



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
LARANJEIRAS DO SUL
AGRONOMIA**

NAYARA CAETANO DOS SANTOS DE MELLO

**ÓLEOS ESSENCIAIS DE CITROS NO CONTROLE DO CRESTAMENTO
BACTERIANO DO FEIJOEIRO**

**LARANJEIRAS DO SUL
2023**

NAYARA CAETANO DOS SANTOS DE MELLO

**ÓLEO ESSENCIAL DE CITROS NO CONTROLE DO CRESTAMENTO
BACTERIANA DO FEJJOEIRO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de bacharel em Agronomia pela Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS).

Orientador: Prof. Dr. Gilmar Franzener

LARANJEIRAS DO SUL

2023

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Mello, Nayara Caetano dos Santos de
Oleos Essenciais de citros no controle do cretamento bacteriano do feijoeiro / Nayara Caetano dos Santos de Mello. -- 2023.
23 f.

Orientador: Professor Doutor Gilmar Franzener

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Bacharelado em Agronomia, Laranjeiras do Sul, PR, 2023.

1. oleos essenciais no controle do cretamento bacteriano do feijoeiro. 2. Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli agente causal do cretamento bacteriano do feijoeiro. I. , Gilmar Franzener, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

NAYARA CAETANO DOS SANTOS DE MELLO

**ÓLEOS ESSENCIAIS DE CITROS NO CONTROLE DO CRESTAMENTO
BACTERIANO DO FEJJOEIRO**

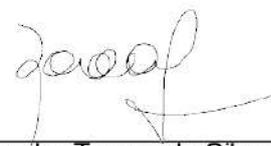
Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia linha de formação em Agroecologia pela Universidade Federal da Fronteira Sul- *Campus* Laranjeiras do Sul (PR)

Orientador: Prof. Dr. Gilmar Franzener

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:
27/02/2023.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Gilmar Franzener


Prof. Dr. Lisandro Tomas da Silva Bonome


Prof. Dr. Jonas Marcelo Jaski

AGRADECIMENTO

Primeiramente quero agradecer a Deus, pela minha vida, e por me ajudar a ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo do curso.

Aos meus pais e meu irmão, que me incentivaram nos momentos difíceis e compreenderam a minha ausência enquanto eu me dedicava a realização deste trabalho.

Ao professor Gilmar Franzener, por ter sido meu orientador e ter desempenhado tal função com dedicação e amizade.

Ao meu namorado Rubens Ruthes e ao colega Matthieu com quem convivi durante a realização do trabalho, obrigada pela troca de experiências, pelo companheirismo que me permitiram crescer não só como pessoa, mas também como formanda.

Aos professores pelos ensinamentos ao longo do curso que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação.

E a todos aqueles que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. OBJETIVOS.....	11
2.1 Objetivo Geral.....	11
2.2 Objetivo Específico.....	11
3. METODOLOGIA.....	12
3.1 Atividade antibacteriana dos óleos essenciais sobre <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>.....	12
3.2 Efeito protetor dos óleos essenciais sobre plantas de feijoeiro.....	13
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
4.1 Atividade antibacteriana in vitro.....	15
4.2 Efeito protetor em plantas de feijoeiro.....	16
5. CONCLUSÃO.....	19
6. REFERÊNCIAS.....	20

RESUMO

Óleos essenciais são derivados de plantas que podem apresentar diversas atividades biológicas. Esse trabalho teve por objetivo avaliar óleos essenciais de diferentes espécies cítricas no controle do crestamento bacteriano do feijoeiro, causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. Foram avaliados óleos essenciais de *Citrus sinensis*, *C. limon* e *C. nobilis*, bem como o surfactante Tween 20 e a testemunha água. Em condição *in vitro* foi avaliado o efeito antimicrobiano sobre a bactéria. Também foi avaliado o efeito protetor dos óleos essenciais a 0,25% em plantas de feijoeiro, com aplicação dos óleos essenciais 72 horas antes ou depois da inoculação com o patógeno, como indicador do efeito preventivo ou curativo, respectivamente. Foi avaliada a incidência e severidade da doença. Os óleos essenciais de *C. nobilis*, *C. limon* e *C. sinensis*, bem como Tween 20 apresentaram ação inibitória quando em contato direto com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. Os tratamentos com óleos essenciais de citros não reduziram a severidade do crestamento bacteriano, mas de maneira geral a aplicação preventiva apresentou menor incidência e severidade quando sem ferimentos em relação a curativa. Os resultados demonstram efeito dos óleos essenciais de citros sobre *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, principalmente pela ação preventiva e direta sobre o patógeno.

Palavras-chave: *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, *Phaseolus vulgaris*, proteção de plantas, antibacteriano.

ABSTRACT

Essential oils are derived from plants that may have different biological activities. This work aimed to evaluate essential oils from different citrus species in the control of bacterial blight of common bean, caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. Essential oils of *Citrus sinensis*, *C. limon* and *C. nobilis* were evaluated, as well as the surfactant Tween 20 and the water control. In in vitro conditions, the antimicrobial effect on the bacteria was evaluated. The protective effect of 0.25% essential oils on common bean plants was also evaluated, with application of essential oils 72 hours before or after inoculation with the pathogen, as an indicator of the preventive or curative effect, respectively. The incidence and severity of the disease were evaluated. The essential oils of *C. nobilis*, *C. limon* and *C. sinensis*, as well as Tween 20, showed inhibitory action when in direct contact with *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. Treatments with citrus essential oils did not reduce the severity of bacterial blight, but in general the preventive application showed lower incidence and severity when without wounds in relation to the curative application. The results demonstrate the effect of citrus essential oils on *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, mainly due to its preventive and direct action on the pathogen.

Keywords: *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, *Phaseolus vulgaris*, plant protection, antibacterial.

1.INTRODUÇÃO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) é uma cultura conhecida mundialmente por fazer parte da alimentação da população e ser rica em nutrientes. No Brasil o feijoeiro tem grande relevância para a segurança alimentar e nutricional sendo uma importante fonte de proteínas na dieta humana (BARBOSA *et al.*, 2012). É cultivado em grande escala e com grande tecnologia no melhoramento dos grãos, nos métodos de tratamentos culturais, no manejo de fitossanidade e na colheita mecanizada, porém também é uma importante opção para a renda e subsistência aos pequenos agricultores (BARBOSA *et al.*, 2012). É cultivada em todo o país sendo separadas em duas safras específicas a safra das águas que ocorre nos meses de agosto a novembro e a safra da seca, nos meses de dezembro a abril e também uma terceira safra não muito comum, que ocorreria sob irrigação, nos meses de abril a julho (MANOS *et al.*, 2013).

É uma cultura anual e muitos fatores podem afetar sua produção, sendo um dos mais preocupantes o aspecto fitossanitário (PRIA *et al.*, 2018). As doenças são preocupantes e podem reduzir significativamente a produtividade. A ocorrência depende de cada região, época de cultivo, temperatura e umidade que favorecem os patógenos (MANOS *et al.*, 2013).

Dentre os problemas fitossanitários que afetam o feijoeiro, uma das principais é a bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, agente causal do crestamento bacteriano comum, que causa danos severos e têm uma alta distribuição pelas plantações (VIGO *et al.*, 2009). Essa doença tem sido considerada a principal bacteriose do feijoeiro em diversos estados do Brasil (WENDLAND *et al.*, 2016).

O crestamento bacteriano é uma das doenças que mais tem importância na cultura pois pode gerar até 45% da perda de toda a produção. Esses danos geralmente ocorrem no verão onde as temperaturas e umidade são mais altas (REZENDE *et al.*, 2011). Para identificar a doença observa-se um encharcamento juntamente com pequenas lesões de cor verde que logo após elas amarelam e necrosam levando assim a queda da folha (WENDLAND *et al.*, 2016). O patógeno também pode infectar as sementes, sendo essa uma forma importante de disseminação, aumentando a preocupação com a doença.

O controle do crestamento bacteriano é difícil. Uma das formas mais eficientes é com a adoção de cultivares resistentes, porém a maioria das cultivares são suscetíveis à doença, principalmente quando cultivadas em condições climáticas favoráveis ao patógeno (COSTA *et al.*, 2019). Tendo em vista todo o estresse biótico e abiótico que a planta sofre diante da infecção por fitopatógenos muitas vezes se faz necessário a intervenção do produtor para minimizar os danos. O controle químico tem sido amplamente utilizado para controle de doenças fúngicas, porém para o crestamento bacteriano não a tratamento curativo quando a bactéria ataca a lavoura (YU *et al.*, 2000), há produtos que podem ajudar a retardar o aparecimento de sintomas nas lavouras, como os a base de cobre (WENDLAND *et al.*, 2016).

O método mais usual de controle de doenças em plantas cultivadas é o controle químico, porém se tem uma escassez de produtos eficientes e a dificuldade de controle de algumas doenças, como para o crestamento bacteriano. Embora o desenvolvimento de novos produtos para um controle de menor impacto no ambiente tenha avançado para várias culturas, são poucas as informações de produtos naturais para culturas importantes como o feijoeiro. Diante disso, torna-se muito importante a busca por novas medidas e produtos que possam apresentar eficiência para o controle desta bactéria nas lavouras (VIGO *et al.*, 2009).

Alguns produtos naturais têm apresentado efeitos promissores no controle de doenças, entre eles estão diferentes derivados de plantas, como extratos e óleos essenciais (BONOME *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2008). Em estudos com o feijão se tem inseticidas naturais com um bom efeito repelente com óleos essenciais de canela e louro que se encontram compostos ricos em monoterpenos, sesquiterpenos e piperina sendo eficiente para o caruncho *Callosobruchus maculatus* (OLIVEIRA *et al.*, 1999).

Esses derivados podem atuar por diferentes mecanismos, como a ação antimicrobiana direta sobre o fitopatógeno ou ativando respostas de defesa nas plantas. A diversidade de plantas e princípios ativos demonstram a importância de avançar em pesquisas nesse sentido. As plantas, através do metabolismo secundário, podem produzir grande diversidade de princípios ativos como por exemplo, são compostos antimicrobianos que podem atuar no controle de doenças de plantas (COSTA *et al.*, 2019).

Os óleos essenciais possuem compostos secundários que podem desempenhar funções importantes para controle de doenças através da ação de defesa da planta sobre fitopatógenos (OOTANI *et al.*, 2013; FRANZENER *et al.*, 2018). São estudados em diversas áreas do conhecimento, sendo uma delas a área agrônômica. Pesquisas vêm demonstrando eficácia do seu uso no controle de fungos, bactérias, em sementes e na pós-colheita (LEITE *et al.*, 2018).

Os óleos essenciais são compostos voláteis hidrofóbicos extraídos de plantas, devido a atividade biológica alguns óleos têm sido utilizados como pesticidas naturais, com ação antimicrobiana, nematicida, herbicida ou repelente de insetos (BONOME, *et al.*, 2020; BATISH *et al.*, 2008). Assim, têm demonstrado grande potencial para diferentes usos na agricultura (OOTANI *et al.*, 2013). Para óleos essenciais de espécies de citros também já tem sido relatado diversos usos e aplicações, incluindo propriedades medicinais (DIAS *et al.*, 2020). Diversos compostos ativos, como limoneno, foram identificados, com ação sobre alguns fitopatógenos (SIMAS *et al.*, 2017).

Entre as espécies que se destacam na produção de óleo essencial estão as do gênero *Citrus*. Espécies desse gênero são mais conhecidas pelo consumo in natura, porém são as cascas que resultam do processo de extração do suco são ricas em óleo essencial. Embora óleos essenciais de citros tenham sido estudados para diversas finalidades, ainda pouco se sabe de seu potencial na proteção de plantas de feijoeiro.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito de óleos essenciais de citros na atividade antimicrobiana e na proteção de feijoeiro ao crestamento bacteriano.

2.2 Objetivo Específico

Avaliar a atividade antibacteriana de óleos essenciais de citros sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, agente causal do crestamento bacteriano comum do feijoeiro.

Avaliar o efeito protetor de óleos essenciais de citros no controle do crestamento bacteriano em plantas de feijoeiro.

3. METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, no município de Laranjeiras do Sul/PR.

Foram avaliados óleos essenciais de limão-siciliano (*Citrus limon* L.), laranja-doce (*Citrus sinensis* L.) e mandarina-verde (*Citrus nobilis* L.). Foram utilizados óleos essenciais comerciais obtidos da empresa Quinari. Para o emprego dos óleos essenciais nos experimentos foi preparada uma emulsão, com diluição do óleo essencial no surfactante Tween 20 na proporção de 1:1, v/v. A partir da emulsão foi realizada a diluição em água destilada para uso nos experimentos.

A bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* foi obtida de plantas sintomáticas de feijoeiro no município de Laranjeiras do Sul/PR. O isolamento e cultivo foi realizado em meio de cultura ágar nutriente, em escuro, a 26 °C.

3.1 Atividade antibacteriana dos óleos essenciais sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*.

A avaliação da atividade antibacteriana dos óleos essenciais foi realizada em dois experimentos, um em meio líquido, e outro em meio sólido.

A avaliação em meio líquido foi feita com óleos essenciais de mandarina-verde, limão-siciliano e laranja doce, além de Tween 20 nas concentrações de 0, 0,05, 0,25, 0,50 mL/L, sobre a bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. O experimento foi conduzido em tubos de ensaio com capacidade para 20 mL, contendo 10 mL de meio de cultura caldo nutriente. O material foi autoclavado e após atingir temperatura ambiente foram incorporados os tratamentos nos respectivos tubos, de forma a manter a mesma concentração do meio de cultivo. Em seguida cada tubo recebeu 100 µL de suspensão bacteriana, preparada em solução salina (0,85%) na concentração de 0,5 da escala McFarland. Após 48 horas de incubação a 26 °C, em escuro, realizou-se a determinação da densidade óptica pela avaliação da absorbância em espectrofotômetro 600 nm.

No experimento em meio sólido os tratamentos foram avaliados de forma direta e indireta sobre a bactéria. Para tanto, foi preparado meio de cultura ágar nutriente em placas de Petri de 90 mm de diâmetro. O experimento foi realizado em esquema fatorial 5 x 2 (5 tratamentos sendo três óleos essenciais, Tween 20, água,

e 2 para efeito curativo e preventivo). Na forma direta os tratamentos foram incorporados ao meio de cultura após a autoclavagem e imediatamente antes de verter nas placas de Petri. Na forma indireta as placas de Petri foram invertidas e os tratamentos depositados na tampa, de forma que os tratamentos não entraram em contato direto com o meio de cultura, sendo as bactérias depositadas sobre o meio no fundo da placa. Todas as placas foram inoculadas com 100 µL de suspensão bacteriana, a 0,5 da escala McFarland, que foi espalhada uniformemente sobre o meio com auxílio de alça de Drigalski. Todas as placas foram mantidas igualmente invertidas, com tampa para baixo.

Após 48 horas de incubação a 26 °C, em escuro, realizou-se a avaliação. Para tanto, de cada placa foi obtida a suspensão bacteriana pela adição de 10 mL de água destilada em cada placa, seguida de raspagem com espátula e filtração em gaze. Como indicativo da multiplicação bacteriana no experimento em meio sólido foi determinada a absorbância da suspensão bacteriana em espectrofotômetro a 600 nm.

3.2 Efeito protetor dos óleos essenciais sobre plantas de feijoeiro

Para avaliar o efeito protetor e curativo dos óleos essenciais de citros em plantas de feijoeiro sobre o crescimento bacteriano do feijoeiro foi conduzido experimento no laboratório em câmara de crescimento e clima controlado com temperatura média de 25 °C e exposto no sol diariamente. As sementes da cultivar Embrapa BRS 403 foram semeadas em vasos de 1 L contendo mistura de composto orgânico e terra na proporção de 1:1 v/v. Foram mantidas três plantas por vaso, que constituíram uma parcela. Foram utilizadas cinco repetições para cada tratamento, em delineamento inteiramente casualizado. Constituíram tratamentos cada um dos óleos essenciais na concentração de 0,25 mL/L (0,5% de emulsão 1:1), tendo como testemunhas o surfactante Tween 20 a 0,25 mL/L e água destilada, totalizando cinco tratamentos.

A aplicação dos tratamentos foi realizada por aspersão na parte aérea das plantas até o ponto de escorrimento. Após 72 horas foi realizada a inoculação com suspensão bacteriana tanto para o efeito protetivo quanto para curativo.

A inoculação das plantas foi por aspersão até o ponto de escorrimento. Para simular ferimentos foram realizados, com tesoura, quatro cortes de 4 mm nas

bordas de cada folha. As plantas foram mantidas em câmara úmida 4 horas antes e 20 horas após serem inoculadas com a bactéria.

Para avaliar o efeito protetivo a aplicação dos tratamentos foi realizada 72 horas antes da inoculação da bactéria e para o efeito curativo a aplicação dos tratamentos foi realizada 72 horas após a inoculação com o patógeno. Após oito dias foi realizada a avaliação da incidência (porcentagem de folhas apresentando sintomas) e da severidade através de escala de notas, variando de 0 a 5, onde 0 é ausência de sintomas e 5 é lesões coalescentes e grande parte da folha necrosada pelo crestamento bacteriano. Também foi avaliado o número de lesões em ferimentos e o número de lesões sem ferimentos (em infecções por aberturas naturais).

Todos os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. Os dados obtidos foram submetidos a teste de normalidade e homogeneidade, sendo realizada a transformação dos dados quando pertinente. Os dados foram submetidos à análise de variância seguida de análise de regressão para as concentrações e teste Scott Knott a 5% de probabilidade, quando pertinente, com auxílio do programa computacional Sisvar (FERREIRA, 2019). Os dados de contagem foram transformados em raiz de $x + 1$ para análise.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Atividade antibacteriana *in vitro*

No experimento em que os tratamentos estavam em contato direto ou indireto com a bactéria, foi observada inibição da bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* ($p > 0,05$) pelos óleos essenciais e também por Tween 20 quando em contato direto com a bactéria, demonstrando ação antimicrobiana de todos óleos essenciais testados, embora não tenha ocorrido inibição total (Tabela 1). O tratamento com óleo essencial de *C. sinensis* promoveu inibição superior a 70% na aplicação em contato direto em relação ao indireto. Embora os óleos essenciais sejam compostos voláteis, o contato direto foi necessário para observar ação antimicrobiana. A testemunha água foi o tratamento com maior desenvolvimento bacteriano quando em contato direto, possivelmente pela maior disponibilidade de água juntamente com o meio não ter nenhum tratamento que contribuiu para a multiplicação bacteriana.

Tabela 1. Densidade óptica (abs 600 nm) de suspensão de células de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* obtida de cultivo em meio ágar nutriente em contato direto ou indireto com óleos essenciais de citros

Tratamento	Local de aplicação do tratamento		
	Direto	Indireto	Média
Água	0,274 bA	0,156 bA	0,215 b
Tween 20	0,047 aA	0,154 aA	0,101 a
OE <i>C. sinensis</i>	0,055 aA	0,188 bA	0,121 a
OE <i>C. limon</i>	0,106 aA	0,137 aA	0,121 a
OE <i>C. nobilis</i>	0,102 aA	0,197 aA	0,149 a
Média	0,116 A	0,167 B	
CV%	18,5		

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados transformados em raiz x +1 para análise.

No experimento em meio líquido caldo nutriente, onde tanto os tratamentos quanto a bactéria estavam em contato, não foi possível a avaliação da densidade óptica devido a elevada turbidez apresentada por todas as concentrações de óleo essencial de *C. nobilis* e maiores concentrações de *C. sinensis* (Tabela 2). Nos demais tratamentos, independentemente da concentração avaliada, houve inibição do desenvolvimento bacteriano em relação à testemunha com água, indicando atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e também de Tween 20.

Tabela 2. Densidade óptica (abs 600 nm) da suspensão de células bacterianas de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* após cultivo em meio de cultura caldo nutriente contendo óleos essenciais de citros

Concentração (%)	Óleos essenciais			
	OE <i>C. sinensis</i>	OE <i>C. limon</i>	OE <i>C. nobilis</i>	Tween 20
0	0,380			
0,05	0,240*	0,126*	-	0,199*
0,25	-	0,131*	-	0,140*

0,5	-	0,118*	-	0,185*
Média	0,240	0,125		0,175
CV%		7,9		

*Médias diferem da testemunha 0% pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade. - Não foi possível determinar a absorbância.

A atividade antimicrobiana já tem sido relatada em diversos óleos essenciais, embora sobre outros microrganismos. Essa atividade possivelmente se deve a presença de diversos compostos ativos (OOTANI et al., 2013). Em óleo essencial de citros um componente importante é o limoneno, que é um composto majoritário no óleo de diferentes espécies, como *C. sinensis* (DIAS et al., 2020) e que apresenta ação sobre microrganismos. Sobre fungos fitopatogênicos a atividade de óleos essenciais de citros também foi observada, como por exemplo sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (DIAS et al., 2020). Além dos óleos essenciais, para o Tween 20 (polioxietileno sorbitano monolaurato) também foi observado efeito inibitório. Embora O Tween seja muito utilizado na emulsão de óleos essenciais, e em alguns meios de cultivo, há relatos de que o mesmo pode afetar a parede celular e membrana plasmática de algumas bactérias (CHEREPOVA; VELJANOV, 1994) o que pode ter contribuído para efeitos observados neste trabalho.

4.2 Efeito protetor em plantas de feijoeiro

Em todas as folhas houve incidência do crestamento bacteriano, independentemente do tratamento (Tabela 3). Na severidade do crestamento bacteriano os óleos essenciais não promoveram redução significativa ($p < 0,05$) na severidade em relação à testemunha água, embora o OE de *C. limon* tenha promovido significativa redução em relação ao OE de *C. sinensis* (Tabela 3). A média da severidade dos tratamentos preventivos foi significativamente inferior aos dos tratamentos curativos, indicando que a aplicação preventiva promoveu redução nos sintomas da doença.

Tabela 3. Incidência e severidade do crestamento bacteriano em plantas de feijoeiro tratadas com diferentes óleos essenciais de citros.

Tratamento	Incidência			Severidade		
	Preventivo	Curativo	Média	Preventivo	Curativo	Média
Água	100	100	100	1,75 aA	2,60 aA	2,17 ab
Tween 20	100	100	100	1,50 aA	2,85 aB	2,17 ab
OE <i>C. sinensis</i>	100	100	100	2,43 aA	3,01 aA	2,72 b
OE <i>C. limon</i>	100	100	100	1,28 aA	2,03 aA	1,65 a
OE <i>C. nobilis</i>	100	100	100	1,63 aA	2,92 aB	2,27 ab
Média	100	100		1,72 A	2,68 B	
CV%		0,0			10,74	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Na severidade dados transformados em raiz $x + 1$ para análise.

Na avaliação da incidência (presença ou não da doença) quando analisado separadamente lesões em ferimento e sem ferimento nenhum dos tratamentos promoveram redução significativa ($p > 0,05$) em relação a testemunha água (Tabela 4). Em lesões com ferimentos OE *C. limon* teve redução em relação a OE *C. sinensis*. A média da incidência de lesões em ferimento com tratamento curativo foi inferior que a dos tratamentos preventivos, indicando que a aplicação curativa promoveu redução nos sintomas da doença. Já sem ferimentos a média de incidência de lesões foi reduzida pelo tratamento preventivo em relação ao curativo, indicando a importância do tratamento preventivo em condições normais sem ferimentos, onde a infecção ocorre por aberturas naturais (Tabela 4).

Tabela 4. Incidência de sintomas de crestamento bacteriano em locais com ferimentos sem ferimento em plantas de feijoeiro tratadas com diferentes óleos essenciais de citros.

Tratamento	Com ferimentos%			Sem ferimentos%		
	Preventivo	Curativo	Média	Preventivo	Curativo	Média
Água	86,6 aA	74,0 abA	80,3 ab	83,3 a	80,0 a	81,6 a

Tween 20	93,3 aB	59,9 abA	76,6 ab	79,9 a	96,6 a	88,3 a
OE <i>C. sinensis</i>	100 aA	100 bA	100 b	93,3 a	100 a	96,7 a
OE <i>C. limon</i>	70,6 aA	55,3 aA	62,9 a	61,3 a	100 a	80,6 a
OE <i>C. nobilis</i>	82,6 aA	74,9 abA	78,8 ab	66,6 a	100 a	83,3 a
Média	86,6 B	72,8 A		76,9 A	95,3 B	
CV%	18,7			17,6		

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados transformados em raiz x +1 para análise.

Quando considerado o quantitativo do número de lesões em ferimentos e sem ferimentos nenhum dos óleos essenciais e Tween 20 promoveram redução significativa ($p < 0,05$) em relação a testemunha tratada apenas com água (Tabela 5). Na média geral em lesões com ferimentos o OE *C. limon* e Tween 20 tiveram menor número de lesões em relação ao tratamento com OE de *C. sinensis*. No número de lesões sem ferimentos, ao comparar as médias dos tratamentos preventivos e curativos observou-se redução significativa no número de lesões com aplicação preventiva (Tabela 5).

Tabela 5. Número de lesões do crestamento bacteriano em plantas de feijoeiro tratadas com diferentes óleos essenciais de citros.

Tratamento	Número de lesões em ferimentos			Número de lesões sem ferimentos		
	Preventivo	Curativo	Média	Preventivo	Curativo	Média
Água	2,65 aA	2,79 aA	2,72 ab	2,02 aA	2,76 aA	2,39 a
Tween 20	1,86 aA	1,73 aA	1,79 a	1,33 aA	3,29 aB	2,31 a
OE <i>C. sinensis</i>	3,06 aA	3,16 aA	3,11 b	1,99 aA	3,53 aB	2,79 a
OE <i>C. limon</i>	1,91 aA	1,72 aA	1,81 a	1,04 aA	2,26 aA	1,65 a
OE <i>C. nobilis</i>	2,83 aA	2,10 aA	2,46 ab	1,73 aA	2,98 aA	2,35 a
Média	2,46 A	2,30 A		1,62 A	2,96 B	
CV%	10,7			16,0		

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados transformados em raiz x +1 para análise.

A incidência da doença em 100% das plantas demonstrou eficiência no processo de inoculação realizado. Com a realização de ferimentos ocorre um rompimento das células o que favorece também a infecção. Embora tenha sido

observado pouco efeito dos tratamentos no controle *in vivo* do crestamento bacteriano, o fato de ter-se verificado redução significativa em tratamentos preventivos de lesões sem ferimentos é um resultado importante, pois as aberturas naturais, como hidatódios e estômatos, representam importantes locais de infecção da bactéria (WENDLAND et al., 2016). As condições favoráveis ao patógeno, com elevada umidade relativa pode ter contribuído para não haver diferenças entre tratamentos de forma semelhante ao observado nos testes de atividade antimicrobiana *in vitro*, o que demonstra a importância de aprofundar estudos também em condições de campo.

5. CONCLUSÃO

Os óleos essenciais de *C. nobilis*, *C. limon* e *C. sinensis*, bem como Tween 20 apresentaram ação inibitória quando em contato direto com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. Os tratamentos com óleos essenciais de citros não reduziram a severidade do crestamento bacteriano, mas de maneira geral a aplicação preventiva apresentou menor incidência e severidade quando sem ferimentos em relação a curativa.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. O. Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2012. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/61388/1/seriedocumentos-272.pdf> . Acesso em: 10 jan. 2023.

BATISH, D. R.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K.; KAUR, S. *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. **Forest Ecology and Management**, v. 256, n. 12, p. 2166–2174, 2008.

BONOME, L.T.S.; BITTENCOURT, H.H.; MOURA, G.S.; FRANZENER, G.; CARVALHO, J.H. Natural Products for Alternative Seed Treatment. In: TIWARI, A.K.

Advances in seed production and management. Springer, Cap. 18, p.399-418, 2020.

CARVALHO, J. C. Manejo do Crestamento Bacteriano Comum do Feijoeiro por *Rhodotorula Glutinis* e *Sporidiobolus johnsonii*. 2017, ix 39 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, 2017.

CHEREPOVA, N.; VELJANOV, D. Effect of sorbitan monolaurate polyoxyalkylene (Tween 20) on the ultrastructure of some bacteria, **Cytobios**, v.80, p.179-185, 1994.

COSTA, J.; OLIVEIRA, J.; WENDLAND, A. Fonte de resistência ao crestamento bacteriano comum e à murcha de *Curtobacterium* em variedades tradicionais de feijão-comum coletadas no estado do Paraná. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/156007/1/CNPAF-2016-p445.pdf>. Acesso em: 16 jan. 2023.

COSTA, A. P.; MOURA, G. S.; GEBAUER, J. T.; FRANZENER, G. Extrato aquoso e óleo essencial de gengibre induzem mecanismos bioquímicos de defesa em feijoeiro. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 6, n. 2, p.79-86, abr./jun. 2019.

DIAS, A. L. B.; SOUSA, W. C.; BATISTA, H. R. F.; et al. Chemical composition and in vitro inhibitory effects of essential oils from fruit peel of three citrus species and limonene on mycelial growth of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, n. 2, p. 460–464, 2020.

FERREIRA, D. F. SISVAR: Um sistema de análise computadorizada para efeitos fixos de projetos do tipo Plot. **Revista Brasileira De Biometria**, [S.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, dez. 2019.

FRANZENER, G.; SCHWAN, K.; MOURA, G.; KUHN, O.; STANGARLIN, Induction of defense enzymes and control of anthracnose in cucumber by *Corymbia citriodora* aqueous extract. **Summa Phytopathologica**, v.44, n.1, 2018.

FUSCALDI, K.; PRADO, G. Análise econômica da cultura do feijão. Disponível em: <https://seer.sede.embrapa.br/index.php/RPA/article/viewFile/527/477>. Acesso em: 21 dez. 2022.

MANOS, M.; OLIVEIRA, M.; MARTINS, C. Informações Técnicas para o Cultivo do Feijoeiro Comum na Região Nordeste Brasileira 2012-2014. Disponível em: http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2013/doc_181.pdf. Acesso em: 15 jan. 2023.

OLIVEIRA, J. V.; VENDRAMIM, J. D. Repelentes de Óleos Essenciais e pós vegetais sobre adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) em sementes de feijoeiro. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aseb/a/CQyLj987QdyJMRNYkpkycVG/?format=html>. Acesso em: 28 fev. 2023.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. C. C.; et al. Use of essential oils in agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 162–175, 2013

PRIA, M. D.; SILVA, O.C. Cultura do Feijão, 2018. Disponível em: <https://arquivosbrasil.blob.core.windows.net/insulas/anexos/cultura-do-feijao-486960.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2023.

RAVA, C.A.; SARTORATO, A. Crestamento Bacteriano Comum. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/182053/1/CNPAF-1994-p217.pdf>. Acesso em: 12 nov. 2022.

REZENDE, L. C. V.; WENDLAND, A.; PEREIRA, R. J.; MELO, L. C.; PEREIRA, H. S.; COSTA, J. G. C. da; FERREIRA, E. P. B. **Efeito do crestamento bacteriano comum na reação de resistência e produção de genótipos de feijoeiro.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/arroz-e-feijao/busca-de-publicacoes/-/publicacao/924049/efeito-do-crestamento-bacteriano-comum-na-reacao-de-resistencia-e-producao-de-genotipos-de-feijoeiro>. Acesso em: 21 dez. 2022.

SILVA, E.; MOURA, A.; DEUNER, C.; FARIAS, D. Estudo de mecanismos de biocontrole do crestamento bacteriano do feijoeiro por bactérias. **Revista Ceres**, v.55, n.5, 2008.

SIMAS, D. L. R.; DE AMORIM, S. H. B. M.; GOULART, F. R. V.; et al. Citrus species essential oils and their components can inhibit or stimulate fungal growth in fruit. **Industrial Crops and Products**, v. 98, p. 108–115, 2017.

USDA. United States Department of Agriculture. World Agricultural Supply and Demand Estimates. 2022 Disponível em: <https://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/wasde0622.pdf>. Acesso em 16 jan. 2023.
(pagina 8)

VIGO, S.; MARINGONI, A.; CAMARA, R.; LIMA, G. Ação de tinturas e óleos essenciais de plantas medicinais sobre o crestamento bacteriano comum do feijoeiro e na produção de proteínas de indução de resistência. **Summa Phytopathologica**, v.35, n.4, 2009.

WENDLAND, A.; LOBO JUNIOR, M.; FARIA, J. C. Manual de identificação das principais doenças do feijoeiro-comum. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1102266/manual-de-identificacao-das-principais-doencas-do-feijoeiro-comum>
<https://arquivosbrasil.blob.core.windows.net/insulas/anexos/cultura-do-feijao-486960.pdf>. Acesso em: 16 jan. 2023.

WENDLAND, A. et al. Doenças do feijoeiro. In: AMORIM, L. et al. **Manual de Fitopatologia**: Doenças das plantas cultivadas. Ouro Fino: Agronômica Ceres. p.383-396. 2016

