

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

Nayara Caetano dos Santos de Mello<sup>1</sup>

Matthieu Octaveus<sup>2</sup>

Gilmar Franzener<sup>3</sup>

**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.

## INTRODUÇÃO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) é um cultivo conhecido 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

---

<sup>1</sup> Graduanda em Agronomia, com linha de formação em Agroecologia, Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul. nayara.mello151@gmail.com

<sup>2</sup> Graduando em Agronomia, com linha de formação em Agroecologia, Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul. ocmaigit88@yahoo.fr.

<sup>3</sup> Doutor em Agronomia. Professor da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do Sul. gilmar.franzener@uffs.edu.br.

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, nos meses de abril a julho (MANOS *et al.*, 2013). De acordo com dados da Conab (2024) a área plantada com feijoeiro no Brasil, na safra 2023/2024, foi de 2.799.200 ha e produção de 3.026,50 toneladas.

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* (CARVALHO, 2017), agente causal do crestamento bacteriano comum, que causa danos severos e têm uma alta distribuição nas áreas cultivadas (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 mais importantes no feijoeiro pois pode levar a reduções de 10 a 70% na produção (WENDLAND *et al.*, 2016). Os danos geralmente ocorrem mais no verão, quando as temperaturas e umidade tendem a ser mais altas, favorecendo o desenvolvimento do patógeno (REZENDE *et al.*, 2011).

O controle do crestamento bacteriano é difícil (COSTA *et al.*, 2019). Uma das formas mais eficientes é com a adoção de cultivares resistentes (WENDLAND *et al.*, 2016), porém grande parte das cultivares são suscetíveis à doença, principalmente quando cultivadas em condições climáticas favoráveis ao patógeno (RIBEIRO *et al.*, 2017). Tendo em vista todo o estresse biótico e abiótico que a planta sofre diante da infecção por fitopatógenos, muitas vezes se faz necessária 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 são escassas as

opções de controle, embora há produtos que podem ajudar a retardar o aparecimento de sintomas nas lavouras, como os a base de cobre (WENDLAND *et al.*, 2016).

A busca pelo desenvolvimento de novos produtos que apresentem menor impacto e danos ao meio ambiente tem avançado para vários cultivos, mas ainda são limitadas as informações de produtos naturais para o feijoeiro. Diante disso, torna-se muito importante a busca por novas medidas e produtos que possam apresentar eficiência para o controle do crestamento bacteriano do feijoeiro (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 (SILVA *et al.*, 2008; FRANZENER *et al.*, 2018; BONOME *et al.*, 2020). Em estudos com o feijão se tem inseticidas naturais com 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). Muitos estudos tem sido direcionados para fitopatógenos fúngicos e em testes *in vitro* (KUMAR *et al.*, 2014; SHARMA *et al.*, 2017).

Esses derivados podem atuar por diferentes mecanismos, como a ação antimicrobiana direta sobre o fitopatógeno ou ativando respostas de defesa nas plantas (HENDGES *et al.*, 2020). A diversidade de plantas e princípios ativos demonstram a importância de avançar em pesquisas nesse sentido. As plantas, através do metabolismo secundário, podem produzir princípios ativos como compostos antimicrobianos que podem atuar no controle de doenças de plantas (COSTA *et al.*, 2019).

Os óleos essenciais possuem compostos secundários de plantas que podem desempenhar funções importantes para controle de doenças através da ação de defesa da planta sobre fitopatógenos (OOTANI *et al.*, 2013). São estudados em diversas áreas do conhecimento, sendo uma delas a área agrônômica. Pesquisas de atividade antimicrobiana *in vitro* e ação *in vivo* vêm demonstrando eficácia do seu uso no controle de fungos, bactérias, em sementes e na pós-colheita (LEITE *et al.*, 2018; FONTANA *et al.*, 2020).

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 (BATISH *et al.*, 2008; BONOME, *et al.*, 2020). 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, como *Botrytis cinerea* (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 as cascas que resultam do processo de extração do suco são ricas em óleo essencial (SIMAS *et al.*, 2017). Embora óleos essenciais de citros tenham sido estudados para diversas finalidades, ainda pouco se sabe de seu potencial na proteção de plantas de feijoeiro. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de óleos essenciais de citros na atividade antimicrobiana e na proteção de feijoeiro ao crescimento bacteriano.

## 1 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. A incubação foi realizada em escuro a 26 °C, sendo utilizadas nos experimentos colônias com 48 horas de incubação.

### 1.1 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 mencionados nas concentrações de 0, 0,05, 0,25, 0,50%, além de Tween 20 (0,25%), 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. Para cada tratamento utilizou-se um tubo sem adição da suspensão bacteriana, que foi utilizado com referência (branco) na avaliação. Após 48 horas de incubação a 26 °C, em escuro e sob agitação, 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 direto e indireto). 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 em um fragmento de gaze fixado na tampa, de forma que os tratamentos não entraram em contato direto com o meio de cultura. Tanto para efeito direto como indireto, 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. A suspensão foi obtida de colônias com 48 horas de cultivo de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, preparada em solução salina 0,85%. 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, seguida de raspagem com espátula e filtragem em gaze. Como indicativo da multiplicação bacteriana no experimento em meio sólido foi determinada a absorbância da suspensão bacteriana em espectrofotômetro a 600 nm.

## 1.2 EFEITO PROTETOR DOS ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE PLANTAS DE FEIJOEIRO

Para avaliar o efeito preventivo e curativo dos óleos essenciais de citros em plantas de feijoeiro sobre o crestamento bacteriano foi conduzido experimento em sala de crescimento, com temperatura média de 25 °C, umidade relativa (UR%) média de 70%, e as plantas expostas ao sol diariamente. Sementes de feijão 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% (0,5% de emulsão 1:1), tendo como testemunhas o surfactante Tween 20 a 0,25% e água destilada, totalizando cinco tratamentos, em condições conforme descrito anteriormente.

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. A aplicação dos tratamentos e a inoculação com o patógeno foi realizada por aspersão na parte aérea das plantas até o ponto de escorrimento. Para simular ferimentos foram realizados, com tesoura, quatro cortes de 4 mm nas bordas de cada folha. A inoculação foi realizada por aspersão com suspensão bacteriana a 0,5 da escala McFarland, obtida de colônias com 48 horas de cultivo de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, preparada em solução salina 0,85%. As plantas foram mantidas em câmara úmida 4 horas antes e 20 horas após serem inoculadas com a bactéria.

Após oito dias da inoculação 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 de Shapiro-Wilk, e, sendo realizada a transformação dos dados em raiz de  $x + 1$  quando pertinente. No teste de atividade antibacteriana em que foi utilizada uma testemunha adicional foi realizado teste de Dunnett a 5% de probabilidade para comparação das médias com a testemunha. Os dados foram submetidos à análise de

variância seguida de análise de regressão para as concentrações e teste Tukey a 5% de probabilidade na comparação entre tratamentos com concentração única, com auxílio do programa computacional Sisvar (FERREIRA, 2019).

## 2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.1 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 os 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 nutritivo. Nenhum tratamento contribuiu significativamente 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         |
| Água                  | 0,274 ± 0,133 aA                 | 0,156 ± 0,027 aB |
| Tween 20              | 0,047 ± 0,017 bB                 | 0,154 ± 0,056 aA |
| OE <i>C. sinensis</i> | 0,055 ± 0,033 bB                 | 0,188 ± 0,059 aA |
| OE <i>C. limon</i>    | 0,106 ± 0,072 bA                 | 0,137 ± 0,029 aA |
| OE <i>C. nobilis</i>  | 0,102 ± 0,079 bA                 | 0,197 ± 0,040 aA |
| CV%*                  | 3,43                             | 1,88             |

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

No experimento em meio líquido caldo nutriente, onde os tratamentos e a bactéria estavam em contato direto, não foi possível a avaliação da densidade óptica devido a elevada turbidez apresentada por todas as concentrações de óleo essencial de *C. nobilis* e nas 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 ± 0,067         |                    |                      |                |
| 0,05             | 0,240 ± 0,73*         | 0,126 ± 0,020 *    | -                    | 0,199 ± 0,018* |
| 0,25             | -                     | 0,131 ± 0,032 *    | -                    | 0,140 ± 0,027* |
| 0,5              | -                     | 0,118 ± 0,038 *    | -                    | 0,185 ± 0,023* |
| CV%              | 7,9                   |                    |                      |                |

\*Médias diferem da testemunha 0% pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade; ± desvio padrão. - 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 (SIMAS *et al.*, 2017). 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. No entanto, o efeito antibacteriano sobre bactérias fitopatogênicas ainda é pouco relatado na literatura. É possível que o Tween possa potencializar o efeito antibacteriano em emulsões de óleos essenciais, mas ainda necessita de maior compreensão dos mecanismos e forma de uso.

## 2.2 EFEITO PROTETOR EM PLANTAS DE FEIJOEIRO

Em todas as folhas de feijoeiro houve incidência do crestamento bacteriano, resultando em incidência de 100%, independentemente do tratamento (dados não apresentados por terem apresentado o mesmo valor em todos os tratamentos). Quanto a severidade do crestamento bacteriano, os óleos essenciais não promoveram redução significativa ( $p < 0,05$ ) na severidade em relação à testemunha água, tanto na aplicação preventiva quanto na curativa (Tabela 3). Na comparação entre tratamentos preventivos e curativos, as médias de todos tratamentos preventivos foram numericamente menores que do tratamento curativo, mas somente os tratamentos com Tween 20 e óleo essencial de *C. nobilis* promoveram severidade significativamente inferior a do tratamento curativo, indicando o potencial do tratamento preventivo nesse caso.

**Tabela 3.** Severidade do crestamento bacteriano em plantas de feijoeiro tratadas com diferentes óleos essenciais de citros.

| Tratamento            | Severidade (%) |                |
|-----------------------|----------------|----------------|
|                       | Preventivo     | Curativo       |
| Água                  | 1,75 ± 0,44 aA | 2,60 ± 0,58 aA |
| Tween 20              | 1,50 ± 0,39 aB | 2,85 ± 0,63 aA |
| OE <i>C. sinensis</i> | 2,33 ± 0,67aA  | 3,01 ± 0,68 aA |
| OE <i>C. limon</i>    | 1,28 ± 0,44 aA | 2,03 ± 0,49 aA |
| OE <i>C. nobilis</i>  | 1,63 ± 0,43 aB | 2,92 ± 0,63 aA |
| CV%*                  | 10,55          | 12,82          |

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

A incidência da doença em 100% das plantas demonstrou eficiência no processo de inoculação realizado. 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* promoveu redução em relação a OE *C. sinensis* quando aplicado de forma curativa. A média da incidência de lesões em ferimento com tratamento curativo foi numericamente inferior que a dos tratamentos preventivos para todos os tratamentos, embora sem diferenças significativas. Em lesões sem ferimentos somente foram observadas diferenças significativas para OE de *C. limon* e *C. nobilis*, para os quais houve redução no tratamento preventivo em relação ao curativo (Tabela 4).

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

| Tratamento            | Com ferimentos% |                 | Sem ferimentos% |                |
|-----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|
|                       | Preventivo      | Curativo        | Preventivo      | Curativo       |
| Água                  | 86,6 ± 18,3 aA  | 74,0 ± 27,9 abA | 83,3 ± 16,7 aA  | 80,0 ± 44,7 aA |
| Tween 20              | 93,3 ± 14,9 aA  | 59,9 ± 43,5 abA | 79,9 ± 13,9 aA  | 96,6 ± 7,47 aA |
| OE <i>C. sinensis</i> | 100 ± 0,00 aA   | 100 ± 0,00 aA   | 93,3 ± 9,14 aA  | 100 ± 0,00 aA  |
| OE <i>C. limon</i>    | 70,6 ± 20,4 aA  | 55,3 ± 27,4 bA  | 61,3 ± 23,6 aB  | 100 ± 0,00 aA  |
| OE <i>C. nobilis</i>  | 82,6 ± 16,8 aA  | 74,9 ± 27,6 abA | 66,6 ± 35,3 aB  | 100 ± 0,00 aA  |
| CV%*                  | 9,5             | 25,8            | 15,9            | 18,8           |

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ± desvio padrão. \*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). 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 para todos os óleos essenciais testados e para Tween 20 (Tabela 5). Esse resultado de redução de lesões em aplicações preventivas pode estar associado com a ação direta dos óleos essenciais e do Tween sobre as células

bacterianas, o que pode não ter ocorrido nas aplicações curativas, quando a bactéria já estava no interior do tecido vegetal. No entanto, também tem sido relatado efeito de óleos essenciais induzindo mecanismos bioquímicos de defesa em plantas, como enzimas relacionadas a defesa, indicando que diferentes mecanismos podem estar envolvidos (COSTA *et al.*, 2019; HENDGES *et al.*, 2020; VISMARA *et al.*, 2022).

**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       | Preventivo                      | Curativo       |
| Água                  | 2,65 ± 0,72 aA                 | 2,79 ± 0,69 aA | 2,02 ± 0,74 aA                  | 2,76 ± 0,90 aA |
| Tween 20              | 1,86 ± 0,78 aA                 | 1,73 ± 0,57 aA | 1,33 ± 0,56 aB                  | 3,29 ± 0,85 aA |
| OE <i>C. sinensis</i> | 3,06 ± 0,91 aA                 | 3,16 ± 0,82 aA | 1,99 ± 0,58 aB                  | 3,53 ± 0,71 aA |
| OE <i>C. limon</i>    | 1,91 ± 0,43 aA                 | 1,72 ± 0,55 aA | 1,04 ± 0,47 aB                  | 2,26 ± 0,54 aA |
| OE <i>C. nobilis</i>  | 2,83 ± 0,67 aA                 | 2,10 ± 0,70 aA | 1,73 ± 0,52 aB                  | 2,98 ± 0,68 aA |
| CV%*                  | 18,7                           | 16,8           | 15,0                            | 17,3           |

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

Os óleos essenciais são compostos voláteis, assim esse pode ser outro fator que pode ter contribuído para obtenção de resultados mais expressivos *in vitro* do que no teste em plantas. É possível que tenha ocorrido maior volatilização nos tratamentos nas plantas. Alguns estudos tem demonstrado a efetividade da encapsulação de óleos essenciais em algumas situações, como no tratamento de alimentos e em sementes (GIRARDI *et al.*, 2017; CADENA *et al.*, 2018).

Embora os óleos essenciais sejam conhecidos desde a antiguidade, o seu emprego na agricultura ainda é recente, mas resultados promissores sobre fitopatógenos (HENDGES *et al.*, 2020; MUNGAO *et al.*, 2021) tem demonstrado a importância de avançar em estudos nesse sentido.

Com a realização de ferimentos ocorre um rompimento das células o que favorece também a infecção, o que possivelmente contribuiu para não ser observada diferença no número de lesões entre tratamentos preventivos e curativos. 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). Além disso, é uma doença de difícil controle, e opções de produtos com eficiência no controle ainda são limitadas. As condições favoráveis ao patógeno, com elevada umidade relativa na inoculação e a concentração bacteriana pode ter contribuído para não haver diferenças entre tratamentos de forma semelhante ao observado nos testes de atividade antimicrobiana *in vitro*. Esses resultados demonstram a importância de aprofundar estudos com óleos essenciais no controle de doenças também em diferentes condições de ambiente, incluindo testes de campo.

## 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.

CADENA, M. B.; PRESTON, G. M.; HOORN, V. D; FLANAGAN, N.A.; TOWNLEY, N.A.; THOMPSON, I.P. Enhancing cinnamon essential oil activity by nanoparticle encapsulation to control seed pathogens. **Industrial Crops and Products**, v. 124, n. August, p. 755–764, 2018.

CARVALHO, J. C. **Manejo do cretamento 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.

CONAB. **Produção agrícola: série histórica de grãos**. 2024. Disponível em: <<https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/safra-serie-historica-graos.html>>. Acesso em 02 de abril de 2024.

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, J.R. Induction of defense enzymes and control of anthracnose in cucumber by *Corymbia citriodora* aqueous extract. **Summa Phytopathologica**, v.44, n.1, 2018.

FONTANA, D.C.; SCHMIDT, D.; KULCZYNSKI, S.M.; CARON, B.O.; PRETTO, M.M.; MARIOTTO, A.B.; SANTOS, J. HOLZ, E. Fungicidal potential of essential oils in control of *Fusarium* spp. and *Sclerotinia sclerotiorum*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, e0612019, p. 1-10, 2020.

GIRARDI, N. S.; GARCÍA, D.; PASSONE, M. A.; NESCI, A.; ETCHEVERRY, M. Microencapsulation of *Lippia turbinata* essential oil and its impact on peanut seed quality preservation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 116, p. 227–233, 2017.

HENDGES, C.; STANGARLIN, J. R.; NOZAKI, M. H.; LORENZETTI, E.; KUHN, O. J. Antifungal activity against *Alternaria solani* and control of early blight in tomato by essential oil of bergamot orange. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 5, p. 1861–1874, 2020.

KUMAR, V.; MATHELA, C. S.; TEWARI, G.; SINGH, D.; TEWARI, A. K.; BISHT, K. S. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from three Himalayan *Erigeron* species. **Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 278–283, 2014.

LEITE, K.; BONOME, L. T. DA S.; MOURA, G. S.; FRANZENER, G. Óleos essenciais no tratamento de sementes de *Phaseolus vulgaris* L. durante o armazenamento. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 13, n. 2, p. 186–199, 2018

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](http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2013/doc_181.pdf). Acesso em: 15 jan. 2023.

MUGAO, L. G.; GICHIMU, B. M.; MUTURI, P.W.; DJOROGGE, E. K. Essential Oils as Biocontrol Agents of Early and Late Blight Diseases of Tomato under Greenhouse Conditions. **International Journal of Agronomy**, v. 2021, p.1-10, 2021.

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. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.28, n.3, p.549-555, 1999.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. C. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J. B.; CAJAZEIRA, J. P. 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.

REZENDE, L. C. V.; WENDLAND, A.; PEREIRA, R. J.; MELO, L. C.; PEREIRA, H. S.; COSTA, J. G. C.; FERREIRA, E. P. B. **Efeito do crestamento bacteriano comum na reação de resistência e produção de genótipos de feijoeiro**. In: 5 Seminário Jovens Talentos – Resumos apresentados. 2011. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/58885/1/42.pdf>. Acesso em: 21 dez. 2022.

RIBEIRO, T.; AZEVEDO, C. V. G.; ESTEVES, J. A. F.; CARBONELL, S.A.M.; ITO, M.F.; CHIORATO, A.F. Reaction of common bean lines to *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, p. 40–46, 2017.

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.

SHARMA, A.; RAJENDRAN, S.; SRIVASTAVA, A.; SHARMA, S.; KUNDU, B. Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 123, n. 3, p. 308–313, 2017.

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

VISMARA, L. S.; SIEGA, T. C.; BERTOLDO, E.; MAZARO, S.M.; VISMARA, E.S.; REY, M.S.; MORAES, P.V.D. Physiological and biochemical performance of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seeds treated with essential oils used to control phytopathogens. **Australian Journal of Crop Science**, v. 16, n. 3, p. 329–337, 2022.

WENDLAND, A.; MOREIRA, A.S.; BIANCHINI, A.; GIAMPAN, J.S.; LOBO Jr., M. Doenças do feijoeiro. In: AMORIM, L. et al. **Manual de Fitopatologia**: Doenças das plantas cultivadas. Ouro Fino: Agronômica Ceres. p.383-396. 2016.