

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
NÍVEL MESTRADO

EMANUELE GUANDALIN DAL'MASO

DETECÇÃO DE *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* EM SEMENTES, ASPECTOS FISIOLÓGICOS E PROTEÇÃO DO FEJÓEIRO CONTRA O CRESTAMENTO BACTERIANO COMUM USANDO EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE ALECRIM CÚRCUMA E *Pycnopus sanguineus*.

MARECHAL CÂNDIDO RONDON -PARANÁ
2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
NÍVEL MESTRADO

EMANUELE GUANDALIN DAL'MASO

DETECÇÃO DE *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* EM SEMENTES, ASPECTOS FISIOLÓGICOS E PROTEÇÃO DO FEIJOEIRO CONTRA O CRESTAMENTO BACTERIANO COMUM USANDO EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE ALECRIM CÚRCUMA E *Pycnopus sanguineus*.

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós- Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Magister Scientiae

Orientador: Prof. Dr. José Renato Stangarlin

Co-orientador: Prof. Dr. Odair José Kuhn

Co-orientador: Prof. Dra. Márcia de Holanda Nozaki

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ
2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
NÍVEL MESTRADO

EMANUELE GUANDALIN DAL'MASO

DETECÇÃO DE *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* EM SEMENTES, ASPECTOS FISIOLÓGICOS E PROTEÇÃO DO FEIJOEIRO CONTRA O CRESTAMENTO BACTERIANO COMUM USANDO EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE ALECRIM CÚRCUMA E *Pycnopus sanguineus*.

Dissertação apresentada como pré-requisito de conclusão de curso do programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal - Nível Mestrado da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

Marechal Candido Rondon, 27 de Fevereiro de 2014

BANCA EXAMINADORA

José Renato Stangarlin
Prof. Dr., CCA/UNIOESTE

Odair José Kuhn
Prof. Dr., CCA/UNIOESTE

Márcia de Holanda Nozaki
Prof. Dra., ECAMV/PUCPR

À Deus

*Aos meus amados pais Cesar e Deisy, pelo
amor e carinho sem eles nada seria possível,*

Dedico.

*“Jamais considere seus estudos uma obrigação,
mas uma oportunidade invejável...
para aprender a conhecer a
influência libertadora da beleza do reino do espírito,
para seu próprio prazer pessoal e
para proveito da comunidade a qual
seu futuro trabalho pertencer.”*

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, PAI, por ter colocado em meu caminho pessoas maravilhosas que me ajudaram muito em minha vida as quais hoje só tenho a agradecer.

Aos meus pais Cesar e Deisy Dal'Maso e ao meu irmão Cesar Augusto pelo apoio e amor incondicionais, incentivos e compreensão, principalmente durante este período em que me ausentei de quase tudo para dedicar-me ao mestrado, pelo exemplo de pessoas maravilhosas que vocês são.

Ao meu amado namorado Diego Henz que sempre me apoiou, incentivou, me dando forças nos momentos mais difíceis com seu amor, e a sua família especialmente seus pais Ilce e José que me receberam em sua casa de braços abertos com carinho e paciência.

Aos meus excelentes orientadores José Renato, Odair Kuhn e Márcia Nozaki, por todos os ensinamentos teóricos, metodológicos e éticos que recebi ao longo desse tempo, além da paciência e do incentivo durante a realização desse trabalho. A confiança depositada em mim e o estímulo para sempre tentar ser um profissional melhor foram extremamente importantes para o meu amadurecimento intelectual.

À Universidade Estadual Oeste do Paraná (Unioeste), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade concedida. Ao CNPq/ CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Agradecimento especial as grandes amigas Juliana Casarin e Poliana da Costa pela amizade, apoio, paciência, confidências, conversas e risadas durante o mestrado, vocês foram essenciais, e me ajudaram a encarar a vida de uma forma diferente. Vocês fazem parte da minha família.

À Cristiane, Omari, Vanessa, Priscila, Mitio e Nicanor pelo apoio e ajuda imprescindível que me ofereceram ao longo de todo o trabalho, na utilização dos aparelhos, na metodologia aplicada, nas noites e dias devido as medições com o IRGA. E em todos os outros momentos no laboratório, obrigada pela parceria, que perdure por muito tempo.

Aos amigos e familiares que não estiveram fisicamente próximos, mas torceram por meu sucesso, e que sempre estarão presentes em cada lembrança.

E a todos aqueles que um dia lerem e, ou consultarem esta dissertação.

Muito Obrigada!

Resumo

DETECÇÃO DE *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* EM SEMENTES, ASPECTOS FISIOLÓGICOS E PROTEÇÃO DO FEIJOEIRO CONTRA O CRESTAMENTO BACTERIANO COMUM USANDO EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE ALECRIM CÚRCUMA E *Pycnopus sanguineus*. Orientador: Prof. Dr José Renato Stangarlin;

Objetivou-se com esse trabalho, o controle do crestamento bacteriano comum incitado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) com o uso de extratos hidroalcoólicos de cúrcuma, alecrim e *Pycnopus sanguineus*. *In vitro* realizou-se o teste de difusão em ágar com discos de papel filtro e a detecção da Xap em lotes de sementes de feijão de produtores da região oeste do Paraná. Em condições de campo, feijoeiro (IAPAR-81) foi pulverizado aos 14, 28 e 42 dias após a emergência, com os extratos na concentração de 150 mL L⁻¹. Antibiótico (22,5 mg L⁻¹ oxitetraciclina + 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) e água foram as testemunhas. Os tratamentos foram aplicados três dias antes da inoculação do patógeno. As avaliações foram realizadas a cada três dias para cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Também avaliou-se número de sementes por vagem e massa dos grãos, em duas safras janeiro-junho (2013), Em casa de vegetação, cultivou-se duas plantas de feijão por vaso de 8 L, onde foram feitas avaliações diárias num período de 7 dias utilizando o aparelho de infravermelho de gás (IRGA), sempre na região mediana do terceiro e quarto pares de folhas novas e totalmente expostas a radiação solar, para verificação dos parâmetros (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (g_s , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (E $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (EUA, $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (EIUA, $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Também realizou-se os tratamentos com extratos hidroalcoólicos de cúrcuma e alecrim nas concentrações de 100, 150 e 200 mL L⁻¹ na terceira folha trifoliolada, e no quarto dia das avaliações, foi realizada a inoculação da bactéria, com um corte na terceira e quarta folha trifoliolada, com o intuito de verificar a indução de resistência sistêmica dos extratos. Para o teste de difusão em ágar verificou-se que os extratos hidroalcoólicos não tiveram efeito antimicrobiano. A análise de sementes indicou a presença da Xap nas amostras. *In vivo* o tratamento com cúrcuma, apresentou menor AACPD e maior produtividade. Em casa de vegetação o tratamento com alecrim 150 mL L⁻¹ incrementou até 47% a eficiência de uso da água, local e sistematicamente.

Palavras chave: *Phaseolus vulgaris*, controle alternativo; *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*; indução de resistência, *Curcuma longa*, *Rosmarinus officinalis*

Detection and control of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* in seed physiological aspects and protection of bean against bacterial blight using hydroalcoholic extracts of rosemary and turmeric *Pycnopus sanguineus*. Adviser: Prof. Dr José Renato Stangarlin;

Abstract: The objective of this work, the control of common bacterial blight caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (*Xap*) with the use of hydroalcoholic extracts of tumeric, rosemary and *Pycnopus sanguineus*. *In vitro* was made the agar diffusion test with discs of filter paper and the detection of *Xap* in seed lots of beans of producers from the western region of Parana. Under field condition bean (IAPAR-81) was sprayed at 14, 28 and 42 days after the emergency, with the extracts at a concentration of 150 mL.L⁻¹. Antibiotic (22,5 mg L⁻¹ oxytetracycline + 225 mg L⁻¹ of streptomycin) and water were the control treatments. The treatments were applied three days before inoculation of the pathogen. The evaluations were performed every three days for calculation of the area under the disease progress curve (AUDPC). Also it was evaluated number of seeds per pod and mass of grains, in two seasons January-June (2013). In the greenhouse, in pots of 8 L (two plants per pot), were daily assessments within a period of 7 days using infrared gas (IRGA), always in medial region of the third and fourth pair of new leaves and fully exposed to solar radiation, for verification of (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (g_s , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (E $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (EUA, $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and (EIUA, $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). It was also performed the treatments with hydroalcoholic extracts of tumeric and rosemary in concentrations of 100, 150 and 200 mL L⁻¹ in the third leaf stage, and on the fourth day of evaluations was performed the inoculation of bacteria. In the third and fourth leaves, in order to verify the induction of systemic resistance of extracts. For the agar diffusion test it was found no antimicrobial effect. Seed analysis indicated the presence of *Xap* in the samples. *In vivo*, treatment of tumeric presented lower AUDPC and greater productivity. In greenhouse it was observed that rosemary 150 mL L⁻¹ o improved in 47%, in average the efficiency of water use (USA) local and systemically.

Key words: *Phaseolus vulgaris*; alternative control; *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*; resistance induction; *Curcuma longa*; *Rosmarinus officinalis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Detecção de sementes infectadas pela *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. (A) Feijão var. Colibri de Santa Tereza do Itaipu; (B) Feijão do tipo carioca de Jesuítas; (C) Feijão var. IPR-Tangará de Toledo; (D) Feijão var. Angola comunidade Carajá - Jesuítas; (E) Feijão var. IAPAR-81 distrito São Sebastião- Ouro Verde do Oeste; (F) Feijão var. Eldorado comunidade Santa Cruz- Jesuítas.28

Figura 2. Taxa de assimilação líquida de CO₂ (A) no terceiro trifolíolo em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (→A100) 150 mL L⁻¹ (→A150) e 200 mL L⁻¹ (→A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (→C100) 150 mL L⁻¹ (→C150) e 200 mL L⁻¹ (→C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - 22,5 mg L⁻¹+ 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) (→ ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (→SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (→CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos. X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria.31

Figura 3. Condutância estomática (g_s) no terceiro trifolíolo em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (A100) 150 mL L⁻¹ (A150) e 200 mL L⁻¹ (A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (C100) 150 mL L⁻¹ (C150) e 200 mL L⁻¹ (C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - 22,5 mg L⁻¹+ 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) (ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos. X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria.32

Figura 4. Eficiência da taxa de transpiração da folha (E), no terceiro trifolíolo em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (A100) 150 mL L⁻¹ (A150) e 200 mL L⁻¹ (A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (C100) 150 mL L⁻¹ (C150) e 200 mL L⁻¹ (C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - 22,5 mg L⁻¹+ 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) (ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos.

X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria. 33

Figura 5. Eficiência do uso de água (EUA), no terceiro trifolíolo em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (A100) 150 mL L⁻¹ (A150) e 200 mL L⁻¹ (A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (C100) 150 mL L⁻¹ (C150) e 200 mL L⁻¹ (C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - 22,5 mg L⁻¹+ 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) (ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos. X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria. 34

Figura 6. Eficiência intrínseca do uso de água (EIUA) no terceiro trifolíolo em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (A100) 150 mL L⁻¹ (A150) e 200 mL L⁻¹ (A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (C100) 150 mL L⁻¹ (C150) e 200 mL L⁻¹ (C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - 22,5 mg L⁻¹+ 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) (ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos. X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria. 35

Figura 7. Concentração interna de CO₂(Ci), no terceiro trifolíolo em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (A100) 150 mL L⁻¹ (A150) e 200 mL L⁻¹ (A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (C100) 150 mL L⁻¹ (C150) e 200 mL L⁻¹ (C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - 22,5 mg L⁻¹+ 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) (ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos. X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria. 36

Figura 8 Respiração no terceiro trifolíolo em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (→A100) 150 mL L⁻¹ (→A150) e 200 mL L⁻¹ (→A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (→C100), 150 mL L⁻¹ (→C150) e 200 mL L⁻¹ (→C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - 22,5 mg L⁻¹+ 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) (→ ANTI), testemunha negativa (sem a

presença do patógeno) (—SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (—CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos. X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria..... 37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Escala fenológica da fase vegetativa e reprodutiva da cultura do feijoeiro.....	15
Tabela 2. Atividade antibacteriana a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> pelos extratos hidroalcoólicos de alecrim, cúrcuma e <i>P. sanguineus</i>	27
Tabela 3. Número de vagens, grãos por plantas e massa de grãos em feijoeiro (IAPAR-81) tratado com extratos hidroalcoólicos de alecrim e cúrcuma e inoculados com <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> em condição de campo. Toledo, 2013.	29
Tabela 4. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para Crestamento bacteriano comum do feijoeiro, da variedade IAPAR-81 em função do tratamento de extratos hidroalcoólicos de alecrim e cúrcuma. Toledo - Pr, 2013	29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 CULTURA DO FEJJOEIRO.....	15
2.2 Doenças no Feijoeiro	16
2.2.1 Crestamento Bacteriano Comum em Feijoeiro	17
2.3 CONTROLE ALTERNATIVO DE DOENÇAS	17
2.3.1 Extratos vegetais.....	18
2.3.1.1 Alecrim	19
2.3.1.2 Cúrcuma	19
2.3.2 Extratos fúngicos	20
2.3.2.1 <i>Pycnopus sanguineus</i>	20
2.4 TROCAS GASOSAS	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS	22
3.1.1 Teste de difusão ágar	22
3.1.2 Detecção de <i>X. axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> (Xap) em Sementes de Feijoeiro	22
3.2 ENSAIO <i>in vivo</i>	23
3.3 CULTIVO PROTEGIDO	24
3.3.1 Respiração e Fotossíntese.....	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1 EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS	26
4.1.2 Teste de Difusão em Ágar	26
4.1.2 Detecção da Xap em Sementes de Feijão	27
4.2 CONTROLE DA XAP EM FEJJOEIRO	28
5 CONCLUSÃO	38
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1 INTRODUÇÃO

As doenças que acometem a cultura do feijoeiro são uma das principais causas da sua baixa produtividade no país. Em alguns casos, as doenças inviabilizam o cultivo do feijão. Nos últimos anos, a cultura do feijoeiro vem sofrendo profundas modificações, como a utilização de técnicas antes não empregadas, como irrigação. Porém, essas alterações contribuíram também para a chegada de novos patógenos e antigas doenças que não eram consideradas problemas para a cultura e que passaram a ser.

O maior dificuldade no controle das doenças transmitidas através de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) no Brasil é que 92% da área cultivada em 02/03 empregaram, como material de propagação, sementes próprias, ou grãos. Apenas 8% da área foi cultivada com sementes legais (MENTEN et al., 2006). Dados da ABRASEM (2013), revelam que na safra 2011/2012 apenas 18% das sementes utilizadas eram certificadas, enquanto que os 82% restantes eram sementes salvas, piratas e grãos para o cultivo.

Uma doença de grande importância é o crestamento bacteriano comum que gera grandes prejuízos nas lavouras do Paraná. O crestamento bacteriano comum é ocasionado pela *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) bactéria classificada como gram-negativa, aeróbia estrita, baciliforme e monotríquia. As colônias são amarelas, de bordos definidos e convexas (SARTORATO e RAVA, 1994). Na planta os primeiros sintomas surgem na forma de manchas aquosas, com crescimento irregular, na face inferior dos folíolos, tornando-se de coloração parda e aspecto necrótico, circundadas por halo de tecido amarelo, coalescendo e originando o crestamento. O clima úmido, com temperaturas altas (28 °C), favorece o desenvolvimento da doença, ocasionando grandes perdas na cultura (BIANCHINI et al., 2005).

A formação de uma consciência ecológica sobre a necessidade de se preservar o meio ambiente tem gerado a necessidade de testar produtos naturais visando o controle de fitopatógenos. A utilização de extrato de plantas medicinais (STANGARLIN et al., 1999) tem demonstrado um futuro promissor no tratamento de sementes, bem como a utilização de extratos de fungos (SCHWAN-ESTRADA et al., 2012) , tem sido eficaz no controle de doenças fitopatológicas de interesse agrônômico.

Através desse embasamento este trabalho tem como objetivo, a detecção da *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em sementes de feijoeiro e o controle do crestamento bacteriano comum causado por esta bactéria com o uso de extratos hidroalcoólicos das

plantas, cúrcuma e alecrim e do basidiomiceto *Pycnoporus sanguineus*, bem como verificar a influencia desses tratamentos e alguns aspectos fisiológicos do feijoeiro.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CULTURA DO FEIJOEIRO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) pertence à família Fabaceae, está compreendido entre as 55 espécies pertencentes ao gênero *Phaseolus* L. sendo cultivado em diversas partes do mundo (ZUCARELI et al., 2011). Essa leguminosa é um produto agrícola de grande importância econômica e social. É considerado um alimento básico, constituindo-se na principal fonte de proteínas e ferro das classes de menor renda da população.

As características morfológicas desta espécie são definidas por: sistema radicular formado por uma raiz principal, onde nas laterais surgem raízes secundárias e terciárias, e que se reúnem na parte basal do caule, superficialmente no solo. O caule é herbáceo, formado por uma sequência de nós e entrenós, onde no primeiro nó estão os cotilédones; no segundo, as folhas primárias; e, apenas no terceiro, estão inseridas as folhas definitivas sendo elas trifolioladas. O crescimento pode ser determinado ou indeterminado, sendo um caráter morfológico de relevância agroeconômica. As folhas são simples e opostas, constituídas de três folíolos e alternadas, características das folhas definitivas; pecíolo alongado; cor e pilosidade variam de acordo com vários fatores. As flores estão dispostas em inflorescências racemosas, axilares e terminais e botões florais. Podem apresentar cor branca, rósea ou violeta, distribuída uniformemente por toda a corola, ou ser bicolor, isto é, possuir corola com estandarte e asas com tonalidades diferentes. O fruto é um legume deiscente, com duas conchas unidas por duas suturas, uma dorsal e outra ventral, cuja forma pode ser reta, arqueada ou recurvada, e o ápice abrupto ou afilado. A semente é formada pelo tegumento, hilo, micrópila e rafe e, internamente, de um embrião formado pela plúmula, duas folhas primárias, hipocótilo, dois cotilédones e radícula. Pode ter várias formas: arredondada, elíptica, reniforme ou oblonga e tamanhos que variam de muito pequenas (<20 g) a grandes (> 40g/100 sementes). Apresenta ampla variabilidade de cores, variando do preto, bege, roxo, róseo, vermelho, marrom, amarelo, até o branco, podendo o tegumento ter uma cor uniforme (cor primária), ou duas, uma primária e uma cor secundária. Sua casca pode ter brilho intenso, intermediário ou opaco (SILVA, 2003).

Na cultura do feijão, utiliza-se a escala fenológica, proposta por Gepts e Fernandez (1982), dividida em dez estágios e duas fases do ciclo biológico da cultura (Tabela 1).

Tabela 1. Escala fenológica da fase vegetativa e reprodutiva da cultura do feijoeiro.

ESTÁDIOS	FASE VEGETATIVA
V ₀	Germinação
V ₁	Emergência (cotiledôneas acima da superfície do solo)
V ₂	Folhas Primárias (Par de folhas cordiformes)
V ₃	Primeira folha trifoliada
V ₄	Terceira folha trifoliada
FASE REPRODUTIVA	
R ₅	Primeiros botões florais
R ₆	Florescimento
R ₇	Formação das vagens
R ₈	Enchimento de vagens
R ₉	Maturidade Fisiológica

Fonte: Gepts e Fernandez, (1982).

O maior problema de sementes de feijão no Brasil é sua baixa taxa de utilização. Dos 4,2 milhões de hectares cultivados em 2003/2004, 3,96 milhões ou seja cerca de 92% utilizaram, como material de propagação, sementes próprias ou grãos. Apenas 8% da área (340 mil ha) foi cultivada com sementes legais. Esta, provavelmente, é uma das principais razões do baixo rendimento médio do feijoeiro no Brasil (MENTEN et al., 2006).

No levantamento da CONAB o Brasil cultivou aproximadamente 4 milhões de hectares de feijão na safra 13/14. O Paraná eleito o maior produtor de feijão do país na primeira safra (12/13) é responsável por 31,2% da produção nacional (CONAB, 2014).

Grande parcela das lavouras de feijão são cultivadas no sistema convencional, somente em grandes áreas são utilizados maquinário moderno e semeadura direta. Já na região Centro-Oeste é corriqueiro o emprego do cultivo sobre irrigações realizadas por pivôs (CONAB, 2014).

2.2 Doenças no Feijoeiro

O feijoeiro é comumente atacado por inúmeras pragas e doenças, que são responsáveis por grande perda de produtividade da cultura.

A incidência, a intensidade dessas doenças e os prejuízos causados variam de acordo com a região, a época de plantio, o sistema de plantio, a variedade, a qualidade sanitária da semente e as condições climáticas.

Em levantamento realizado por Thung e Sartorato (2002) identificou-se a antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*), a mancha-angular (*Pseudocercospora griseola*) e o crestamento bacteriano comum (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) como as doenças de maior importância na cultura do feijão no Sul do Brasil.

2.2.1 Crestamento Bacteriano Comum em Feijoeiro

O crestamento bacteriano comum é ocasionado pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* que são classificadas como gram-negativas, aeróbias estritas, ou seja, não são capazes de fixar oxigênio que pode causar inibição ao seu crescimento, baciliformes e monotríquias. As colônias são amarelas, de bordos definidos e convexas (BARRA et al., 2012).

Na planta o aparecimento dos primeiros sintomas ocorre na forma de manchas aquosas, com crescimento irregular, na face inferior dos folíolos, tornando-se de coloração parda e aspecto necrótico, circundadas por halo de tecido amarelo, coalescendo e originando o crestamento. O clima úmido, com temperaturas altas (28 °C), favorece o desenvolvimento da doença, ocasionando grandes perdas na cultura (BIANCHINI et al., 2005)

O meio mais eficaz para a disseminação e sobrevivência de *X. campestris* pv. *phaseoli* são as sementes, constituindo-se em fonte de inóculo primário e em condições de gerar novos focos de infecção. Em levantamento realizado por Torres (2001), foi observado em 50% dos lotes de sementes fiscalizadas estavam infectadas com a bactéria causadora do crestamento bacteriano comum.

A eficácia do controle químico de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, através de pulverização das plantas com produtos bactericidas, tem sido de pouca magnitude nas lavouras, devido à baixa eficiência destes ((BIANCHINI et al., 2005)

2.3 CONTROLE ALTERNATIVO DE DOENÇAS

Com a aplicação de políticas agrícolas com enfoque na agricultura sustentável ou alternativa, para a minimização dos impactos ambientais causados pela ação antrópica e o uso indiscriminado de agroquímicos, tem-se buscado o controle alternativo de doenças de plantas, o qual se inclui o controle biológico e a indução de resistência em plantas (BETTIOL, 1991) e o uso de produtos alternativos ao controle químico, com os extratos e óleos vegetais, que

agem por ação antibiótica ou fungitóxica direta, ou indiretamente por meio da ativação de mecanismos de defesa nas culturas tratadas.

A indução de resistência (ou indução de proteção imunidade adquirida, ou resistência sistêmica adquirida) abrange a ativação de mecanismos de defesa existentes nas plantas, em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos (HAMMERSCHMIDT e DANN, 1997). Dentre os mecanismos de resistência induzidos, pode-se citar as estruturais, como papila, lignificação e tilose e os bioquímicos, como o acúmulo de fitoalexinas e de proteínas relacionadas à patogênese (como β -1,3 glucanase, quitinase e quitonase degradadoras da parede celular de fungos e do peptidoglicano bacteriano) (PASCHOLATI e LEITE, 1994).

Kuc (1995) afirmou que a proteção atribuída pelo tratamento é capaz de proteger a planta contra infecções subsequentes por diferentes patógenos e mostra-se como uma estratégia potencial para o controle fitossanitário. Moléculas ou agentes de origem biótica ou abiótica capazes de ativar ou induzir qualquer resposta de defesa nas plantas, são chamadas de elicitores (SMITH, 1996). A variada natureza química dos elicitores, tais como oligossacarídeos, glicoproteínas, oligopeptídeos e ácidos graxos demonstra que não há uma característica estrutural única que determine a atividade elicitora.

2.3.1 Extratos vegetais

Algumas plantas são naturalmente resistentes a danos causados por patógenos, pois produzem compostos que são tóxicos ou que rompem o ciclo de vida desses organismos. Essas substâncias tem a denominação de compostos secundários ou aleloquímicos, derivados de metabólitos primários e não têm função aparente, mas têm importante papel ecológico servindo, entre outros, como defesa química contra microrganismos, insetos e predadores (GUIRADO et al., 2004). A maioria desses metabólitos pode ser obtida de parte de plantas através de destilação, extração com solventes ou aquosos, consistindo em técnicas com emprego de extratos vegetais, aminoácidos, microrganismos e óleos essenciais, enquadrando-se em estratégias de controle alternativo de patógenos de plantas (FRANCO e BETTIOL, 2000).

Loguercio et al. (2005), em estudo realizado com o extrato hidroalcoólico a 10% (m/v) de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) observou atividade antibacteriana frente a 17 isolados bacterianos testados, não sendo observada diferença de sensibilidade entre microrganismos Gram positivos e Gram negativos.

Vários autores relatam a eficiência de extratos aquosos, hidroalcoólicos e alcoólicos em diversas proporções, feitos a partir de folhas verdes ou secas, de casca, de frutos, de sementes e, até mesmo, de botões florais. O uso de solventes hidroalcoólicos, obtidos a partir de diferentes proporções de água e etanol, é eficiente para a extração bruta de taninos e saponinas (FALKENBERG et al., 2002).

2.3.1.1 Alecrim

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), pertence à família Lamiaceae e apresenta diversos nomes populares dentre os quais alecrim-de-cheiro, alecrim-das-hortas, alecrim-da-casa, alecrim-comum, alecrim-verdadeiro e rosmaninho. Dentre as principais características botânicas cita-se folhas lineares coriáceas, cores azulado-claras de forma tubular de aroma forte e agradável, sendo arbusto perene de porte subarbusivo (1,5 metros). O alecrim é uma planta oriunda da região mediterrânea da Europa, e seus principais produtores são a Itália, Iugoslávia, Espanha, Grécia, Turquia, França, Portugal, Egito e norte da África. Apesar de ser cultivado em quase todo o território brasileiro é importado como condimento para o consumo interno, poucos estudos tem sido realizados sobre esta importante planta medicinal (PORTE e GODOY, 2001). No seu óleo essencial, há principalmente: pinenos, canfeno, cineol, borneol, acetato de bornila, cânfora e diterpenos. Possui também ácidos orgânicos, saponinas, traços de alcaloides, princípios amargos e taninos, os quais podem ter efeito alelopático.

2.3.1.2 Cúrcuma

A Cúrcuma (*Curcuma longa* L.) da família *Zingiberaceae*, também conhecido como açafrão-da-terra, tem como característica geral ser uma planta herbácea, anual, aromática, de folhas grandes e longamente pecioladas. As flores são amareladas, pequenas, dispostas em espigas compridas. A planta possui sistema radicular composto de um rizoma primário, o bulbo central ou pião e os rizomas secundários, os dedos medindo cerca de 10 cm comprimento (central) e 4 - 6 cm (secundários). Estes quando cortados mostram superfície de cor vermelha alaranjada, sendo ele rico em um corante, a curcumina (CECÍLIO FILHO e SOUZA, 1999; CECÍLIO FILHO et al., 2000). Tem cheiro forte e agradável e sabor aromático e picante. Originária da Índia é cultivada em todo o mundo tropical. O uso do açafrão-da-terra é milenar na medicina tradicional da Índia e da China. No Brasil estes rizomas vêm sendo utilizados como tempero de alimentos. Os rizomas desta planta têm

despertado grande interesse nas indústrias de alimentos e farmacêuticas (LORENZI e MATOS, 2008).

Estudos na área agrônômica tem apontando o potencial de extratos de cúrcuma para o controle de fitopatógenos. Kuhn et al. (2006) observaram um efeito positivo na redução do crescimento das colônias *in vitro* de *X. axonopodis* pv. *manihotis*, com o uso de extrato aquoso dos rizomas de açafrão na concentração de 5%.

2.3.2 Extratos fúngicos

Apesar da grande diversidade de basidiomicetos existentes na flora brasileira, a pesquisa, no entanto, relacionada, ao potencial do controle de doenças fitopatogênicas com a utilização de partes vegetativas de cogumelos ou orelhas de pau é muito escassa (FIORI - TUTIDA , 2003).

Di Piero (2003), em estudo realizado para o controle da antracnose no pepino, observou que as concentrações de 10 a 20% dos extratos aquosos dos basidiocarpos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* reduziram significativamente a incidência da doença quando tiveram suas folhas pulverizadas com os extratos .

2.3.2.1 *Pycnoporus sanguineus*.

Pycnoporus sanguineus (L. ex Fries) Murril. pertencente à família Polyporaceae e é amplamente distribuído na natureza, sendo encontrado em regiões de clima mais ameno e em florestas tropicais como a floresta amazônica (ESPOSITO et al., 1993). É conhecido popularmente como orelha-de-pau, sendo encontrado em madeiras de decomposição. É capaz de hidrolisar os polissacarídeos da parede celular e também a lignina de materiais celulósicos (TEIXEIRA et al., 1997). sendo chamado de fungo de decomposição branca (*white rot*).

Toillier et al. (2010) observaram em meio de cultura que os extratos de basidiocarpo *P. sanguineus* nas concentrações de 15% a 20% reduziram 91% em média o crescimento bacteriano da *Xanthomonas axonopodis* pv *phaseoli*.

2.4 TROCAS GASOSAS

A condutância estomática (g_s) é compreendida como um importante mecanismo fisiológico que a planta dispõe para a regulação da transpiração. As principais funções adaptativas dos estômatos são aprimorar as trocas gasosas foliares; reduzir a desidratação,

sobretudo em folhas com potencial hídrico abaixo do ponto de cavitação do xilema (TYREE e SPERRY, 1988); e regulação da temperatura foliar por meio do resfriamento através da transpiração (JONES, 1998). A forma como a taxa de assimilação de CO_2 (A) relaciona-se com a g_s possui uma importância ecológica, pois quando a A e g_s variam de maneira equilibrada, numa relação linear, é possível afirmar que a concentração interna de CO_2 (C_i) e a eficiência intrínseca do uso da água (EUIA) mantenham-se constantes, no sentido de otimizarem as trocas gasosas (SCHULZE e HALL, 1982 apud MACHADO et al., 1999).

A intensidade luminosa, a temperatura, a concentração de CO_2 , o teor de nitrogênio da folha e a umidade do solo são fatores que afetam a atividade fotossintética dos vegetais (MARENCO e LOPES, 2005), e fatores exógenos como o ataque de fitopatógenos (DÍAZ et al, 2001a)

Diaz, et al (2001b), afirmaram que a taxa fotossintética é reduzida nos tecidos verdes remanescentes das folhas infetadas pela bactéria *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, o que é comprovado também por Taiz e Zeiger (2004), onde as taxas metabólicas das plantas sofrem interferência das condições ambientais, que estabelecem as taxas e proporções da fotossíntese e da respiração (perdas e ganhos no balanço das trocas gasosas) e eventualmente, a produtividade biológica e econômica das plantas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

As soluções hidroalcoólicas foram obtidas através da maceração de folhas frescas de alecrim (100 g) de rizoma de cúrcuma (100 g) e do pó do basidiomiceto *P. sanguineus* (40 g) em álcool etílico 70 °G.L., que foi mantido a 4 °C por 15 dias. Posteriormente, a tintura etanólica foi filtrada em gaze e papel Whatman nº 1. Para a evaporação do solvente, o extrato, passou pelo evaporador rotativo a vácuo em temperatura aproximada de 75 °C.

3.1.1 Teste de difusão ágar

O teste de difusão em ágar foi realizado segundo metodologia padrão de NCCLS (2002), onde em torno do meio depositou-se discos de papel de filtro (6 mm diâmetro) esterilizados que foram com embebidos com a testemunhas positiva (Pentabiotico® Benzilpenicilina benzatina + Benzilpenicilina procaína +Benzilpenicilina potássica + Diidroestreptomicina base (sulfato) + Estreptomicina base (sulfato)) e negativa (água esterilizada), e os extratos autoclavados e não autoclavados nas concentrações de 100, 150 e 200 µL mL⁻¹. Com auxílio de uma pipeta graduada, repicou-se a bactéria na placa sendo depositados 100 µL da bactéria (10⁸ UFC) e homogeneizada com alça de Drigalsky por toda a placa, antes da disposição dos discos. As avaliações foram executadas diariamente no período de sete dias após a implantação do experimento mensurando-se o tamanho do halo de inibição com auxílio de paquímetro.

3.1.2 Detecção de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) em Sementes de Feijoeiro

Foi utilizado o método de extração para patógeno indicado para *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff) (BRASIL, 2009), devido as amostras coletadas não possuírem sementes suficientes para a realização da metodologia indicada para a detecção da Xap, pelas Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009). Para a extração realizou-se a suspensão das sementes, que passaram por processo de trituração, e foram deixadas em solução salina (0,85% NaCl em frasco cônico). O volume de solução salina foi ajustado de acordo com o número de sementes utilizado (50 mL para 100 sementes). As sub-amostras permaceram embebidas por 16-18 h a 4 °C (BRASIL, 2009).

Para o plaqueamento os frascos foram agitados para homogeneização antes da diluição em série do extrato de sementes (diluição 10⁻¹ a 10⁻⁵). Foram pipetados 100 µL das

diluições 10^5 em duas placas de meio semi-seletivo Milk Tween (MT) (ISTA, 2012) e espalhados sobre a superfície com alça de Drigalski estéril. Em seguida, as placas permaneceram incubadas em BOD a 25-28 °C no escuro e examinadas após três dias (BRASIL, 2009).

As amostras de sementes foram adquiridas do: distrito de São Sebastião e Linha Sol de Maio (var. IAPAR-81) em Ouro Verde do Oeste, IAPAR (var. Colibri) de Santa Terezinha do Itaipu, Santa Cruz (var. Eldourado) e Carajá (var. Angola) em Jesuítas, e Coatol (var. Tangará) em Toledo.

3.2 ENSAIO *in vivo*

O experimento a campo foi conduzido no município de Toledo na Região Oeste do Estado do Paraná nos meses de fevereiro a junho de 2013. O clima da região é do tipo Cfa (clima subtropical) conforme classificação de Köppen, com temperatura média no mês mais frio inferior a 18 °C (mesotérmico) e temperatura média no mês mais quente acima de 22 °C, com verões quentes, geadas pouco frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, contudo sem estação seca definida (IAPAR, 2013). Na área experimental, antes da implantação do experimento foi realizada análise de solo e correção do solo, com gessagem e calagem e adubação para a cultura do feijoeiro (EMBRAPA, 2003).

Para o ensaio, utilizou-se IAPAR-81(safra 2012). O delineamento utilizado foi em blocos casualizados com quatro repetições, e as parcelas dimensionadas com 2 m de comprimento por 1 m de largura, espaçamento de 0,45 m e a área útil de cada parcela de 1 m² e os corredores de 0,5 m (VIECELLI, 2012).

Os tratamentos utilizados foram extratos hidroalcoólicos de alecrim e cúrcuma na concentração de 150 mL L⁻¹, antibiótico (antibiótico sistêmico: 22,5 mg L⁻¹ de oxitetraciclina + 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) e testemunha água. Efetuou-se as aplicações aos 14, 28 e 42 dias após a semeadura (DAS). A suspensão bacteriana com *X. axonopodis* pv. *phaseoli* foi preparada com solução salina (0,85% de NaCl) a partir de um isolado com 48 horas de cultivo e ajustada na concentração de 5 x 10⁷ UFC mL⁻¹ (SARTORATO e RAVA 1994). A inoculação ocorreu por aspersão três dias após a aplicação dos tratamentos, com presença de água livre nas folhas, ao final do dia (VIECELLI, 2012).

Os tratos culturais realizados foram aplicação de inseticida químico para controle de mosca branca, ácaros e largatas, usando-se ICON®(Lambda-Cyhalothrin) , e capinas regulares para o controle de plantas invasoras.

As avaliações foram realizadas a partir do aparecimento dos sintomas com a utilização de escala diagramática descrita por Diaz et al. (2001b) e a cada três dias, o qual, ao final foi calculada a área da curva de progresso da doença (AACPD) através da equação citada por Shaner e Finney (1977):

$$\text{AACPD} = \sum_{i=1}^n [(Y^{i+1} + Y_i)/2] * [(T^{i+1} - T_i)]$$

Onde:

n – é o número de observações.

Y_i – é a severidade da doença na “i”-ésima observação;

T_i – é o tempo em dias na “i”-ésima observação

Os dados obtidos da AACPD foram submetidos ao teste F na análise de variância, para as dosagens foi realizada análise de regressão, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, pelo programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2008).

Também foi determinado o número vagens por planta, e número de sementes por vagem, utilizando-se 10 plantas de cada parcela, dentro de cada repetição. Para a massa grãos utilizou-se a produção total das parcelas (1m²) considerando-se umidade de 18%.

3.3 CULTIVO PROTEGIDO

Sementes de feijoeiro da cultivar IAPAR-81, foram semeadas em vasos com capacidade para 8 L contendo mistura de solo + areia + esterco bovino curtido (2:1:2) mantidos em casa de vegetação, localizada no Complexo de Controle Biológico e Cultivo Protegido Professor Dr. Mário César Lopes, da Unioeste, Campus de Marechal Cândido Rondon-PR, localizada a 24°33’40” de latitude sul, 54°04’00” de longitude oeste, e altitude média de 400 m. Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. Foram cultivadas duas plantas em cada vaso. Os tratamentos consistiram nos extratos hidroalcoólicos de alecrim e cúrcuma nas concentrações 100 mL L⁻¹, 150 mL L⁻¹ e 200 mL L⁻¹ (A100; A150; A200; C100; C150; C200, respectivamente), antibiótico (oxitetraciclina 22,5 mg L⁻¹ + 225 mg L⁻¹ de estreptomomicina) (ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (CXAP). Todos os

tratamentos foram realizados na terceira folha trifoliada, três dias antes da inoculação da *Xanthomonas axonopodis* pv *phaseoli*.

No quarto dia das avaliações foi realizado o corte para a inoculação da bactéria, *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, na terceira e na quarta folha trifoliolada com o intuito de averiguar a indução de resistência local e sistêmica nas plantas respectivamente.

3.3.1 Respiração e Fotossíntese

A respiração e fotossíntese foram avaliadas por métodos não destrutíveis, conforme utilizado por Ribeiro et al. (2003), sendo que a medida de CO₂ e o fluxo de vapor d'água foram obtidos em folhas maduras e completamente expandidas, com o auxílio de um medidor portátil, sistema fechado, infravermelho de gás (IRGA), modelo LI-6400, da Li-Cor, Lincoln, NE, USA, sempre na região mediana do terceiro e quarto par de folhas novas e totalmente expostas a radiação solar. A condição ambiental para o aparelho foi a mesma na qual as plantas cresceram. A assimilação de CO₂ foi medida pela manhã entre 8 e 10 horas, sendo armazenada quando o coeficiente de variação do dado foi menos que 1%. A respiração foi medida pela noite, entre 22 e 23 horas com fonte luminosa desligada sendo armazenada o valor liberação de CO₂ quando o coeficiente de variação foi menor que 1% (MEINERZ, 2013).

Para determinação da indução de resistência, as análises foram realizadas no quarto trifólio expandido, imediatamente acima do terceiro trifólio onde foram aplicados os tratamentos.

As avaliações de trocas gasosas foram realizadas periodicamente no período de 7 dias de intervalo da aplicação dos tratamentos via foliar. Foram determinadas: taxas de assimilação líquida de CO₂ (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração (E $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), eficiência do uso de água (EUA, $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e eficiência intrínseca do uso da água (EIUA, $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) correspondente à relação entre quantidade de CO₂ assimilada por unidade de água perdida pela transpiração.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando ocorreram diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (variáveis qualitativas) ao nível de 5% de significância e análise de regressão (variáveis quantitativas). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se do programa estatístico SAS (2002).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS

Os extratos hidroalcoólicos de alecrim e cúrcuma obtidos através do processo de roto evaporação adquiriram consistência líquida, com suspensão de partículas, a qual lhes conferiu a cor esverdeada para o alecrim e âmbar para cúrcuma. Já o extrato de *P. sanguineus* teve um baixo rendimento, por sua matéria prima ser de um material esponjoso, de grande volume e baixa densidade. Em função disso este extrato não foi utilizado para o experimento *in vivo*.

4.1.2 Teste de Difusão em Ágar

O extrato de alecrim resultou em halo de inibição de 1,30 mm de diâmetro, indicando atividade inibitória contra *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (Tabela 1). Resultado semelhante foi observado por Cruz e Pereira (2010) quando analisaram extrato hidroalcoólico de alecrim em diferentes concentrações (2,5%; 5%; 7,5%; 10% e 12,5%) e concluíram ser o mais efetivo contra a bactéria *Staphylococcus aureus*.

Vigo et al. (2009) utilizando óleo essencial de *R. officinalis*, observaram ação inibitória *in vitro* aos isolados de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, ocorrendo a presença de halos de inibição a partir da concentração de 1%.

Extrato hidroalcoólico de cúrcuma resultou em halos de 1,84 mm. No entanto, Antunes et al. (2012) observaram que o óleo essencial comercial de cúrcuma não apresentou atividade bactericida contra *Listeria monocytogenes* e *Salmonella typhimurium*.

Kunh et al. (2006) avaliaram o controle *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* mediante o uso de extrato aquoso de quatro genótipos de cúrcuma originárias de cultivos de Jaboticabal-SP, Mara Rosa-GO, Maringá-PR e Mercedes-PR. Para os valores de unidades formadoras de colônias (UFC) observados para cada concentração e genótipo de cúrcuma utilizado, foi verificado que o genótipo de Mercedes reduziu o crescimento bacteriano a partir da concentração 5%, associando à coloração do extrato, uma vez que extrato de coloração mais alaranjada resultou em maior efeito inibidor quando comparado ao de coloração amarelada.

Para as concentrações de 50, 100 e 200 mL L⁻¹ não se observou efeito inibitório no crescimento bacteriano para os extratos hidroalcoólicos não autoclavados de cúrcuma e *P. sanguineus* (dados não mostrados).

Para o extrato hidroalcoólico de *P. sanguineus* observou-se um halo de 0,65 mm. Toillier et al. (2010), analisando a ação antimicrobiana do *P. sanguineus* nas concentrações de

15% e 20% sobre a Xap, observaram que houve redução em média de 91% no crescimento bacteriano.

Observou-se que os extratos de alecrim cúrcuma e *P. sanguineus* que foram autoclavados perderam a atividade antimicrobiana, indicando a presença de compostos termosensíveis (Tabela 2).

Para o antibiótico o halo de inibição foi superior a 4 mm, para todos os tratamentos, tanto autoclavados como não autoclavados. Embora este tratamento seja superior ao observado com os extratos hidroalcoólicos, estes resultados indicam a presença de compostos antibacterianos principalmente nos extratos de alecrim e cúrcuma.

Tabela 2. Atividade antibacteriana a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* pelos extratos hidroalcoólicos de alecrim, cúrcuma e *P. sanguineus*.

Tratamento	Halo de inibição (mm) ¹	
	Não Autoclavado	Autoclavado
Alecrim	1,30 ^{ns3}	0
Cúrcuma	1,84	0
<i>P. sanguineus</i>	0,65	0
Antibiótico ²	4,00	4,00
Água	0	0

¹ Valores representam o valor máximo de inibição pois não houve significância para o efeito dose;

² Pentabiotico®; Benzilpenicilina benzatina + Benzilpenicilina procaína + Benzilpenicilina potássica + Diidroestreptomicina base (sulfato) + Estreptomicina base (sulfato)

³ Não significativo.

4.1.2 Detecção da Xap em Sementes de Feijão

Todas as amostras avaliadas confirmaram a presença da bactéria *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (Figura 1), com a formação de colônias no meio MT, amarelas, circulares, circundadas por duas zonas de hidrólise: uma maior, clara, correspondente à hidrólise de caseína e uma menor, leitosa (láctea), à lipólise de Tween 80 (BRASIL, 2009). Em posterior teste de resposta de hipersensibilidade em plantas de fumo (*Nicotiana tabacum*), com a utilização de suspensão da colônia em solução salina (NaCl – 0,85%) confirmou-se a patogenicidade dos isolados.

Torres et al. (2009), analisando 34 amostras de sementes de feijão da safra 98/99 e 99, observaram que 50% dos lotes estavam infectados com a Xap, o que corrobora com os dados obtidos neste trabalho.

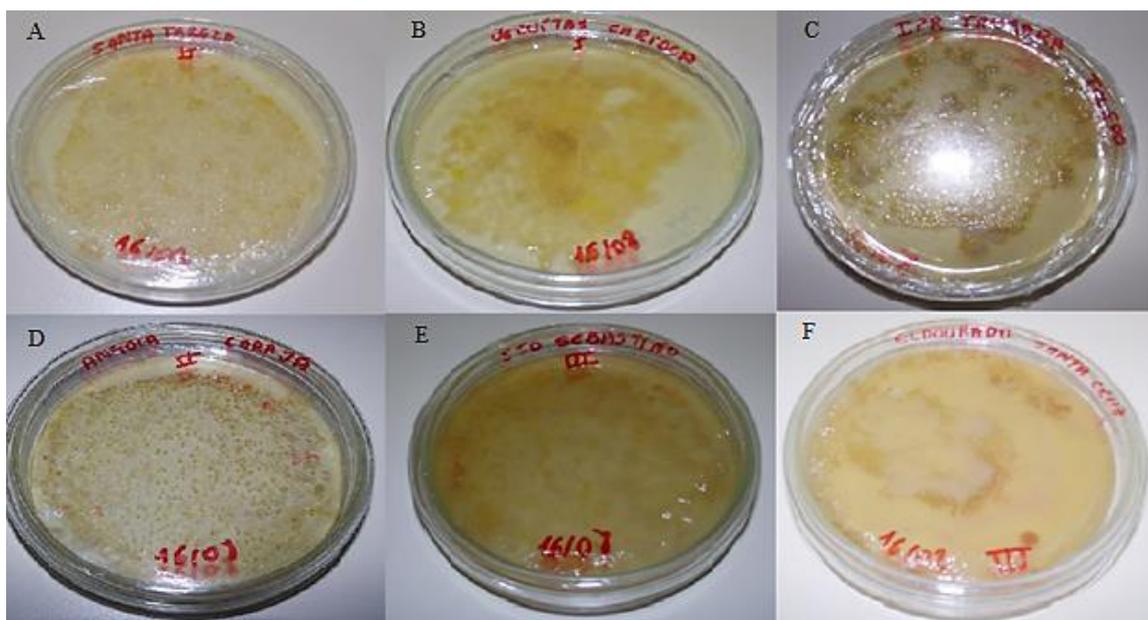


Figura 1. Detecção de sementes infectadas pela *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. (A) Feijão var. Colibri de Santa Tereza do Itaipu; (B) Feijão do tipo carioca de Jesuítas; (C) Feijão var. IPR-Tangará de Toledo; (D) Feijão var. Angola comunidade Carajá - Jesuítas; (E) Feijão var. IAPAR-81 distrito São Sebastião-Ouro Verde do Oeste; (F) Feijão var. Eldourado comunidade Santa Cruz- Jesuítas.

Em levantamento realizado por Ito et al. (1997), para detecção de Xap em sementes de feijoeiro produzidos São Paulo em 1991, com 188 lotes, foi detectada a bactéria em apenas 5,3% das amostras e, 1993, ocorreu um aumento da incidência da bactéria, onde dos 124 lotes avaliados 30,6% estavam contaminados. Os autores sugerem que este fato possa ter ocorrido provavelmente devido as condições climáticas favoráveis que incidiram naquele ano. No Paraná o clima é favorável para o aparecimento e disseminação da doença, principalmente na safra das águas (agosto a janeiro) por ter verões quentes e com tendência de concentração das chuvas (IAPAR, 2013).

4.2 CONTROLE DA XAP EM FEIJOEIRO

A análise de variância do efeito dos tratamentos no número de vagens e número de grãos por plantas (Tabela 3) em condições de campo, não foi significativa, apenas diferiu estatisticamente do tratamento com antibiótico para o número de sementes que foi menor que os demais tratamentos. Verificou-se que a massa de grãos do tratamento com *C. longa* e *R. officinalis* foi superior à testemunha água e ao antibiótico (Tabela 3).

Tabela 3. Número de vagens, grãos por plantas e massa de grãos em feijoeiro (IAPAR-81) tratado com extratos hidroalcoólicos de alecrim e cúrcuma e inoculados com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em condição de campo. Toledo, 2013.

Tratamentos	Vagens/Planta	Grãos/Vagem	Massa (kg/ha)
Alecrim	16,1 a	3,87a	5371 a
Cúrcuma	17,9 a	3,86 a	5408 a
Antibiótico ¹	13,6 b	4,04 b	1917 c
Água	10,1 c	3,43 a	3609 b
CV (%)	25,41	16,45	1832

¹ Antibiótico sistêmico: 22,5 mg L⁻¹ de oxitetraciclina + 225 mg L⁻¹ de estreptomicina. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em estudo realizado com Viecelli (2012), analisando a aplicação do extrato seco de alecrim (150 mg L⁻¹), aos 14, 28 e 42 (dias após a semeadura), observou-se que houve um incremento de produtividade de 34,6% ao comparar com a testemunha, que corrobora com os resultados obtidos nesse estudo.

O número de grãos por vagem e números de vagens por planta obtidos de plantas tratadas com o extrato de cúrcuma não diferenciaram do antibiótico e da testemunha água, no entanto, para massa de grãos, houve incremento de 150% e 282% respectivamente, quando comparada com a testemunha água e ao antibiótico. Já Viecelli (2012), analisando extratos secos de cúrcuma, concentração de 50 mg L⁻¹, aplicados a campo, em feijões da variedade IAPAR-81, constatou que o número de grãos por vagem obtidos de plantas tratadas com o extrato de cúrcuma não diferenciou do antibiótico e da testemunha água, diferentemente do que foi verificado neste experimento.

Para a variável área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), observou-se que o alecrim manteve o nível infeccioso mais baixo que os demais tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para Crestamento bacteriano comum do feijoeiro, da variedade IAPAR-81 em função do tratamento de extratos hidroalcoólicos de alecrim e cúrcuma. Toledo - Pr, 2013

Tratamentos	AACPD
Alecrim	1466,75 a
Cúrcuma	2240,00 ab
Antibiótico ¹	2451,75 ab
Água	2779,50 b
CV (%)	24,31

¹ Antibiótico sistêmico: 22,5 mg L⁻¹ oxitetraciclina + 225 mg L⁻¹ de estreptomicina.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para os tratamentos com cúrcuma, antibiótico e testemunha água não houve diferença estatística. Viecelli (2012) relatou que a AACPD para o crestamento bacteriano

comum, foi reduzida com uma, duas tres aplicações com extrato seco de cúrcuma na concentração de 50 mg L^{-1} , quando comparada a testemunha água e com o mesmo afeito atingido pelo antibiótico. Da mesma forma, o uso do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis*, aplicado em plantas de feijoeiro com as diferentes apresentou efeito no controle do crestamento bacteriano comum, (VIGO et al. 2009).

4.4 TROCAS GASOSAS

Nas avaliações utilizando o aparelho de infravermelho de gás (IRGA), para verificação dos parâmetros Taxa de assimilação líquida de CO_2 (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Condutância estomática (g_s , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), . Eficiência da taxa de transpiração da folha (E $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Eficiência intrínseca do uso de água (EIUA, $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Concentração interna de CO_2 , (C_i $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) e Respiração ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), não se observou diferença estatística para nenhuma das folhas analisadas (Figura 2, 3, 4, 6, 7 e 8). Para a Eficiência do uso de (EUA, $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Figura 5), o tratamento com alecrim 150 mL L^{-1} incrementou em 47% esse parâmetro.

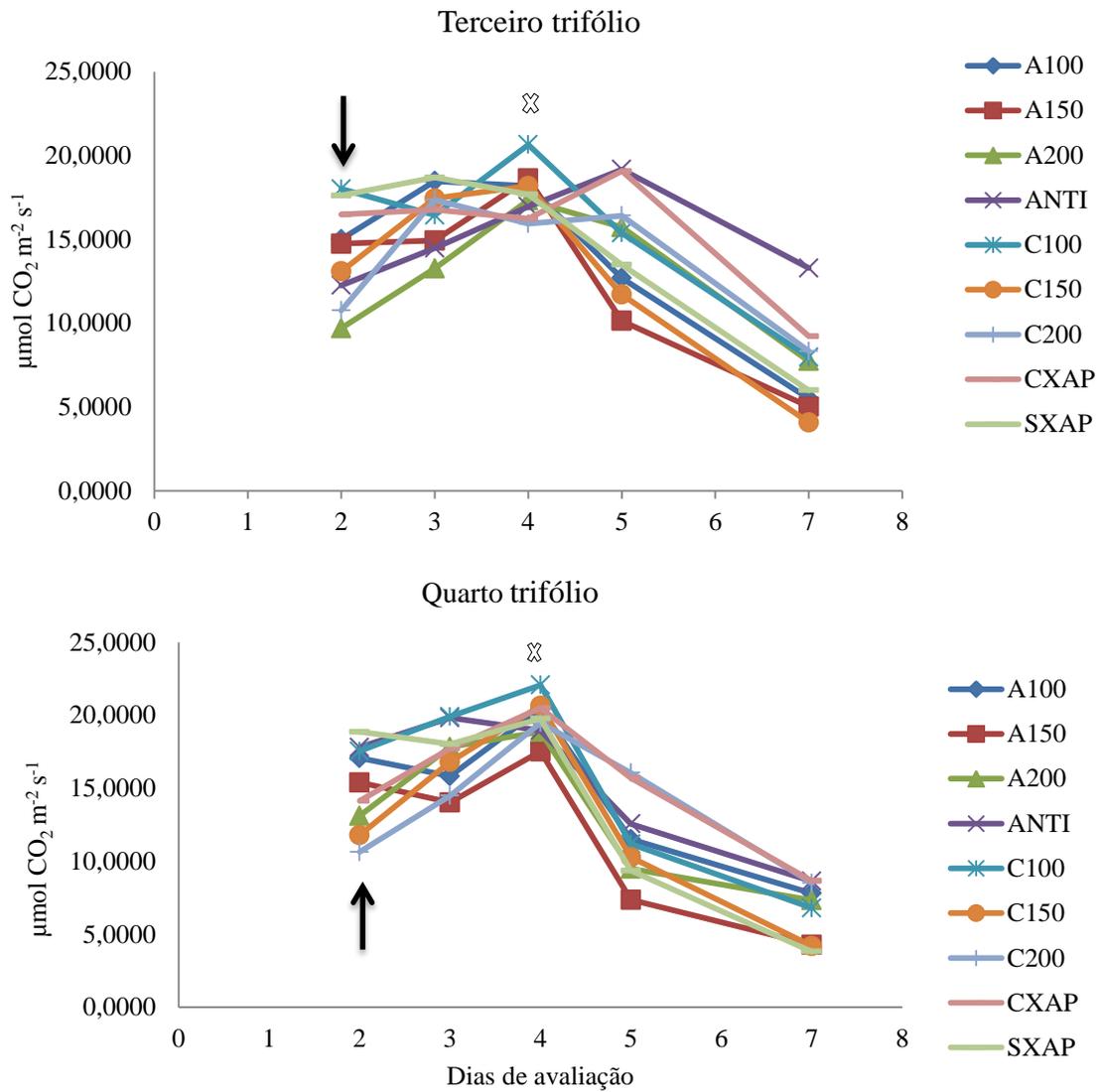


Figura 2. Taxa de assimilação líquida de CO₂ (A) no terceiro trifolíolo em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (→A100) 150 mL L⁻¹ (→A150) e 200 mL L⁻¹ (→A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (→C100) 150 mL L⁻¹ (→C150) e 200 mL L⁻¹ (→C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - 22,5 mg L⁻¹+ 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) (→ ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (—SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (—CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos. X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria.

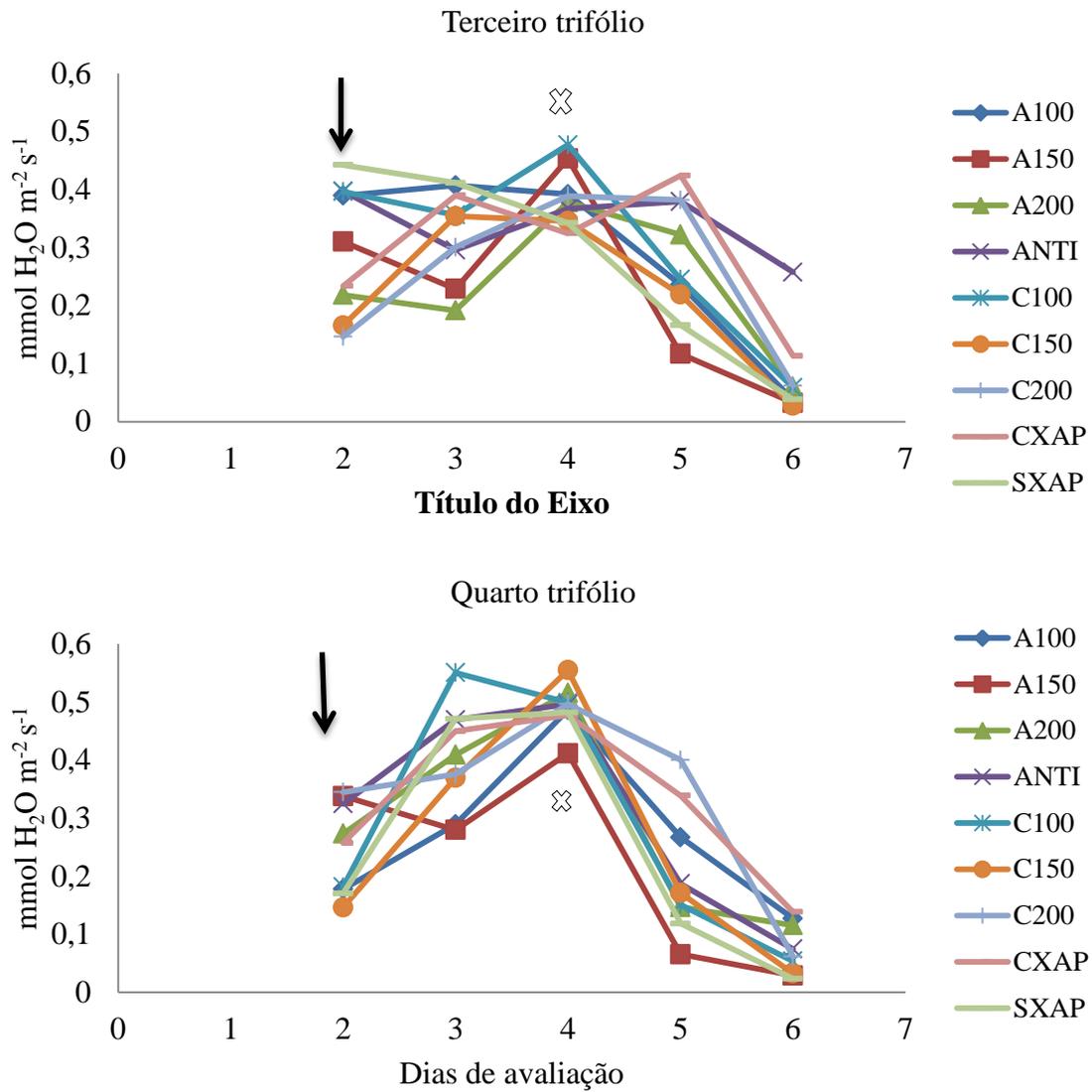


Figura 3. Condutância estomática (g_s) no terceiro trifolíolo em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (A100) 150 mL L⁻¹ (A150) e 200 mL L⁻¹ (A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (C100) 150 mL L⁻¹ (C150) e 200 mL L⁻¹ (C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - 22,5 mg L⁻¹+ 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) (ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos. X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria..

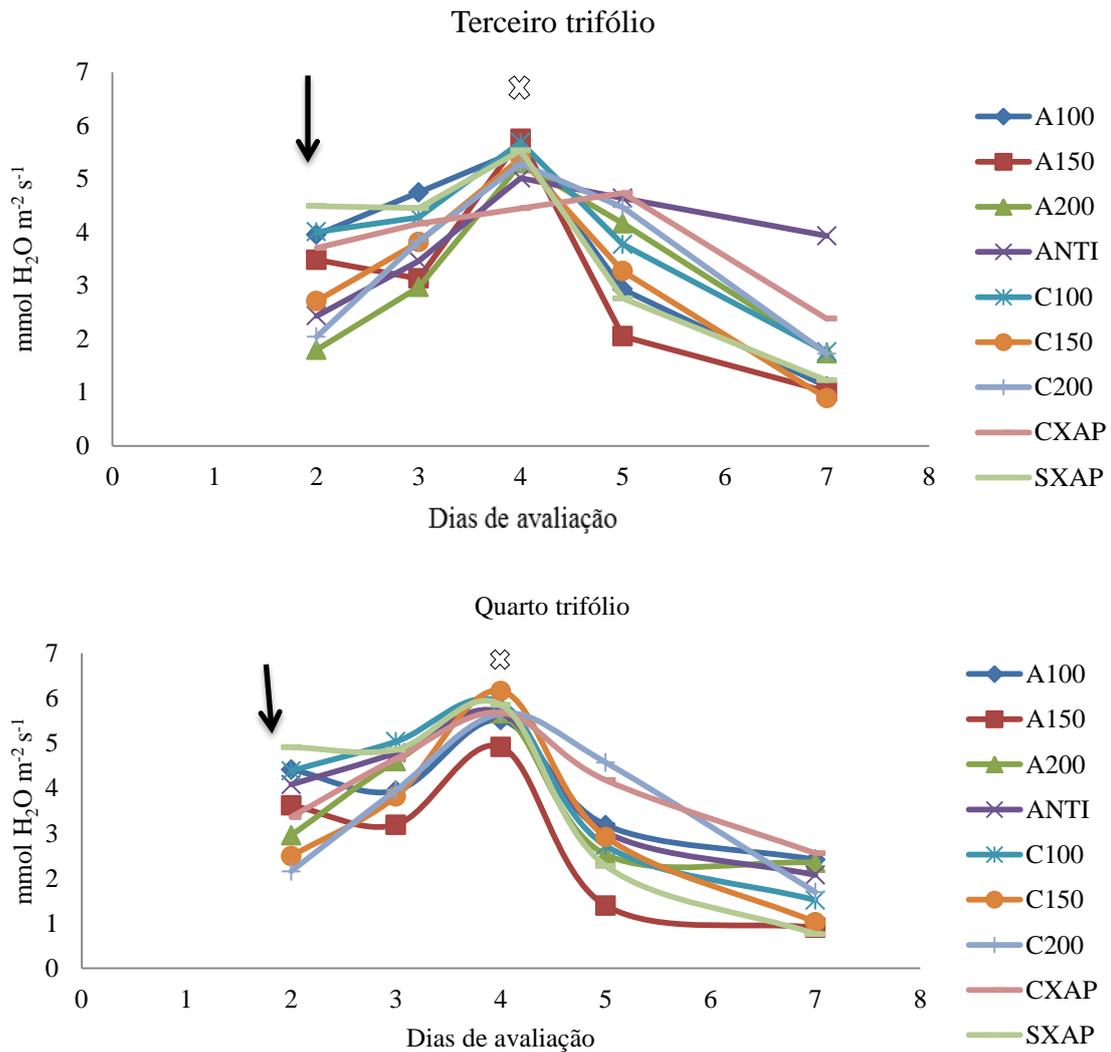


Figura 4. Eficiência da taxa de transpiração da folha (E), no terceiro trifolíolo em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L^{-1} (A100) 150 mL L^{-1} (A150) e 200 mL L^{-1} (A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L^{-1} (C100) 150 mL L^{-1} (C150) e 200 mL L^{-1} (C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - $22,5 \text{ mg L}^{-1}$ + 225 mg L^{-1} de estreptomicina) (ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos. X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis pv. phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria.

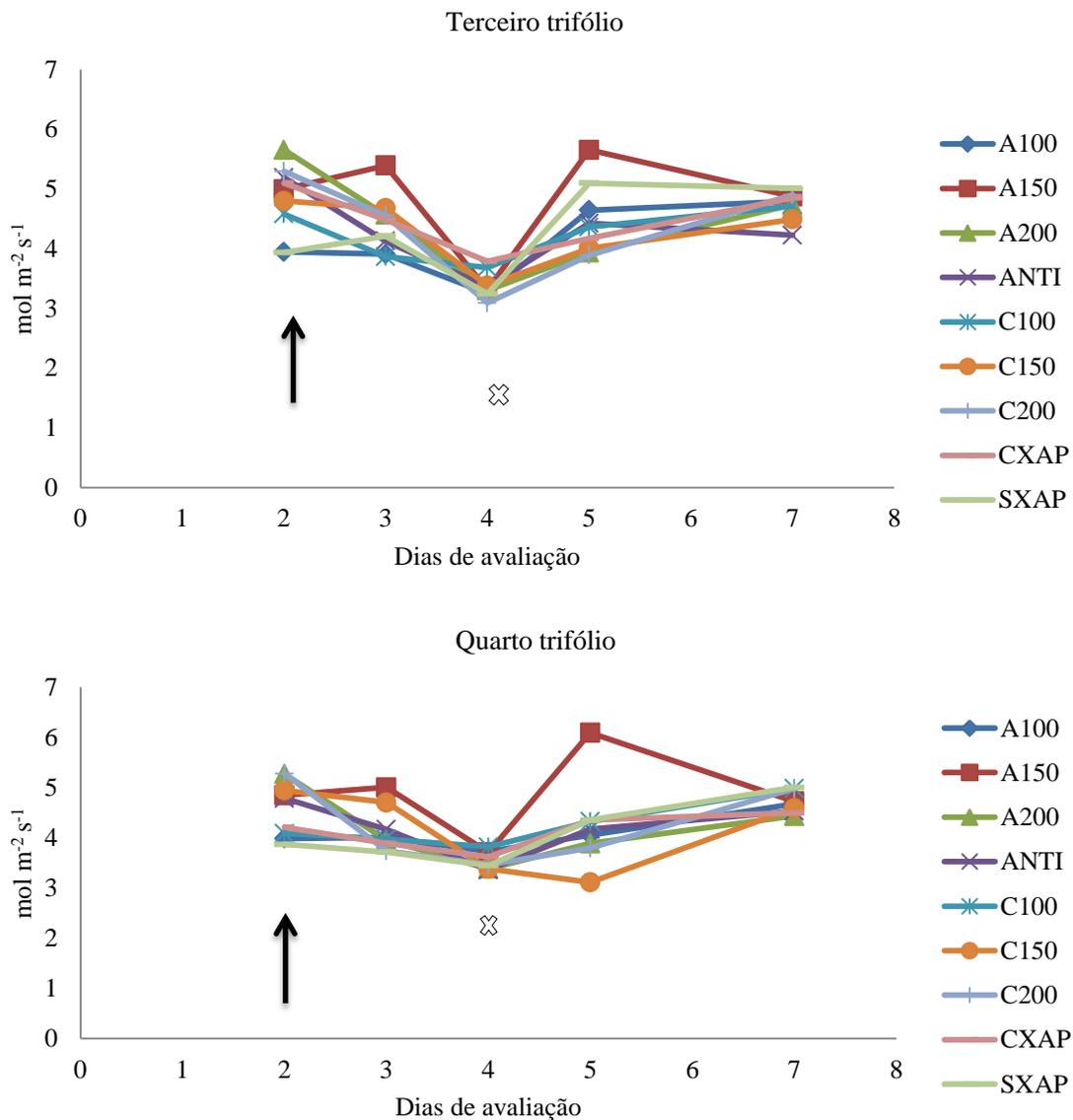


Figura 5. Eficiência do uso de água (EUA), no terceiro trifólio em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (A100) 150 mL L⁻¹ (A150) e 200 mL L⁻¹ (A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (C100) 150 mL L⁻¹ (C150) e 200 mL L⁻¹ (C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - 22,5 mg L⁻¹+ 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) (ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos. X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria.

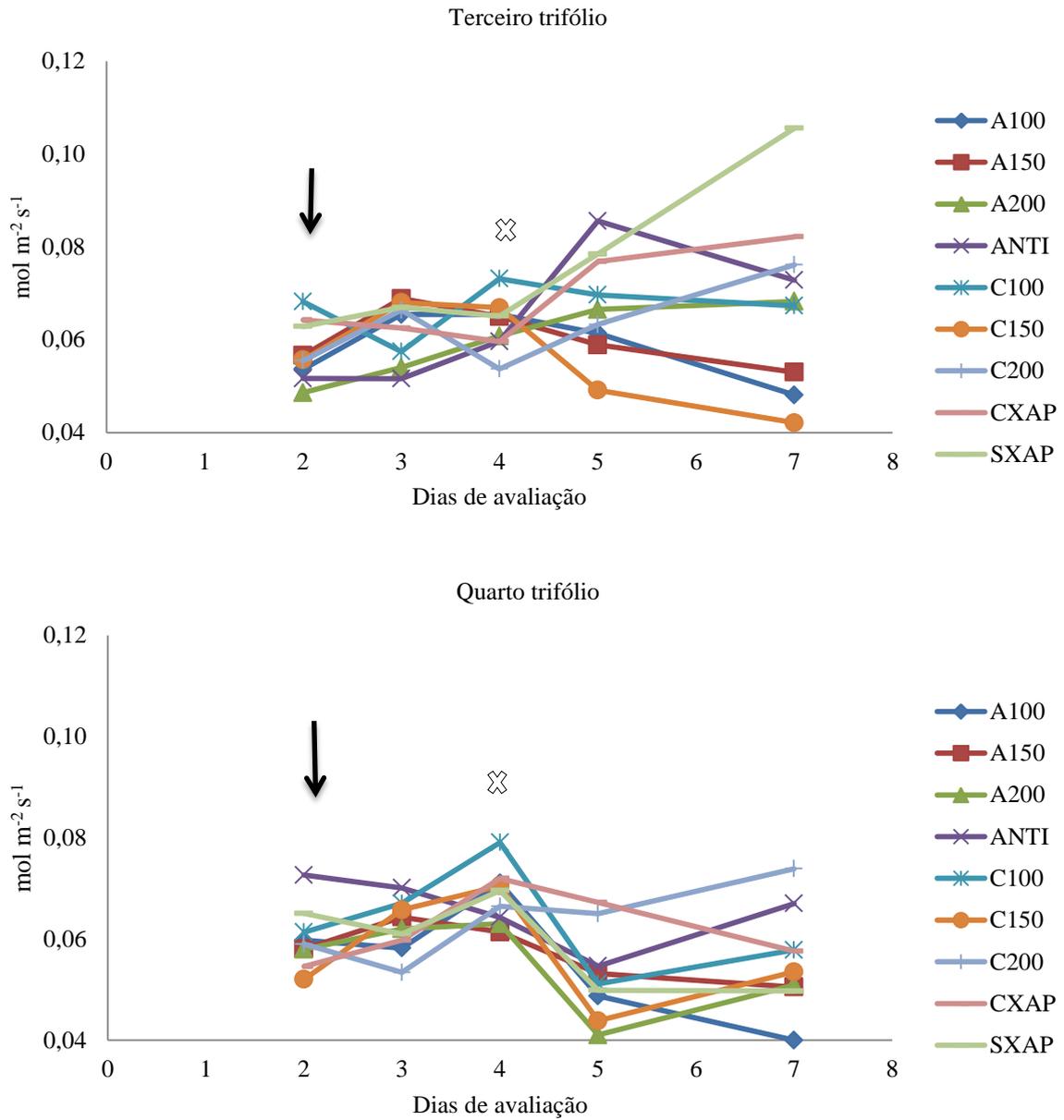


Figura 6. Eficiência intrínseca do uso de água (EIUA) no terceiro trifolíolo em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (A100) 150 mL L⁻¹ (A150) e 200 mL L⁻¹ (A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (C100) 150 mL L⁻¹ (C150) e 200 mL L⁻¹ (C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - 22,5 mg L⁻¹+ 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) (ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos. X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria.

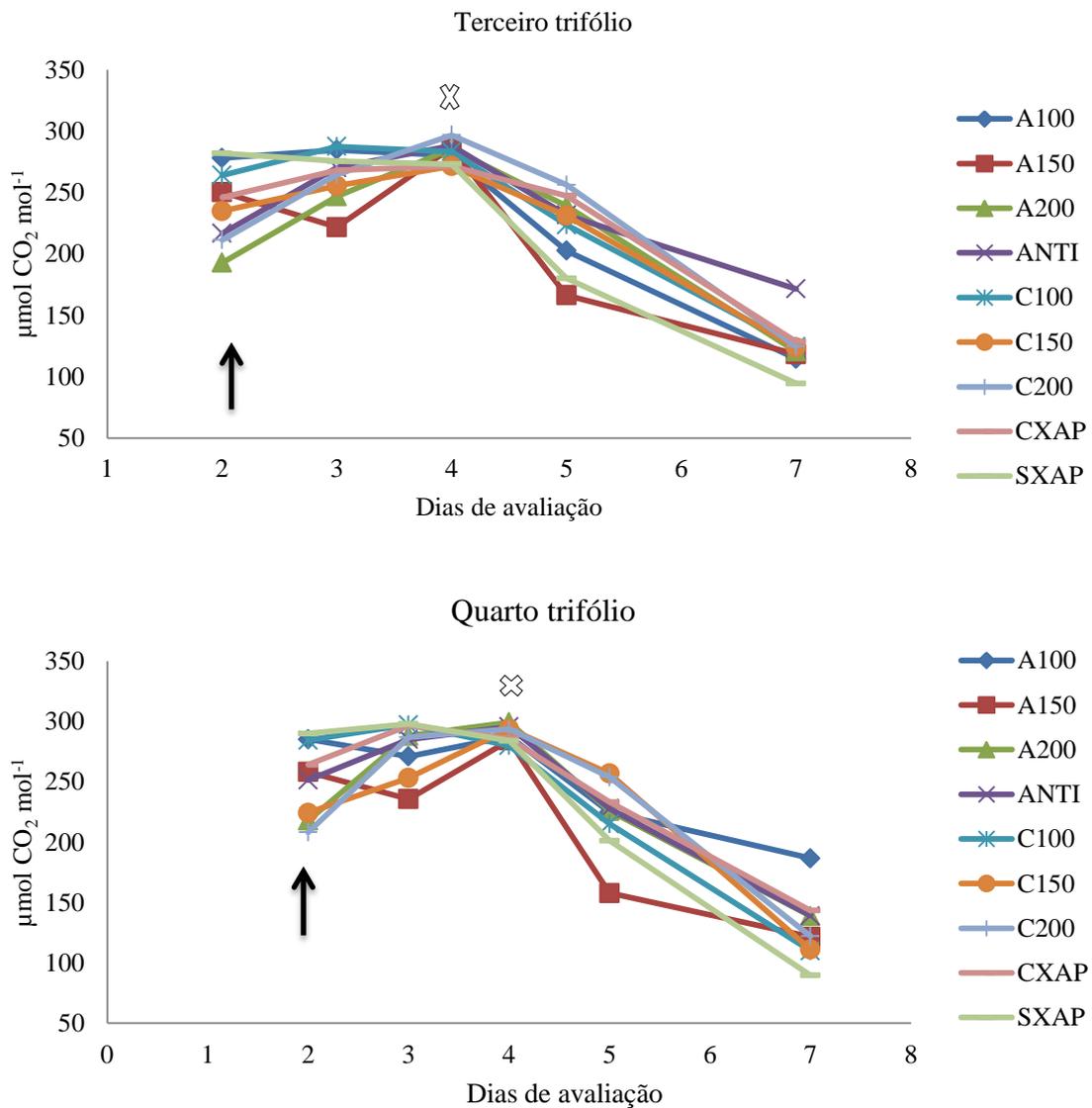


Figura 7. Concentração interna de CO₂ (Ci), no terceiro trifolíolo em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (A100) 150 mL L⁻¹ (A150) e 200 mL L⁻¹ (A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (C100) 150 mL L⁻¹ (C150) e 200 mL L⁻¹ (C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - 22,5 mg L⁻¹+ 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) (ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos. X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria.

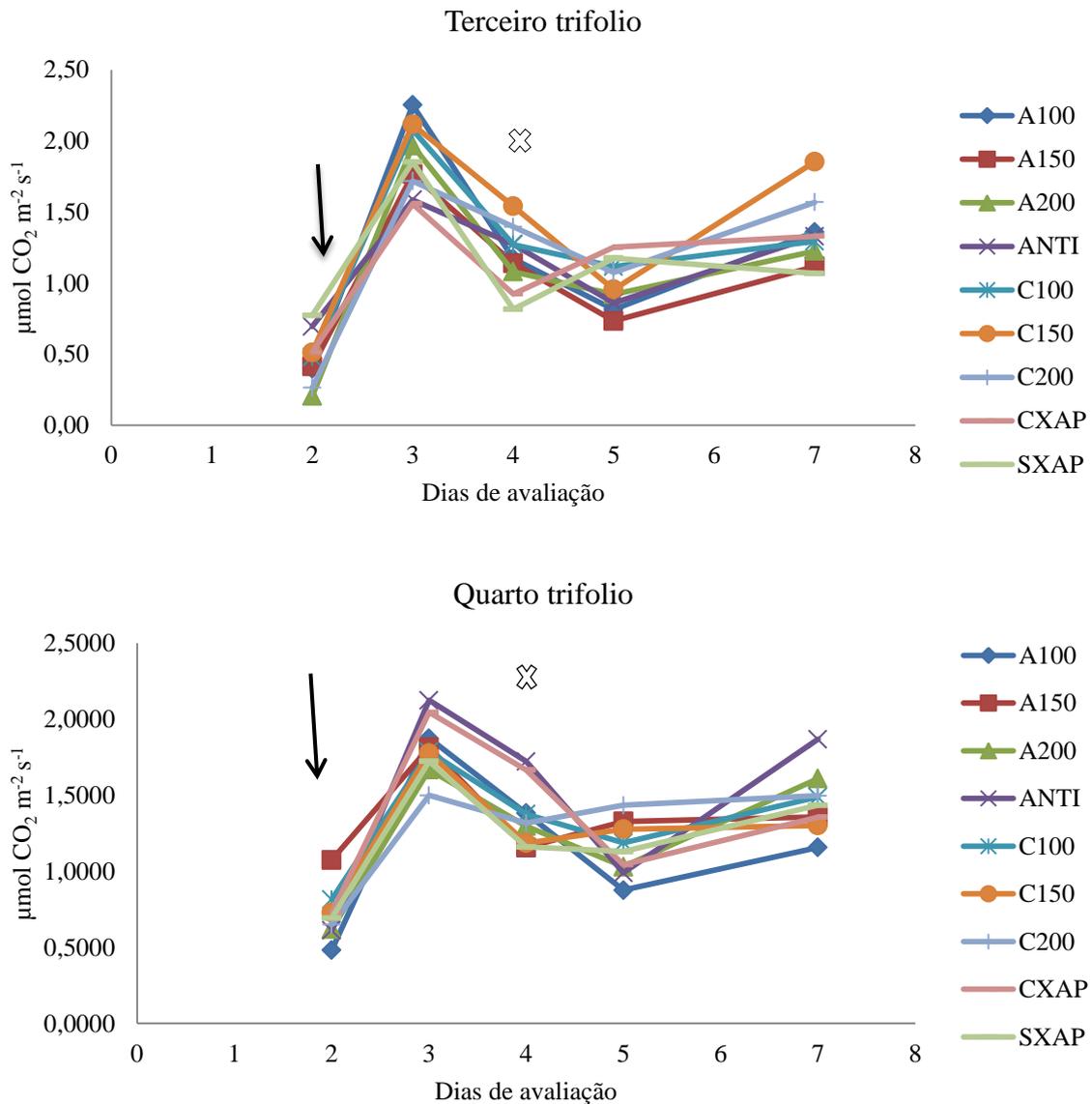


Figura 8 Respiração no terceiro trifolho em função da aplicação de extratos hidroalcoólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (→ A100) 150 mL L⁻¹ (→ A150) e 200 mL L⁻¹ (→ A200), e cúrcuma (*Curcuma longa*) nas concentrações de 100 mL L⁻¹ (→ C100), 150 mL L⁻¹ (→ C150) e 200 mL L⁻¹ (→ C200) e as testemunhas (oxitetraciclina - 22,5 mg L⁻¹ + 225 mg L⁻¹ de estreptomicina) (→ ANTI), testemunha negativa (sem a presença do patógeno) (— SXAP) e testemunha positiva (com a presença do patógeno) (— CXAP). Seta indica o momento da aplicação dos tratamentos. X Indica momento da aplicação da *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. No quarto folíolo houve apenas com o corte e a inoculação da bactéria.

5 CONCLUSÃO

As sementes de feijoeiro analisadas indicaram a presença de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap).

Os extratos hidroalcoólicos de alecrim cúrcuma e *P. sanguineus* não apresentaram efeito antibacteriano contra a Xap.

O extrato hidroalcoólico de alecrim é capaz de proteger as plantas de feijoeiro contra o crestamento bacteriano comum, com influencia na fisiologia da planta.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRASEM. Associação Brasileira de Sementes e Mudanças. Estatística Brasil 2013. <<http://www.abrasem.com.br/category/estatisticas/#>> 17 Abr. 2013

ANTUNES, S.A.; ROBAZZA, W.S.; SCHITTLER, L.; GOMES, G.A.; Synergistic and antimicrobial properties of commercial turmeric (*Curcuma longa*) essential oil against pathogenic bacteria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.32, n.3, p.525-530, jul.-set. 2012.

BARRA, V. R.; ROMEIRO, R. da S.; SANTOS U. A.dos. Crestamento-bacteriano-comum. In: DEL PONTE, E.M. (Ed.) **Fitopatologia.net - herbário virtual**. Departamento de Fitossanidade. Agronomia, UFRGS. Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/agronomia/fitossan/fitopatologia/ficha.php?id=49>. Acesso em: 4 de abril de 2012.

BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA., p. 226 1991

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C., CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**, São Paulo: Agrônômica Ceres, v. 2, p. 333-349, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – 1. ed., 1. reimpr. rev. e atual. – Brasília : Mapa/ACS, 200 p. 2009.

CECÍLIO FILHO, A. B.; SOUZA, R. J. Caracterização dos estádios fenológicos da cúrcuma, em função da época e densidade de plantio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.17, n.3, p.248-253, 1999.

CECÍLIO FILHO, A.B.; SOUZA, R. J.; BRAZ, L. T.; TAVARES, M. Cúrcuma: medicinal, condimentar e outros usos potenciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.1, p.171-175, 2000

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento - **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos fevereiro 2013/14** – Quinto Levantamento – fevereiro/2014 <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_01_14_08_59_41_boletim_a14_v3_n01.pdf> Acesso: 17 de fevereiro 2014.

CRUZ, P.B DA; PERREIRA, C.A.M . Avaliação da presença de antimicrobianos naturais em condimentos industrializados . **Rev. Simbio-Logias**, v.3, n.5, p.125-131, 2010.

DÍAZ, C.G., BASSANEZI, R.B., GODOY, C.V., LOPES, D.B. & BERGAMIN FILHO, A. Quantificação do efeito do crestamento bacteriano comum na eficiência fotossintética e na produção do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**. v.26, p.71-76, 2001a.

DIAZ, C.G; BASSANEZI, R.B.; BERGAMIN FILHO, A. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro. **Summa Phytopatologica**, v. 27, p. 35-39, 2011b.

DI PIERO, R.M. **Potencial dos cogumelos *Lentinula edodes* (Shiitake) e *Agaricus blazei* (Cogumelo-do-sol) no controle de doenças em plantas de pepino, maracujá e tomate, e a purificação parcial de compostos biologicamente ativos.** TESE. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003.

EMBRAPA – Arroz e Feijão. Barbosa Filho, M. P.; Fagéria, N.K.; Silva, O. F. da. Cultivo do Feijoeiro Comum Sistemas de Produção, Versão eletrônica Jan/2003. <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/adubacao.htm>>15 de jan 2013.

ESPOSITO, E.; INNOCENTINI-MEI, H.; FERRAZ, A.; CANHOS, V. P.; DURÁN, N. Phenoloxidasas and hydrolases from *Pycnoporus sanguineus* (EUC-2050 strain): applications. **Journal of Biotechnology**, v 29:219-228,1993

FALKENBERG, M.B. et al. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C.M.O. (org.). **Farmacognosia- da planta ao medicamento.** 4.ed. Porto Alegre/ Florianópolis : UFRGS/ UFSC, 2002. Cap.4, p.63-72.

FERREIRA, D.F. Sisvar: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p.36-41, 2008.

FIORI TUTIDA, A.C.G.; **Uso de extratos dos cogumelos *Lentinula edodes* (Berk) Pegler e *Agaricus blazei* (Murrill) s. Heinem no controle in vitro de *Puccinia recôndita* f. sp *tritici* e na indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana*.** Tese (Doutorado em Agronomia) — Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 112 p. 2003

FRANCO, D.A.; BETTIOL, W. Controle de *Penicillium digitatum* em pós-colheita de citros com produtos alternativos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, p.602-606, 2000.

GEPTS, P.; FERNANDEZ, F. **Etapas de desarrollo de la planta de frijol comum (*Phaseolus vulgaris* L.)** Cali, Colômbia: CIAT, 1982.

GUIRADO, N.; AMBROSANO, E.J.; MENDES, P.C.D.; ROSSI, F.; ARÉVALO, R.A. Controle de doenças em sistemas agroecológico. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.30, n.1, p.153-156, 2004

HAMMERSCHMIDT, D.; DANN, E.K. Induced resistance to disease. In: Rechcigl, N.A.; Rechcigl, J.E. (Ed.) **Environmentally Safe Approaches to Crop Disease Control.** Boca Raton: CRC – **Lewis Publishers**, p.177-199, 1997.

IAPAR – Instituto Agrônômico do Paraná. Cartas Climáticas: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=863>> 20 Jun. 2013.

ISTA – International Seed Testing Association - International Rules for Seed Testing Annexe to Chapter 7: Seed Health Testing Methods. 7-021: Detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* on *Phaseolus vulgaris*. Bassersdorf, Switzerland 2012. <<http://www.seedtest.org/upload/cms/user/SH-07-021-2014.pdf>> 15 Abr. 2012.

ITO, M. F., VALARINI, P. J., PATRÍCIO, F. R. A., SUGIMORI, M. H. Detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e fungos em sementes de feijão produzidas no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 118-21, 1997.

JONES, H.G. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. **Journal of Experimental Botany**. v.49, p.387-398, 1998

KUC, J. Systemic Induced resistance. In: WALTERS, D. R.; SCHOLLES, J. D.; BRYSON, R. J.; PAUL, N. D. e McROBERTS, N. (Ed.). **Aspects of Applied Biology 42: Physiological Responses of Plants to Pathogens**. Dundee: Association of Applied Biologists. 1995. p. 235-242.

KUHN, O. J.; PORTZ, R. L.; STANGARLIN, J. R.; DEL ÁGUILA, R. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; FRANZENER, G. Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 13-20, jan./mar. 2006

LOGUERCIO A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A. C. DE; HENZEL, A.; WITT, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jabolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells) **Ciência Rural**, v.35, n.2, mar-abr, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil - Nativas e Exóticas**. Nova Odessa (SP): Instituto Plantarum, p. 544; 2008.

MACHADO, E.C.; MEDINA, C.L.; GOMES, M.M.A. Teor de água no substrato de crescimento e fotossíntese em laranja 'Valência'. **Bragantia**, v.58, p.217-226, 1999

MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. **Fisiologia Vegetal: Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**, Editora UFV. Viçosa, MG. p.451. 2005.

MEINERZ, C.C. **Aspectos bioquímicos, fisiológicos e de crescimento de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) Tratado com extratos vegetais e fúngico**. Tese. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. p.103, 2013.

MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. D. de; NOVENBRE, A. D. L. C.; ITO, M. A.. **Qualidade das sementes de feijão no Brasil**. 2006. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2006_2/SementesFeijao/index.htm>. Acesso em: 9/4/2012

NCCLS, NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Supplement table. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**. Vilanova: NCCLS, 2002. 153p

PORTE, A.; GODOY, R. L. O. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): Propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. Curitiba, v. 19, n. 2, p. 193- 210, 2001.

RIBEIRO, R. V.; MACHADO, E. C.; OLIVEIRA, R. F. Early photosynthesis of sweet Orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. London, v. 62, p. 167-173. 2003.

ROCHA, A. M. S. R.; MORAES, J. A. P. V. Influência do estresse hídrico sobre as trocas gasosas em plantas jovens envasadas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 9, p.43-48, 1997.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A. Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. Brasília: EMBRAPA-CNPAP. **Documentos**, 50. p. 300. 1994.

SAS. Statistical Analysis System. **User guide: Stat**. v. 9.0. SAS Institute Inc. Cary. NC. p.513. 2002

SCHWAN-ESTRADA K.R.F.; VICELLI, C.A.; DI PIERO, M.; SILVA, C.M DA; MESQUINI, R.M.; NETO, J.S.; STANGARLIN, J.R. Extratos de cogumelos no controle de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, v.20, p.177-197, 2012.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow - mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v.67, n.8, p.1051-1056, 1977.

SCHULZE, E.-D. & HALL, A.E. Stomatal responses, water loss and CO₂ assimilation rates of plants in contrasting environments. In: LANGE, O.L.; NOBEL, P.S.; OSMOND, C.B. & ZIEGLER, H., eds. **Physiological Plant Ecology**. II. Water relations and carbon assimilation. Berlin, Springer-Verlag, p.181-229.1982.

SILVA, H. T. Caracterização botânica de espécies silvestres do gênero *Phaseolus* L. (Leguminosae). – **Documentos / Embrapa Arroz e Feijão**. Embrapa Arroz e Feijão. p.40, 2003.

SMITH, C. J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanism and stimulus response system. **The New Phytologist**, v.132, n.1, p.1-45, 1996.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; Cruz, M. E. S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v.11, p.16-21, 1999

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, p.719. 2004.

TEIXEIRA. D. E.. COSTA. A. F. & SANTANA. M. A. E. Aglomerados de bagaço de cana - de-açúcar: resistência natural ao ataque de fungos apodrecedores. **Scientia Forestalis**, 52: 29-34. 1997.

THUNG, M.; SARTORATO, A. Alteração na ordem de importância das doenças do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) devido a mudanças nas práticas culturais e na preferência do tipo de grão no Brasil. Série Documentos nº 132, CNPAP/EMBRAPA, 2002. Disponível em: <http://www.cnpaf.embrapa.br/negocios/ser_doc/doc_132/132_2.htm>. Acesso em: 01/04/2012.

TOILLIER, S.L.; IURKIV, L.; MEINERZ, C.C.; M. BALDO, VIECELLI, C.A.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN J.R. Controle de cretamento bacteriano comum (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) e alterações bioquímicas em feijoeiro

induzidas por *Pycnoporus sanguineus*. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.1, p.99-110, jan./mar., 2010

TORRES, J. P. ***Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro: sobrevivência em restos de cultura e ocorrência em sementes produzidas no estado do Paraná.** Tese. Botucatu (SP): Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual de São Paulo. 2001

TORRES, J. P.; SILVA JÚNIOR, T. A. F.; MARINGONI, A.C. Detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em sementes de feijoeiro provenientes do Estado do Paraná, Brasil. **Summa Phytopathologica**, v.35, n.2, p.136-139, 2009.

TYREE, M.T., SPERRY, J.S. Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress? Answers from a model. **Plant Physiology**. V.88 p.574-580, 1988..

VIECELLI C. A. **Formulação de extratos vegetais e fúngico para controle alternativo de doenças no feijoeiro.** Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 151p. Tese Doutorado. 2012.

VIGO, S. C.; MARINGONI, A. C.; CAMARA, R. DE C.; LIMA, G. P.P. 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**, Botucatu v.35, 2009.

ZUCARELI, C.; PRANDO, A. M.; RAMOS JUNIOR, E. U.; NAKAGAWA, J.. Fósforo na produtividade e qualidade de sementes de feijão carioca precoce cultivado no período das águas. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 32-38, 2011.