, v. 2, n. 2, p. 129-140, 2009.

MALEKI, Afshin; ZARASVAND, Masoud Alasvand. Heavy metals in selected edible vegetables and estimation of their daily intake in Sanandaj, Iran. **Southeast Asian journal of tropical medicine and public health**, v. 39, n. 2, p. 335, 2008.

MASTINO, P. M.; MARCHETTI, M.; COSTA, J.; JULIANO, C.; USAI, M. Analytical Profiling of Phenolic Compounds in Extracts of Three Cistus Species from Sardinia and Their Potential Antimicrobial and Antioxidant Activity. **Chemistry & Biodiversity**, v. 18, n. 6, p. e2100053, 2021.

MOREIRA, G. C.; DOS ANJOS, G. L.; CARNEIRO, C. N.; RIBAS, R. F.; DIAS, F. D. S. Phenolic compounds and photosynthetic activity in *Physalis angulata* L. (Solanaceae) in response to application of abscisic acid exogenous. **Phytochemistry Letters**, v. 40, p. 96-100, 2020.

MOSTAFA, Y. S.; ALAMRI, S. A.; ALRUMMAN, S. A.; HASHEM, M.; BAKA, Z. A. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Pomegranate and Orange Peel Extracts and Their Antifungal Activity against *Alternaria solani*, the Causal Agent of Early Blight Disease of Tomato. **Plants**, v. 10, n. 11, p. 2363, 2021.

OVAIS, M.; KHALIL, A. T.; ISLAM, N. U.; AHMAD, I.; AYAZ, M.; SARAVANAN, M.; MUKHERJEE, S. Role of plant phytochemicals and microbial enzymes in biosynthesis of metallic nanoparticles. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 102, n. 16, p. 6799-6814, 2018.

RAI, M.; INGLE, A. Role of nanotechnology in agriculture with special reference to management of insect pests. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 94, n. 2, p. 287-293, 2012.

SANTINI, C.; PELLEI, M.; GANDIN, V.; PORCHIA, M.; TISATO, F.; MARZANO, C. Advances in copper complexes as anticancer agents. **Chemical reviews**, v. 114, n. 1, p. 815-862, 2014.

SARDAR, M.; AHMED, W.; AL AYOUBI, S.; NISA, S.; BIBI, Y.; SABIR, M.; QAYYUM, A. Fungicidal synergistic effect of biogenically synthesized zinc oxide and copper oxide nanoparticles against *Alternaria citri* causing citrus black rot disease. **Saudi journal of biological sciences**, v. 29, n. 1, p. 88-95, 2022.

SUTTON, T. B.; ALDWINCKLE, H. S.; AGNELLO, A. M.; WALGENBACH, J. F. **Compendium of apple and pear diseases and pests**. St. Paul, MN: American Phytopathological Society, 2014.

VITALE, A.; AIELLO, D.; AZZARO, A.; GUARNACCIA, V.; POLIZZI, G. An eleven-year survey on field disease susceptibility of citrus accessions to *Colletotrichum* and *Alternaria* species. **Agriculture**, v. 11, n. 6, p. 536, 2021.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ensaios realizados neste trabalho visam a formação de nanopartículas de cobre com extratos vegetais. Apesar da observação visual da mudança de cor das combinações e do progresso da reação em espectrofotometria UV-vis demonstrarem um indicativo de redução dos íons de cobre, ainda é necessário a realização de análises complementares para verificar a formação dessas nanopartículas, quanto ao seu tamanho, formas e estruturas.

Foi avaliada também, o potencial dessas nanopartículas biossintetizadas no crescimento *in vitro* de *Colletotrichum* sp. e *Alternaria* sp., isolados de mamão. Os tratamentos mostraram-se promissores no controle de *Colletotrichum* sp., no entanto, apresentam um baixo potencial para *Alternaria* sp.

Dos extratos avaliados destaca-se o melão-de-são-caetano, que em ambos estudos apresenta potencial para biossíntese e inibição de crescimento dos fungos. Não significa que as outras plantas estudadas também não possam desempenhar uma atividade antifúngica sobre outros patógenos, com concentrações diferentes, outras fontes metálicas e métodos de extração.

Estudos em frutos de mamão são necessários para verificar a ação dessas nanopartículas no controle desses patógenos, além disso, é importante avaliar possíveis efeitos tóxicos desses materiais em frutos sem prejudicar seu o rendimento e qualidade.

Os resultados nesse estudo são promissores, tendo em vista, poucos trabalhos avaliando o potencial de nanopartículas de cobre em patógenos de pós-colheita de mamão. Esses resultados podem ser percussores para estudos futuros, relacionados a otimização de plantas na formação de nanopartículas e elaboração de produtos de ação antifúngica, visando maior segurança alimentar e menos impactos ambientais.