



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA

**TRATAMENTO QUÍMICO DE SEMENTES DE FEIJÃO**  
**(*Phaseolus vulgaris* L.) PARA O CONTROLE DE *Curtobacterium***  
***flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens***

**JOÃO GILBERTO ALVES VILLELA**

**Brasília – DF**

**2015**

**JOÃO GILBERTO ALVES VILLELA**

**12/0150069**

**TRATAMENTO QUÍMICO DE SEMENTES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)  
PARA O CONTROLE DE *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens***

Dissertação apresentada à  
Universidade de Brasília como  
requisito parcial para a obtenção  
do título de Mestre em  
Fitopatologia pelo Programa de  
Pós Graduação em Fitopatologia

**Orientador**

Prof. Carlos Hidemi Uesugi, Doutor.

**BRASÍLIA**

**DISTRITO FEDERAL – BRASIL**

**2015**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Villela, João Gilberto Alves.

Tratamento químico de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) para o controle de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. / João Gilberto Alves Villela.

Brasília, 2015.

132p. : il.

Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília.

1. Tratamento de sementes – Controle.

I. Universidade de Brasília. PPG/FIT.

II. Título.

*Aos meus pais,  
Gilberto Mauro Villela e  
Valdemira Alves da Silva,  
pelo apoio incondicional e  
exemplo de amor.*

*Ao meu avô,  
José Alves da Silva (in memoriam),  
pelo exemplo de simplicidade.*

*Dedico*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela presença constante em minha vida, dando-me proteção, coragem e força para conquistar meus objetivos.

Ao meu pai, Gilberto Mauro Villela, meu maior incentivador, pela valiosa ajuda na montagem e condução do experimento de campo.

A minha mãe, Valdemira Alves da Silva, pelo amor incondicional e confiança.

A minha irmã Nathalia Alves Villela, pelo companheirismo e ajuda na montagem do experimento de campo.

Ao Prof. Carlos Hidemi Uesugi, pela orientação, estímulo, incentivo, confiança e, sobretudo, pela amizade.

Ao técnico de laboratório de Bacteriologia Vegetal, Arenildo Soares, pelo conhecimento repassado.

Ao Prof. Ernandes Rodrigues, pelo conhecimento repassado e disponibilização da estrutura para ozonização das sementes.

Aos funcionários da Estação Experimental de Biologia, pela disposição e ajuda na condução dos experimentos.

Ao Adalberto Gatto, pelo fornecimento das sementes usadas nos experimentos.

Aos amigos que fiz durante o curso, Carina Lopes, Cleia Cabral, Débora Cervieri, Elenice Barbosa, Geane Fontes, Pedro Verlage, Rafaela Borges e Ricardo Nunes, os quais tornaram essa caminhada mais fácil e divertida.

Aos amigos de Unaí, Bruno Monteiro, Fabrício Vilela, Luís Augusto Fontanelle, Rafael Frees, Hudson Teodoro, pelos momentos de alegria e por sempre torcerem por mim.

Aos amigos da graduação, Antônio Nelson, Aureliano Dantas, Bernardo Coutinho, Bruno Costa, Thiago Peixoto, pessoas que sempre posso contar quando preciso.

Ao CRUZEIRO ESPORTE CLUBE, pelas alegrias e emoções vividas.

A Universidade de Brasília e ao Departamento de Fitopatologia pela oportunidade de realização do curso.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

A todo corpo docente do Departamento de Fitopatologia, pelos ensinamentos e conselhos repassados.

A todos os colegas e funcionários do Departamento de Fitopatologia, pelo apoio e companheirismo no decorrer desta caminhada.

Aos professores Luiz Eduardo Bassay Blum e Reinaldo José de Miranda Filho que gentilmente aceitaram participar da banca avaliadora.

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

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do **Professor Carlos Hidemi Uesugi**, com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

**TRATAMENTO QUÍMICO DE SEMENTES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)  
PARA O CONTROLE DE *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.**

**JOÃO GILBERTO ALVES VILLELA**

**12/0150069**

DISSERTAÇÃO APROVADA em \_\_/\_\_/\_\_\_\_ por:

Prof. Dr. Luiz Eduardo Bassay Blum  
Examinador Interno

Prof. Dr. Reinaldo José de Miranda Filho  
Examinador Externo

Prof. Dr. Carlos Hidemi Uesugi  
Orientador (Presidente)

BRASÍLIA – DISTRITO FEDERAL  
BRASIL  
**2015**

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	i
<b>RESUMO</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	03
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	03
<b>1. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	04
1.1. Aspectos gerais da cultura do feijoeiro.....	04
1.2. Aspectos econômicos da cultura do feijoeiro.....	15
1.3. Doenças do feijoeiro.....	21
1.4. Murcha de <i>Curtobacterium</i> .....	24
1.5. Tratamento de sementes.....	33
1.6. Ozônio como agente antimicrobiano.....	36
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	39
2.1. Isolado de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> .....	39
2.2. Patogenicidade e reação de hipersensibilidade do isolado de <i>Cff</i> .....	40
2.3. Sensibilidade “ <i>in vitro</i> ” de <i>Cff</i> a diferentes produtos fitossanitários.....	41
2.3.1. Sensibilidade “ <i>in vitro</i> ” de <i>Cff</i> ao cobre.....	42
2.3.2. Sensibilidade “ <i>in vitro</i> ” de <i>Cff</i> a casugamicina.....	43
2.3.3. Sensibilidade “ <i>in vitro</i> ” de <i>Cff</i> aos cloretos de benzalcônio.....	43
2.3.4. Sensibilidade “ <i>in vitro</i> ” de <i>Cff</i> ao ácido peracético.....	44
2.4. Avaliação do efeito de diferentes tratamentos de sementes na erradicação de <i>Cff</i> ....	44
2.4.1. Inoculação das sementes.....	44
2.4.2. Tratamento de sementes de feijão com os produtos fitossanitários.....	45
2.4.3. Tratamento de sementes de feijão com vapores de etanol e metanol.....	46
2.4.4. Tratamento de sementes de feijão com ozônio.....	46
2.4.5. Avaliação da porcentagem de sementes contaminadas e eficiência na erradicação.....	47
2.4.6. Análises estatísticas.....	48
2.5. Experimento de campo.....	48
2.5.1. Avaliação da emergência e velocidade de emergência de plântulas.....	50
2.5.2. Análises estatísticas.....	52
2.6. Experimento em casa de vegetação.....	52
2.6.1. Avaliação da emergência e velocidade de emergência de plântulas.....	53
2.6.2. Avaliação do desenvolvimento vegetativo.....	54
2.6.3. Avaliação da incidência e severidade da Murcha de <i>Curtobacterium</i> .....	54
2.6.4. Avaliação da produção.....	55
2.6.5. Análises estatísticas.....	56
2.7. Taxa de transmissão planta – semente.....	56
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	57
3.1. Isolado de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> .....	57
3.2. Patogenicidade e reação de hipersensibilidade do isolado de <i>Cff</i> .....	57
3.3. Sensibilidade “ <i>in vitro</i> ” de <i>Cff</i> a diferentes produtos fitossanitários.....	57
3.4. Efeito dos diferentes tratamentos de sementes na erradicação de <i>Cff</i> .....	62
3.5. Experimento de campo.....	67
3.5.1. Emergência e velocidade de emergência de plântulas.....	67
3.6. Experimento em casa de vegetação.....	74
3.6.1. Emergência e velocidade de emergência de plântulas.....	74



3.6.2. Desenvolvimento vegetativo.....	75
3.6.3. Incidência e severidade da Murcha de Curtobacterium.....	79
3.6.4. Produção.....	81
3.7. Taxa de transmissão planta – semente.....	90
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>92</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>93</b>
<b>6. ANEXOS.....</b>	<b>113</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.1.</b> Estádios fenológicos do feijoeiro.....	09
<b>Tabela 1.2.</b> Área colhida, produção e rendimento de feijão nos principais países produtores (2010 – 2013).....	18
<b>Tabela 1.3.</b> Área colhida, produção e produtividade de feijão nos Estados maiores produtores (2008/2009 - 2012/2013).....	19
<b>Tabela 1.4.</b> Produção, área plantada e rendimento nacional e por região geográfica nas safras 2011/2012 e 2010/2013.....	20
<b>Tabela 1.5.</b> Balanço da oferta e demanda de feijão no Brasil (1.000 toneladas), 2008/2009 a 2012/2013.....	20
<b>Tabela 2.1.</b> Produtos fitossanitários selecionados para avaliação da sensibilidade “ <i>in vitro</i> ”, do isolado UnB 1376 de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> .....	41
<b>Tabela 2.2.</b> Volume de solução estoque necessário para obtenção da concentração de cobre metálico desejada, em meio de cultura.....	43
<b>Tabela 2.3.</b> Atributos químicos na camada de 0 a 0,20 m do Latossolo Vermelho Distrófico da área experimental antes da instalação do ensaio, em Unaí – MG.....	49
<b>Tabela 2.4.</b> Temperaturas máxima, mínima e compensada média, precipitação pluvial e umidade relativa do ar observadas entre os dias 5 e 12 de dezembro de 2013, em Unaí, Estado de Minas Gerais, na condução dos testes de emergência das plântulas e índice de velocidade de emergência em campo.....	51
<b>Tabela 3.1.</b> Porcentagem do número médio de colônias de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> observado em meio CYE-glycerol contendo produtos cúpricos em diferentes concentrações em relação ao meio sem cobre.....	59
<b>Tabela 3.2.</b> Número de colônias (UFC/mL) de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> em meio de cultura 523 suplementado com casugamicina em diferentes concentrações. UnB, Brasília, DF, 2014.....	60
<b>Tabela 3.3.</b> Número de colônias (UFC/mL) de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> em meio de cultura 523 suplementado com cloretos de benzalcônio em diferentes concentrações. UnB, Brasília, DF, 2014.....	61
<b>Tabela 3.4.</b> Número de colônias (UFC/mL) de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> em meio de cultura 523 suplementado com ácido peracético em diferentes concentrações. UnB, Brasília, DF, 2014.....	62
<b>Tabela 3.5.</b> Número e localização de colônias de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> em sementes de feijão inoculadas por meio do método da imersão em suspensão bacteriana. UnB, Brasília, DF, 2014.....	63
<b>Tabela 3.6.</b> Porcentagem de sementes feijão inoculadas com <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> , com a presença do patógeno, após diferentes tratamentos. UnB, Brasília, DF, 2014.....	64
<b>Tabela 3.7.</b> Número de colônias em sementes de feijão inoculadas com <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> , após diferentes tratamentos. UnB, Brasília, DF, 2014.....	66
<b>Tabela 3.8.</b> Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão na emergência em campo. UnB, Brasília, DF, 2014.....	72
<b>Tabela 3.9.</b> Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão no índice de velocidade de emergência em campo. UnB, Brasília, DF, 2014.....	73
<b>Tabela 3.10.</b> Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão na emergência de	

plântulas em vaso (EV) e no índice de velocidade de emergência (IVE), em condições de casa de vegetação. UnB, Brasília, DF, 2014.....	75
<b>Tabela 3.11.</b> Efeito de diferentes tratamentos de sementes no peso em gramas de matéria verde de parte aérea (PMV) de plântulas em feijoeiro aos 15 dias após a semeadura. UnB, Brasília, DF, 2014.....	76
<b>Tabela 3.12.</b> Efeito de diferentes tratamentos de sementes no número de trifólios (NT) e na altura da planta (ALT) aos 28 dias após a semeadura. UnB, Brasília, DF, 2014.....	79
<b>Tabela 3.13.</b> Efeito de diferentes tratamentos de sementes na incidência (%) de plantas de feijoeiro com sintomas de Murcha de <i>Curtobacterium</i> , causada por <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> , aos 30, 45 e 60 dias após a semeadura (DAS). UnB, Brasília, DF, 2014.....	80
<b>Tabela 3.14.</b> Efeito de diferentes tratamentos de sementes na severidade da doença, aos 30, 45 e 60 dias após a semeadura, e área abaixo da curva de progresso da Murcha de <i>Curtobacterium</i> , causada por <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> . UnB, Brasília, DF, 2014.....	81
<b>Tabela 3.15.</b> Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão no número de vagens (NV) e no número de grãos por parcela (NG). UnB, Brasília, DF, 2014.....	83
<b>Tabela 3.16.</b> Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão nos parâmetros número grãos abortados por vagem (NAV) e porcentagem de grãos abortados (PGA). UnB, Brasília, DF, 2014.....	84
<b>Tabela 3.17.</b> Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão na produção (g) de grãos por parcela (PG). UnB, Brasília, DF, 2014.....	85
<b>Tabela 3.18.</b> Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão nos parâmetros produtivos, número de grãos por vagem (NGV) e número de grãos por grama (NGG). UnB, Brasília, DF, 2014.....	87
<b>Tabela 3.19.</b> Transmissão planta - semente de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> em plantas de feijoeiro, cultivar Pérola, oriundas de sementes inoculadas. UnB, Brasília, DF, 2014.....	90

## RESUMO

VILLELA, João Gilberto Alves. **Tratamento químico de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) para o controle de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.** 2015. 132p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.

A Murcha de *Curtobacterium*, causada pela bactéria *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (*Cff*), é um importante problema para o cultivo do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no Brasil. A principal forma de disseminação da bactéria é por sementes contaminadas. No presente trabalho avaliou-se a eficiência de diferentes tratamentos de sementes no controle da Murcha de *Curtobacterium* em feijoeiro. Inicialmente se avaliou “*in vitro*” a sensibilidade de *Cff* a fungicidas e bactericidas cúpricos, casugamicina, cloretos de benzalcônio e ácido peracético. Os tratamentos de sementes realizados foram: imersão em solução de cobre, casugamicina, cloretos de benzalcônio e ácido peracético, exposição a vapor de etanol e metanol, e ozonização. Na avaliação da eficiência dos tratamentos na erradicação de *Cff*, sementes inoculadas foram tratadas e submetidas ao processo de extração, verificando posteriormente a incidência de sementes contaminadas e número de células bacterianas. Foram realizados experimentos em condições de campo e casa de vegetação. No ensaio em campo foi avaliado o efeito dos tratamentos sobre a qualidade fisiológica das sementes, e em casa de vegetação avaliou-se o efeito dos tratamentos na qualidade fisiológica das sementes, no desenvolvimento vegetativo da planta, na incidência e severidade da Murcha de *Curtobacterium*, produção de grãos, além da transmissão de *Cff* via planta – semente. Hidróxido de cobre (30 µg/mL), oxicloreto de cobre (50 µg/mL), óxido cuproso (20 µg/mL), sulfato de cobre (20 µg/mL), casugamicina (100 µg/mL), cloretos de benzalcônio (20 µg/mL) e ácido paracético (200 µg/mL) inibiram o crescimento da *Cff* “*in vitro*”. Os tratamentos com cloretos de benzalcônio e vapor de metanol foram os mais eficientes na redução da incidência de sementes contaminadas e do número de células bacterianas em sementes de feijão. Em campo os tratamentos com ácido peracético e ozônio reduziram significativamente a emergência e velocidade de emergência das plântulas. Os resultados obtidos em casa de vegetação mostraram que os tratamentos não interferiram na qualidade fisiológica das sementes, e plantas oriundas de sementes inoculadas tratadas ou não, apresentaram menor desenvolvimento vegetativo e produção de grãos. Nenhum tratamento de sementes foi

eficiente na redução da incidência e severidade da Murcha de *Curtobacterium*. A taxa de transmissão de *Cff* das plantas para as sementes foi de aproximadamente 24%.

**Palavras-chave:** Murcha de *Curtobacterium*, patologia de sementes, ozônio, produtos fitossanitários, vapor de álcool.

---

Orientador – Carlos Hidemi Uesugi – UnB.

## ABSTRACT

VILLELA, João Gilberto Alves. **Chemical treatment bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds for the control of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens***. 2015. 132p. Dissertation (Master in Plant Pathology) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brazil.

Bacterial Wilt, caused by *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, is an important disease for bean (*Phaseolus vulgaris* L.) production in Brazil. Seeds are the major way of spread this bacterium. The objective of this study was to evaluate the efficiency of different seed treatments to control bacterial wilt in bean. First an “*in vitro*” test was conductive to evaluate the sensitivity of *Cff* to copper formulations, kasugamycin, benzalkonium chlorides and peracetic acid. The seed treatments performed were: immersion in solution of copper, kasugamycin, benzalkonium chlorides and peracetic acid, exposure to vapor ethanol and methanol, and ozonation. In the evaluation of treatments efficiency in eradicating of *Cff*, inoculated seeds were treated and subjected to extraction process, then checking the incidence of contaminated seeds and number of bacterial cells. Experiments were carried in field conditions and greenhouse conditions. In field experiment was evaluated the effects of treatments on seed physiological quality, and greenhouse was measured the effect of treatments on seed physiological quality, in vegetative plant development, in incidence and severity of bacterial wilt, in production, beyond the transmission of *Cff* via plant - seed. The products copper hydroxide (30 µg/mL), copper oxychloride (50 µg/mL), cuprous oxide (20 µg/mL), copper sulfate (20 µg/mL), kasugamycin (100 µg/mL), chlorides benzalkonium (20 µg/mL) and peracetic acid (200 µg/mL) inhibited the growth of *Cff* “*in vitro*”. Treatments with benzalkonium chlorides and vapor methanol were the most effective in reducing the incidence of contaminated seeds and the number of bacterial cells in bean seeds. Under field conditions the treatments with peracetic acid and ozone significantly reduced emergence and seedling emergence speed. The results obtained in the greenhouse showed that the treatments do not interfere in seed physiological quality, and plants grown from seeds inoculated, treated or not, showed lower vegetation development and grain production. The *Cff* transmission rate of the plants for seeds was approximately 24%.

**Keywords:** Bacterial Wilt, seed pathology, ozone, phytosanitary products, vapor of alcohol.

---

Advisor: Carlos Hidemi Uesugi – UnB.

## INTRODUÇÃO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é cultivado por pequenos e grandes produtores, em diversificados sistemas de produção e em todas as regiões brasileiras, possuindo forte apelo social e econômico.

O feijoeiro é uma planta que está sujeita à incidência de um grande número de doenças, causadas por fungos, nematóides, vírus e bactérias, que podem causar quedas significativas em seu rendimento. Entre as doenças bacterianas, a Murcha de *Curtobacterium*, causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges) Collins & Jones, tem sido apontada como uma das doenças emergentes de maior importância para a cultura do feijoeiro (Maringoni & Camara, 2006; Herbes *et al.*, 2008).

A doença somente foi relatada no Brasil em 1995 por Maringoni & Rosa (1997), em uma lavoura de feijoeiro no Estado de São Paulo. Posteriormente o patógeno foi constatado em várias localidades produtoras de feijão nos estados de São Paulo (Maringoni, 2002), Paraná e Santa Catarina (Leite Junior *et al.*, 2001), Goiás e no Distrito Federal (Uesugi *et al.*, 2003).

*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff) caracteriza-se por colonizar os vasos xilemáticos, obstruindo a passagem de seiva. Os sintomas da Murcha de *Curtobacterium* em feijoeiro são o amarelecimento, nanismo, murcha, escurecimento vascular e morte, com a planta podendo não ultrapassar a fase de plântula. Pode haver uma descoloração amarela ou púrpura em sementes infectadas (Saettler, 1991). A bactéria é transmitida por sementes contaminadas externa ou internamente, a partir da infecção sistêmica da planta. Sementes infectadas são o principal meio de disseminação do patógeno a longas distâncias (Hedges, 1926).



As medidas recomendadas para o controle da Murcha de *Curtobacterium* são uso de cultivares resistentes, rotação de culturas com espécies não suscetíveis e uso de sementes saudáveis (Bianchini *et al.*, 2005). Estudos relacionados a tratamento de sementes, visando à erradicação ou diminuição da população de *Cff* em sementes de feijão são escassos.

Tratamento de sementes, no sentido amplo, envolve a aplicação de diversos processos e substâncias às sementes, com o objetivo de preservar ou aperfeiçoar o desempenho e aumentar a produtividade das plantas. No sentido restrito e mais tradicional, tratamento de sementes visa, exclusivamente, o controle de agentes causais de doenças que interferem na produtividade (Menten, 1995). Entre os métodos de tratamento de sementes descritos na literatura incluem-se métodos físicos, químicos e biológicos (Machado, 2006).

Nesse sentido, objetivou-se, com o presente trabalho, avaliar a eficiência do tratamento químico de sementes no controle da Murcha de *Curtobacterium* em feijoeiro, bem como verificar o efeito do mesmo sobre a qualidade fisiológica das sementes, no desenvolvimento vegetativo e produção das plantas.

## OBJETIVO GERAL

- Avaliar a eficiência do tratamento químico de sementes no controle da Murcha de *Curtobacterium* em feijoeiro.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito de diferentes produtos fitossanitários sobre o crescimento de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* “*in vitro*”.
- Avaliar a eficiência de diferentes tratamentos na erradicação de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em sementes de feijão.
- Avaliar o efeito de diferentes tratamentos de sementes na emergência e velocidade de emergência de plântulas de feijoeiro em condições de campo e casa de vegetação.
- Avaliar o efeito de diferentes tratamentos de sementes no desenvolvimento vegetativo do feijoeiro.
- Avaliar o efeito de diferentes tratamentos de sementes sobre a incidência e severidade de Murcha de *Curtobacterium* em plantas de feijoeiro.
- Determinar a produção de grãos em plantas de feijoeiro provenientes de sementes tratadas e não tratadas.
- Determinar a taxa de transmissão planta - semente de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em plantas de feijoeiro oriundas de sementes inoculadas.

## 1. REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1. Aspectos gerais da cultura do feijoeiro

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das principais culturas produzidas no Brasil e no mundo. Sua importância extrapola o aspecto econômico, por sua relevância enquanto fator de segurança alimentar e nutricional e sua importância cultural na culinária de diversos países e culturas (Barbosa & Gonzaga, 2012).

De acordo com Santos & Gavalines (2008), o feijoeiro comum é classificado como pertencente ao Reino Vegetal; Ramo Embryophytae syphonogamae; Sub-ramo Angiospermae; Classe Magnoliopsida (Dicotiledoneae); Sub-classe Archichlamydae; Ordem Rosales; Família Fabaceae (Leguminosae); Subfamília Faboideae (Papilionoideae); Tribo Phaseoleae; Sub-tribo Phaseolineae; Gênero *Phaseolus* L. e espécie *Phaseolus vulgaris* L.

O gênero *Phaseolus* originou-se nas Américas e possui cerca de 55 espécies, das quais cinco são cultivadas: *P. vulgaris* L. (feijão comum), *P. lunatus* (feijão de lima), *P. coccineus* L. (feijão ayocote), *P. acutifolius* A. Gray (feijão tepari) e *P. polyanthus* Greenman. A espécie de maior relevância econômica é o *Phaseolus vulgaris*, por ser cultivada há mais tempo e a mais utilizada. (Santos & Gavilanes, 2008; Singh, 2001).

Atualmente, relata-se que o feijoeiro comum teve dois centros principais de domesticação e um terceiro de menor expressão. O primeiro localiza-se na região central das Américas, principalmente México, onde se originou a maioria das cultivares de grãos pequenos como ‘Carioca’. O segundo localiza-se no sul dos Andes, principalmente no norte da Argentina e no sul do Peru, onde se originaram os cultivares de sementes grandes, semelhantes a cultivar ‘Jalo’. A terceira área de domesticação provavelmente intermediária entre as duas primeiras, situa-se na Colômbia, o que tem sido possível firmar a partir de dados de padrões eletroforéticos de faseolina, a principal proteína de reserva da semente de feijão (Gepts & Debouck, 1991).

Apesar de não saber exatamente se o processo de dispersão do feijoeiro comum se deu a partir da Mesoamérica ou partir da América do Sul ou, ainda, a partir das duas regiões de forma independente, sua origem múltipla (não cêntrica) e dentro do continente americano parece inquestionável e apresenta-se como consenso entre os especialistas no assunto, pois a maioria das evidências confirmam essa teoria. O processo de dispersão continuou, sendo levado ao velho mundo pelos europeus, após o descobrimento das Américas, no século XV (Faria *et al.*, 2005).

O feijoeiro comum é uma planta herbácea, anual, autógama, diplóide ( $2n=2x=22$  cromossomos), com taxa de fecundação cruzada estimada entre 3% e 5% (Burle *et al.*, 2010). Em razão de ser cultivado em grande diversidade de ambientes e em muitos países, ele é uma das espécies com maior variabilidade de caracteres agronômicos, como hábito de crescimento, tamanho e cor de grãos e ciclo (Santos & Gavilanes, 2008).

Uma planta de feijão é composta de partes aparentemente distintas, os órgãos. Há um sistema radicular no solo e, acima deste um caule que porta folhas e ramos. Nas plantas mais velhas, pode-se ter uma visão detalhada das suas partes: raiz, caule ou haste principal, folhas e hastes axilares, inflorescência, fruto e semente (Santos & Gavilanes, 2006).

O sistema radicular é formado por uma raiz principal, ou primária, da qual se desenvolvem, lateralmente, as raízes secundárias, terciárias e outras. Ademais, os pêlos absorventes estão sempre presentes nas proximidades das regiões de crescimento. Como em muitas leguminosas, na raiz do feijoeiro existem nódulos com bactérias (*Rhizobium spp.*), quase esféricos e de tamanho variável (Vilhordo *et al.*, 1988). Estudos sobre o sistema radicular do feijoeiro mostram que a maior porcentagem de raízes, 74,5 a 87,4% do total, esta localizada bem próximo à superfície do solo, 10 cm de profundidade e quase totalidade, 97,4%, encontra-se nos primeiros 20 cm do solo. Em consequência, a planta explora

essencialmente a camada superficial do solo, sendo por isso muito sensível à falta de umidade (Inforzato & Miyasaka, 1963).

O caule é herbáceo, classificado morfológicamente como haste, e apresenta, na planta adulta, secção transversal cilíndrica e levemente angulosa (aristado). Ele é o eixo principal da planta, possuindo os nós, que são os pontos de inserção das folhas e dos quais saem os ramos laterais e as inflorescências. Nos nós se encontram três gemas, denominada tríada, que podem ser de três tipos, vegetativo, floral e vegetativo e completamente floral. Em cada nó com uma folha trifoliolada e uma inflorescência, a qual resulta em rácimo com vagens, esse conjunto é denominado de unidade de produção. Os nós caulinares são numerados em sequência ascendente, sendo o primeiro nó aquele onde ocorre a inserção dos cotilédones; o segundo, a inserção das folhas primárias; o terceiro, a primeira folha trifoliolada, e assim sucessivamente. O número de nós no caule principal está relacionado com o tipo de hábito de crescimento, e o rendimento está relacionado com o número de rácimos com vagens por planta (Costa, 2014; Santos & Gavilanes, 2006).

O hábito de crescimento é considerado um dos caracteres mais importantes, pois é essencial na descrição das cultivares, na escolha das mais adequadas para o plantio nas mais variadas condições de cultura e, também, na obtenção de novas cultivares pelo melhoramento (Santos & Gavilanes, 2006).

As plantas de feijoeiro podem ser de hábito de crescimento determinado ou indeterminado. As plantas de hábito de crescimento determinado são as que desenvolvem uma inflorescência no ápice da haste principal e das hastes laterais, a emissão e a alongação de folhas e ramos cessam por ocasião do advento das flores, possuem número limitado de nós e o florescimento ocorre do ápice para base da planta. O período de floração é curto e a maturação uniforme (Costa, 2014; Santos & Gavilanes, 2006; Silva, 2014; Portes, 1988).

Nas plantas de crescimento indeterminado os meristemas apicais da haste principal e das laterais continuam vegetativos durante o florescimento. Portanto as plantas continuam a produzir folhas e flores por um período mais longo do que as determinadas. As inflorescências são axilares, isto é, desenvolvem-se nas axilas das folhas, e a floração inicia-se da base para o ápice da planta (Costa, 2014; Santos & Gavilanes, 2006; Silva, 2014; Portes, 1988).

O crescimento do caule determina os principais tipos de planta do feijoeiro: arbustivo, prostrado e trepador (Silva, 2014).

Em função das diferentes gradações relativas ao porte, distribuição de flores e vagens, grau e tipo de ramificação, necessidade de tutoramento e desempenho, os hábitos de crescimento podem ser agrupados em quatro tipos principais: Tipo I - hábito de crescimento determinado, arbustivo e porte da planta ereto. Tipo II - hábito de crescimento indeterminado, arbustivo, porte da planta ereto e caule pouco ramificado. Tipo III - hábito de crescimento indeterminado, prostrado ou semiprostrado, com ramificação bem desenvolvida e aberta. Tipo IV - hábito de crescimento indeterminado, trepador; caule com forte dominância apical e número reduzido de ramos laterais, pouco desenvolvidos. Ocorrem hábitos intermediários entre os hábitos indeterminados II / III, e III / IV (Silva, 2014).

O feijoeiro apresenta o fenômeno de heterofilia, pois forma dois tipos de folha durante sua ontogênese: simples e compostas. As simples são duas e são as primeiras (primárias) a serem constituídas. Apresentam filotaxia oposta, de formato cordiforme e são acuminadas. Elas caem antes do completo desenvolvimento da planta. As folhas compostas possuem as seguintes partes: estípulas, pecíolo, raque, pecíolo, pulvínulos e lâmina foliar composta (trifoliolada). O seu tamanho e sua forma variam consideravelmente, de acordo com a cultivar e os fatores ambientais (Santos & Gavilanes, 2006).

A flor do feijoeiro é formada pelo cálice e corola. O cálice é verde e a corola composta de cinco pétalas que podem ser brancas, rosadas ou violáceas. O estandarte é a pétala maior e as asas são as duas menores. As outras duas, soldadas uma a outra, formam a quilha. A quilha é retorcida, em forma de espiral, e no seu interior se encontram o androceu e o gineceu, que são os órgãos masculino e feminino, respectivamente. O androceu é formado de dez estames, sendo nove aderentes pelo filete e um livre. O gineceu é unicarpelar, com ovário estreito e alongado. Os óvulos se encontram, em linha, dentro do ovário. Na extremidade superior do estilete se encontra o estigma que possui pêlos na face inferior, úteis para reter os grãos de pólen, por ocasião da polinização. As flores do feijoeiro não são isoladas, são agrupadas em uma haste que sustenta os botões florais. Esse conjunto é a inflorescência floral ou rácimo floral (Costa, 2014).

O fruto é tipo legume (vagem), por possuir um só carpelo, seco, deiscente, cuja deiscência ocorre na metade do carpelo (Vilhordo, 1988).

A semente de feijão é exalbuminosa isto é, não possui albume, as reservas nutritivas estão concentradas nos cotilédones. Compõe-se de um tegumento que envolve um embrião bem desenvolvido. Tegumento ou testa, que corresponde à membrana secundina do óvulo, e a capa de proteção da semente onde se localizam os pigmentos. Externamente o tegumento apresenta hilo, micrópila e rafe. Internamente a semente está constituída só por um embrião, o qual é formado pela plúmula, duas folhas primárias, hipocótilo, dois cotilédones e a radícula (Vilhordo, 1988).

A cor do tegumento do grão apresenta ampla variabilidade de cores. O tegumento pode ser de cor uniforme ou possuir mais de uma cor, distribuídas em forma de estrias, pontuações ou manchas. Pode ser de cor brilhante, opaca ou apresentar nuances. As diferenças, das características externas apresentadas pelos grãos são usadas para classificar os

grãos em tipos comerciais: Preto, Mulatinho, Carioca, Roxinho, Rosinha, Amarelo, Manteigão, Branco, e outros (Costa, 2014; Silva, 2014).

Durante o ciclo de uma planta de feijão ocorrem modificações morfológicas e fisiológicas a partir das quais podem ser identificados os estádios de desenvolvimento da planta. A duração dos estádios é influenciada pelas cultivares e por fatores ambientais. Assim, a utilização da escala de desenvolvimento da planta de feijão oferece maior segurança para orientar ações de manejo na cultura ao invés de basear-se apenas em escala de tempo, ou seja, número de dias (CTSBF, 2012).

A escala de desenvolvimento usual para a planta de feijão compreende dez estádios (Tabela 1.1). A identificação de cada estágio é feita com base em um código com uma letra e um número. A letra corresponde à fase à qual o estágio pertence, isto é, V = fase vegetativa e R = fase reprodutiva. Os números de zero a nove indicam, de forma crescente, a posição do estágio na escala (Fernández *et al.*, 1985).

**Tabela 1.1.** Estádios fenológicos do feijoeiro.

<b>Estádio<sup>(1)</sup></b>	<b>Descrição<sup>(2)</sup></b>
V0	Germinação: emissão da radícula e caulículo
V1	Emergência: os cotilédones aparecem ao nível do solo
V2	Folhas primárias expandidas
V3	Primeira folha trifoliolada
V4	Terceira folha trifoliolada
R5	Pré floração: aparecimento do primeiro botão floral e do primeiro rácemo
R6	Floração: abertura da primeira flor
R7	Formação das vagens: aparecimento da primeira vagem
R8	Enchimento das vagens: início do enchimento da primeira vagem
R9	Maturação: as vagens perdem sua pigmentação e começam a secar

(1) V = Vegetativa; R = Reprodutiva; (2) Cada estágio começa quando 50% das plantas apresentam as condições relativas ao estágio. Fonte: Adaptado de Fernández *et al.*, (1985).



O feijoeiro é uma planta C<sub>3</sub>, portanto seu mecanismo de carboxilação é chamado de processo redutivo da pentose fosfato (ou ciclo de Calvin ou ciclo de Benson-Calvin). É através deste mecanismo que os feijoeiros fixam o CO<sub>2</sub> atmosférico, metabolizando-o em compostos orgânicos que, em última instância vão formar a estrutura das plantas. Esta estrutura é formada em mais de 90% por compostos de carbono e em menos de 10% por elementos minerais (Portes, 1988).

Apesar de sua ampla distribuição geográfica, o feijoeiro é muito pouco tolerante a fatores extremos de ambiente, sendo uma cultura relativamente exigente no que diz respeito à maioria das condições edafoclimáticas (Andrade *et al.*, 2008).

A temperatura média ideal para a cultura do feijão corresponde a 21° C, sendo consideradas aptas para o seu cultivo aquelas que apresentam valores médios de temperaturas entre 15 a 29,5°C (Dourado Neto & Fancelli, 2000).

A ocorrência de temperaturas acima ou abaixo da faixa ótima, dependendo da frequência e da duração, pode ocasionar sérios prejuízos ao estabelecimento, crescimento e desenvolvimento da cultura, resultando em baixo rendimento de grãos.

Se baixas temperaturas ocorrem imediatamente após a semeadura, podem impedir, reduzir ou atrasar a germinação das sementes e a emergência das plântulas, resultando possivelmente, baixa população de plantas. Durante o crescimento vegetativo, baixas temperaturas reduzem a altura da planta e o crescimento de ramos, conduzindo à produção de pequeno número de vagens por planta (Andrade *et al.*, 2008).

Alta temperatura talvez seja o fator climático que exerce maior influência sobre as estruturas reprodutivas, vingamento e retenção de vagens no feijoeiro. A interação pólen/estigma, a germinação do grão de pólen, o crescimento do tubo polínico e a fertilização são todos afetados pelas altas temperaturas. O abortamento de botões florais, flores e vagens é

aumentado quando temperaturas entre 30 e 40°C coincidem com o período reprodutivo do feijoeiro (Andrade *et al.*, 2008; Didonet, 2003).

Por ser uma planta C<sub>3</sub> o feijoeiro satura-se fotossinteticamente a intensidade de luz relativamente baixas. De forma geral, pode-se citar que regiões que apresentem valores de radiação solar em torno de 150-250W/m<sup>2</sup> podem ser consideradas como ideais para o desenvolvimento do feijoeiro. Acima de 400w/m<sup>2</sup> a taxa de fotossíntese é praticamente constante. Quanto à resposta ao comprimento do dia, atualmente, as cultivares de feijoeiro existentes podem ser consideradas insensíveis ao fotoperíodo (Barbosa & Gonzaga, 2012; Portes, 1988).

Com relação à água, o feijoeiro é considerado como sendo uma espécie pouco tolerante a deficiências hídricas. A cultura do feijão exige um mínimo de 300 mm de precipitação para que produza a contento, sem a necessidade da prática de irrigação. Regiões cujas precipitações oscilem entre 250 e 500 mm anuais são consideradas aptas para a implantação da mencionada espécie, embora tal limitação encontra-se mais diretamente condicionada à distribuição do que à quantidade total de chuvas ocorrida no período (Dourado Neto & Fancelli, 2000).

Cultivado por pequenos e grandes produtores, em diversificados sistemas de produção e em todas as regiões brasileiras, o feijoeiro comum reveste-se de grande importância econômica e social. Dependendo da cultivar e da temperatura ambiente, pode apresentar ciclos variando de 65 a 100 dias, o que o torna uma cultura apropriada para compor, desde sistemas agrícolas intensivos irrigados, altamente tecnificados, até aqueles com baixo uso tecnológico, principalmente de subsistência (Aidar, 2003).

O plantio de feijão no Brasil é feito ao longo do ano, concentrando-se em três épocas ou safras. Dadas às características da cultura, a forma como o feijão é cultivado nas diferentes regiões do país, e, a diversidade climática do Brasil, em qualquer mês, sempre haverá

produção em algum ponto do país, o que contribui para manter o abastecimento interno e reduzir a oscilação dos preços (Barbosa & Gonzaga, 2012).

A produção apresenta certa sazonalidade que se traduz em três safras não muito bem definidas no tempo. A 1ª safra ou “safra das águas” (também chamada de “safra do Sul e Sudeste”) é colhida a partir de novembro até março, com maior intensidade em dezembro; a semeadura geralmente é feita entre agosto e outubro, podendo se estender até novembro e dezembro. A 2ª safra ou “safra da seca” ou “safrinha” (também chamada de “safra do Nordeste e Sudeste”) é colhida de abril-maio até junho-julho; nesse caso, a semeadura é feita entre janeiro e abril. A 3ª safra também é conhecida como “safra de outono-inverno”, “safra do Sudeste” e “safra irrigada”; a semeadura é feita a partir de maio, com a colheita entre agosto e outubro (Barbosa & Gonzaga, 2012).

O cultivo de feijoeiro é bastante difundido em todo o território nacional, no sistema solteiro ou consorciado com outras culturas (Barbosa & Gonzaga, 2012).

O feijoeiro pode ser cultivado tanto em várzeas quanto em terras altas, desde que em locais com solos soltos, friáveis e não sujeitos ao encharcamento. O manejo adequado do solo é muito importante para a garantia de condições ótimas ao desenvolvimento do feijoeiro comum, sobretudo do seu sistema radicular. A cultura se estabelece bem em plantio convencional, cultivo mínimo e plantio direto, desde que se tomem os cuidados inerentes a cada sistema de manejo (CTSBF, 2012).

O uso de sistemas conservacionistas de manejo do solo, que reduzem a mobilização e mantêm mais cobertura no solo, trazem benefícios à cultura do feijão, pois além de reduzir a erosão, mantêm a temperatura do solo mais constante, aumentando o armazenamento de água e a eficiência dos fertilizantes em geral. O plantio direto, consagrado como o sistema de manejo mais eficiente no controle da erosão hídrica do solo, deverá ser adotado sempre que possível. No plantio direto, deve ser adotado um sistema de rotação de culturas, no qual o

feijão deve ser precedido por um cultivo com grande produção de biomassa, de forma a manter a cobertura do solo e proteger a sua superfície contra o impacto das gotas da chuva, além de servir como obstáculo ao escoamento de água e impedir que as vagens toquem diretamente o solo, melhorando a qualidade dos grãos. O uso de corretivos da acidez do solo, como o calcário, e de fertilizantes orgânicos ou minerais, em quantidades baseadas na análise de solo e nas necessidades do feijão, também contribuem para a conservação e a fertilidade do solo e o aumento e/ou manutenção da produtividade da cultura (CTSBF, 2012).

A utilização correta do espaçamento e da densidade de plantio na cultura do feijão é prática cultural de baixo custo e de fácil entendimento e adoção pelos agricultores. A distribuição adequada de plantas tem efeito sobre o controle de plantas daninhas e pode representar uma estratégia importante para a utilização mais eficiente de alguns fatores de produção, como luz, água e nutrientes (Araújo & Ferreira, 2008).

De modo geral, o espaçamento em lavouras comerciais de produção de grãos de feijão varia de 0,3 a 0,6m entre fileiras. Sendo os espaçamentos menores para cultivares de ciclo mais precoce e hábitos de crescimento tipos I e II e os espaçamentos maiores para cultivares de ciclo normal e hábito de crescimento indeterminado (tipo II e III). Os espaçamentos de 0,4 e 0,5m são os mais convenientes. O espaçamento de 0,3m não deve ser utilizado quando for previsto controle mecânico de plantas daninhas. Já o espaçamento de 0,6m só deve ser adotado em solos de alta fertilidade. Na semeadura as sementes devem ser uniformemente distribuídas e, na regulação da semeadora, deve-se considerar o seu poder germinativo. As populações de plantas indicadas variam em função do hábito de crescimento das plantas e da cultivar (CTSBF, 2012).

A profundidade de semeadura pode gerar desuniformidade na emergência e o tombamento de plântulas, além de propiciar ambiente favorável à proliferação e ao ataque de fungos do solo. A recomendação geral é utilizar 3 a 4 cm de profundidade em solos argilosos

ou úmidos e 5 a 6 cm em solos arenosos. Em plantio realizado com solo frio, deve-se optar por profundidade de 3 a 4 cm (Araújo & Ferreira, 2008; CTSBF, 2012).

Para a cultura do feijoeiro, o estabelecimento rápido e uniforme das plantas no solo é de fundamental importância para sucesso da lavoura, onde o uso de sementes de alta qualidade é imprescindível. Porém, na maioria das semeaduras realizadas atualmente, os produtores não conhecem a qualidade fisiológica e sanitária fisiológico das sementes utilizadas, pois a cultura possui uma baixa taxa de utilização de sementes, ficando ao redor de 19% no Brasil e 26 % no Distrito Federal (ABRASEM, 2014).

Uma semente de qualidade deve ter: 1) pureza genética, que irá expressar-se no potencial produtivo, nas suas características agrônômicas, na reação a doenças e pragas, nas características da semente, entre outras; 2) pureza física, determinada pelo grau e tipo de contaminantes presentes no lote; 3) qualidade fisiológica, evidenciada pelo seu potencial em gerar uma nova planta, perfeita e vigorosa, sob condições favoráveis; e 4) bom estado fitossanitário, pois a boa semente não deve veicular patógenos, capazes de afeta negativamente, a emergência e o vigor das plântulas e constituir o inóculo primário para o desenvolvimento de epidemias consequente redução no rendimento (Abreu, 2005).

Assim, é necessário que, no momento de adquirir sementes para a formação da lavoura, o produtor conheça a procedência da mesma, sendo recomendável que, além da análise da sua qualidade física e fisiológica, seja também exigido o boletim de análise sanitária (Silva, 2005).

No país há boa disponibilidade de cultivares melhoradas e adaptadas para as diferentes regiões, o que facilita o desenvolvimento da cultura. Entretanto, a falta de sementes na quantidade demandada, constitui sério problema para o setor. Outro aspecto que restringe o desenvolvimento dessa cadeia é a grande variedade de tipos e classes de feijões produzidos e

comercializados regionalmente, o que dificulta a padronização, a classificação do produto e a consequente formação de preços no mercado (Barbosa & Gonzaga, 2012).

## **1.2. Aspectos econômicos da cultura do feijoeiro**

O feijoeiro comum é, historicamente, um dos principais alimentos consumidos no Brasil e no mundo. O feijão constitui-se em uma das mais importantes fontes protéicas na dieta humana em países em desenvolvimento das regiões tropicais e subtropicais. Em 2007, o maior consumo desse produto ocorria nas Américas (40,8%), seguindo-se a Ásia (37,8%), a África (17,8%), a Europa (3,3%) e a Oceania (0,1%). Os países em desenvolvimento são responsáveis por 87,1% do consumo mundial (Barbosa & Gonzaga, 2012).

Considerando todos os gêneros e espécies de feijão englobados nas estatísticas da FAO, publicadas em 2013, a produção mundial de feijão (124 países), situou-se em torno de 23,14 milhões de toneladas, ocupando uma área de 29,23 milhões de hectares. Entre os continentes, a Ásia foi o maior produtor mundial (46%), seguido das Américas (30,6%), da África (21,0%), da Europa (2,2%) e da Oceania (0,2%).

Mais da metade (54,7%) da produção mundial origina-se de apenas quatro países. Índia e Myanmar são os principais produtores mundiais de feijão. Em 2013 o Myanmar ocupou a primeira posição, com produção de 3,8 milhões de toneladas, em uma área de 9,1 milhões de hectares. Outros importantes produtores de feijão são: Brasil, China, México e Estados Unidos (FAOSTAT, 2014).

Fundamental para a segurança alimentar e nutricional, sobretudo para classes mais carentes da população, o feijoeiro comum representa uma dos pilares da dieta brasileira. Atualmente o consumo per capita situa-se na ordem de 16,7 kg/habitante/ano. Diversos aspectos culturais determinam grandes variações regionais quanto ao gosto e preferência por tipos de grãos consumidos (IBGE, 2014).

A maior parte do feijão produzido no Brasil vem da agricultura familiar, que é responsável por cerca de 60% da produção nacional. Por isso o setor não é muito especializado. Os grandes produtores optam por produzir a leguminosa como uma aposta de curto prazo (os três meses entre o plantio e a colheita) em meio a suas atividades principais. E isso acontece somente quando os preços estão em patamares elevados, pois assim conseguem reforçar suas receitas (CTSBF, 2012).

Segundo o Levantamento de Safra – Grãos (CONAB, 2014), na safra 2012/2013 o país produziu 2,8 milhões de toneladas em 3,07 milhões de hectares, com uma produtividade média de 913 kg/ha. A primeira safra produziu 0,97 milhões de toneladas em 1,12 milhões de hectares (858 kg/ha), a segunda safra produziu 1,1 milhões de toneladas em 1,3 milhões de hectares (851 kg/ha) e a terceira safra produziu 0,73 milhões de toneladas em 0,65 milhões de hectares (1131 kg/ha). O Estado do Paraná é o principal produtor, o Distrito Federal ocupa a décima sexta posição. Paraná e Minas Gerais participaram na safra de 2012/2013 por 41,9% do total do feijão produzido no País. Os dez estados maiores produtores, são responsáveis por 86% da produção brasileira de feijão. Em termos de produtividade, o Estado de Goiás é o que obteve os melhores resultados nas safras de 2008/2009 a 2012/2013, com rendimentos superiores a 2000 kg/ha.

A média de produtividade de feijão no Brasil, e considerada baixa, entretanto alguns estados, essa média é superior a 1000 kg/ha (Tabelas 1.3 e 1.4), e os agricultores brasileiros que utilizam alta tecnologia já ultrapassam a marca de 3000 kg/ha (Borém & Carneiro, 2008; CONAB, 2014).

Grandes áreas de cultivo utilizam maquinário moderno e semeadura direta, adotando-se elevado nível tecnológico para alcançar alta produtividade de grãos, como é observado na região Centro-Oeste do país, onde se atingiu uma produtividade de 1636,8 Kg/ha na safra 2012/2013 (Tabela 1.4). Na 3ª safra, onde predomina o uso de sistemas agrícolas intensivos,

irrigados e altamente tecnificados a produtividade nas regiões Centro-Oeste e Sudeste na safra 2012/2013 foram de 2512 e 2517 Kg/ha respectivamente. (CONAB, 2014).

Ressaltando que o feijão, na sua maioria, ainda é produzido por pequenos agricultores, com poucos recursos tecnológicos e que, frequentemente, consorciavam essa leguminosa com outras culturas, sobretudo milho (*Zea mays* L.). Esses agricultores geralmente usam sementes de baixa qualidade, utilizam cultivares inadequadas, adubam mal e não controlam pragas e doenças. Escassez ou má distribuição de chuvas são fatores que contribuem para esse baixo rendimento médio, pois a irrigação não é prática comum entre esses produtores (Borém & Carneiro, 2008).

No Brasil, 63% do volume produzido é de feijão-cores, enquanto 18% é de feijão-preto e 19%, de macaçar (caupi). O feijão carioca está distribuído de forma uniforme nas três safras anuais, o feijão-preto concentra-se no Sul do País e aproximadamente 70% de sua produção origina-se da primeira safra. A variedade macaçar, cultivada na Região Nordeste, concentra-se na segunda safra, à exceção da produção no estado da Bahia (CTSBF, 2012).

Apesar dos atuais 2,9 milhões de toneladas de feijão produzidos o Brasil importou em média, 223 mil toneladas/ano entre os anos de 2008 a 2013 (Tabelas 1.5).

No que tange a importação, a grande maioria é do tipo feijão preto, porém, ocorre importação relevante de feijão de cor e de outros tipos de feijões. Os principais países que exportam para o Brasil são: China, Argentina, Bolívia, Estados Unidos e Bélgica (Barbosa & Gonzaga, 2012; Ferreira *et al.*, 2008).

O sistema de comercialização do feijão é o mais variado possível, com predomínio de um pequeno grupo de atacadistas que concentra a distribuição da produção, gerando, muitas vezes, especulações quando ocorrem problemas na produção. As características do mercado do produto, sobretudo no que concerne a concentração dos grupos atacadistas, influem diretamente na formação do preço pago ao produtor (Barbosa & Gonzaga, 2012).



**Tabela 1.2.** Área colhida, produção e rendimento de feijão nos principais países produtores (2010 - 2013).

País	2010			2011			2012			2013		
	Área (mil ha)	Produção (mil t)	Prod. (Kg/ha)	Área (mil ha)	Produção (mil t)	Prod. (Kg/ha)	Área (mil ha)	Produção (mil t)	Prod. (Kg/ha)	Área (mil ha)	Produção (mil t)	Prod. (Kg/ha)
Índia	11000	4890	444,5	11000	4330	393,6	9100	3710	407,7	9100	3630	398,9
Myanmar	2710	3530	1302,6	2712	3750	1382,7	2750	3900	1418,2	2700	3800	1407,4
Brasil	3424	3159	922,6	3673	3435	935,2	2709	2795	1031,7	2831	2936	1037,1
Estados Unidos	746	1442	1933,0	476	902	1895,0	684	1448	2117,0	530	1111	2096,2
China	911	1339	1469,8	914	1583	1731,9	971	1561	1607,6	930	1410	1516,1
México	1630	1156	709,2	895	568	634,6	1559	1081	693,4	1754	1295	738,3
Tanzânia	1209	867	717,1	738	676	916,0	1330	1199	901,5	1300	1150	884,6
Uganda	952	463	486,3	983	447	454,7	1060	425	400,9	1100	461	419,1
Quênia	689	391	567,5	1037	578	557,4	1059	614	579,8	1000	529	529,0
Camarões	286	354	1237,8	296	365	1233,1	217	343	1580,6	262	352	1343,5
T. Mundial	30808	23816	773,0	30417	23211	763,1	29318105	23917	1580,6	29234	23139	791,5

Fonte: FAOSTAT, 2014.

**Tabela 1.3.** Área colhida, produção e produtividade de feijão nos Estados maiores produtores (2008/2009 – 2012/2013).

Estado	Área colhida (mil ha)					Produção (mil t)					Produtividade (Kg/ha)				
	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13
PR	630,4	521,1	522,8	481,4	480,0	723,2	794,2	821,2	677,9	658,4	1147,2	1524,1	1570,8	1408,2	1371,7
MG	420,7	419,6	401,3	422,3	419,7	599,3	623,7	582,3	663,7	564,8	1424,5	1486,4	1451,0	1571,6	1345,7
MT	134,70	103,80	208,20	180,80	211,70	151,20	120,90	234,80	224,40	294,5	1122,5	1164,7	1127,8	1241,2	1391,1
GO	114,4	113,0	109,9	126,2	108,1	263,8	288,8	260,1	308,1	236,1	2305,9	2555,8	2366,7	2441,4	2184,1
SP	186,3	180,6	167,0	163,8	120,1	324,8	318,6	348,0	330,9	235,6	1743,4	1764,1	2083,8	2020,1	1961,7
BA	550,8	612,0	563,1	427,3	456,0	336,4	390,4	262,9	117,6	189,2	610,7	637,9	466,9	275,2	414,9
SC	129,1	110,2	104,0	86,8	76,7	178,5	167,7	160,5	117,3	124,7	1382,6	1521,8	1543,3	1351,4	1625,8
RS	117,0	106,7	92,4	81,3	71,2	125,4	115,3	123,9	94,1	94,7	1071,8	1080,6	1340,9	1157,4	1330,1
CE	589,1	458,2	612,9	433,6	341,1	159,3	84,5	259,6	32,9	66,2	270,4	184,4	423,6	75,9	194,1
PE	316,7	264,6	322,4	229,7	176,4	136,7	88,5	161,5	33,8	46,3	431,6	334,5	500,9	147,1	262,5
Brasil	4147,8	3608,8	3990,0	3262,1	3075,3	3502,7	3322,5	3732,8	2918,4	2806,3	844,5	920,7	935,5	894,6	912,5

Fonte: CONAB, 2014.

**Tabela 1.4.** Produção, área plantada e rendimento nacional e por região geográfica nas safras 2011/2012 e 2012/2013.

Região	Área	Produção	Prod. (Kg/ha)	Área	Produção	Prod. (Kg/ha)
	(mil ha)	(mil t)		(mil ha)	(mil t)	
2011/2012			2012/2013			
Sul	649,5	889,3	1369,2	627,9	877,8	1398,0
Sudeste	608,1	1012,8	1665,5	558,3	815,8	1461,2
Nordeste	1503,9	289,3	192,4	1399,8	425,3	303,8
Centro-Oeste	342,1	603,0	1762,6	356,0	582,7	1636,8
Norte	158,5	124,0	782,3	133,3	104,7	785,4
Norte/Nordeste	1662,4	413,3	248,6	1533,1	530,0	345,7
Centro-Sul	1599,7	2505,1	1566,0	1542,2	2276,3	1476,0
Brasil	3262,1	2918,4	894,6	3075,3	2806,3	912,5

Fonte: CONAB, 2014.

**Tabela 1.5.** Balanço da oferta e demanda de feijão no Brasil (1.000 toneladas), 2008/2009 a 2012/2013.

Safra	Estoque inicial	Produção	Importação	Suprimento	Consumo	Exportação	Estoque final
2008/2009	230,0	3502,7	110,0	3842,7	3500	25,00	317,7
2009/2010	317,7	3322,5	181,2	3821,4	3450	4,5	366,9
2010/2011	366,9	3732,8	207,1	4306,8	3600	20,4	686,4
2011/2012	686,4	2918,4	312,3	3917,1	3500	43,3	373,8
2012/2013	373,8	2806,3	304,4	3484,5	3320	35,3	129,2

Fonte: CONAB, 2014.

### 1.3. Doenças do feijoeiro

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é cultivado durante todo o ano, numa grande diversidade de ecossistemas, o que faz com que inúmeros fatores tornem-se limitantes para a sua produção. Entre estes fatores, um dos principais são as doenças as quais, além de diminuir a produtividade da cultura, depreciam a qualidade do produto (Sartorato *et al.*, 2003).

Segundo Maffia *et al.*, (1988), aproximadamente 108 fungos, 24 nematóides, 19 vírus e 17 bactérias são citados como patógenos do feijoeiro. No Brasil mais de 20 doenças de origem biótica afetam a cultura do feijoeiro durante todo seu ciclo (Lobo Júnior, 2005).

As doenças fúngicas estão divididas em dois grupos com base na sua origem. Assim, temos as doenças denominadas da parte aérea e cujos agentes causais não sobrevivem no solo e, as doenças de solo, cujos agentes causais encontram-se adaptados para sobreviverem neste ambiente. Entre as principais doenças fúngicas, da parte aérea do feijoeiro comum encontram-se a Antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Briosi & Cavara), a Mancha Angular (*Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & U. Braun), a Ferrugem (*Uromyces appendiculatus* F. Strauss), o Oídio (*Erysiphe polygoni* DC.) e a Mancha de Alternária (*Alternaria* spp.) além de duas outras recentemente identificadas nesta cultura e denominadas de Sarna (*Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & W.D. Moore e Carvão (*Ustilago* sp.) (Lobo Júnior, 2005; Sartorato *et al.*, 2003; Bianchini *et al.*, 2005).

Entre as principais doenças cujos agentes causais apresentam capacidade de sobreviver no solo durante vários anos, em estruturas de sobrevivência, e atacam o sistema radicular ou até mesmo a parte aérea das plantas, formando lesões que restringem o desenvolvimento das mesmas ou causam a sua morte encontram-se o Mofo Branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary), Podridão do Colo (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) a Mela (*Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk), a Podridão Radicular de Rhizoctonia (*Rhizoctonia solani* J.G. Kühn), Podridão

Radicular Seca (*Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* W.C. Snyder & H.N. Hansen), a Murcha de Fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* J.B. Kendr. & W.C. Snyder e a Podridão Cinzenta do Caule (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.) (Lobo Júnior, 2005; Sartorato *et al.*, 2003; Bianchini *et al.*, 2005).

No Brasil, foram descritas mais de dez viroses em feijoeiro (Bianchini *et al.*, 2005). Entre os vírus mais importantes, destaca-se o BCMV (*Bean common mosaic virus*), causador do Mosaico Comum, BGMV (*Bean golden mosaic virus*), causador do Mosaico Dourado, BRMV (*Bean rugose mosaic virus*), agente do Mosaico Rugoso, CpMMV (*Cowpea mild mottle virus*), agente do Mosaico Angular Amarelo, e SBMV (*Southern bean mosaic virus*), causador do Mosaico do Sul ou Meridional (Fiallos, 2010). Infecções mistas ocorrem principalmente na safra da seca, quando se observa maior incidência do BGMV. Os danos provocados nestes casos são mais severos que aqueles causados pelas infecções individuais por qualquer um dos vírus. Outro fator agravante é que nas cultivares com resistência ao BGMV, a mesma é perdida quando ocorre a infecção mista do BGMV com vírus isométricos de outros gêneros (Bianchini *et al.*, 2005).

Entre as diversas associações de nematóides ao sistema radicular do feijoeiro, registram os formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.), o nematóide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*), o nematóide das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus*) e o nematóide espiralado (*Helicotylenchus dihystera*) (Bofim Júnior, 2013; Paula Junior & Zambolim, 2006).

No Brasil, as bacterioses registradas na cultura do feijoeiro são: Crestamento Bacteriano (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) (Robbs, 1954); Crestamento Bacteriano Aureolado (*Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*) (Costa e Paradela, 1972); Fogo Selvagem (*P. syringae* pv. *tabaci*) (Ribeiro *et al.*, 1979) e Murcha de Curtobacterium (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) (Maringoni & Rosa, 1997).

Com exceção da Ferrugem, do Oídio e do Mosaico Dourado todas as doenças, com maior ou menor intensidade, são transmitidas pelas sementes. De um modo geral, as doenças de origem fúngica e bacteriana podem ser disseminadas, à longa distância através das sementes infectadas e as doenças fúngicas, também através das correntes aéreas. A curta distância, estas doenças são disseminadas pelas sementes infectadas, vento, chuvas, insetos, animais, partículas de solo aderidas aos implementos agrícolas, água de irrigação e pelo movimento do homem. O vírus do Mosaico Comum é transmitido pelas sementes e por afídeos enquanto que o vírus do Mosaico Dourado é transmitido pela mosca branca (*Bemisia tabaci* Gennadius) (Sartorato *et. al.*, 2003).

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 (Rosolem & Marubayashi, 1994).

Desse modo, o controle de doenças do feijoeiro deve ser integrado visando atingir vários agentes patogênicos, utilizando-se dos princípios de controle de doenças de plantas, exclusão, erradicação, proteção, resistência, terapia e evasão.

No dia 17 de junho de 2014, foi publicado no Diário Oficial da União a Instrução Normativa nº 15, a qual estabelece o vazio sanitário, para a cultura do feijoeiro comum nos estados de Minas Gerais e Goiás e no Distrito Federal. O objetivo é o controle do vírus (BGMV) causador do Mosaico Dourado e do seu vetor, a mosca branca (*B. tabaci*). O período de vazio sanitário obrigatório será de 5 de setembro a 5 de outubro de cada ano na área denominada Região 1, em determinados municípios de Goiás, e entre os dias 20 de setembro e 20 de outubro de cada ano, no Distrito Federal, em determinados municípios no Estado de Minas Gerais, e na denominada Região 2, no Estado de Goiás (BRASIL, 2014).

#### 1.4. Murcha de *Curtobacterium*

A Murcha de *Curtobacterium* foi relatada pela primeira vez nos Estados Unidos da América, no estado de Dakota do Sul, por Hedges, em 1922, causando perdas de aproximadamente 90% na produtividade das plantas de feijoeiro afetadas. Nos anos seguintes, a doença foi descrita em outras localidades, como os estados norte-americanos de Michigan, Virgínia, Maryland, Montana e no Distrito de Colúmbia, além de outros países, como Alemanha e França (Hedges, 1926). Na ocasião da descrição em 1922 (Hedges), foi denominada como *Bacterium flaccumfaciens* tendo recebido posteriormente as seguintes denominações: *Phytomonas flaccumfaciens* (Hedges, 1922) Bergey *et al.*, 1923, *Pseudomonas flaccumfaciens* (Hedges, 1922) Stevens 1925; *Corynebacterium flaccumfaciens* (Hedges, 1922) Downson 1942; *Corynebacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges, 1922) Dowson 1942; *Corynebacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* (Hedges, 1922) Downson 1942 e, finalmente baseado em perfil de proteínas celulares através de eletroforese em gel de poliacrilamida, foi reclassificada como *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges, 1922), Collins e Jones, 1983 (Carlson & Vidaver, 1982; Collins e Jones, 1983; Young *et al.*, 1996).

A bactéria causadora da Murcha de *Curtobacterium* do feijoeiro, *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, ocupa a seguinte posição taxonômica: Domínio Bacteria; Filo Actinobacteria; Classe Actinobacteria; Subclasse Actinobacteride; Ordem Actinomycetales; Subordem Micrococccineae; Família Microbacteriaceae (Bradbury, 1986).

A distribuição geográfica da *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff) é bastante ampla. Existem registros nos seguintes países: Canadá, Estados Unidos e México, na América do Norte; Brasil e Colômbia, na América do Sul; Tunísia e Turquia, na Ásia; Alemanha, Bélgica, Bulgária, Grécia, Hungria, “antiga” Iugoslávia, Romênia, Rússia e Suíça, na Europa; Austrália, na Oceania (Bradbury, 1986; Commonwealth Mycological Institute,

1992; Hedges, 1922; Maringoni & Rosa, 1997; Uesugi *et al.*, 2003; Nunes *et al.*, 2004; Rava *et al.*, 2004; Theodoro e Maringoni, 2004).

No Brasil, *Cff* era considerada uma praga quarentenária, sendo que em 1995 foi relatada por Maringoni & Rosa (1997), em uma lavoura de feijoeiro, cultivar Carioca, localizada no município de Itaporanga, Estado de São Paulo, e a partir de 2001, ela foi observada em diferentes regiões produtoras de feijão nos Estados do Paraná e Santa Catarina (Leite Jr. *et al.*, 2001), Goiás e no Distrito Federal (Uesugi *et al.*, 2003). Na safra de 2011/2012 no Estado do Paraná, foi relatado pela primeira vez *Cff* em lavouras de soja no Brasil (Soares *et al.*, 2013).

*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* é uma bactéria gram-positiva, aeróbia estrita, móvel, com um a três flagelos laterais peritríquos e não formadora de endósporo. Apresentam-se em forma de bastonete isolado ou em pares, com 0,4-0,6 x 0,6-3,0 µm de diâmetro. As colônias em meio de cultura podem ser amarelas, de forma circular, com bordos lisos, planas ou levemente convexas e de aspecto brilhante. (Hayward & Waterston, 1965). Em meio de cultura extrato de levedura-glicose-ágar, as bactérias apresentam colônias ligeiramente convexas, sem viscosidade, semifluidas e de coloração amarela, laranja ou vermelha, podendo também produzir um pigmento solúvel em água de coloração azul ou púrpura (Davis & Vidaver, 2001). Além disso, desenvolve-se bem em temperaturas ótimas de 24 a 37°C, com temperaturas máximas entre 35 a 37°C, apresenta tolerância a presença de sal, com 7% a 9% de NaCl, e requer tiamina, biotina e pantotenato para crescimento. Produz ácido a partir de arabinose, celobiose, frutose, galactose, glucose, glicerol, inositol, maltose, melobiose, rafinose, sacarose e xilose e, usualmente a partir de inositol e melozitol. É catalase positiva, mas oxidase, tirosinase, urease e indol negativa. Não reduz nitrato a nitrito, não produz amônia a partir de peptona, mas produz H<sub>2</sub>S a partir de cisteína. Não produz aminoácido-descarboxilases ou fenilalanina desaminase (Bradbury, 1986).



A bactéria é uma espécie fitopatogênica e caracteriza-se por colonizar os vasos xilemáticos, obstruindo a passagem de seiva, causando murcha, flacidez, amarelecimento das folhas, queima ou encarquilhamento do bordo foliar, escurecimento vascular, nanismo, enfezamento nas plantas e, conseqüentemente, morte da parte aérea do feijoeiro e/ou redução do seu potencial produtivo (Wendland, 2008). Os sintomas são mais agudos nas plantas em períodos de estresse hídrico e temperaturas elevadas e em plantas jovens, até 5–8 cm de altura (TEGLI *et al.*, 2002).

As sementes contaminadas internamente apresentam coloração amarelada, laranja ou púrpura, como consequência do crescimento bacteriano e se tornarem enrugadas, mas na maioria das vezes nenhum sintoma é visível. (Tegli *et al.*, 2002).

Os sintomas da doença nas lavouras geralmente aparecem em reboleiras, embora plantas isoladas possam ser encontradas (Valentini *et al.*, 2010).

Os sintomas de escurecimento vascular, conjuntamente com os sintomas de murcha, se assemelham aos sintomas da Murcha de Fusarium, causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, motivo este que promove uma confusão na detecção da doença a campo. A semelhança entre os sintomas da Murcha de Curtobacterium e a Murcha de Fusarium provavelmente foi um dos motivos que atrasou a constatação da doença no território brasileiro (Uesugi *et al.*, 2003).

Em experimentos de campo e análises em lavouras de feijoeiro no Distrito Federal e entorno, para caracterização dos sintomas causados por *Cff* em feijoeiro, Miranda Filho (2010) observou que a murcha propriamente dita, sintoma típico na caracterização da doença, geralmente não ocorre nos estádios iniciais da cultura, aparecendo geralmente nos estádios reprodutivos, coincidindo com a fase de maior necessidade hídrica da cultura.

Em soja a doença é chamada de “tan spot”. Os sintomas são bem distintos daqueles do feijoeiro, com as folhas apresentando clorose e lesões que se iniciam nas margens foliares e progridem para a região central (Dunleavy, 1983).

*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* possui várias hospedeiras, mas restrito apenas às leguminosas. Entre os relatos estão, feijão comum e de vagem (*Phaseolus vulgaris* L.), caupi (*Vigna unguiculata* L.), ervilha (*Pisum sativum*), feijão asiático Adzuki (*Vigna angularis* Willd.), feijão ayocote (*Phaseolus coccineus* L.), feijão de lima (*Phaseolus lunatus* L.), feijão mungo (*Vigna radiata* L.), lab-lab (*Lablab purpureus*), soja (*Glycine max* L.) e *Zornia* spp. (Bradbury, 1986; Dunleavy, 1983; Hedges, 1922; Leite Júnior *et al.*, 2001; Zaumeyer & Thomas, 1957; Torres *et al.*, 1982).

A principal forma de disseminação de *Cff* é por sementes contaminadas, as quais podem estar infectadas internamente ou apenas infestadas superficialmente (Tegli *et al.*, 2002). Nas sementes contaminadas internamente, a bactéria fica alojada nas células paliçádicas que formam a testa (Chavarro *et al.*, 1985). Não há disseminação por chuva e água de irrigação, devido à bactéria colonizar internamente os tecidos vasculares. No entanto, dissemina-se rapidamente após chuva de granizo devido aos ferimentos causados. A bactéria pode penetrar na ausência de chuvas, não sendo observada a penetração via estômato. Não há relatos de vetores para disseminação de *Cff*, porém, o nematóide *Meloidogyne incognita* pode favorecer a sua penetração através de ferimentos (Schuster, 1959). No entanto Salgado *et al.*, 2007 não constatou a interação patogênica entre *Cff* e *M. incognita* (raça 2) na infecção e na manifestação dos sintomas da Murcha de *Curtobacterium* em plantas de feijoeiro das cultivares Pérola e IAPAR 16.

Miranda Filho (2010) avaliou a disseminação de *Cff* entre plantas de feijoeiro, cultivar Pérola, via parte aérea e sistema radicular. Para avaliação da disseminação via parte aérea foi realizando experimento em casa de vegetação de forma que não houvesse contato entre o

sistema radicular das plantas, para tal as mesmas foram arranjadas de modo que elas ficassem espaçadas a 0,10 m para simular o arranjo entre plantas e 0,50 m para simular o espaçamento entre linhas. Já para avaliação da disseminação via sistema radicular, o experimento foi realizado em condições de campo, onde foram usados os mesmos espaçamentos do ensaio anterior, mas de modo que não houvesse contato entre as plantas via parte aérea. De acordo com os resultados obtidos, a transmissão via parte aérea foi de 20% nos dois espaçamentos e pelo sistema radicular foi de 16,7% para espaçamento de 0,10 m e de 10% no espaçamento de 0,50 m.

O patógeno pode sobreviver nas sementes, por até dois anos ou por períodos mais longos quando a semente é armazenada em condições ótimas (Tegli *et al.*, 2002).

*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* também pode sobreviver no solo, servindo de inóculo por períodos de até dez meses. Além disso, a bactéria virulenta sobrevive em plantas não hospedeiras com *Amaranthus retroflexus* e *Chenopodium album*, por até dez meses, enquanto estirpes não virulentas sobrevivem por até vinte dois meses (Schuster, 1967).

Miranda Filho (2010) avaliando a persistência de *Cff* em solo de cerrado, tipo latossolo vermelho, cultivado com feijoeiro comum durante três safras consecutivas e com alta incidência de Murcha de *Curtobacterium*, observou que a bactéria permaneceu viável no solo por um período de aproximadamente vinte e dois meses.

Embora exista uma intensa busca por métodos de controle da Murcha de *Curtobacterium* (Estefani *et al.*, 2007; Rodrigues *et al.*, 2006; Soares *et al.*, 2004; Theodoro & Maringoni, 2006a; Theodoro & Maringoni, 2006b;) seu controle está baseado somente no uso de sementes saudias, rotação de culturas e cultivares com algum nível de resistência genética (Hall, 1991; Maringoni, 2002).

O emprego de sementes saudias, já que o patógeno sobrevive e é transmitido por sementes (Saettler & Perry, 1972), tem sido adotado em alguns países, através da certificação

sanitária. Esta medida foi tão eficaz que durante 20 anos a Murcha de *Curtobacterium* não foi constatada em áreas de produção de Dakota do Norte e em Minnessota, E.U.A., e que apenas em 1994 *Cff* foi isolado de uma amostra de sementes utilizada por um agricultor daquela região (Venette *et al.*, 1995).

O uso de resistência genética é o método mais eficiente para controlar a ocorrência de doenças em plantas por apresentar menor custo, ser de fácil utilização, além de não apresentar riscos para o homem e o meio ambiente (FRY,1982).

A identificação de fontes de resistência é uma demanda para as pesquisas e a primeira etapa do melhoramento quando se pensa na obtenção da resistência a doenças (Faleiro, 2007). Várias pesquisas foram iniciadas no final da década de 50 e no início da década de 60, visando selecionar fontes de resistência em feijoeiro à Murcha de *Curtobacterium* (Coyne *et al.*, 1963).

Na literatura internacional há relatos de diversos genótipos de feijoeiro, com elevado nível de resistência à Murcha de *Curtobacterium* (Chavarro *et al.*,1985; Coyne & Schuster, 1974; Huang *et al.*, 2007b; Hsieh *et al.*, 2003, Hsieh *et al.*, 2005; Karkmkova & Boyadzhiev, 1984; Nikitina *et al.*, 1980; Phang *et al.*,1974).

No Brasil, trabalhos avaliando a resistência ou tolerância de cultivares têm sido realizados, no entanto, apenas alguns genótipos contêm genes de resistência à Murcha de *Curtobacterium*. Maringoni (2002), avaliando quarenta cultivares de feijoeiro através da inoculação em separado de dois isolados de *Cff*, verificou que as cultivares IAC Carioca Akytã, IAC Carioca Aruã e IAC Carioca Pyatã são resistentes à Murcha de *Curtobacterium*. Estas cultivares apresentaram menor severidade a doença e menor redução da matéria seca da parte aérea em relação às suscetíveis (IAC Carioca e Pérola), quando inoculadas com *Cff*.

Theodoro *et al.*, (2007) avaliaram a reação de 73 cultivares locais de feijoeiro, coletadas em Santa Catarina, à Murcha de *Curtobacterium*, e identificaram como fonte de

resistência as cultivares Mouro Piratuba (grupo de coloração variada) e Vagem Amarela (grupo preto).

Rava *et al.*, (2003) identificaram os materiais 'CF 800375', 'Coquinho Enxofre', 'Feijão Baetão', 'Mulatinho MG' e 'Vermelho 1 Epamig' como resistentes à Murcha de *Curtobacterium*, entre 333 cultivares locais coletadas em sete estados brasileiros.

Souza *et al.*, (2006) avaliaram 333 acessos pertencentes ao banco de germoplasma de feijão do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Os resultados da triagem da resistência genética em genótipos de feijoeiro indicaram a existência de variabilidade genética nas amostras dos 333 genótipos avaliados. Os materiais foram classificados em 4 grupos de resistência: 29 genótipos (8,7%) comportaram-se como altamente resistentes, 13 genótipos (3,9%) como resistentes, 18 genótipos (5%) como moderadamente resistentes e 273 genótipos (81%) suscetíveis.

Krause *et al.*, (2009) avaliaram 39 genótipos, sendo trinta e três de feijão de vagem e seis de feijão comum, destes, 'Novirex', 'IAC Carioca Tybatã' e 'Amarelo Baixo' foram identificados como resistentes.

A presença de restos culturais de feijoeiro infectados com *Cff* em campos de cultivo de feijoeiro pode ser uma importante fonte de inóculo para a ocorrência de epidemias de Murcha de *Curtobacterium*, sendo recomendada a incorporação desses restos culturais, e a adoção de rotação de cultura com espécies vegetais não-hospedeiras do patógeno. Trabalho realizado por Silva Júnior (2011) mostrou que *Cff* sobrevive por até 240 dias em restos culturais de feijoeiro mantidos na superfície do solo e por até 30 dias quando incorporados a 20 cm de profundidade.

A utilização do tratamento de sementes com agentes de controle biológico pode ser uma alternativa para o controle da Murcha de *Curtobacterium*. Huang *et al.*, (2007a) avaliaram a eficiência do tratamento de sementes de feijão, inoculadas e naturalmente

infectadas com *Cff*, com os isolados de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* R12 e R21, *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* BR e *Pantoea agglomerans* PA. Todos os agentes de controle biológico reduziram a incidência e severidade da Murcha de *Curtobacterium*, além de promoverem um aumento na emergência e altura de plântulas, sendo o isolado *R. leguminosarum* bv. *viceae* R21 o agente mais eficaz.

Análises visuais das sementes são insuficientes para determinar a presença ou não de bactérias fitopatogênicas. Deste modo, existe a necessidade de testes que possibilitem detectar bactérias em sementes, especialmente quando o nível de infecção é muito baixo (Oliveira, 1995). As avaliações de sanidade, visando à identificação de patógenos e descarte dos lotes contaminados, asseguram a sanidade dos lotes a serem comercializados e assim, evitar a ocorrência de epidemias generalizadas (Valentini *et al.*, 2010).

Em fitobacteriologia os meios semi-seletivos são considerados uma ferramenta de relevante importância para o diagnóstico de doenças, estudos epidemiológicos e para o isolamento de bactérias fitopatogênicas em tecidos vegetais e/ou sementes (Kruppa, 1993). Por meio do uso do meio de cultura MSCFF desenvolvido por Maringoni *et al.* (2006), houve a constatação da viabilidade de métodos qualitativos para a detecção de *Cff* em lotes de sementes de feijoeiro, em exames de rotina laboratorial. Foi detectada a presença desta bactéria em metade dos trinta lotes de sementes de feijoeiro avaliados e óbitos nos Estados de São Paulo, Paraná, Goiás e Rio Grande do Sul (Maringoni & Câmara, 2006).

Ajustes no meio CNS (*Corynebacterium Nebraskense* Selective Medium) foram propostas por Behlau *et al.* (2006) para recuperação e detecção de *Cff* em solo e sementes de feijoeiro. Os resultados obtidos mostraram a eficiência do meio CNS - modificado na recuperação de *Cff* de amostras de solo e sementes de feijão contaminadas por esta bactéria, podendo ser utilizado como ferramenta em estudos epidemiológicos e ecológicos da bactéria, assim como em análises fitossanitárias de sementes de feijoeiro.

Morais *et al.* (2010) compararam a eficiência dos meios semi-seletivos MSCFF e CNS modificado para a detecção de *Cff*, através dos métodos de repicagem por estria e por espalhamento, em sementes de feijoeiro. Os resultados evidenciaram uma maior rapidez no crescimento de *Cff* no meio semi-seletivo MSCFF, o qual pode ser utilizado em análises de rotina para detecção de *Cff* em sementes de feijão, pela facilidade de elaboração, pela rapidez de detecção e também pelo baixo custo.

Técnicas moleculares estão sendo utilizadas em estudos de variabilidade genética, diagnose, identificação e caracterização de isolados bacterianos (Valentini *et al.*, 2010). Tegli *et al.* (2002), demonstraram a eficiência dos iniciadores *Cff*FOR2-*Cff*REV4, obtidos a partir do fragmento amplificado via PCR baseado na sequência repetitiva (Rep-PCR), na detecção de *Cff* em sementes de feijão.

Os oligonucleotídeos CF4-CF5 desenvolvidos por Guimarães *et al.* (2001), em PCR a partir de sequência de fragmentos obtidos de DNA cromossômico por sub-clonagem da porção específica hibridizada para *Cff*, demonstraram alta especificidade para a detecção dos isolados de *Cff* utilizados pelos autores. No entanto no trabalho realizado por Souza *et al.* (2006), os iniciadores CF4-CF5 não foram capazes de detectar dois isolados, já os oligonucleotídeos *Cff*FOR2-*Cff*REV4 detectaram todos os 24 isolados de *Cff*. Deuner (2007) observou que a utilização os oligonucleotídeos *Cff*FOR2-*Cff*REV4, na detecção de *Cff* em sementes de feijão, apresentam maior repetibilidade e eficiência quando comparado com os CF4-CF5.

As técnicas moleculares surgem como importante ferramenta para detecção de *Cff*, principalmente quando se têm disponíveis *primers* específicos que detectam eficientemente o patógeno alvo (Deuner, 2007).

## 1.5. Tratamento de Sementes

Uma significativa parcela dos agentes fitopatogênicos encontra-se comumente associada às sementes de plantas (Tanaka & Machado, 1985). Entre os agentes que podem ser transmitidos pelas sementes, o grupo dos fungos é o mais numeroso, seguido de bactérias, vírus e nematóides (Machado, 2000).

São considerados patógenos de sementes aqueles microrganismos que se encontram em mistura ou diretamente associados a sementes em um dado lote. Essa localização é importante, pois dela depende a escolha para exame de sanidade e o tratamento fitossanitário a ser recomendado (Tanaka & Machado, 1985; Blum *et al.*, 2006). De modo geral, o transporte de patógenos por sementes pode ser efetuado de três maneiras: 1) O patógeno acompanha a semente, mas não está intimamente ligado a ela. Também chamado de contaminação concomitante, nesse tipo de associação, o patógeno, presente em fragmentos de plantas ou partículas de solo, em formas de estruturas de resistência como esclerócios ou cistos (nematóides), se mistura às sementes durante os processos de colheita e beneficiamento e com elas é levado ao campo por ocasião da semeadura. 2) O patógeno é carregado de forma passiva, aderido a superfície da semente, sem associação com tecidos internos. Geralmente esse tipo de associação é comum a certos vírus, nematóides e alguns fungos na forma de escleródios, esporos e micélio. 3) O patógeno é transportado nos tecidos internos da semente (várias camadas do envoltório ou no embrião). Nesse caso a semente infectada normalmente não mostra sintomas visíveis, uma vez que o patógeno localiza-se internamente (Tanaka & Machado, 1985; Machado, 1988).

A semente constitui num meio importante de disseminação de patógenos, sendo considerada mais eficiente que os demais meios conhecidos. Dentre as causas, citam-se: por ser rica em proteínas, carboidratos e minerais, a semente é um ótimo substrato nutritivo para sobrevivência de inúmeros patógenos; por permanecer viável por longo tempo, a semente



permite, em consequência, a sobrevivência dos patógenos por longos períodos de tempo; por contactar diretamente com a semente dos hospedeiros, o patógeno mantém assegurada a patogenicidade, que tenderia a diminuir ou desaparecer, se a associação fosse com o solo, restos de cultura entre outros; o plantio de uma semente infectada faz com que o patógeno tenha sua introdução assegurada no local; a semente infectada permite o desencadeamento da doença já nos primeiros estádios do ciclo da planta; se o patógeno veiculado pela semente sobreviver no solo por longo tempo, mesmo utilizando-se sementes sadias nos plantios subsequentes, poderá haver manifestação da doença (Tanaka & Machado, 1985).

O controle de doenças, em se tratando de sementes, segue, de modo geral, as mesmas regras conhecidas para o controle de qualquer outro tipo de doença em plantas. O tratamento de sementes para redução de inóculo veiculado por elas é prática das mais antigas na história de controle de doenças de plantas (Machado, 2000). A prática era usada séculos antes do nascimento da fitopatologia, embora bases científicas tenham sido desenvolvidas após o famoso plantio de sementes de trigo danificadas por água do mar em 1660, que produziu a lavoura livre de cáries (Dhingra, 2005).

O tratamento de sementes constitui em procedimento biológico, químico ou físico, visando reduzir ou erradicar fitopatógenos associados externamente ou internamente às sementes. O objetivo final é permitir a emergência de plântulas sadias e evitar a posterior disseminação de patógenos (Oliveira *et al.*, 2005).

Pela sua simplicidade de execução, menores riscos de intoxicação humana e poluição do ambiente, eficiência e baixo consumo de material, o tratamento de sementes é umas das medidas de controle mais praticadas na agricultura moderna (Jeffs, 1986 citado por Machado, 2000). A sua eficiência depende, basicamente, do tipo e localização do patógeno-alvo, do vigor da semente e da existência de substâncias e processos eficazes (Menten, 1995).

Entre os métodos de tratamento de sementes descritos na literatura incluem-se métodos físicos, químicos e biológicos. Em menor escala, o tratamento bioquímico tem sido praticado em alguns casos (Dhingra *et al.*, 1980; Machado, 2006).

Entende-se por tratamento químico a aplicação de fungicidas, antibióticos e nematicidas às sementes. É o método mais comum de se tratar sementes, sendo de grande valor comercial. O seu princípio é bastante simples e baseia-se na existência de produtos eficientes contra os patógenos, que apresentem baixa fitotoxicidade e sejam pouco tóxicos ao homem e ao ambiente. É um método bastante diversificado e em expansão, frequentemente surgem novos produtos com características desejáveis (Menten, 1995).

Entre os métodos físicos, predominam os que preconizam o uso do calor aplicado por meio da exposição das sementes a temperaturas que sejam letais ao patógeno, porém, que causem o mínimo de danos à viabilidade das sementes. Entre esses, está à imersão de sementes em água aquecida, o uso de calor seco, a corrente de vapor e o tratamento com energia solar (Grondeau & Samson, 1994). Cuidados devem ser tomados, pois a diferença entre a temperatura letal ao patógeno e aquela que inviabiliza a semente é em geral pequena, por isso é essencial o controle preciso da temperatura (Rat, 1987). O tratamento via calor seco, apresenta menor capacidade térmica ou troca de calor que a via úmida, requerendo, portanto, maior tempo de exposição. Entretanto, é mais simples e mais acessível, além de causar menos danos às sementes, já que não há o rompimento do tegumento e/ou extravasamento de substâncias das sementes, comum na embebição em água quente e vapor arejado (Menten, 1995).

O tratamento biológico é a incorporação artificial de agentes de controle biológico às sementes. O seu princípio básico é a ação de “controle biológico” exercido por determinados microrganismos, que eliminam, impedem ou reduzem o desenvolvimento de patógenos transportados pelas sementes (durante o armazenamento ou após a semeadura), ou presente no

so, também existe a possibilidade de “indução de resistência” contra os patógenos de parte aérea. Estes microrganismos atuam basicamente através do antagonismo, hiperparasitismo e competição (Menten, 1995). Entretanto, a recomendação mais extensiva deste tratamento é ainda prematura uma vez que a seleção de organismos com maior capacidade de adaptação ainda permanece como desafio. É possível que métodos em desenvolvimento pela Biotecnologia auxiliem no controle biológico de patógenos em sementes (Machado, 2000).

O tratamento bioquímico consiste em submeter às sementes a uma fermentação anaeróbica, por tempo determinado. Trata-se de um procedimento de emprego limitado a poucas espécies e de pouco valor comercial, também não apresenta ação residual. O princípio do processo é a sensibilidade de patógenos às substâncias químicas formadas durante a fermentação anaeróbica, assim deve ser criadas condições de umidade e temperatura para que ocorra formação de ácidos que inativem os patógenos. Na prática, as sementes de tomate são extraídas após a fermentação durante 96 horas, a 21 °C, onde através deste processo, realiza-se o controle de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, agente causal do cancro do tomateiro (Dhingra *et al.*, 1980; Machado, 1988; Menten, 1995).

## **1.6. Ozônio como agente antimicrobiano**

O ozônio (O<sub>3</sub>), forma triatômica do oxigênio, é um gás incolor, instável, muito reativo é tóxico (Rice & Netzer 1982).

O ozônio foi descoberto pela primeira vez em 1839 por Schönbein, estudando a decomposição eletrolítica da água (Tiwari & Rice, 2012). Somente após duas décadas de sua descoberta ficou claramente identificada a composição triatômica do ozônio, contendo apenas oxigênio (Vidal, 2003).

O ozônio é formado naturalmente na estratosfera em pequenas quantidades (0,05 mg/L) pela ação da radiação ultravioleta do sol sobre o oxigênio. Uma pequena quantidade de

ozônio também é formada na troposfera como subproduto das reações fotoquímicas entre hidrocarbonetos, oxigênio e nitrogênio que são lançados por automóveis, indústrias, florestas e ação vulcânica. Porém, o gás produzido é muito instável e decompõe-se rapidamente no ar (Prestes, 2007).

Para a geração de ozônio, deve-se dividir primeiramente uma molécula de oxigênio diatômico. O oxigênio livre resultante da quebra da molécula de oxigênio pode reagir com outras moléculas de oxigênio para formar as moléculas de ozônio. Porém para quebrar a molécula de oxigênio uma grande quantidade de energia é requerida (Russel *et al.*, 1999; USEPA, 1999). O ozônio pode ser produzido por métodos fotoquímico e de descarga elétrica, além disso, ainda pode ser produzido por método térmico, radioquímico e eletroquímico (Kim *et al.*, 1999; Langlais *et al.*, 1991).

A molécula de ozônio possui o segundo maior potencial de oxidação entre os elementos químicos, sendo superada somente pela molécula de flúor ( $F_2$ ). Em condições normais de temperatura e pressão o ozônio é moderadamente solúvel em água: 13 vezes mais solúvel que o  $O_2$ . É facilmente detectável em concentrações muito baixas, na faixa de 0,01 a 0,05  $mg L^{-1}$  (Rice & Netzer, 1982).

O ozônio é instável à pressão e temperatura ambiente com uma meia vida de cerca de 15 minutos e é decomposto a  $O_2$  a temperaturas superiores que  $35^\circ C$  (Adaskaveg *et al.*, 2002). Em solução aquosa apresenta meia-vida que varia de 20 a 30 minutos em água destilada a  $20^\circ C$  (Silva *et al.*, 2011).

A ação germicida do ozônio foi evidenciada na França, no final do século XIX, quando este gás começou a ser utilizado como desinfetante no tratamento de água (Lapoli *et al.*, 2003; Rice *et al.*, 1981). Atualmente, utiliza-se essa tecnologia para outros fins, como tratamento de água de piscinas, para a sanitização de galões de água, de superfícies de alimentos, de plantas e de equipamentos de processamento de alimentos, para desinfecção de

carcaças, na conservação de frutas e verduras, e no controle de insetos praga de grãos armazenados (Alencar, 2007).

O ozônio é um poderoso agente oxidante, eficaz na inativação de bactérias, fungos, vírus, protozoários, inclusive formas esporuladas e cistos de protozoários, (Souza, 2006; Lapolli *et al.*, 2003; USEPA, 1999).

Cada microrganismo apresenta sensibilidade inerente ao ozônio, de tal forma que as bactérias são mais sensíveis que os fungos e leveduras, bactérias gram-negativas são mais sensíveis que as gram-positivas, e os esporos são mais resistentes que as células vegetativas (Pascual *et al.*, 2007). Fatores fisiológicos e ambientais também exercem influencia no grau de inativação dos microrganismos. A sensibilidade ao ozônio varia de acordo com o pH do meio, a temperatura, a umidade, aditivos (por exemplo, ácidos, agentes tensoativos, e açúcares), e com a quantidade de matéria orgânica em torno das células (Pirani, 2011).

A inativação dos microrganismos pelo ozônio é um processo complexo porque o ozônio interage com numerosos componentes celulares, incluindo proteínas, lipídios insaturados e enzimas respiratórias nas membranas celulares, os peptídioglicanos dos envelopes celulares, enzimas e ácidos nucleicos no citoplasma e proteínas (Pirani, 2011). O ozônio atua inicialmente na membrana celular, sendo a superfície da célula microbiana o primeiro alvo a ser atingido. Sua ação antimicrobiana é decorrente da oxidação de glicolipídeos, glicoproteínas e aminoácidos da parede celular, alterando a permeabilidade e causando sua rápida lise. O ozônio ataca também grupos sulfidríla de enzimas, ocasionando o colapso da atividade enzimática celular. Além disso, sua ação sobre o material nuclear dos microrganismos altera as bases púricas e pirimídicas dos ácidos nucleicos, como ocorre com alguns vírus, onde o ozônio destrói seu RNA além de alterar as cadeias polipeptídicas do cápsideo protéico (Silveira, 2004; Hunt & Mariñas, 1999).

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Isolado de *Curtobacterium flaccumefaciens* pv. *flaccumefaciens*

O isolado de *Curtobacterium flaccumefaciens* pv. *flaccumefaciens* (*Cff*) foi obtido através de amostras de plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivar Pérola, coletadas na região de Alto Paraíso - GO e depositado na Coleção de bactérias Fitopatogênicas do Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília, sob o número UnB 1376.

Para isolamento da bactéria, hastes das plantas coletadas foram submetidas ao processo de desinfecção superficial, que consiste da limpeza com papel toalha embebida com etanol 70% seguido de uma flambagem. Após este processo de desinfecção, as hastes foram cortadas deixando o câmbio vascular exposto para obtenção do material.

Em lâminas de vidro, esterilizadas, juntamente com água destilada e estéril, pequenos fragmentos foram macerados com bastão de vidro e a suspensão obtida foi transferida com uma alça flambada, para placa de Petri contendo meio de cultura 523 (Kado & Heskett, 1970), e diluído em estrias por esgotamento.

As placas foram incubadas a 28°C, por 72 horas e foi observada a presença ou não de colônias típicas de *Cff*. As colônias suspeitas foram multiplicadas em meio de cultura 523 (Kado & Heskett, 1970). Após o desenvolvimento das colônias bacterianas, procederam-se testes de coloração diferencial de Gram e hidróxido de potássio (KOH 3%), para que houvesse a confirmação da identidade do microrganismo isolado.

O isolado de *Cff* foi cultivado em meio de cultura 523 (Kado & Heskett, 1970) e mantido a temperatura de 28 °C. Para manutenção de sua viabilidade foram realizadas repicagens periódicas durante o desenvolvimento do trabalho. Para preservação, células bacterianas concentradas foram adicionadas em frascos contendo 10 ml de água destilada e estéril. Os frascos foram tampados, agitados, vedados com filme PVC e armazenados a temperatura ambiente.

## **2.2. Patogenicidade e reação de hipersensibilidade do isolado de *Cff***

Sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivar Pérola, sabidamente sadias (básicas) foram inoculadas com o isolado UnB 1376, de modo semelhante ao descrito por Estefani, 2004. As sementes foram colocadas dentro de um Becker estéril e cobertas com suspensão bacteriana com concentração ajustada para  $10^8$  UFC/mL ( $A_{550} = 0,2$ ). Após 30 minutos, a suspensão foi descartada e as sementes colocadas para secar a temperatura ambiente, por aproximadamente 48 horas, dentro de caixas plásticas do tipo “gerbox” forradas com papel toalha.

Após a inoculação, trinta e seis sementes foram semeadas em vasos, os quais continham o volume de aproximadamente de 3,0 L de solo previamente autoclavado. As plantas desenvolveram-se em condições de casa de vegetação. Como testemunha, foram semeadas sementes comprovadamente sadias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis repetições. Cada parcela foi constituída de um vaso com seis sementes.

A avaliação foi realizada 30 dias após a semeadura, quando foram observadas plantas com sintomas da doença.

Para determinação da reação de hipersensibilidade, também foi preparado uma suspensão na mesma concentração usada no teste de patogenicidade e em seguida infiltrada por pressão, com auxílio de uma seringa hipodérmica estéril, nos espaços intercelulares na face abaxial das folhas de fumo. Folhas infiltradas somente com água destilada estéril foram utilizadas como testemunha. As plantas foram mantidas em laboratório e as avaliações foram realizadas 24 e 48 horas após a infiltração.

### 2.3. Sensibilidade “*in vitro*” de *Cff* a diferentes produtos fitossanitários

O experimento foi realizado no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília.

Sete produtos fitossanitários foram selecionados para avaliação da sensibilidade “*in vitro*” do isolado UnB 1376 de *Cff* (Tabela 2.1).

**Tabela 2.1.** Produtos fitossanitários selecionados para avaliação da sensibilidade *in vitro*, do isolado UnB 1376 de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

Princípio Ativo	Grupo Químico	Classe	Marca ®	Formulação <sup>(1)</sup>	Modo de Ação	Concentração g/Kg-L <sup>(2)</sup>
Hidróxido de Cobre	Inorgânico	Bactericida/Fungicida	Kocide	WG	Contato	350 <sup>(3)</sup>
Oxicloreto de Cobre	Inorgânico	Bactericida/Fungicida	Cuprocarb 350	WP	Contato	350 <sup>(3)</sup>
Óxido Cuproso	Inorgânico	Bactericida/Fungicida	Cobre Atar	WP	Contato	500 <sup>(3)</sup>
Sulfato de Cobre	Inorgânico	Bactericida/Fungicida	Cupro-dimy	WP	Contato	200 <sup>(3)</sup>
Casugamicina	Antibiótico	Bactericida/Fungicida	Kasumin	SL	Sistêmico	20
Cloretos de benzalcônio	Amônio Quaternário	Bactericida/Fungicida	Fegatex	SL	Contato	100
Ácido Peracético	Peróxido Orgânico	Bactericida/Fungicida	Peracetic	SL	Contato	170

<sup>(1)</sup> WG – Granulado Dispersível; WP – Pó Molhável; SL – Concentrado Solúvel.

<sup>(2)</sup> Concentração do ingrediente ativo g/Kg ou L do produto comercial.

<sup>(3)</sup> Equivalente em Cobre Metálico.

Para realização dos testes de sensibilidade foi preparada uma suspensão bacteriana. A suspensão bacteriana foi preparada a partir de células crescidas em meio 523 (Kado & Heskett, 1970), por 72 horas a temperatura de 28 °C. Após o crescimento das células, as mesmas foram colhidas do meio de cultura e colocadas em tubos de ensaio contendo 10 ml de água destilada e esterilizada. A concentração obtida foi de aproximadamente 10<sup>8</sup> UFC/mL ajustada em espectrofotômetro ( $A_{550} = 0,2$ ). Em seguida, a suspensão foi diluída em série até a 10<sup>-5</sup>.



### 2.3.1. Sensibilidade “*in vitro*” de *Cff* ao cobre

Nos os testes de sensibilidade “*in vitro*” ao cobre foi utilizado o meio CYE-glycerol (casitone yeast extract-glycerol) (Zevenhuizen *et al.*, 1979), contendo 1,7 g/L de casitona; 0,35 g/L de extrato de levedura; 2,0 g/L de glicerol e 15 g/L de ágar, que possui baixa capacidade de complexar íons de cobre.

Foram utilizados quatro ingredientes ativos: hidróxido de cobre, oxiclreto de cobre, óxido cuproso e sulfato de cobre. Cada produto foi adicionado ao meio de cultura CYE-glycerol, após autoclavagem e quando este atingiu temperatura média de 50°C, de modo se obter concentrações de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 100 e 200 µg/mL de cobre metálico. Para isto foi preparadas uma solução estoque na concentração de  $2 \times 10^4$  µg/mL, a qual foi adicionada ao meio assepticamente em determinado volume para obtenção da concentração desejada (Tabela 2.2). Cada frasco tipo Erlenmeyer contendo o meio de cultura foi agitado manualmente para que o produto se misturasse por igual e em seguida o meio foi vertido em cinco placas de Petri estéreis. Como testemunha, foi vertido meio de cultura sem adição de produto.

Após solidificação do meio de cultura uma alíquota de 50 µL da suspensão bacteriana e diluída a  $10^{-5}$ , foi depositada e espalhada, com auxílio de uma alça de Drigalski flambada, sobre o meio CYE-glycerol contendo cobre nas concentrações desejadas. Após o plaqueamento, as placas foram incubadas a 28 °C. Para cada concentração foram realizadas cinco repetições, sendo cada repetição representado por uma placa.

A avaliação foi realizada após 48 horas de incubação, através da contagem de colônias, expressas em unidade formadora de colônia (UFC) de cada placa. Em seguida foi calculado a média entre as cinco placas e os dados transformados em UFC/mL.

O ingrediente ativo que em menor concentração não permitiu o crescimento bacteriano foi selecionado para o tratamento das sementes.

**Tabela 2.2.** Volume de solução estoque necessário para obtenção da concentração de cobre metálico desejada, em meio de cultura.

Concentração de cobre metálico desejada ( $\mu\text{g/mL}$ )	Volume de solução estoque adicionado ao meio de cultura (mL)	Volume inicial do meio de cultura (mL)	Volume final do meio de cultura (mL)
0	0	100	100
10	0,05	99,95	100
20	0,10	99,90	100
30	0,15	99,85	100
40	0,20	99,80	100
50	0,25	99,75	100
100	0,5	99,50	100
200	1,0	99,00	100

### 2.3.2. Sensibilidade “*in vitro*” de *Cff* a casugamicina

A casugamicina foi adicionada ao meio de cultura 523 (Kado & Heskett, 1970), após autoclavagem, quando este atingiu a temperatura média de 50 °C, de modo a se obter concentrações de 0, 1, 5, 10, 20, 25, 50, 100 e 200  $\mu\text{g/mL}$  do ingrediente ativo. Após a adição, os procedimentos foram os mesmos citados no item 2.3.1. A menor concentração que não permitiu o crescimento bacteriano foi selecionada para o tratamento das sementes.

### 2.3.3. Sensibilidade “*in vitro*” de *Cff* aos cloretos de benzalcônio

Os cloretos de benzalcônio foram adicionados ao meio de cultura 523 (Kado & Heskett, 1970), após autoclavagem, quando este atingiu a temperatura média de 50 °C, de modo a se obter concentrações de 0, 20, 40, 60, 80, 100 e 200  $\mu\text{g/mL}$  do princípio ativo. Após a adição, os procedimentos foram os mesmos citados no item 2.3.1. A menor concentração que não permitiu o crescimento bacteriano foi selecionada para o tratamento das sementes.

#### **2.3.4. Sensibilidade “*in vitro*” de *Cff* ao ácido peracético**

O ácido peracético foi adicionado ao meio de cultura 523 (Kado & Heskett, 1970), após autoclavagem, quando este atingiu a temperatura média de 50 °C, de modo a se obter concentrações de 0, 100, 200, 300, 400, 500, 1000, 1500 e 2000 µg/mL do princípio ativo. Após a adição, os procedimentos foram os mesmos citados no item 2.3.1. A menor concentração que não permitiu o crescimento bacteriano foi selecionada para o tratamento das sementes.

#### **2.4. Avaliação do efeito diferentes tratamentos de semente na erradicação de *Cff***

O experimento foi realizado no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília.

Utilizaram-se sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivar Pérola, sabidamente sadias (semente básica). As sementes foram inoculadas por imersão em suspensão bacteriana. Para preparo da suspensão foi utilizado isolado UnB 1376 de *Cff*.

Foram comparados os tratamentos de sementes: imersão em solução com os produtos fitossanitários nas concentrações selecionadas nos testes “*in vitro*”; exposição a vapor de etanol e metanol; ozonização. Como testemunha utilizou-se sementes inoculadas e não tratadas. Para cada tratamento foram utilizadas 200 sementes. Após os tratamentos as sementes foram armazenadas em temperatura ambiente em envelopes de papel devidamente identificados até o momento da avaliação da incidência e quantificação de *Cff*.

##### **2.4.1. Inoculação das sementes**

Para inoculação empregou-se a metodologia semelhante ao descrito por Estefani, 2004. As sementes foram colocadas dentro de um Becker estéril e cobertas com suspensão bacteriana com concentração ajustada para  $10^8$  UFC/mL ( $A_{550} = 0,2$ ). Após 30 minutos, a

suspensão foi descartada e as sementes colocadas para secar a temperatura ambiente, por aproximadamente 48 horas, dentro de caixas plásticas do tipo “gerbox” forradas com papel toalha.

Após a inoculação foi realizado um teste para avaliar a existência de colonização interna das sementes pela bactéria. Para tal, foi utilizada metodologia semelhante à descrita por Deuner, 2007. Foi selecionada uma amostra de 90 sementes inoculadas. Essas sementes foram divididas em duas subamostras, nas quais metade das sementes foi submetida à desinfestação superficial e a outra metade não. As sementes com desinfestação superficial foram imersas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl 0,5%) durante 2 minutos e em seguida, lavadas três vezes em água destilada esterilizada. Posteriormente, sementes, com e sem desinfestação superficial, foram colocadas individualmente em tubos de ensaio com 9 mL de água destilada esterilizada e incubadas em câmara fria por 18 horas à temperatura de 5°C. Decorrido esse tempo, alíquotas de 100 µL de cada suspensão foram depositadas e espalhadas, com auxílio de uma alça de Drigalski flambada em meio de cultura 523 (Kado & Heskett, 1970). Para cada suspensão foram realizadas três repetições, de uma placa cada, perfazendo um total de 135 placas por subamostra. Em seguida as placas foram incubadas a 28 °C por 72 horas e posteriormente contou-se o número de colônias.

#### **2.4.2. Tratamento de sementes de feijão com os produtos fitossanitários**

As sementes foram colocadas em um Becker de vidro e cobertas com solução dos produtos nas concentrações selecionadas “*in vitro*”. Foi utilizado um volume de solução duas vezes maior que o volume de sementes. Estas permaneceram imersas na solução por 15 minutos. Em seguida a solução foi descartada e as sementes colocadas para secar dentro de caixas tipo “gerbox” forradas com papel toalha por 48 horas.

### **2.4.3. Tratamento de sementes de feijão com vapores de etanol e metanol**

As amostras de sementes foram tratadas mediante exposição a vapor de etanol (96° GL) e metanol (99,8° GL). Para tal foi adaptado um recipiente plástico como compartimento individual, contendo 20 mL de etanol ou metanol (0,05 de álcool/mL recipiente). As sementes foram distribuídas sobre um suporte, com pequenos orifícios em sua superfície e suspenso internamente ao recipiente, formando uma camada única, tomando toda a superfície do suporte, independentemente do número e do peso das sementes. O recipiente foi vedado com filme PVC e mantido a 28 °C em câmara tipo B.O.D. (Biologic Oxygen Demand). As sementes permaneceram expostas ao vapor de álcool durante período de uma hora.

### **2.4.4. Tratamento de sementes de feijão com ozônio**

O processo de ozonização das sementes de feijão foi realizado no Laboratório de Pré-Processamento e Armazenamento da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, na Universidade de Brasília.

O gás ozônio foi obtido por meio de um gerador de ozônio (Modelo O&L 3.0-O2 RM, da Ozone & Life®) baseado no método de Descarga por Barreira Dielétrica. Este tipo de descarga é produzido ao aplicar uma alta tensão entre dois eletrodos paralelos, tendo entre eles um dielétrico (vidro) e um espaço livre por onde flui o ar seco. No espaço livre, é produzida uma descarga em forma de filamentos, em que são gerados elétrons com energia suficiente para produzir a quebra das moléculas de oxigênio, formando o ozônio (O<sub>3</sub>). No processo de geração do ozônio, foi utilizado como insumo oxigênio (O<sub>2</sub>), obtido de concentrador de oxigênio acoplado ao gerador de ozônio.

A concentração de ozônio foi determinada pelo método iodométrico, descrito por Clescerl *et al.*, (2000). Esse método consiste no borbulhamento de massa gasosa contendo ozônio em 50 mL de solução de iodeto de potássio (KI) 1 N, com produção de iodo (I<sub>2</sub>). Para

garantir o deslocamento da reação para a produção de  $I_2$ , foi necessário acidificar o meio com 2,5 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) 1 N, depois do borbulhamento. A solução foi titulada com tiosulfato de sódio ( $Na_2S_2O_3$ ) 0,01 N, com uso de solução de amido 1% como indicador.

Cada amostra de semente foi transferida para uma coluna de vidro, com capacidade de 500 mL, tendo 19 cm de altura e 6 cm de diâmetro, e posteriormente foi adicionado 200 mL de água destilada e esterilizada. As colunas de vidro foram conectadas ao aparelho gerador de ozônio por meio de mangueiras de silicone. Instalou-se destruidor térmico catalítico depois da coluna de ozonização, necessária para decomposição do ozônio residual. Antes da ozonização das amostras, a coluna de vidro era sanitizada, com borbulhamento do próprio gás ozônio em água, por 5 minutos.

No processo de ozonização, adotou-se concentração de  $28,0 \text{ mg.L}^{-1}$ , com vazão do gás de  $1,0 \text{ L.min}^{-1}$ , na temperatura de  $25^\circ\text{C}$ , por 15 minutos.

#### **2.4.5. Avaliação da porcentagem de sementes contaminadas, quantificação de *Cff* e eficiência dos tratamentos de sementes**

Para avaliação da incidência de sementes contaminadas e quantificação de *Cff*, tomaram-se amostras de 45 sementes para cada um dos sete tratamentos de sementes mais a testemunha, representada pelas sementes inoculadas e sem tratamento. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com três repetições de 15 sementes.

As amostras foram submetidas ao processo de extração, onde as sementes são imersas em água. As sementes de cada tratamento foram colocadas individualmente em tubos de ensaio com 9 mL de água destilada esterilizada e incubadas em câmara fria por 18 horas à temperatura de  $5^\circ\text{C}$ . Decorrido esse tempo, foi distribuído alíquotas de  $100\mu\text{L}$  por placa, contendo meio de cultura 523 (Kado & Heskett, 1970), com três placas por suspensão,

totalizando 45 placas por repetição. Em seguida as placas foram incubadas a 28 °C por 72 horas.

A avaliação da porcentagem de sementes contaminadas foi feita observando-se a ausência ou presença de colônias típicas de *Cff* nas três placas. A semente foi considerada infectada quando apresentou, em pelo menos uma placa, uma colônia de *Cff*. Para quantificação de *Cff*, procedeu-se a contagem do número de colônias por placa, onde o valor de cada repetição foi obtido pela média do número de colônias nas 45 placas. Os resultados foram expressos em UFC/100µL e posteriormente transformados em UFC/mL e UFC/semente. Calculou-se, ainda, a eficiência dos tratamentos de semente em porcentagem (E%), por meio da relação entre a recuperação da bactéria, expressa em UFC a partir das amostras dos respectivos tratamentos e a amostra das sementes apenas inoculadas:  $E\% = (1 - (\text{UFC Tratamento}/\text{UFC Sem Tratamento})) \times 100$ .

#### **2.4.6. Análises Estatísticas**

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando o programa SISVAR, versão 5.3 (Ferreira, 2008). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, de acordo com Banzatto & Kronka, 2006.

### **2.5. Experimento de Campo**

O experimento foi conduzido na Fazenda Piau, localizada no município de Unaí, MG, situada a 16°42'12" de latitude S e 49°44'51" de latitude W, com altitude de 616 m, entre os dias 5 e 18 de dezembro de 2013. Segundo Köppen-Geiger o clima local é classificado como Aw, tropical com inverno seco.

O solo do local é da classe Latossolo Vermelho Distrófico (Embrapa, 1999) cuja composição granulométrica na profundidade de 0 a 0,20 m, é de 9% de areia, 28% de silte e

63% de argila. Os atributos químicos do solo, na mesma camada, antes da instalação do experimento, encontram-se na Tabela 2.3.

De acordo com os resultados da análise química do solo, realizou-se o cálculo da necessidade de calagem, empregando-se o método de elevação da saturação por bases.

O preparo de solo foi realizado através de duas gradagens pesadas e duas leves, sendo que a calagem foi realizada com a aplicação de 5000 kg ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico três meses antes da implantação do experimento.

**Tabela 2.3.** Atributos químicos na camada de 0 a 0,20 m do Latossolo Vermelho Distrófico da área experimental antes da instalação do ensaio, em Unaí – MG.

pH (H <sub>2</sub> O)	P	K	S	Ca	Mg	Al	H+Al	M.O	B	Zn	Fe	Mn	Cu
	---- mg.dm <sup>-3</sup> ----			----- cmol.c.dm <sup>-3</sup> -----				-- % --	----- mg.dm <sup>-3</sup> -----				
4,8	1,6	103	4,7	0,8	0,7	1,4	8,9	4,4	0,3	1	46,6	49,5	0,6

Análise realizada no Laboratório de Fertilidade de Solo e Nutrição Vegetal da CAMPO, Análises Agrícolas e Ambientais, Paracatu – MG.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial 5x8, perfazendo 40 tratamentos, constituídos pela combinação de 5 tipos de amostras de sementes de feijão (semente básicas, com 10, 30 e 50% de sementes inoculadas e sementes naturalmente infectadas) e 8 tratamentos de sementes (cobre, casugamicina, cloretos de benzalcônio, ácido peracético, vapor de etanol, vapor de metanol, ozônio e sem tratamento (testemunha)). Todos os tratamentos tiveram quatro repetições.

As sementes de feijão utilizadas no experimento pertencem a cultivar Pérola. A amostra com sementes básicas foi representada por sementes comprovadamente sadias (sem presença de *Cff*), as quais também foram empregadas na mistura para a obtenção dos lotes com diferentes proporções de sementes inoculadas.

A inoculação das sementes foi realizada pelo método da imersão em suspensão bacterina, de acordo com o item 2.4.1.



Os tratamentos de sementes foram realizados da mesma forma supracitada (itens 2.4.2 ao 2.4.4).

As sementes naturalmente infectadas com *Cff* foram colhidas em uma lavoura comercial de feijão severamente atacada pela doença, localizada no município de Alto Paraíso, GO.

### **2.5.1. Avaliação da emergência e velocidade de emergência de plântulas.**

A emergência das plântulas em campo foi realizada com subamostras de 120 sementes para cada tratamento e repetição. As parcelas foram constituídas por quatro linhas de 2,0 m de comprimento espaçadas de 0,50 m com 15 sementes por metro linear, distribuídas manualmente, a uma profundidade de aproximadamente 3,0 cm.

Ao final do décimo segundo dia após a semeadura das sementes, quando não foi observada emergência de novas plântulas, avaliou-se a porcentagem de plântulas normais.

A velocidade de emergência campo foi conduzida em conjunto com o teste de emergência. As contagens do número de plântulas emergidas, ou seja, com os cotilédones completamente acima do nível do solo, foram realizadas diariamente, sem que estas fossem descartadas, obtendo-se, portanto, um valor cumulativo. Dessa maneira, o número de plântulas emergidas referentes a cada contagem foi obtido subtraindo-se do valor lido com o valor referente à leitura do dia anterior. Dessa forma, com o número de plântulas emergidas referentes a cada leitura, foi calculado o índice de velocidade de emergência (IVE) de acordo com (Maguire, 1962), empregando-se a seguinte fórmula:

$$\text{IVE} = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_n}{N_n}, \text{ em que:}$$

IVE = Índice de velocidade de emergência; G = número de plântulas emergidas observadas em cada contagem; N = número de dias da semeadura a cada contagem.

Os dados climatológicos, referentes ao período de avaliação dos testes, estão apresentados na Tabela 2.4.

**Tabela 2.4.** Temperaturas máxima, mínima e compensada média, precipitação pluvial e umidade relativa do ar observadas entre os dias 5 e 12 de dezembro de 2013, em Unaí, Estado de Minas Gerais, na condução dos testes de emergência das plântulas e índice de velocidade de emergência em campo.

Dia/mês	Temperatura			Precipitação pluvial (mm)	Umidade relativa (%)
	Máxima (°C)	Mínima (°C)	Compensada média (°C)		
05/12	36,3	22,5	27,64	0	66,5
06/12	30,1	20,7	24,64	26,6	82,5
07/12	31,1	20,7	24,16	3,4	83,75
08/12	30,1	20,3	24,64	8,8	73,5
09/12	31,1	21,7	24,84	0,5	80,00
10/12	31,3	21,7	25,16	5,6	78,25
11/12	31,9	21,9	26,08	1,3	82,5
12/12	32,3	22,1	25,28	6,8	79,00
13/12	28,9	20,1	24,08	15,4	88,25
14/12	30,3	21,3	24,8	10,4	86,25
15/12	30,3	21,7	25,2	14,6	86,75
16/12	30,9	20,9	24,6	28,1	86,5
17/12	32,3	22,1	25,28	29,2	76,00
18/12	31,7	22,3	25,16	0	77,75

Fonte: Estação Meteorológica de Unaí – MG, INMET.

### **2.5.2. Análises estatísticas**

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando o programa SISVAR, versão 5.3 (Ferreira, 2008). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, de acordo com Banzatto & Kronka, 2006.

### **2.6. Experimento em Casa de Vegetação**

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação da Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, localizada em Brasília, DF, 15°44'5" de latitude S e 47°53'1" de longitude W.

O experimento teve início com a semeadura no dia 17/04/2014 e o fim com a colheita no dia 17/07/2014, totalizando um ciclo de 90 dias. Durante a condução do experimento foi mantido um termohigrógrafo (Data Logger®) o qual registrou temperatura variando de 15 °C a 36 °C e umidade relativa de 34% a 98%.

Foram utilizadas sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivar Pérola, comprovadamente sadias (sementes básicas). Para inoculação das sementes, foi utilizado o método de imersão em suspensão bacteriana supracitado no item 2.4.1.

Os tratamentos de sementes foram realizados da mesma forma descrita anteriormente (itens: 2.4.2 ao 2.4.4).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial 2x8, perfazendo 16 tratamentos, constituídos pela combinação de 2 amostras de sementes de feijão (sementes básicas e sementes inoculadas) e 8 tratamentos de sementes (cobre, casugamicina, cloretos de benzalcônio, ácido peracético, vapor de etanol, vapor de metanol, ozônio e sem tratamento (testemunha)). Cada parcela foi constituída por quatro vasos com seis sementes cada, totalizando vinte e quatro sementes por repetição. Todos os tratamentos tiveram quatro repetições.

As sementes foram plantadas em vasos, contendo o volume de aproximado 3,0L de substrato previamente autoclavado. O substrato foi composto por Latossolo Vermelho enriquecido com adubo formulado (NPK 4-14-8, 0,5 Kg.m<sup>-3</sup>). A profundidade de semeadura foi de aproximadamente 3,0 cm.

Aos quinze dias após a semeadura (15 DAS) realizou-se o desbaste deixando três plantas por vaso, perfazendo um total de doze plantas por parcela.

Irrigações foram realizadas de acordo com a necessidade hídrica da cultura. Aplicações alternadas com imidacloprido e tiametoxan foram realizadas visando o controle da mosca branca (*Bemisia tabaci* Genn.).

As avaliações realizadas foram: emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas, desenvolvimento vegetativo, incidência e severidade da Murcha de *Curtobacterium* e produção de grãos.

### **2.6.1. Avaliação da emergência e velocidade de emergência de plântulas**

A avaliação emergência de plântulas em casa de vegetação foi realizada com amostras de 24 sementes para cada tratamento e repetição, distribuídas igualmente em quatro repetições.

Ao final do décimo segundo dia após a semeadura das sementes, quando não foi observada emergência de novas plântulas, avaliou-se a porcentagem de plântulas normais. A velocidade de emergência campo foi conduzida em conjunto com o teste de emergência, contabilizando, do 5º ao 12º dias após a semeadura o número de plântulas que apresentavam os cotilédones acima da superfície do solo. Ao final do teste foi calculado o IVE, empregando-se a fórmula proposta por Maguire (1962).

### **2.6.2. Avaliação do Desenvolvimento Vegetativo**

O desenvolvimento vegetativo do feijoeiro foi avaliado determinando-se o peso de matéria verde de parte aérea, número de trifólios e altura da planta.

Para avaliação do peso de matéria verde, quatro plantas por parcela, oriundas do desbaste realizado aos quinze dias após a semeadura, foram selecionadas ao acaso. As plantas foram colocadas em sacos plásticos e levadas ao laboratório, onde foram pesadas em balança com precisão de 0,01g. Os dados foram expressos em g.planta<sup>-1</sup>.

As avaliações do número de trifólios e a altura da planta foram realizadas aos vinte e oito dias após a semeadura (28 DAS). Para o número de trifólios foi contabilizado, nas 12 plantas de cada parcela, o total de folhas trifolioladas completamente expandidas.

A altura de planta foi medida com auxílio de uma régua graduada em centímetros, medindo-se a partir do nível do solo no vaso até o quarto nó da haste principal. Foram medidas as 12 plantas de cada parcela.

### **2.6.3. Avaliação da incidência e severidade da Murcha de *Curtobacterium***

As avaliações de incidência e severidade da Murcha de *Curtobacterium* foram realizadas aos 30, 45 e 60 dias após a semeadura. A incidência da doença foi avaliada contando-se o número de plantas com sintomas típicos causados por *Cff* em cada parcela. Os sintomas da doença foram avaliados em todas as plantas de cada parcela, com o emprego de uma escala de notas que variaram de 0 a 9, conforme Maringoni, 2000, onde: 0 = sem sintomas da doença; 1 = sintomas de clorose nas folhas; 3 = poucas folhas murchas (1 a 3 folhas, menos de 10% das folhas da planta); 5 = aproximadamente 25% de folhas apresentam murchas e amarelecimento; 7 = aproximadamente 50% de folhas murchas, amarelecimento e necrose de folíolos, plantas com nanismo; 9 = aproximadamente 75% ou mais de folhas com

murcha e/ ou necrose, queda prematura de folhas, nanismo severo e/ou morte da planta. A severidade para cada tratamento foi obtida pela média dos valores obtidos nas parcelas.

A partir dos valores de severidade obtidos, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da Murcha de *Curtobacterium* para cada tratamento, de acordo com a fórmula:

$$AACPMC = \Sigma \{[(Y1+Y2)/2]*\Delta t\}$$

onde Y1 e Y2 corresponderam aos valores de severidade para duas avaliações sucessivas dentro da mesma parcela e  $\Delta t$ , o intervalo de tempo entre elas.

Para análises dos dados de incidência, severidade e AACPMC foi considerado o delineamento experimental blocos ao acaso sem arranjo fatorial, pois as plantas oriundas de sementes não inoculadas com *Cff* não apresentaram sintomas característicos da doença. Correspondendo assim a oito tratamentos, sendo a testemunha representada pelas plantas oriundas de sementes inoculadas sem tratamento de sementes.

#### **2.6.4. Avaliação da produção**

A colheita foi realizada, quando todas as plantas do experimento atingiram o estágio fenológico R9, no dia 17/07/2014. As vagens presentes em cada parcela foram colhidas manualmente e colocadas em sacos plásticos devidamente identificados.

Após a colheita as vagens foram levadas ao laboratório para contagem e debulha. Em seguida, foram avaliados os seguintes parâmetros produtivos: número de vagens por parcela (NVT), número de grãos por parcela (NGT), número de grãos por vagem (NGV), número de grãos abortados por vagem (NAV), porcentagem de grãos abortados (PSA), peso de grãos por parcela (PGT), e número de grãos por grama (NGG).

### **2.6.5. Análises estatísticas**

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando o programa SISVAR, versão 5.3 (Ferreira, 2008). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, de acordo com Banzatto & Kronka, 2006.

### **2.7. Taxa de transmissão planta - semente**

Para determinar a taxa de transmissão de *Cff* das plantas para as sementes, foi selecionada uma amostra de 80 sementes, provenientes das parcelas com plantas oriundas de sementes inoculadas e não tratadas. Posteriormente a amostra foi subdividida em quatro subamostras de 20 sementes cada.

Para a extração da bactéria, cada semente foi individualmente embrulhada em papel alumínio previamente autoclavado e triturada com auxílio de um alicate tipo “universal”. Os fragmentos de cada semente foram imersos em tubo de ensaio contendo 9 mL de água destilada esterilizada. Os tubos foram fechados com tampões de algodão, incubados a 5 °C por 18 h e, posteriormente, agitados manualmente. Decorrido esse tempo, retirou-se uma alíquota de 100 µL a qual foi depositada e espalhada, com auxílio de uma alça de Drigalski flambada, sobre o meio 523 (Kado & Heskett, 1970).

Para cada suspensão obtida foram realizadas três repetições, de uma placa cada, perfazendo um total de 60 placas por subamostra. As placas foram incubadas a 28 °C, por 72 h e foi observada a presença ou não de colônias típicas de *Cff*. Para confirmação da identidade do microrganismo isolado, foi realizado teste de coloração de Gram e hidróxido de potássio (KOH 3%).

A semente foi considerada infectada quando apresentou em pelo menos uma placa uma colônia de *Cff*. O resultado final foi expresso em porcentagem, obtido a partir da média das quatro subamostras.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. Isolado de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff)**

A partir dos isolamentos em meio de cultura 523 (Kado & Heskett, 1970), obteve-se colônias de formato circular, bordos lisos, aspecto brilhante, levemente convexas, amarelas a bege opaco. As características apresentadas pela bactéria reisolada foram: células em forma de bastonete, Gram positiva e não solúvel em KOH a 3 %.

#### **3.2. Patogenicidade e reação de hipersensibilidade do isolado de Cff**

O isolado UnB 1376 foi patogênico as plantas de feijoeiro, induzindo sintomas característicos da doença como murcha, flacidez, amarelecimento das folhas, queima ou encarquilhamento do bordo foliar, escurecimento vascular e nanismo. A reação de hipersensibilidade em folhas de fumo foram todas positivas.

#### **3.3. Sensibilidade “*in vitro*” de Cff a diferentes produtos fitossanitários**

Todos os produtos utilizados neste estudo reduziram o número de colônias bacterianas com o aumento da concentração do produto em meio de cultura, quando comparado à testemunha.

Para os produtos cúpricos, as concentrações de cobre metálico que inibiram o crescimento de Cff variaram de 20 a 50 µg/ml (Tabela 3.1). Os princípios ativos sulfato de cobre e óxido cuproso foram os que inibiram o crescimento da bactéria em menor concentração (20 µg/ml) e o oxiclreto de cobre em maior concentração (50 µg/ml).

As células procariontes e eucariontes requerem cobre para seu crescimento normal, pois é constituinte de diversas enzimas, tais como as oxigenases e as envolvidas no transporte de elétrons, ambas envolvidas na respiração. Mas em determinadas concentrações, o cobre



têm a habilidade de gerar radicais livres capazes de danificar o DNA e membranas lipídicas, sendo tóxico às células (Valoudakis *et al.*, 2005).

Uesugi *et al.* (2005) avaliando a sensibilidade “*in vitro*” de cinco isolados de *Cff* ao cobre, verificaram que ao utilizar sulfato de cobre os isolados cresceram até a concentração de 400 µg/mL em meio de cultura 523 e 40 µg/mL em meio MMCC, com exceção para um isolado (UnB 1284) que cresceu até 100 e 20 µg/mL em meio 523 e MMCC respectivamente, utilizando oxiclreto de cobre houve crescimento até 500 µg/mL no meio 523 e até 50 µg/mL no MMCC. Já para hidróxido de cobre, houve crescimento até 800 µg/mL no meio 523 e no meio MMCC até 100 µg/mL. O sulfato de cobre mostrou melhor eficiência na inibição do crescimento bacteriano, fato também observado no presente estudo.

Costa *et al.* (2012) caracterizaram 44 isolados de *Xanthomonas* spp., causadores da mancha bacteriana do tomateiro para consumo *in natura*, provenientes da região do Alto Vale do Rio do Peixe, SC, Brasil, quanto a sensibilidade ao cobre utilizando o meio CYE-glycerol suplementado com sulfato de cobre nas concentrações de 50, 100 e 200 µg/mL e verificaram que 98% de todos os isolados foram sensíveis a 200 µg/mL, sugerindo que aparentemente, a dosagem recomendada de produtos à base de cobre em campo, 10 vezes maior que a dosagem limítrofe utilizada nos testes *in vitro*, ainda é eficiente para as diferentes espécies da bactéria.

Meneguín *et al.* (2007) determinando a sensibilidade ao cobre de 122 isolados *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (*Xac*), causador do cancro cítrico, utilizando o meio AN suplementado com sulfato de cobre nas concentrações 0, 1, 5, 10, 20, 50 e 100 µg/mL, observaram que a maior concentração de cobre em que foi observado crescimento de isolados de *Xac* foi de 50 µg/mL. Entretanto 45,5 % dos isolados da bactéria provenientes de pomares que receberam aplicações frequentes de cobre cresceram na presença de 50 µg/mL de cobre, contra apenas 13,4 % dos isolados oriundos de pomares que não receberam pulverizações regulares do bactericida.

Marques *et al.* (2009) avaliaram a sensibilidade ao cobre de estirpes de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, causador do cancro bacteriano em videira, coletadas em diferentes localidades, entre os anos de 1998 a 2006 e observaram variabilidade na sensibilidade ao oxiclureto de cobre e ao sulfato de cobre entre as 21 estirpes testadas, onde a concentração mínima inibitória variou entre 10 e 60 µg/mL de Cu<sup>2+</sup>, para os dois produtos. De forma geral foi observado pelos autores uma evolução no crescimento da tolerância ao cobre ao longo dos anos, com as estirpes brasileiras.

Diversos produtos cúpricos têm sido utilizados no controle de doenças bacterianas. O cobre atua na proteção do tecido vegetal contra infecção por bactérias e na redução da população bacteriana na superfície foliar. Entretanto, são necessárias várias aplicações de produtos para alcançar controle adequado de doenças bacterianas (Leite Júnior, 2000). No entanto o uso prolongado de bactericidas cúpricos para o controle de fitobacterioses pode também levar ao surgimento de linhagens da bactéria resistentes ao cobre. Resistência a cúpricos já foi reportada para bactérias fitopatogênicas dos gêneros *Pseudomonas* (Cooksey, 1990; Nakajima *et al.*, 2002 e Silva & Lopes, 1995) e *Xanthomonas* (Marco & Stall, 1983; Aguiar *et al.*, 2000 e Quezado – Duval *et al.*, 2003).

**Tabela 3.1.** Porcentagem do número médio de colônias de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* observado em meio CYE-glycerol contendo produtos cúpricos em diferentes concentrações em relação ao meio sem cobre. UnB, Brasília, DF, 2015.

Princípio Ativo	Concentração Cu <sup>++</sup> (µg/mL)						
	10	20	30	40	50	100	200
Hidróxido de Cobre	81	69	0	0	0	0	0
Oxicloreto de Cobre	98	42	12	4	0	0	0
Óxido Cuproso	73	0	0	0	0	0	0
Sulfato de Cobre	80	0	0	0	0	0	0

A casugamicina inibiu o crescimento de *Cff* a partir da concentração de 100 µg/mL do princípio ativo em meio de cultura (Tabela 3.2).

Taylor & Dudley (1977) estudando a atividade “*in vitro*” de casugamicina e estreptomicina contra dois isolados de *Pseudomonas phaseolicola* (= *P. savastanoi* pv. *phaseolicola*), observou que a partir da concentração de 100 µg/mL, de ambos princípios ativos, não houve crescimento bacteriano e presença de células viáveis em meio de cultura.

Mello *et al.* (2011) avaliando a sensibilidade “*in vitro*” de seis isolados de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* aos bactericidas Agri-Micina® (Pfizer®, oxitetraciclina, 1,5%; sulfato de estreptomicina, 15%), Kasumin® (Arysta Lifescience®, casugamicina 2,0%) e Mycoshield® (Pfizer®, oxitetraciclina, 20%), nas dosagens recomendadas para hortaliças, respectivamente 3,0 g, 2,0 mL e 3,0 g de produto comercial L<sup>-1</sup> de água, observaram que todos os isolados foram resistentes a casugamicina e sensíveis para os outros bactericidas.

**Tabela 3.2.** Número de colônias (UFC/mL) de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em meio de cultura 523 suplementado com casugamicina em diferentes concentrações. UnB, Brasília, DF, 2015.

Princípio Ativo	Concentração (µg/mL)								
	0	1	5	10	20	25	50	100	200
Casugamicina	1000	904	848	828	824	804	180	0	0

O princípio ativo constituído à base de cloretos de benzalcônio inibiu o crescimento de *Cff* a partir da concentração de 20 µg/mL em meio de cultura (Tabela 3.3).

Rezende (2006) avaliando a sensibilidade de cinco isolados de *Erwinia psidii* a diferentes formulações cúpricas e aos cloretos de benzalcônio, verificou que utilizando sulfato de cobre, os isolados cresceram até a concentração de 300 µg/mL em meio de cultura 523 e 30 µg/mL em meio MMCC, oxicloreto de cobre, houve crescimento até 300 µg/mL no meio

523 e até 50 µg/mL no MMCC, e hidróxido de cobre, observou crescimento até 400 µg/mL no meio 523 e no meio MMCC até 100 µg/mL. Já para os cloretos de benzalcônio, houve crescimento até 80 µg/mL, não havendo diferença entre os meios de cultura utilizados. Estes resultados mostraram que os cloretos de benzalcônio foram mais eficientes no controle de *E. psidii* “*in vitro*”, quando comparado aos produtos cúpricos.

Trabalho realizado por Abreu *et al.* (2008) com objetivo de avaliar o efeito “*in vitro*” de sanificantes no controle de fungos causadores de podridões pós colheita em pêssegos, os autores verificaram que os cloretos de benzalcônio e a biomassa cítrica, ambos na concentração de 1000 µL L<sup>-1</sup>, inibiram totalmente o crescimento radial (micelial) de *Monilinia fructicola*, porém nenhum deles foi eficiente no controle de *Rhizopus stolonifer*.

**Tabela 3.3.** Número de colônias (UFC/mL) de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em meio de cultura 523 suplementado com cloretos de benzalcônio em diferentes concentrações. UnB, Brasília, DF, 2015.

Princípio Ativo	Concentração (µg/mL)						
	0	20	40	60	80	100	200
Cloretos de benzalcônio	1184	0	0	0	0	0	0

O ácido paracético inibiu o crescimento de *Cff* a partir da concentração de 200 µg/mL do princípio ativo em meio de cultura (Tabela 3.4).

O ácido peracético, também chamado de peróxido de ácido acético ou ácido peroxiacético é um agente sanitizante que tem sido utilizado com bastante sucesso, principalmente nos EUA. É obtido pela reação do ácido acético ou anidrido acético com o peróxido de hidrogênio (Nascimento, 2002; Srebernich, 2007). Trata-se de um excelente sanitizante pela grande capacidade de oxidação dos componentes celulares dos microrganismos, tendo uma rápida ação a baixas concentrações sobre um amplo espectro de microrganismos. É esporicida em baixas temperaturas e continua efetivo na presença de

material orgânico sendo, portanto, um biocida efetivo sem residual tóxico. Sua ação biocida é influenciada pela concentração, temperatura e tipo de microrganismos (Block, 1991).

Frare (2010) avaliou a eficiência de 60 produtos fitossanitários comerciais mais o ácido peracético no controle “*in vitro*” de quatro isolados de *Acidovorax avenae* subsp. *citulli*. Os antibióticos casugamicina (100 e 200 µg/mL), oxitetraciclina (10, 100 e 200 µg/mL), oxitetraciclina+sulfato de cobre (10, 100 e 200 µg/mL), os fungicidas captana, carboxina + tiram, cloretos de benzalcônio, mancozebe + oxiclureto de cobre, metiram, metiram + piraclostrobina e tebuconazol, nas doses de 100 e 200 µg/mL e o ácido peracético a partir da dose de 300 µg/mL apresentaram resultados satisfatórios.

Não existem produtos registrados junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle da Murcha de *Curtobacterium* (AGROFIT, 2014). O controle químico para esta doença ainda não é uma opção presente, provavelmente devido a este fato o isolado de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, utilizado neste estudo, não apresentou resistência aos princípios ativos testados.

**Tabela 3.4.** Número de colônias (UFC/mL) de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em meio de cultura 523 suplementado com ácido peracético em diferentes concentrações. UnB, Brasília, DF, 2015.

Princípio Ativo	Concentração (µg/mL)								
	0	100	200	300	400	500	1000	1500	2000
Ácido Peracético	992	896	0	0	0	0	0	0	0

### 3.4. Efeito de diferentes tratamentos de sementes na erradicação de *Cff*

Após inoculação das sementes de feijão, em suspensão bacteriana durante 30 minutos, obteve-se 100% de sementes contaminadas, das quais, 82,22% com colonização interna (Tabela 3.5). Theodoro *et al.*, 2011, verificaram que após a inoculação de sementes de algodoeiro com *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* através da imersão em suspensão

bacteriana durante 3 horas, 100% das sementes foram infectadas, mas em campo não foi verificada transmissão da bactéria presente nas sementes para as plântulas.

Deunner (2007) utilizando a técnica de condicionamento fisiológico, expôs as sementes de feijão, por 48 horas, a *Cff* em meio de cultura 523 com restritor hídrico manitol no potencial hídrico de -0,95 MPa, obteve 100% de sementes contaminadas externamente e internamente. Este método de inoculação não afetou a germinação das sementes e possibilitou a transmissão da bactéria das sementes para as plântulas.

**Tabela 3.5.** Número e localização de colônias de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em sementes de feijão inoculadas por meio do método da imersão em suspensão bacteriana. UnB, Brasília, DF, 2015.

	Incidência (%)	Número de colônias
Interna <sup>1</sup>	82,22	76,84
Interna +Externa <sup>2</sup>	100	196,02

<sup>1</sup>Com desinfestação superficial; <sup>2</sup>Sem desinfestação superficial.

Todos os tratamentos de sementes reduziram significativamente a incidência de sementes contaminadas com *Cff*, em relação à testemunha (sem tratamento). Os melhores tratamentos foram exposição a vapor de metanol e imersão em solução de cloreto de benzalcônio, os quais reduziram a incidência em 80 e 75,55% respectivamente. Os tratamentos com ozônio e vapor de etanol foram os que menos reduziram a incidência de sementes contaminadas, os quais não diferiram estatisticamente do tratamento com ácido peracético. Os tratamentos com ozônio e vapor de etanol reduziram a incidência de sementes contaminadas em apenas 17,88 e 20% respectivamente (Tabela 3.6).

**Tabela 3.6.** Porcentagem de sementes feijão inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* com a presença do patógeno, após diferentes tratamentos. UnB, Brasília, DF, 2015.

Tratamentos	Incidência (%)	Porcentagem de eliminação (%)
Cobre	42,22 d	57,78
Casugamicina	57,78 c	42,22
Ácido Peracético	68,89 bc	31,11
Cloretos de Benzalcônio	24,45 e	75,55
Vapor Etanol	80,00 b	20,00
Vapor Metanol	20,00 e	80,00
Ozônio	82,22 b	17,78
Sem Tratamento	100,00 a	--
CV (%)	8,57	

Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. DMS = 14,40.

Através da quantificação de *Cff* presente nas sementes, verificou-se que todos os tratamentos reduziram significativamente o número de células bacterinas, em relação à testemunha, mas nenhum erradicou completamente a bactéria. Os tratamentos das sementes mediante a exposição vapor de metanol e imersão em solução de cloretos de benzalcônio foram os que apresentaram os melhores resultados. A eficiência destes tratamentos foi de aproximadamente de 99,2%, ou seja, apenas 0,8% das células bacterianas resistiram a estes tratamentos. O tratamento com ozônio foi menos eficiente, onde a redução do número de células viáveis foi de 78,6%. Os tratamentos com cobre, casugamicina, ácido paracético e vapor de etanol não diferiram estatisticamente entre si Tabela (3.7).

Taylor & Dudley (1977) avaliando a eficiência de antibióticos, em diferentes formulações, no controle do crescimento bacteriano aureolado, observaram que os tratamentos com pastas de estreptomicina (2,5 g i.a./ kg de semente) ou casugamicina (0,25 g i.a./ kg de semente) foram eficientes na redução do número de células bacterianas em

sementes naturalmente infectadas ou inoculadas, com *Pseudomonas phaseolicola* (= *P. savastanoi* pv. *phaseolicola*), além de não serem fitotóxicos.

Estefani *et al.* (2007) avaliando o efeito da termo e quimioterapia na erradicação de *Cff* e sobre a qualidade fisiológica em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivar Pérola, verificaram que o tratamento das sementes por imersão em solução de Agrimaicin 500<sup>®</sup> (sulfato de cobre, 500 g + oxitetraciclina, 30 g/kg do produto) na concentração de 10 g/L de água, durante 2 horas, eliminou a bactéria de sementes naturalmente infectadas, no entanto, em sementes inoculadas por imersão em suspensão ( $10^8$  UFC/mL) o tratamento não foi efetivo, já o tratamento onde as sementes foram embebidas por 2 horas em água e tratadas a 60 °C durante 3 horas reduziu significativamente o número de células de *Cff* em sementes inoculadas e eliminou a bactéria em sementes naturalmente infectadas. Entretanto estes tratamentos afetaram significativamente a qualidade fisiológica das sementes de feijão.

Hopkins *et al.* (2003) verificaram que o tratamento de sementes por imersão em solução de ácido peracético a 1600 µg/mL, seguido de secagem em estufa a 40 °C, por 48 horas, foi eficaz em erradicar *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* em sementes contaminadas . Entretanto a utilização de ácido clorídrico a 10000 µg/mL, embora tenha sido eficiente na eliminação do patógeno afetou significativamente a germinação das sementes.

Carmo *et al.* (2004) comparando a eficiência de tratamentos físicos e químicos na erradicação de *Xanthomonas vesicatoria* em sementes de tomate cultivar ‘Santa Clara Miss Brasil’ verificaram que tratamento com ácido clorídrico (HCl) a 5% durante 10 minutos foi eficiente na erradicação e o tratamento com calor seco (70 °C/96 horas) reduziu significativamente a população da bactéria, mas os tratamentos por imersão em água a 50 °C por 25 e 30 minutos não foram eficientes na erradicação ou redução do número de células bacterianas.



Alencar (2009) avaliando a eficácia do ozônio como agente fungicida em amendoim (*Arachis hypogaea* L.), observou que grãos expostos ao gás ozônio na concentração de 21 mg L<sup>-1</sup> durante 96 horas foi eficiente no controle de fungos totais e de espécies potencialmente aflatoxigênicas (*Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*), com redução superior a três ciclos log na contagem dos microrganismos. Em contrapartida Silva (2011) observou que o gás ozônio no binômio (0,54 mg L<sup>-1</sup> x 100 h) não apresentou efeito fungicida em grãos de trigo, pois não houve redução significativa de esporos de *Penicillium* spp. nas amostras tratadas.

**Tabela 3.7.** Número de colônias em sementes de feijão inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, após diferentes tratamentos. UnB, Brasília, DF, 2015.

Tratamentos	UFC/100 $\mu$ L	UFC/mL	UFC/semente	Eficiência (%)*
Cobre	22,73 c	227,3 c	2045,4 c	88,41
Casugamicina	25,71 c	257,1 c	2313,6 c	86,89
Ácido Peracético	26,18 c	261,8 c	2355,9 c	86,65
Cloretos de Benzalcônio	1,50 d	15,0 d	135,3 d	99,23
Vapor Etanol	26,66 c	266,6 c	2399,4 c	86,40
Vapor Metanol	1,49 d	14,9 d	134,1 d	99,24
Ozônio	41,93 b	419,3 b	3774,0 b	78,61
Sem Tratamento	196,02 a	1960,2 a	17642,1 a	--
CV (%)	10,36			

Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

\*Eficiência(%)=(1-(UFC Tratamento/UFC Sem Tratamento))x100. DMS<sub>UFC/100 $\mu$ L</sub>=12,53; DMS<sub>UFC/mL</sub>=125,30; DMS<sub>UFC/semente</sub>= 1128.

### **3.5. Experimento de Campo**

#### **3.5.1. Emergência e velocidade de emergência de plântulas.**

O desdobramento da interação entre amostra de sementes e tratamento de sementes para emergência de plântulas em campo encontra-se apresentado na Tabela 3.8. Dentro de cada amostra de sementes (sementes básicas, com 10, 30 e 50% de sementes inoculadas e sementes naturalmente infectadas), nenhum tratamento promoveu incremento na emergência de plântulas. Os tratamentos com ozônio e ácido peracético afetaram negativamente a emergência, pois estes tratamentos foram estatisticamente inferiores quando comparados com a testemunha (sem tratamento).

Dentro das amostras com sementes básicas e com 10 e 30% de sementes inoculadas, o tratamento com ozônio não diferiu do tratamento com ácido peracético e metanol. Na amostra com sementes básicas o tratamento com ácido paracético não diferiu dos tratamentos com vapor de metanol, casugamicina, cloretos de benzalcônio e cobre. Na amostra com 10% de sementes inoculadas, o tratamento com ácido peracético não diferiu dos tratamentos com vapor de metanol e casugamicina. Já nas amostras com 30% de sementes inoculas o tratamento com ácido paracético não diferiu dos tratamentos com vapor de metanol, casugamicina, vapor de etanol e cobre.

Dentro da amostra com 50% de sementes inoculadas o tratamento com ozônio não diferiu do tratamento com ácido peracético. Já o tratamento com ácido peracético não diferiu do tratamento com metanol.

Dentro da amostra com sementes naturalmente infectadas, os tratamentos ozônio, ácido peracético metanol, cobre e vapor de etanol não diferiram entre si. No tratamento com casugamicina a emergência de plântulas foi superior ao do tratamento com o ozônio, mas diferiu do tratamento com ácido peracético.

Dentro dos tratamentos de sementes, os realizados com ozônio e ácido peracético afetaram negativamente a emergência de plântulas em amostras com 50% de sementes inoculadas, pois foi estatisticamente inferior quando comparado com as amostras de sementes básicas, mas não diferiu das amostras com 10 e 30% de inoculadas e com sementes naturalmente infectadas. Na testemunha não houve diferença significativa entre as amostras de sementes de feijão.

O desdobramento da interação entre amostra de sementes e tratamento de sementes para índice de velocidade de emergência em campo encontra-se apresentado na Tabela 3.9. Dentro da cada amostra de sementes (sementes básicas, com 10, 30 e 50% de sementes inoculadas e sementes naturalmente infectadas), nenhum tratamento promoveu incremento na velocidade de emergência de plântulas. Como observado para a variável emergência de plântulas, os tratamentos de sementes com ozônio e ácido peracético afetaram negativamente a velocidade de emergência, onde estes tratamentos foram estatisticamente inferiores quando comparados com a testemunha.

Dentro das amostras com sementes básicas os tratamentos com ozônio, ácido peracético, cobre, casugamicina, vapor de metanol, cloretos de benzalcônio não diferiram entre si. Na amostra com 10 % de sementes inoculadas os tratamentos com ozônio, ácido peracético, vapor de metanol, casugamicina, vapor de etanol e cobre não diferiram. Na amostra com 30% de sementes inoculadas, os tratamentos com o ozônio, ácido peracético, vapor de metanol, casugamicina, vapor de etanol, cobre e cloretos de benzalcônio, também não diferiram estatisticamente. Já para a amostra com 50% de sementes inoculadas, o tratamento com ozônio só não diferiu do tratamento com ácido peracético. O tratamento com ácido peracético não diferiu dos tratamentos com vapor de metanol, cloretos de benzalcônio, casugamicina e cobre.

Dentro dos tratamentos de sementes houve diferença entre os tipos de amostras de sementes de feijão apenas para o tratamento com ozônio. Neste tratamento a amostra com 50% de sementes inoculadas teve menor velocidade de emergência de plântulas em relação às amostras com sementes básicas e com 10 e 30% de sementes inoculadas, mas não diferiu da amostra com sementes naturalmente infectadas.

Na testemunha, sementes inoculadas e naturalmente infectadas não tiveram seu vigor afetado, pois a velocidade de emergência de plântulas não diferiu das sementes básicas, indicando que, o processo de inoculação e o patógeno no interior das sementes não afetaram a qualidade fisiológica das sementes neste estudo.

Para o estabelecimento de uma lavoura, a qualidade fisiológica das sementes é ponto importante, pois está relacionado com a formação do estande e desempenho inicial das plantas. A germinação e o vigor expressam a qualidade fisiológica das sementes. A germinação é mensurada pelo teste de germinação, o qual avalia o potencial máximo de germinação de um lote, através do desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, até a formação de plântula, sob condições ótimas de desenvolvimento (ISTA, 1981). O termo “vigor”, empregado para sementes, engloba as características que determinam o potencial para emergência rápida e uniforme, bem como o desenvolvimento de plântulas normais sob ampla variação das condições de campo (McDonald Junior, 1980). O teste de germinação tem sido amplamente utilizado na avaliação da qualidade de diferentes lotes de sementes. Entretanto esse teste é realizado em condições controladas de umidade, temperatura e aeração. Dessa maneira, nem sempre uma alta porcentagem de germinação em laboratório resulta em um excelente desempenho no campo. Isso é devido à ocorrência da diversidade de condições ambientais em que as sementes estão sujeitas no campo e que podem afetar, em maior ou menor escala, o estabelecimento inicial da cultura (Popinigis, 1985; Vieira, 1988).

Segundo Schuch *et al.* (1999), a velocidade de emergência está relacionado com a velocidade dos processos metabólicos desencadeados durante a germinação e emergência. Uma maior velocidade nesses processos metabólicos faz com que as reservas sejam mais rapidamente mobilizadas das sementes e realocadas em tecidos das plântulas, resultando em uma maior velocidade de emergência das plântulas originadas de sementes de melhor qualidade fisiológica.

A partir dos dados obtidos neste experimento observa-se que os tratamentos com ozônio e ácido peracético afetaram negativamente os processos metabólicos, que são desencadeados durante a germinação e emergência em sementes de feijão.

Silva (2011) observou que grãos de trigo (*Triticum aestivum* L.), tratados com gás ozônio por 100, 90, 75, e 36 horas nas concentrações de 0,54, 1,07, 1,61 e 2,14 mg L<sup>-1</sup> respectivamente, tiveram germinação inferior e condutividade elétrica superior quando comparado com grãos tratados com ar atmosférico. Resultados semelhantes foram obtidos por Rozado *et al.* (2008) para grãos de milho expostos ao gás ozônio na concentração de 0,11 mg L<sup>-1</sup> por 264 horas, onde a germinação foi inferior e a condutividade elétrica aumentou significativamente quando comparados, àqueles tratados com ar atmosférico. A variável condutividade elétrica está diretamente relacionada à integridade da membrana celular e a qualidade fisiológica das sementes, onde membranas mal estruturadas e células danificadas estão associadas ao processo de deterioração. Assim sementes com maiores valores de condutividade elétrica apresentam maiores taxas de degradação da membrana celular e, conseqüentemente, menor porcentual de germinação. (Vieira & Krzyzanowski, 1999).

Hopkins *et al.* (2003) observaram que o tratamento de sementes de melancia (*Citrullus lanatus* L.) com ácido peracético, nas concentrações de 900, 1200 e 1800 µg/mL, durante 15 e 30 minutos, não afetaram a germinação das mesmas.

Frare (2010) observou que sementes de melão (*Cucumis melo* L.), sadias e inoculadas artificialmente com *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, tratadas com ácido peracético por imersão em solução ou por infiltração a vácuo, nas concentrações de 300, 1000 e 1600 µg/, não afetaram a germinação das mesmas, mas em sementes naturalmente infectadas e tratadas por infiltração a vácuo nas concentrações de 1000 e 1600 µg/mL tiveram germinação afetada quando comparado com sementes não tratadas.

Neste estudo, as sementes de feijão foram sensíveis ao tratamento com ácido peracético, provavelmente esta sensibilidade ocorre devido à fina espessura do tegumento do grão.

**Tabela 3.8.** Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão na emergência em campo. UnB, Brasília, DF, 2015.

Tratamentos	Sementes					Média
	Básica	Inoculada (10%)*	Inoculada (30%)*	Inoculada (50%)*	Infectada**	
Cobre	92,08 A ab	87,91 A a	86,66 A ab	85,00 A a	85,21 A abc	87,37
Casugamicina	90,42 A ab	86,04 A ab	83,75 A ab	84,37 A a	87,71 A ab	86,45
Ácido Peracético	84,16 A bc	78,54 AB bc	78,54 AB bc	74,38 B bc	78,54 AB bc	79,04
Cloretos de Benzalcônio	90,83 A ab	89,37 A a	87,29 A a	83,12 A a	88,75 A a	87,87
Vapor Etanol	92,92 A a	88,75 A a	86,46 A ab	87,08 A a	85,63 A abc	88,17
Vapor Metanol	87,71 A abc	81,45 A abc	81,04 A abc	80,62 A ab	83,75 A abc	82,92
Ozônio	80,41 A c	76,04 AB c	74,16 AB c	70,62 B c	77,08 AB c	75,67
Sem Tratamento	95,00 A a	89,58 A a	89,58 A a	88,12 A a	89,58 A a	90,37
Média	89,19	84,71	83,44	81,67	84,66	
CV (%)	4,72					

\*Amostras com 10, 30 e 50% de sementes inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por meio do método da imersão de sementes em suspensão bacteriana. \*\*Sementes naturalmente infectadas. Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS<sub>Linha</sub> = 7,83; DMS<sub>Coluna</sub> = 8,72.

**Tabela 3.9.** Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão no índice de velocidade de emergência em campo. UnB, Brasília, DF, 2015.

Tratamentos	Sementes					Média
	Básica	Inoculada (10%)*	Inoculada (30%)*	Inoculada (50%)*	Infectada**	
Cobre	17,81 A ab	16,93 A ab	16,70 A ab	16,10 A ab	16,40 A ab	16,78
Casugamicina	16,80 A ab	16,28 A ab	15,84 A ab	15,73 A ab	16,66 A ab	16,26
Ácido Peracético	15,68 A b	14,67 A b	14,60 A b	14,21 A bc	14,74 A bc	14,77
Cloretos de Benzalcônio	17,46 A ab	17,26 A a	16,87 A ab	15,68 A ab	15,94 A abc	16,64
Vapor Etanol	18,31 A a	16,88 A ab	16,44 A ab	16,80 A a	16,56 A ab	16,99
Vapor Metanol	16,85 A ab	15,33 A ab	15,39 A ab	15,24 A ab	15,61 A abc	15,68
Ozônio	15,54 A b	14,63 A b	14,65 A b	12,21 B c	13,75 AB c	14,15
Sem Tratamento	18,69 A a	17,45 A a	17,43 A a	17,00 A a	17,31 A a	17,57
Média	17,14	16,18	15,99	13,37	15,87	
CV (%)	7,15					

\*Amostras com 10, 30 e 50% de sementes inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por meio do método da imersão de sementes em suspensão bacteriana. \*\*Sementes naturalmente infectadas. Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS<sub>Linha</sub> = 2,25; DMS<sub>Coluna</sub> = 2,51.



### **3.6. Experimento Casa de Vegetação**

#### **3.6.1. Emergência e velocidade de emergência de plântulas**

Na Tabela 3.10 são apresentados os valores de emergência de plântulas em vaso e índice de velocidade de emergência, os quais estimam o efeito de diferentes tratamentos no potencial fisiológico em sementes de feijão.

Dentro das amostras de sementes, nenhum tratamento de sementes realizado promoveu incremento ou redução na emergência de plântulas, tanto em sementes básicas quanto em sementes inoculadas.

Dentro dos tratamentos de sementes, observa-se que não houve diferença na emergência de plântulas entre sementes básicas e inoculadas para todos os tratamentos, inclusive na testemunha. Os dados observados na testemunha mostraram que a inoculação por imersão em suspensão bacteriana não afetou a emergência de plântulas em condições de casa de vegetação, fato que também foi observado no experimento em campo.

Para a variável, índice de velocidade de emergência de plântulas, observa-se que dentro da amostra com sementes básicas, os tratamentos não diferem entre si. Já para sementes inoculadas, o tratamento com ozônio foi significativamente inferior quando comparado com a testemunha, mas não diferiu dos demais tratamentos. Dentro de cada tratamento de semente não houve diferença entre as amostras com sementes básicas e inoculadas, inclusive na testemunha.

Diferentemente do observado em campo, os tratamentos de sementes com ozônio e ácido peracético não afetaram a emergência e a velocidade de emergência de plântulas em condições de casa de vegetação, provavelmente isto ocorreu devido à pequena variação climática e ao suprimento hídrico adequado neste ambiente.

**Tabela 3.10.** Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão na emergência de plântulas em vaso (EV) e no índice de velocidade de emergência (IVE), em condições de casa de vegetação. UnB, Brasília, DF, 2015.

Tratamentos/Sementes	EV		IVE	
	Básica	Inoculada*	Básica	Inoculada*
Cobre	93,75 A a	87,50 A a	3,48 A a	3,30 A ab
Casugamicina	90,62 A a	86,46 A a	3,36 A a	3,22 A ab
Ácido Peracético	86,46 A a	77,08 A a	3,38 A a	2,96 A ab
Cloretos de Benzalcônio	95,83 A a	87,50 A a	3,45 A a	3,30 A ab
Vapor Etanol	93,75 A a	87,50 A a	3,69 A a	3,38 A ab
Vapor Metanol	86,46 A a	85,42 A a	3,31 A a	3,22 A ab
Ozônio	81,25 A a	71,87 A a	3,06 A a	2,49 A b
Sem Tratamento	96,87 A a	91,66 A a	3,78 A a	3,55 A a
CV (%)	11,20		13,33	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si (dentro de cada variável), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS EV<sub>Linha</sub> = 13,95; DMS EV<sub>Coluna</sub> = 22,02; DMS IVE<sub>Linha</sub> = 0,63; DMS IVE<sub>Coluna</sub> = 0,22. \*Amostras com 100% de sementes inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por meio do método da imersão de sementes em suspensão bacteriana.

### 3.6.2. Desenvolvimento Vegetativo

Para avaliação do desenvolvimento vegetativo usou-se o peso de matéria verde de parte aérea, número de trifólios e altura de planta.

O desdobramento da interação entre amostra de sementes e tratamento de sementes para peso de matéria verde de parte aérea encontra-se na Tabela 3.11. Dentro das amostras com sementes básicas e sementes inoculadas, nenhum tratamento promoveu incremento ou redução no peso de matéria verde de parte aérea. Com exceção do tratamento com vapor de metanol, todos os tratamentos de sementes, incluindo a testemunha, observou-se que o peso de matéria verde de parte aérea em plântulas oriundas de sementes inoculadas foi significativamente menor em relação às provenientes de sementes básicas.

**Tabela 3.11.** Efeito de diferentes tratamentos de sementes no peso em gramas de matéria verde de parte aérea (PMV) em plântulas de feijoeiro aos 15 dias após a semeadura. UnB, Brasília, DF, 2015.

Tratamentos	Sementes		% Redução
	Básica	Inoculada*	
Cobre	4,77 A a	3,90 B a	18,23
Casugamicina	4,63 A a	3,52 B a	23,97
Ácido Peracético	4,58 A a	3,29 B a	28,16
Cloretos de Benzalcônio	4,77 A a	3,88 B a	18,65
Vapor Etanol	4,71 A a	3,59 B a	23,77
Vapor Metanol	4,14 A a	3,76 A a	9,17
Ozônio	4,65 A a	3,23 B a	30,53
Sem Tratamento	4,84 A a	3,01 B a	37,80
CV (%)	10,01		

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si (dentro de cada variável), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS PMV<sub>Linha</sub> = 0,58; DMS PMV<sub>Coluna</sub> = 0,92. \*Amostras com 100% de sementes inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por meio do método da imersão de sementes em suspensão bacteriana.

O desdobramento da interação entre amostra de sementes e tratamento de sementes para número de trifólios e altura de planta encontra-se na Tabela 3.12. Dentro da amostra com sementes básicas não houve diferença entre os tratamentos tanto para número de trifólios quanto para altura de planta. Em sementes inoculadas o tratamento com cobre promoveu um aumento no número de trifólios e na estatura da planta em relação à testemunha, mas não diferiu dos demais tratamentos.

Além de bactericida o cobre é um micronutriente requerido pelas plantas em concentrações muito baixas para adequado crescimento e reprodução. De acordo com Kirkby & Römheld (2007) o cobre está presente em diversas proteínas, as quais desempenham papel fundamental em processos tais como fotossíntese, respiração, desintoxicação de radicais

superóxido e lignificação. Provavelmente por estas razões o tratamento das sementes de feijão com cobre promoveu um incremento no número de folhas trifolioladas e estatura em plantas oriundas de sementes inoculadas.

Dentro dos tratamentos de sementes, os realizados com casugamicina, ácido peracético e ozônio, o número de trifólios em plantas provenientes de sementes inoculadas foi significativamente menor em relação ao observado nas plantas oriundas de sementes básicas. Para a variável altura de planta, em todos os tratamentos, as plantas provenientes de sementes básicas apresentaram maior estatura em relação às de sementes de inoculadas.

Ludwig *et al.* (2008) avaliando desempenho de sementes de feijão de lotes com diferentes níveis de qualidade fisiológica, observaram que o número de folhas trifolioladas não foi afetado pelo nível de qualidade das sementes, no entanto as sementes de maior qualidade fisiológica produziram plantas com maior área foliar e massa seca por planta, aos 28 dias após a emergência. Resultados semelhantes foram observados por Kolchinski *et al.* (2006) na cultura da soja.

Segundo Schuch *et al.*(1999) A probabilidade de sucesso de uma lavoura aumenta com o uso de sementes de alto vigor. Sementes vigorosas apresentam maior velocidade nos processos metabólicos, propiciando emissão mais rápida e uniforme da raiz primária no processo de germinação, maiores taxas de crescimento e produzem plântulas com maior tamanho inicial.

Apesar da inoculação das sementes não ter afetado a emergência e a velocidade de emergência das plântulas, plantas oriundas de sementes inoculadas apresentaram menor desenvolvimento vegetativo. Provavelmente após a emergência das plântulas a bactéria, *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, começou o processo infeccioso afetando processos fisiológicos da planta, bloqueado o transporte de nutrientes minerais e água através de tecidos

condutores, resultando assim em uma menor taxa fotossintética e menor crescimento da planta.

Miranda Filho (2010) avaliando o efeito da Murcha de *Curtobacterium* no desenvolvimento do feijoeiro observou significativa redução no número de trifólios aos 30 dias após a inoculação, em relação às plantas não inoculadas.

Maringoni (2002) avaliando a reação de cultivares comuns de feijoeiro a Murcha de *Curtobacterium* observou significativa redução da matéria seca de parte aérea em plantas inoculadas, comparando com os controles não inoculados. A redução de matéria seca variou de 44,1% na cultivar “IAC Carioca Aruã” considerada resistente e de 80,7% na cultivar “Pérola”, suscetível.

Chavarro *et al.* (1985) observaram redução de aproximadamente 37% da matéria seca de parte aérea na cultivar de feijoeiro “Porrillo Sintetico”, considerada resistente à Murcha de *Curtobacterium*, e de 81% em *Zornia glabra* cultivar CIAT 7847, suscetível à doença, quando comparadas com os controles não inoculados.

**Tabela 3.12.** Efeito de diferentes tratamentos de sementes no número de trifólios (NT) e na altura da planta (ALT) aos 28 dias após a semeadura. UnB, Brasília, DF, 2015.

Tratamentos/Sementes	NT (ud)		ALT (cm)	
	Básica	Inoculada*	Básica	Inoculada*
Cobre	3,00 A a	2,87 A a	20,98 A a	18,77 B a
Casugamicina	2,98 A a	2,37 B ab	19,89 A a	16,27 B ab
Ácido Peracético	2,94 A a	2,50 B ab	19,20 A a	16,70 B ab
Cloreto de Benzalcônio	3,06 A a	2,70 A ab	20,30 A a	17,72 B ab
Vapor Etanol	3,02 A a	2,75 A ab	20,87 A a	17,91 B ab
Vapor Metanol	3,02 A a	2,71 A ab	20,84 A a	17,94 B ab
Ozônio	3,10 A a	2,56 B ab	19,52 A a	17,16 B ab
Sem Tratamento	3,00 A a	2,27 B b	20,73 A a	14,99 B b
CV (%)	9,10		7,34	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si (dentro de cada variável), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS NT<sub>Linha</sub> = 0,36; DMS NT<sub>Coluna</sub> = 0,58; DMS ALT<sub>Linha</sub> = 1,96; DMS ALT<sub>Coluna</sub> = 3,09. \*Amostras com 100% de sementes inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por meio do método da imersão de sementes em suspensão bacteriana.

### 3.6.3. Incidência e severidade da Murcha de *Curtobacterium*

Os dados de incidência de Murcha de *curtobacterium* aos 30, 45 e 60 dias após a semeadura encontram-se na Tabela 3.13.

Nas três épocas de avaliação não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos de sementes, para os dados de incidência de plantas com Murcha de *Curtobacterium*, onde nenhum tratamento realizado em sementes inoculadas diferiu da testemunha. A incidência de plantas com sintomas da doença foi superior à incidência de sementes contaminadas com *Cff* após os tratamentos de sementes realizados neste estudo. Provavelmente muitas dessas infecções se desenvolveram a partir de dispersão secundária de inóculo. A partir desta observação pode-se inferir que em um lote de sementes com baixa incidência de *Cff* é capaz de gerar uma epidemia da doença em uma lavoura comercial de feijão.

**Tabela 3.13.** Efeito de diferentes tratamentos de sementes na incidência (%) de plantas de feijoeiro com sintomas de Murcha de *Curtobacterium*, causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, aos 30, 45 e 60 dias após a semeadura (DAS). UnB, Brasília, DF, 2015.

Tratamentos	Incidência (30 DAS)	Incidência (45 DAS)	Incidência (60 DAS)
Cobre	93,75 <sup>ns</sup>	100 <sup>ns</sup>	100 <sup>ns</sup>
Casugamicina	93,75	100	100
Ácido Peracético	97,92	100	100
Cloretos de Benzalcônio	83,33	87,50	87,50
Vapor Etanol	91,67	100	100
Vapor Metanol	66,67	68,75	68,75
Ozônio	83,33	100	100
Sem Tratamento	100	100	100
CV(%)	28,99	20,53	20,53

ns= não significativo a 5% pelo teste F.

Os dados de severidade, avaliados aos 30, 45 e 60 dias após a semeadura, e área abaixo da curva de progresso da Murcha de *Curtobacterium* (AACPMC), encontram-se na Tabela 3.14.

Através da análise de variância, das notas de severidade, nas três avaliações, e da AACPMC, não foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos de sementes, demonstrando que nenhum tratamento realizado em sementes inoculadas foi eficiente na redução da severidade da Murcha de *Curtobacterium*.

**Tabela 3.14.** Efeito de diferentes tratamentos de sementes na severidade da doença, aos 30, 45 e 60 dias após a semeadura, e área abaixo da curva de progresso da Murcha de *Curtobacterium*, causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. UnB, Brasília, DF, 2015.

Tratamentos	Severidade (30 DAS)	Severidade (45 DAS)	Severidade (60 DAS)	AACPMC
Cobre	3,08 <sup>ns</sup>	5,58 <sup>ns</sup>	6,75 <sup>ns</sup>	157,50 <sup>ns</sup>
Casugamicina	3,43	5,33	6,58	155,16
Ácido Peracético	3,68	5,79	6,83	165,78
Cloretos de Benzalcônio	3,37	5,17	6,16	149,06
Vapor Etanol	3,58,	5,91	7,33	170,62
Vapor Metanol	2,49	4,14	4,44	114,22
Ozônio	4,12	6,00	7,37	176,25
Sem Tratamento	4,21	6,16	8,12	185,00
CV(%)	42,21	30,36	24,16	27,54

ns= não significativo a 5% pelo teste F.

### 3.6.4. Produção

Para avaliar a produção em cada parcela, usaram-se os parâmetros: número de vagens (NV), número de grãos (NG), massa de grãos (PG), número de grãos por grama (NGG), porcentagem de grãos abortados (PGA) e número de grãos abortados por vagem (NGAV).

Com relação ao número de vagens e ao número de grãos por parcela a interação amostra de sementes x tratamento de sementes foi significativa. O desdobramento encontra-se na Tabela 3.15.

Analisando os resultados dos tratamentos de sementes dentro de amostra de sementes observou-se que em sementes básicas os tratamentos de sementes não influenciaram na produção de vagens, já em sementes inoculadas os tratamentos com cloretos de benzalcônio e vapor de metanol promoveram um aumento no número de vagens, em relação à testemunha. No que se refere ao efeito das amostras de sementes dentro de tratamento de sementes,



verificou-se que nos tratamentos com cloretos de benzalcônio e vapor de metanol, o número de vagens em plantas provenientes de sementes básicas e inoculadas não diferem entre si, enquanto para os demais tratamentos as plantas oriundas de sementes inoculadas produziram quantidade significativamente menor de vagens.

Quanto ao desdobramento tratamentos de sementes dentro de cada amostra de sementes referente ao número de grãos, verificou-se que em plantas oriundas de sementes básicas os tratamentos de sementes não promoveram incremento ou redução no número de grãos nas plantas provenientes de sementes básicas, porém o tratamento de sementes com vapor de metanol promoveu um aumento no número de grãos em plantas provenientes de sementes inoculadas, em relação à testemunha, mas não diferiu dos demais tratamentos de sementes.

Analisando o desdobramento amostras de sementes dentro de tratamento de sementes, verifica-se que apenas no tratamento com vapor de metanol não houve redução significativa no número de grãos em plantas oriundas de sementes inoculadas em relação a sementes de básicas. Nos demais tratamentos, o número de grãos produzidos em plantas provenientes de sementes inoculadas foi estatisticamente menor.

**Tabela 3.15.** Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão no número de vagens (NV) e no número de grãos por parcela (NG). UnB, Brasília, DF, 2015.

Tratamentos/Sementes	NV (ud)		NG (ud)	
	Básica	Inoculada*	Básica	Inoculada*
Cobre	49,75 A a	37,75 B abc	212,50 A a	125,75 B ab
Casugamicina	43,75 A a	30,25 B bc	184,75 A a	109,50 B ab
Ácido Peracético	46,00 A a	31,00 B bc	193,25 A a	107,00 B ab
Cloretos de Benzalcônio	48,00 A a	40,75 A ab	184,50 A a	136,50 B ab
Vapor Etanol	49,50 A a	34,00 B abc	190,75 A a	113,50 B ab
Vapor Metanol	45,25 A a	42,50 A a	179,50 A a	150,50 A a
Ozônio	50,25 A a	33,25 B abc	213,25 A a	105,50 B ab
Sem Tratamento	53,00 A a	28,00 B c	228,50 A a	93,50 B b
CV (%)	12,34		15,21	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si (dentro de cada variável), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS NV<sub>Linha</sub> = 7,28; DMS NV<sub>coluna</sub> = 11,48; DMS NG<sub>Linha</sub> = 34,22; DMS NG<sub>coluna</sub> = 54,01. \*Amostras com 100% de sementes inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por meio do método da imersão de sementes em suspensão bacteriana.

Os dados obtidos para número de grãos abortados por vagem mostraram efeito significativo para a interação amostra de sementes x tratamento de sementes. O desdobramento da interação encontra-se na Tabela 3.16. Analisando os resultados dos tratamentos de sementes dentro de amostra de sementes verifica-se que em plantas provenientes de sementes inoculadas, os tratamentos com cloretos de benzalcônio e vapor de metanol reduziram o número de grãos abortados por vagem, quando comparados com os tratamentos realizados com casugamicina e ácido peracético, além da testemunha. No que se refere às amostras de sementes dentro de tratamento de sementes, observa-se que em plantas provenientes de sementes inoculadas o número de grãos abortados por vagem é significativamente maior, em relação a plantas oriundas de sementes básicas, exceto para os tratamentos com cloretos de benzalcônio e vapor de metanol, onde não houve diferença entre o uso de sementes inoculadas e básicas.

O efeito da interação significativa amostra de sementes x tratamento de sementes referente porcentagem de grãos abortados, encontra-se na Tabela 3.16, onde os resultados dos tratamentos de sementes dentro de cada amostra de semente mostraram que em sementes inoculadas os tratamentos com cloretos de benzalcônio e vapor de metanol reduziram a porcentagem de grãos abortados em relação às plantas oriundas de sementes tratadas com casugamicina, ozônio e a testemunha. Analisando o desdobramento das amostras de semente dentro de cada tratamento de sementes, observou-se que para os tratamentos com cloretos de benzalcônio e vapor de metanol não houve diferença na porcentagem de grãos abortados entre plantas provenientes de sementes inoculadas e básicas, fato que não foi observado para os demais tratamentos, onde a porcentagem de grãos abortados foi significativamente maior em plantas oriundas de sementes inoculadas.

**Tabela 3.16.** Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão nos parâmetros número grãos abortados por vagem (NAV) e porcentagem de grãos abortados (PGA). UnB, Brasília, DF, 2015.

Tratamentos/Sementes	NAV		PGA (%)	
	Básica	Inoculada*	Básica	Inoculada*
Cobre	0,68 B a	1,21 A ab	13,78 A a	26,59 B ab
Casugamicina	0,92 B a	1,93 A a	16,35 A a	34,15 B a
Ácido Peracético	0,67 B a	1,81 A a	13,67 A a	33,03 B ab
Cloretos de Benzalcônio	0,88 A a	0,98 A b	20,31 A a	20,89 A b
Vapor Etanol	0,67 B a	1,42 A ab	14,68 A a	29,59 B ab
Vapor Metanol	0,82 A a	0,93 A b	17,06 A a	20,71 A b
Ozônio	0,77 B a	1,65 A ab	15,20 A a	34,97 B a
Sem Tratamento	0,69 B a	1,88 A a	13,76 A a	36,22 B a
CV (%)	32,83		24,53	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si (dentro de cada variável), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS NAV<sub>Linha</sub> = 0,52; DMS NAV<sub>Coluna</sub> = 0,82; DMS PGA<sub>Linha</sub> = 7,88; DMS PGA<sub>Coluna</sub> = 12,44. \*Amostras com 100% de sementes inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por meio do método da imersão de sementes em suspensão bacteriana.

Os resultados obtidos quanto à produção por parcela mostram um efeito significativo da interação amostra de sementes x tratamento de sementes. O desdobramento da interação para a variável produção por parcela encontra-se na Tabela 3.17. Os dados dos tratamentos de sementes dentro de amostra de sementes mostraram que nenhum dos tratamentos realizados em sementes básicas ou inoculadas promoveu incremento ou redução da produção. Os resultados de amostras de sementes dentro de tratamento de sementes mostraram que em todos os tratamentos, plantas oriundas de sementes básicas tiveram produção superior, em relação às provenientes de sementes inoculadas.

**Tabela 3.17.** Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão na produção (g) de grãos por parcela (PG). UnB, Brasília, DF, 2015.

Tratamentos	Sementes		% Redução
	Básica	Inoculada*	
Cobre	66,83 A a	35,30 B a	47,18
Casugamicina	58,39 A a	30,85 B a	47,16
Ácido Peracético	59,58 A a	27,72 B a	53,47
Cloretos de Benzalcônio	59,05 A a	37,77 B a	36,03
Vapor Etanol	61,48 A a	32,74 B a	46,75
Vapor Metanol	62,23 A a	42,06 B a	32,41
Ozônio	71,04 A a	30,16 B a	57,54
Sem Tratamento	75,56 A a	24,81 B a	67,16
CV (%)	16,68		

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS<sub>Linha</sub> = 11,51; DMS<sub>Coluna</sub> = 18,16. \*Amostras com 100% de sementes inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por meio do método da imersão de sementes em suspensão bacteriana.

O desdobramento da interação para o parâmetro produtivo, número de grãos por vagem, encontra-se na Tabela 3.18. Analisando o efeito dos tratamentos de sementes dentro de amostra de sementes, observou-se que nenhum tratamento promoveu incremento ou

redução no número de grãos por vagem, tanto em plantas oriundas de sementes básicas quanto de sementes inoculadas. Analisando o desdobramento amostras de sementes dentro de tratamento de sementes, verifica-se que em todos os tratamentos, exceto cloretos benzalcônio e vapor de metanol, o número de grãos por vagem foi menor em plantas oriundas de sementes inoculadas.

O desdobramento da interação referente ao número de grãos por grama encontra-se na Tabela 3.18. Os resultados dos tratamentos de sementes dentro de cada amostra de sementes mostraram que os tratamentos de sementes não tiveram influência nesta variável, tanto em amostras com sementes básicas quanto inoculadas. No entanto, os resultados de amostras de sementes dentro de cada tratamento de sementes evidenciaram que em todos os tratamentos, o parâmetro número de grãos por gramas foi maior em plantas oriundas de sementes inoculadas, indicando que plantas provenientes de sementes básicas produzem grãos mais pesados.

**Tabela 3.18.** Efeito de diferentes tratamentos de sementes de feijão nos parâmetros produtivos, número de grãos por vagem (NGV) e número de grãos por grama (NGG). UnB, Brasília, DF, 2015.

Tratamentos/Sementes	NGV		NGG	
	Básica	Inoculada*	Básica	Inoculada*
Cobre	4,28 A a	3,34 B a	3,18 B a	3,57 A a
Casugamicina	4,22 A a	3,64 B a	3,17 B a	3,54 A a
Ácido Peracético	4,20 A a	3,46 B a	3,25 B a	3,85 A a
Cloretos de Benzalcônio	3,85 A a	3,34 A a	3,13 B a	3,60 A a
Vapor Etanol	3,86 A a	3,34 B a	3,10 B a	3,48 A a
Vapor Metanol	3,95 A a	3,54 A a	2,86 B a	3,58 A a
Ozônio	4,20 A a	3,19 B a	3,07 B a	3,46 A a
Sem Tratamento	4,31 A a	3,29 B a	3,04 B a	3,78 A a
CV (%)	9,55		7,52	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si (dentro de cada variável), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS NGV  $_{Linha} = 0,51$ ; DMS NGV  $_{Coluna} = 0,81$ ; DMS NGG  $_{Linha} = 0,36$ ; DMS NGG  $_{Coluna} = 0,57$ . \*Amostras com 100% de sementes inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por meio do método da imersão de sementes em suspensão bacteriana.

Segundo Didonet (2003) a cultura do feijoeiro deve ser manejada de maneira a permitir o acúmulo máximo de biomassa, e que uma proporção máxima dessa biomassa seja “desviada” para os grãos. Por exemplo, se o acúmulo de biomassa total é limitado por algum fator (água, luz e nutrientes), seguramente o rendimento de grãos será baixo, pois a biomassa disponível para ser “desviada” para os grãos é limitada pela disponibilidade de biomassa total. De maneira geral, a planta regula o número ideal de vagens e de grãos que ela pode ter, basicamente pela disponibilidade de nutrientes e, principalmente, pela disponibilidade de carboidratos. De acordo com Maringoni (2002) plantas de feijoeiro colonizadas por *Cff* apresentam desenvolvimento vegetativo reduzido ocasionado pelas alterações fisiológicas provocadas pela Murcha de *Curtobacterium*, fato que também foi observado neste estudo.

Em todos os tratamentos de sementes, incluindo a testemunha, a produção em plantas oriundas de sementes inoculadas apresentou valores significativamente inferiores quando comparadas com o rendimento produtivo de plantas provenientes de sementes básicas. Embora o tratamento com vapor de metanol tenha proporcionado um incremento no número de vagens e grãos, além de uma redução no abortamento de grãos em plantas oriundas de sementes inoculadas, este tratamento não proporcionou um aumento significativo na massa total de grãos.

Provavelmente esta menor produção, observada em plantas provenientes de sementes inoculadas e com sintomas da Murcha de *Curtobacterium*, ocorreu devido à limitação de água e nutrientes, provocada pela interrupção no fluxo de seiva bruta no xilema, ocasionando menor taxa fotossintética e conseqüentemente menor acúmulo de fotoassimilados pela planta.

Estefani (2004) avaliou o efeito dos tratamentos térmico e químico em grãos de feijão, cultivar Pérola, oriundos de campo com alta incidência de Murcha de *Curtobacterium*, sobre a germinação, produtividade e peso de 100 sementes, em condições de campo. Os tratamentos testados foram: semente básica (SB) como testemunha; grãos colhidos em campo, sem termoterapia nem tratamento químico (GR); grãos colhidos em campo contaminado e submetidos a 2 horas de imersão e 3 horas sob temperatura de 60°C (GRT) e grãos colhidos em campo contaminado e submetido a 2 horas de imersão em solução de Agrimaicin® 10 g/L (GRA). De acordo com os dados obtidos pela autora, o tratamento que proporcionou maior percentual de germinação foi o SB com 92,92%, o qual diferiu estatisticamente do tratamento GRA (84,06%), os demais tratamentos não diferiram entre si. Com relação à produtividade, foi observado que não houve diferenças significativas entre os tratamentos, embora o tratamento GRT tenha apresentado maior produtividade que os demais sendo este com 2180,0 kg/ha, SB (2140,0 kg/ha), GRA (2130,0 kg/ha) e GR (1933,2 kg/ha). Quanto à massa de 100 sementes, foi observado que os tratamentos SB (26,08 g), GRT (25,85 g), GRA (25,07 g)

foram estatisticamente superiores ao GRA (23,7 g). Em condições de casa de vegetação utilizando os mesmos tratamentos, a autora observou que o tratamento GR apresentou menor percentual de germinação em relação ao SB, mas não diferiu dos demais tratamentos. Já para as demais variáveis, número de vagens, produção e massa 100 sementes, os tratamentos não diferiram entre si.

Miranda Filho (2010), avaliando a eficiência do tratamento químico de grãos naturalmente infectados por *Cff*, com diferentes produtos fitossanitários, no controle da Murcha de *Curtobacterium*, observou que os tratamentos dos grãos por imersão em solução de Agrimaicin 500<sup>®</sup> (oxitetraciclina 30g/Kg + sulfato de cobre 500 g/Kg), Agri-Micina<sup>®</sup> (oxitetraciclina 15g/Kg + sulfato de estreptomicina 150 g/Kg), Mycoshield<sup>®</sup> (oxitetraciclina 200g/Kg), e Fegatex<sup>®</sup> (cloretos de benzalcônio 100 g/L) nas dosagens, respectivamente 4,0 g, 3,0 g, 2,0 g e 3 mL do produto comercial em L<sup>-1</sup> de água, durante 20 minutos, não afetaram a emergência de plântulas em campo. Em relação à produtividade e massa de 100 grãos, não foi verificado pelo autor diferença significativa entre os tratamentos. Os tratamentos de sementes também não diferiram da testemunha (sem tratamento), indicando que os produtos utilizados não foram eficientes na erradicação da *Cff*.

Resultados observados no presente trabalho e também por Estefani (2004) e Miranda Filho (2010) evidenciam a importância do uso de sementes de elevada qualidade sanitária e fisiológica para obtenção de resultados satisfatórios na cultura do feijoeiro, pois nenhum tratamento de sementes proposto até o momento superou ou igualou o uso de sementes livres de *Cff* para o controle da Murcha de *Curtobacterium*.

Os tratamentos com vapor de metanol e cloretos de benzalcônio mostraram potencial para erradicação de *Cff* em sementes de feijão, embora não tenham proporcionado redução na incidência e severidade da doença, e incremento na produção. No entanto, serão necessários



mais estudos para melhorar a eficiência destes tratamentos como: formas de aplicação, tempos de exposição e combinação destes fatores.

### 3.7. Taxa de transmissão planta – semente de *Cff*

Os resultados obtidos a partir do isolamento de *Cff* em sementes colhidas em plantas de feijoeiro, cultivar Pérola, severamente atacadas pela Murcha de *Curtobacterium* encontram-se na Tabela 3.19. Verifica-se que a taxa de transmissão de *Cff* das plantas para as sementes foi na ordem de 23,75%.

**Tabela 3.19.** Transmissão planta - semente de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em plantas de feijoeiro, cultivar Pérola, oriundas de sementes inoculadas. UnB, Brasília, DF, 2015.

Subamostra	Nº de sementes analisadas/nº de sementes infectas com <i>Cff</i>	% de transmissão de <i>Cff</i>
1	20/3	15
2	20/5	25
3	20/5	25
4	20/6	30
Média	--	23,75

O valor obtido para a transmissão de *Cff* das plantas para sementes está próximo do observado por Estefani (2004), onde a autora verificou uma taxa de infecção na ordem de 19% em sementes de feijão, cultivar Pérola, colhidas em campo com alta incidência de Murcha de *Curtobacterium*.

Chavarro *et al.* (1985) constatou que sob condições de inoculação artificial, a transmissão de *Cff* na ordem de 52,5 % em sementes de feijão e de 88,8% em sementes de *Zornia glabra*.

Camara *et al.* (2009) avaliando a transmissão de *Cff* via sementes em plantas de feijoeiro inoculadas via punção no caule, em três ensaios, em seis cultivares, observaram que as cultivares resistentes à Murcha de *Curtobacterium*, IAC Carioca Akytã, IAC Carioca Pyatã e IAC Carioca Tybatã não apresentaram transmissão da bactéria, enquanto a cultivar IAC Carioca Aruã, apresentou a transmissão na ordem de 5,5 a 14,8% e as cultivares suscetíveis, IAC Carioca e Pérola apresentaram uma alta porcentagem de transmissão; a cultivar IAC Carioca, entre 10,4 a 70%, e a Pérola, entre 32,61 a 74,2 %.

A partir dos dados obtidos e dos relatos na literatura, verifica-se que a taxa de transmissão de *Cff* via semente, varia de acordo com o método de inoculação, espécie hospedeira, cultivar e nível de resistência à Murcha de *Curtobacterium*.

#### 4. CONCLUSÕES

- Os produtos cúpricos, sulfato de cobre e óxido cuproso, mostraram melhor eficiência na inibição do crescimento de *Cff* “*in vitro*”.
- Os princípios ativos cloretos de benzalcônio, casugamicina e ácido peracético, nas concentrações de 20, 100 e 200 µg/mL respectivamente, inibiram o crescimento de *Cff* “*in vitro*”.
- O método de inoculação usado nesse trabalho é eficiente em associar *Cff* à semente de feijão.
- Os tratamentos de sementes com cloretos de benzalcônio e vapor de metanol foram os mais eficientes na redução da população de *Cff* em sementes de feijão.
- Os tratamentos com ácido peracético e ozônio afetaram o vigor das sementes em condições de campo.
- Nenhum tratamento proposto neste estudo afetou o vigor das sementes em condições de casa de vegetação.
- O método de inoculação usado nesse estudo não afetou o vigor das sementes em condições de campo e casa de vegetação.
- Plantas oriundas de sementes inoculadas com *Cff* têm seu desenvolvimento vegetativo reduzido.
- Nenhum dos tratamentos de sementes testados foi eficiente em reduzir a incidência e a severidade da Murcha de *Curtobacterium*.
- Nenhum dos tratamentos de sementes realizado promoveu incremento na produção de grãos.
- A transmissão de *Cff* das plantas para as sementes foi de 23,75%, nesse estudo.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRASEM - Associação Brasileira de Sementes e Mudas. 2013. Estatísticas. <http://www.abrasem.com.br/category/estatisticas/#>. Consultado em: 01/08/2014.

ABREU, A.F.B. 2005. Cultivo do Feijão da Primeira e Segunda Safras na Região Sul de Minas Gerais: Produção de Sementes. Embrapa Arroz e Feijão: Sistema de Produção. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoPrimSegSafrasulMG/psementes.htm>. Consultado em 13/06/2014.

ABREU, F.M.; LOURENÇO, S.A.; BASSETTO, E.; GONÇALVES, F.P.; MARTINS, M.C. & AMORIM, L. 2008. Efeito de sanificantes no controle pós-colheita da podridão parda (*Monilinia fructicola*) e da podridão mole (*Rhizopus stolonifer*) em pêssegos. Summa Phytopathologica 34(1): 86-88.

ADASKAVEG, J.E.; FOSTER, H. & SOMMER, N.F. 2002. Principles of postharvest pathology and management of decays of edible horticultural crops. *In*: Kader, A.A. (ed.). Postharvest Technology of Horticultural Crops. p.163-196.

AGROFIT: Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Consultado em: 17/04/2014.

AGUIAR, L.A.; KIMURA, O.; CASTILHO, A.M.; CASTILHO, K.S.C.; RIBEIRO, R.L.D.; AKIBA, F. & CARMO, M.G.F. 2000. Resistência ao cobre em isolados nacionais de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* de pimentão e tomateiro. Agronomia 34:78-82.

AIDAR, H. 2003. Cultivo Feijoeiro Comum: Características da Cultura. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/index.htm>. Consultado em 31/07/2014.

ALENCAR, E.R. 2009. Processo de ozonização de amendoim (*Arachis hypogaea* L.): cinética de decomposição, efeito fungicida e detoxificante de aflatoxinas e aspectos qualitativos. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Brasil.

ANDRADE, M.J.B.; CARVALHO, A.J. & VIEIRA, N.M. 2008. Exigências Edafoclimáticas. *In*: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, J. & BORÉM. A. (eds.). Feijão. 2ª ed. UFV. Viçosa. p.67-86.

ARAÚJO, G.A. de A. & FERREIRA, A.C. de B. Manejo do Solo e Plantio. 2008. *In*: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, J. & BORÉM. A. (eds.). Feijão. 2ª ed. UFV. Viçosa. p.87-114.

BANZATO, D.A. & KRONKA, S.N. 2006. Experimentação agrícola. 4ª ed. FUNEP. Jaboticabal.

BARBOSA, F.R. & GONZAGA, A.C.O. 2012. Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014. Santo Antônio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão. 247p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 272).

BEHLAU, F.; NUNES L.M. & LEITE JUNIOR, R.P. 2006. Meio de cultura semi seletivo para detecção de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em solo e sementes de feijoeiro. *Summa Phytopathologica* 32:394-396.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C. & CARNEIRO, S.M.T.P.G. 2005. Doenças do feijoeiro. *In*: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E. A. (eds.). Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas. 4ª ed. Agronômica Ceres. São Paulo. v. 2, p. 333-350.

BLOCK, S. S.1991. Peroxygen compounds. *In*: BLOCK, S. S. (ed.). Disinfection, sterilization and preservation. 4<sup>th</sup> ed. Lea Febiger. Philadelphia. p. 167-181.

BLUM, L.E.B.; MACHADO, J.C. & NASSER, L.C.B. 2006. Patógenos de sementes. *In*: Blum, L.E.B.; Cares, J.E.; & Uesugi, C.H. (eds.). Fitopatologia: estudo das doenças de plantas. 2ª ed. Otimismo. Brasília. p.234-241.

BONFIM JÚNIOR, M.F. 2013. Fitonematoides em feijoeiro-comum: ocorrência em regiões do Paraná e São Paulo e interação de cultivares com *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, Brasil.

BORÉM, A. & CARNEIRO, J.E.S. 2008. A Cultura. *In*: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, J. & BORÉM, A. (eds.). Feijão. 2ª ed. UFV. Viçosa. p.13-18.

BRADBURY, J.F. 1986. Guide to plant pathogenic bacteria. CAB: International Mycological Institute. London. 322p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 15, de 16 de junho de 2014. Diário Oficial da União, nº 114, Seção 1, p. 33-34.

BURLE, M.L.; FONSECA, J.R.; KAMI, J.A. & GEPTS, P. 2010. Microsatellite diversity and genetic structure among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Brazil, a secondary center of diversity. *Theoretical and Applied Genetics*. 121:801-813.

CAMARA, R.C. 2008. Transmissão planta - semente de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em cultivares de feijoeiro. Dissertação Mestrado. Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, Brasil.

CARLSON, R.R. & VIDAVER, A, K. 1982. Taxonomy of *Corynebacterium* plant pathogens, including a new pathogen of wheat, based on polyacrylamide gel electrophoresis of cellular proteins. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 32:315-326.

CARMO, M.G.F.; CORREA, F.M.; CORDEIRO, E.S.; CARVALHO, A.O. & ROSSETTO, C.A.V. 2004. Tratamentos de erradicação de *Xanthomonas vesicatoria* e efeitos sobre a qualidade das sementes de tomate. *Horticultura Brasileira*, Brasília 22(3): 579-584.

CHAVARRO, C.A.; LOPEZ, G.C.A. & LENNE, J.M. 1985. Características y pathogenicidad de *Corynebacterium flaccumfaciens* (Hedges) Dows. agente causal del marchitamiento bacteriano de *Zornia* spp. y su efecto en el rendimiento de *Z. glaba* CIAT 7847 y *Phaseolus vulgaris*. Acta Agronomica. 35(2):64-79.

CLESCERL, L.S.; GREENBERG, A.E & EATON, A.D. 2000. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Water Works Association. Denver.

COLLINS, M.D. & JONES, D. 1983. Reclassification of *Corynebacterium flaccumfaciens*, *Corynebacterium betae*, *Corynebacterium oorti* and *Corynebacterium poinsettiae* in the genus *Curtobacterium flaccumfaciens* comb. Nov. Journal of General Microbiology. 129: 3545-3548.

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE. 1992. Distribution maps of plant disease: map n. 85. 5<sup>th</sup> ed. Farnham Royal.

CONAB. Levantamento de Safra. <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&>. Consultado em 15/06/2014.

COOKSEY, D.A. 1993. Copper uptake and resistance in bacteria. Molecular Microbiology 7:1-5.

COSTA, A.S. & PARADELA. O. 1972. Evidência adicional sobre a ocorrência de cretamento bacteriano aureolado em feijão no Estado de São Paulo. Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia. Brasília. 5:97-99.

COSTA, J.G.C. Feijão: Morfologia. AGEITEC: Agência Embrapa de Informação Tecnológica. [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/feijao/arvore/CONTAG01\\_9\\_1311\\_200215101.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/feijao/arvore/CONTAG01_9_1311_200215101.html). Consultado em 27/07/2014.

COSTA, J.R.; ARAÚJO, E.R.; BECKER, W.F.; FERREIRA, M.A.S.V. & QUEZADO-DUVAL, A.M. 2012. Ocorrência e caracterização do complexo de espécies causadoras da mancha bacteriana do tomateiro no Alto Vale do Rio do Peixe, SC. *Tropical Plant Pathology* 37(2): 149-154.

COYNE, D.P.; SCHUSTER, M.L. & AL-YASIRI, S. 1963. Reaction studies of bean species and varieties to common blight and bacterial wilt. *Plant Disease Reporter*. 47:534-537.

COYNE, D.P. & SCHUSTER, M.L. 1974. Breeding and genetic studies of tolerance to several bean (*Phaseolus vulgaris* L.) bacterial pathogens. *Euphytica*, Dondrecht. 23(3): 651-656.

CTSBF – COMISSÃO TÉCNICA SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO. 2012. Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira. 2ª ed. Florianópolis: Epagri. 157p.

DAVIS, M.J. & VIDAVER, A.K. 2001. Coryneform plant pathogens. *In*: Schaad, N. W., Jones, J. B., Chun, W. (eds.). *Plant pathogenic bacteria*. 3<sup>rd</sup> ed. APS Press. St. Paul, USA. p.218-235.

DEUNER, C.C. 2007. Inoculação Artificial e Detecção de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em sementes de feijão. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras. Lavras, Brasil.

DHINGRA, O.D. Teoria da Transmissão de Patógenos Fúngicos por Sementes. 2005. *In*: Zambolim, L. (ed.). *Sementes: qualidade fitossanitária*. UFV. Viçosa. p. 75-112.

DHINGRA, O.D.; MUCHOVEJ, J.J. & CRUZ FILHO, J. da. 1980. Tratamento de sementes: controle de patógenos. UFV. Viçosa. 1980.

DIDONET, A.D. 2003. Fisiologia. *In*: Moreira, J.A.A.; Stone, L.F. & Biava, M. (eds.). *Feijão: o produtor pergunta, a Embrapa responde*. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília. p. 21-28.



DOURADO NETO, D. & FANCELLI, A.F. 2000. Produção de feijão. Agropecuária. Guaíba.

DUNLEAVY, J.M. 1983. Bacterial tan spot, a new disease of soybeans. *Crop Science*. 23:473-476.

ESTEFANI, R.C.C.; MIRANDA FILHO, R.J. & UESUGI, C.H. 2007. Tratamentos térmico e químico de sementes de feijoeiro: eficiência na erradicação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e efeitos na qualidade fisiológica das sementes. *Fitopatologia Brasileira* 32: 434-438.

ESTEFANI, R.C.C. 2004. Termoterapia e quimioterapia no tratamento de sementes de feijoeiro: eficiência na erradicação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e efeitos sobre a semente. Dissertação Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília, Brasil.

FALEIRO, F.G. 2007. Marcadores genético-moleculares aplicados aos programas de conservação e uso de recursos genéticos. Embrapa Cerrados. Planaltina, DF.

FARIA, L.C.; MELO, L.C.; DEL PELOSO, M.J. & ABREU, A.F.B. 2005. Base genética na produtividade de grãos do feijoeiro comum no Brasil e no mundo. *In*: DEL PELOSO, M.J. & MELO, L.C. (eds.). Potencial de rendimento da cultura do feijoeiro comum. Santo Antônio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão. p.39-70.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United. <http://faostat.fao.org/>. Consultado em 15/06/2014.

FERNÁNDEZ, F.; GEPTS, P. & LÓPEZ, M. 1985. Etapas de desarrollo em La planta de frijol. *In*: LÓPEZ, M.; FERNÁNDEZ, F. & SCHIINHOVEN, A.van. (eds.). Frijol: Investigación y producción. CIAT. Santiago de Cáli, Colômbia. p.61-78.

FERREIRA, C.M.; SANTOS, M.L.; BRAGA, M.J. & DEL PELOSO, M.J. 2008. Aspectos Econômicos. *In*: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, J. & BORÉM, A. (eds.). Feijão. 2ª ed. UFV. Viçosa. p.19-40.

FERREIRA, D.F. 2008. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. Revista Symposium (Lavras) 6:36-41.

FIALLOS, F.R.G. 2010. Doenças causadas por vírus na cultura de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Ciencia y Tecnología 3(2): 1-6.

FRARE, V.C. 2010. Tratamento de sementes de melão (*Cucumis melo* L.) para o controle de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Tese Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, Brasil.

FRY, W.E. 1982. Principles of plant disease management. Academic. New York.

GEPTS, P. & DEBOUCK, D. 1991. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: SCHOONHOVEN, A. van & VOYSET, O. (eds.). Common beans: research for crop improvement. Cali: CIAT. Wallingford: CAB International. p.7-53.

GUIMARÃES, P.M.; PALMANO, S.; SMITH, J.J.; SÁ, M.F.G. & SADDLER, G.S. 2001. Development of a PCR test for the detection of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. Antonie van Leeuwenhoek. 80(1):1-10.

GRONDEAU, C. & SAMSON, R. 1994. A review of thermotherapy to free plant materials from pathogens, especially seeds from bacteria. Critical Reviews in Plant Sciences.13(1): 57-75.

HALL, R. 1991. Compendium of bean diseases. APS Press. St.Paul.

HAYWARD, A.C. & WATERSTON, J.M. 1965. *Corynebacterium flaccumfaciens*. Commonwealth Mycological Institute. Description of Pathogenic Fungi and Bacteria. Number 43. Kew, Surrey, England.

HEDGES, F. 1922. A bacterial wilt of bean caused by *Bacterium flaccumfaciens* nov. sp. Science 55:433-434.

HEDGES, F. 1926. Bacterial wilt of beans (*Bacterium flaccumfaciens* Hedges) including comparisons with *Bacterium phaseoli*. Phytopathology. 16:1-21.

HERBES, D.H.; THEODORO, G.F.; MARINGONI, A.C.; PIVA, C.A. & ABREU, L. 2008. Detecção de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em sementes de feijoeiro produzidas em Santa Catarina. Tropical Plant Pathology 33:153-156.

HOPKINDS, D.L.; THOMPSON, C.M.; HILGREN, J. & LOVIC, B. 2006. Wet seed treatment with peroxyacetic acid for the control of bacterial fruit blotch and other seedborne diseases of watermelon. Plant Disease 87:1495-1499.

HSIEH, T.F.; HUANG, H. C.; MÜNDEL, H.-H.; CONNER, R. L.; ERICKSON, R. S. & BALASUBRAMANIAN, P. M. 2005. Resistance of common bean (*Phaseolus vulgaris*) to bacterial wilt caused by *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. Journal of Phytopathology. 153(4):245-249.

HSIEH, T.F.; HUANG, H.C.; MÜNDEL, H.H. & ERICKSON, R.S. 2003. A Rapid Indoor Technique for Screening Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) for Resistance to Bacterial Wilt [*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges) Collins and Jones]. Revista Mexicana de Fitopatología. 21(3):364-369.

HUANG, H.C.; ERICKSON, R.S.; HSIEH, T.F. 2007a. Control of bacterial wilt of bean (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) by seed treatment with *Rhizobium leguminosarum*. Crop Protection. 26:1055-1061.

HUANG, H.C.; MÜNDEL, H.H.; ERICKSON, R.S.; CHELLE, C.D.; BALASUBRAMANIAN, P.M.; KIEHN, F.; CONNER, R.L. 2007b. Resistance of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars and germplasm lines to the purple variant of bacterial wilt (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*). Plant Pathology Bull. 16: 91-95.

HUNT, N. K.; MARIÑAS, B. J. 1999. Inactivation of *Escherichia coli* with ozone: chemical and inactivation kinetics. *Water Research, Kidlington*. 33(11): 2633-2641.

IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/>. Consultado em 15/06/2014.

INFORZATO, R. & MIYASAKA, S. 1963. Sistema radicular do feijoeiro em dois tipos de solo do Estado de São Paulo. *Bragantia*, 22(38):477-481.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). 1981. Handbook of vigor test methods. Zurich. Switzerland.

KADO, C.I. & HESKETT, M.G. 1970. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology* 60:969-979.

KARKMKOVA, P. & BOYADZHIEV, K.H. 1984. The new garden bean cultivar Rositsa. *Gardinaska i Lozarka Nauka*. 21(3):40-43.

KIM, T.J.; SILVA, J.L.; CHAMUL, R.S. & CHEN, T.C. 2000. Influence of ozone, hydrogen peroxide, or salt on microbial profile, TBARS and color of channel catfish fillets. *Journal of Food Science, Malden*. 65(7):1210-1213.

KIRKBY, E.A. & RÖMHELD, V. 2007. Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. *INPI: Informações Agronômicas* 118: 1-24.

KOLCHINSKI, E.M.; SCHUCH L.O.B. & PESKE S.T. 2006. Crescimento inicial de soja em função do vigor das sementes. *Revista Brasileira Agrociência* 12(2):163-166.

KRAUSE, W.; RODRIGUES, R. & LEAL, N.R. 2009. Identificação de fontes de resistência e avaliação de métodos de inoculação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijão-de-vagem. *Ciência e Agrotecnologia*. 33:1901-1907.

KRUPPA, P.C. 1993. Detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* em sementes e no interior de frutos de tomateiro pelo uso de meios de culturas semi -seletivos. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista. Botucatu, Brasil.

LANGLAIS, B.; RECKHOW, D.A. & BRINK, D.R. 1991. Ozone in water treatment: application and engineering. AWWARF and Lewis Publishers. Chelsea.

LAPOLLI, F. R.; SANTOS, L. F.; HÁSSEMER, M. E. N.; AISSE, M. M. & PIVELI, R. P. 2003. Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização. In: GONÇALVES, R. F. (ed.). Desinfecção de efluentes sanitários, remoção de organismos patógenos e substâncias nocivas: aplicação para fins produtivos como agricultura, aquíicultura e hidropônica. PROSAB. Vitória. p.169-208.

LEITE JÚNIOR, R.P. 2000. Surviving with Citrus Canker in Brazil. In: Proceedings, 9<sup>th</sup> Congress of the International Society for Citriculture. Orlando. p. 890-896.

LEITE JÚNIOR, R.P.; MENEGUIM, L.; BEHLAU, F.; RODRIGUES, S.R.; BIANCHINI, A. 2001. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Paraná e Santa Catarina. Fitopatologia Brasileira, 26:303. Suplemento.

LOBO JÚNIOR. 2005. Cultivo do Feijão Irrigado na Região Noroeste de Minas Gerais: Doenças e Métodos de Controle. Embrapa Arroz e Feijão: Sistema de Produção. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoIrrigadoNoroesteMG/doencas.htm>. Consultado em 13/06/2014.

LUDWIG, M.P.; SCHUCH, L.O.B; LUCCA FILHO, O.A; AVELAR, S.A.G.; MIELEZRSKI, F.; PANOZZO, L.E.; OLIVO, M. & SEUS, R. 2008. Desempenho de plantas de feijão originadas de lotes de sementes com diferentes níveis de qualidade fisiológica. Revista da FZVA 15(2): 44-52.

MAGUIRE, J.D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science 2(2): 176-177.

MACHADO, J.C. 1988. Patologia de sementes: fundamentos e aplicações. Ministério da Educação, ESAL/FAEPE. Brasília, Lavras.

MACHADO, J.C. 2000. Patologia de Sementes: Significado e Atribuições. *In*: Carvalho, N.M. & NACAGAWA, J. Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção. 4ª ed. Funep. Jaboticabal. p. 522-588.

MACHADO, J.C.; WAQUIF, J.M; SANTOS, J.P. & REICHENBACH, J.W. 2006. Tratamento de sementes no controle de fitopatógenos e pragas. Informe Agropecuário. 27(232):76-87.

MAFFIA, L.A.; CARMO, M.G.F. & KATSURAYAMA, Y. 1988. *In*: Seminário sobre pragas e doenças do feijoeiro, 3. Anais. Piracicaba. p.103-126.

MARQUES, E.; UESUGI, C.H.; & FERREIRA, M.A.S.V. 2009. Sensitivity to copper in *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. Tropical Plant Pathology 34(6):406-411.

MARCO, G.M. & STALL, R.E. 1983. Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper. Plant Disease 67:779-781.

MARINGONI, A.C. 2000. Caracterização de isolados de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e avaliação da resistência de cultivares de feijoeiro comum à murcha-de-Curtobacterium. Tese de Livre Docência. Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, Brasil.

MARINGONI A.C.; CAMARA R.C. & SOUZA V.L. 2006. Semi-selective culture medium for *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* isolation from bean seeds. Seed Science & Technology. 34:117-124.

MARINGONI. A.C. & CAMARA, R.C. 2006. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* detection in bean seeds using a semi-selective medium. Brazilian Journal of Microbiology. 37:451-455.

- MARINGONI, A.C. & ROSA, E.F. 1997. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica*. 23:160-162.
- McDONALD JUNIOR, M.B. 1980. Vigor test subcommittee report. *News Lett. Assoc. Off. Seed Anal.* 54(1): 37-80.
- MELLO, M.R.F.; SILVEIRA, E.B.; VIANA I.O.; GUERRA, M.L. & MARIANO R.L.R. 2011. Uso de antibióticos e leveduras para controle da podridão-mole em couve-chinesa. *Horticultura Brasileira* 29: 78-83.
- MENEGUIM, L., RINALDI, D.A.M.F., SANTOS, A.C.A., RODRIGUES, L.S., SILVA, M.R.L., CANTERI, M.G. & LEITE JÚNIOR, R.P. 2007. Sensibilidade de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ao cobre e mancozeb. *Fitopatologia Brasileira* 32:247-252.
- MENTEN, J.O.M. 1995. Patógenos em Sementes, Detecção, Danos e Controle Químico. Ciba Agro. São Paulo.
- MIRANDA FILHO, R.J. 2010. Etiologia, Epidemiologia e Fisiologia da Murcha de *Curtobacterium*. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília. Brasília, Brasil.
- MORAES, M.H.D.; FRARE, V.C.; OTTONI, J.; BALANI, D.M.; VAZ MONDO, V.H & MENTEN, J.O.M. 2010. Avaliação de dois meios de cultura semi-seletivos para a detecção de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em sementes de feijoeiro. *Tropical Plant Pathology*. 35:385-389.
- NAKAJIMA, M.; GOTO, M. & HIBI, T. 2002. Similarity between copper resistance genes from *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* and *P. syringae* pv. *tomato*. *Journal of General Plant Pathology* 68:68-74.
- NASCIMENTO, M. S. 2002. Avaliação comparativa de tratamentos químicos na sanitização de frutas e verduras. Dissertação Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Araraquara, Brasil.

NIKITINA, K.V.; BUDANOVA, V.I.; STEPANOVA, S.I. & YASKINA, O.S. 1980. Rapid method of evaluating resistance to bacterial diseases in lupin and *Phaseolus*. *Selektsiya i Semenovodstvo URSS, Moscow*. 5:22-23.

NUNES, L.M.; BEHLAU, F. & LEITE, R.P. 2004. Especificidade de *primers* para identificação e detecção de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por PCR. *Fitopatologia Brasileira*. 29:243. Suplemento.

OLIVEIRA, J.R. 1995. Detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* em sementes de tomateiro. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Brasil.

OLIVEIRA, J.R.; MOURA, A.B. & SOUZA, R.M. 2005. Transmissão e controle de fitobactérias em sementes. *In: Zambolim, L. (ed.). Sementes: qualidade fitossanitária*. UFV. Viçosa. p. 113-134.

PASCUAL, A. LLORCA, L. CANUT, A. 2007. Use ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. *Trends in Food Science & Technology*. 18:29-35.

PAULA JÚNIOR, T.J. & ZAMBOLIM, L. 2008. Doenças. *In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, J. & BORÉM. A. (eds.). Feijão*. 2ª ed. UFV. Viçosa. p.359-414.

PIRANI, S. Application of ozone in food industries. 2011. Tese de Doutorado. Università degli Studi di Milano. Milão, Itália.

PHANG, P.D.; GUTENMAHER, P. & MOELA, I. 1974. Resistance to bacterial rots in some French bean. *Lucrari Stiintifice*. 17:45- 48.

POPINIGIS, F. 1985. Fisiologia da semente. Agiplan. Brasília. PORTES, T.A. 1988. Ecofisiologia. *In: ZIMMERMANN. M.J.de O.; ROCHA, M. & YAMADA, T. (eds.). Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade*. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. Piracicaba. p.125-156.



PRESTES, E. B. 2007. Avaliação da eficiência do ozônio como sanitizante em hortaliças folhosas minimamente processadas. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, Brasil.

QUEZADO-DUVAL, A.M.; GAZZOTO FILHO, A.; LEITE JÚNIOR, R.P. & CAMARGO, L.E.A. 2003. Sensibilidade a cobre, estreptomicina e oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana do tomate para processamento industrial. Horticultura Brasileira 21:670-675.

RAT, B. 1987. Control of seed borne bacteria. *In*: NASSER, L.C.B.; ETZEL, M.M. & FERNANDES, J.M. Proceedings; seed pathology international advanced course. ABRATES. Passo Fundo, Brasília. p.258-263.

RAVA, C. A.; COSTA, J. G. C.; FONSECA, J. R. & SALGADO, A. L. 2003. Fontes de resistência à antracnose, cretamento bacteriano comum e murcha de *Curtobacterium* em coletas de feijoeiro comum. Revista Ceres. 50 (292): 797-802.

RAVA, C.A.; COSTA, J.G.C. & ZIMMERMANN, F.J.P. 2004. Variabilidade de reação em plantas cultivar pérola de feijoeiro comum inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. 29:63. Suplemento.

REZENDE, A.M.F.A. 2006. Estudo sobre a resistência genética e produtos químicos no controle da bacteriose da goiabeira (*Psidium guajava*) causada por *Erwinia psidii*. Dissertação Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília, Brasil.

RICE, R.G & NETZER, A. 1982. Handbook of Ozone Technology and Applications. Ann Arbor Science. Michigan.

RICE, R. G.; ROBSON, C. M.; MILLER, G. W. & HILL, A. B. 1981. Uses of ozone in drinking water treatment. Journal of the American Water Works Association. 73(1):44-47.

RIBEIRO, R.L.D.; HAGEDORN, D.J.; DURBIN, R.D. & UCHYTIL, T.F. 1979. Characterization of the bacterium inciting bean wildfire in Brazil. *Phytopathology* 69:208-212.

ROBBS, C.F. 1954. A bacteriose do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no Distrito Federal. *Agronomia*. 12:231-233.

RODRIGUES, R.B.; SILVA JÚNIOR, T.A.F. & MARINGONI A.C. 2006. Efeito da aplicação de lodo de esgoto na severidade da murcha-de-curtobacterium em feijoeiro. *Summa Phytopathologica* 31:82-84.

ROSOLEM, C.A.; MARUBAYASHI, O.M. 1994. Seja o doutor do seu feijoeiro. *Informações Agronômicas* 68: 1-16.

ROZADO, A.F.; FARONI, L.R. da.; URRUCHI, W.M.I.; GUEDES, R.N.C. & PAES, J.L. 2008. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 12:282-285.

RUSSEL, A. D.; HUGO, W. B. & AVLIFFE, G. A. J. 1999. Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford: Blackwell Science.

SAETTLER, A.W. 1991. Diseases caused by bacteria. In: Hall R (ed.). *Compendium of bean diseases*. APS Press. Saint Paul. p.29-32.

SAETTLER, A.W. & PERRY, S.K. 1972. Seed-transmitted bacterial diseases in michigan navy (pea) beans, *Phaseolus vulgaris*. *Plant Disease Reporter* 56:378-381.

SCHUSTER, M.L. 1959. Relation of root-knot nematodes and irrigation water to the incidence and dissemination of bacterial wilt of bean. *Plant Disease Reporter*. 43(1):25-32.

SALGADO, R.G.D.; MARINGONI, A.C. & WILCKEN, S.R.S. 2007. Não-interação patogênica entre *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e *Meloidogyne incognita* raça 2 em feijoeiro. *Nematologia Brasileira*.30: 202-205.

SANTOS, J.B. & GAVILANES, M.L. 2008. Botânica. *In*: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, J. & BORÉM, A. (eds.). Feijão. 2ª ed. UFV. Viçosa. p.41-66. 4

SARTORATO, A.; RAVA, C.A & FARIA, J.C. 2003. Cultivo do Feijoeiro Comum: Doenças e métodos de controle. Embrapa Arroz e Feijão: Sistema de Produção. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/doencas.htm>. Consultado em 15/05/2014.

SCHUCH, L.O.B. 1999. Vigor das sementes e aspectos da fisiologia da produção em aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb.). Tese Doutorado. Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, Brasil.

SCHUSTER, M.L. 1967. Survival of bean bacterial pathogens in the field and greenhouse under different environmental conditions. *Phytopathology*. 57:830.

SILVA, C.C. 2005. Cultivo do Feijão Irrigado na Região Noroeste de Minas Gerais: Produção de Sementes. Embrapa Arroz e Feijão: Sistema de Produção. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoIrigadoNoroesteMG/psementes.htm>. Consultado em 13/06/2014.

SILVA, H.T. Feijão Morfologia. Agência de Informação Embrapa. [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia4/AG01/arvore/AG01\\_9\\_1311200215101.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia4/AG01/arvore/AG01_9_1311200215101.html). Consultado em 27/07/2014.

SILVA, S.B.; LUVIELMO, M.M.; GEYER, M.C.; & PRÁ, I. 2011. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. *Semina: Ciências Agrárias*, 32(2): 659-682.

SILVA, T.A. 2011. Processo de ozonização dos grãos de trigo: cinética de reação e efeito na qualidade destes e da farinha. Dissertação Mestrado. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Brasil.

SILVA, V.L. & LOPES, C.A. 1995. Isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* resistentes a cobre em tomateiros pulverizados com fungicidas cúpricos. *Fitopatologia Brasileira* 20: 85-89.

SILVA JÚNIOR, T.A.F. 2011. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*: sobrevivência, gama de hospedeiras e efeito do pré-plantio de aveia e trigo na ocorrência da doença. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Botucatu, Brasil.

SILVEIRA, I.C.T. 2004. Cloro e ozônio aplicados à desinfecção de efluente hospitalar tratado em contadores biológicos rotatórios, com avaliação de efeitos tóxicos em *Daphnia similis*. Tese de Doutorado. Universidade do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil.

SINGH, S.P. 2001. Broadening the genetic base of common bean cultivars: a review. *Crop Science*. 41(6):1659-1675.

SOARES, R.M.; FANTINATO, G.G.P.; DARBEN, L.M.; MARCELINO GUIMARÃES, F.C.; SEIXAS, C.D.S. & CARNEIRO, G.E.S. 2013. First report of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* on soybean in Brazil. *Tropical Plant Pathology*. 38(5):452-454.

SOARES, R.M.; MARINGONI, A.C. & LIMA, G.P.P. 2004. Ineficiência de acibenzolar-s-methyl na indução de resistência de feijoeiro comum à murcha de *Curtobacterium*. *Fitopatologia Brasileira*. 29:373-377.

SOUZA, J.B. 2006. Avaliação de métodos para desinfecção de água, empregando cloro, ácido peracético, ozônio e o processo de desinfecção combinado ozônio/cloro. Tese Doutorado. Universidade de São Paulo. São Carlos, Brasil.

SOUZA, V.L.; MARINGONI, A.C.; CARBONELL, S.A.M. & ITO, M.F. 2006. Resistência genética em genótipos de feijoeiro a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. *Summa Phytopathologica*. 32(4):339-344.

SREBERNICH, S.M. 2007. Utilização do dióxido de cloro e do ácido peracético como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde minimamente processado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 27(4): 744-750.

TANAKA, M.A.S. & MACHADO, J.C. 1985. Patologia de Sementes. Informe Agropecuário. 11(122):76-87.

TAYLOR, J.D. & DUDLEY, C.L. 1977. Seed treatment for the control of halo blight of beans (*Pseudomonas phaseolicola*). *Annals of Applied Biology* 85:223-232.

TEGLI, S.; SERENI, A. & SURICO, G. 2002. PCR – based assay for the detection of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaiens* in bean seeds. *Letters in Applied Microbiology*. 35:331-337.

THEODORO, G.F.; HERBES, D.H. & MARINGONI, A. C. 2007. Fontes de resistência à murcha-de-curtobacterium em cultivares locais de feijoeiro, coletadas em Santa Catarina. *Ciência e Agrotecnologia*. 31(5):333-339.

THEODORO, G.F.; CORREIA, H.C. & CHUMPATI, A.A. 2011. Avaliação da transmissão de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* via semente-algodoeiro em condições de campo, no cerrado sul-mato-grossense. *Bioscience Journal* 27(5):701-705.

THEODORO, G, F. & MARINGONI, A.C. 2004. Distribuição de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em lavouras de feijoeiro comum no Estado de Santa Catarina. *Fitopatologia Brasileira*. 29:37. Suplemento.

THEODORO, G.F. & MARINGONI, A.C. 2006a. Efeito de doses de nitrogênio na severidade da murcha-de-curtobacterium em cultivares de feijoeiro comum. *Summa Phytopathologica*. 32:131-138.

THEODORO, G.F. & MARINGONI, A.C. 2006b. Efeito de doses de potássio na severidade da murcha-de-curtobacterium em cultivares de feijoeiro comum. *Summa Phytopathologica*. 32:139-146.

TIWARI, B.K. & RICE, R.G. (2012). Regulatory and Legislative Issues. *In*: O'donnel, C., Tiwari, B.K., Cullen, P.J. & Rice, R.G. (eds.). *Ozone in food processing*. Wiley-Blackwell. p.7-17.

TORRES, G.C., LENNE, J.M., VICTORIA, J.I. & LOZANO, J.C. 1982. Bacterial wilt of *Zornia* spp. caused by *Corynebacterim flaccumfaciens*. *In*: International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, 5, 1982, Cali. Anais. Cali: CIAT, p. 74-79.

UESUGI, C.H., BARBOSA, L.V. & REZENDE, A.M. 2005. Sensibilidade de isolados de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* a diferentes formulações cúpricas. *Fitopatologia Brasileira* 30:S68. Suplemento.

UESUGI, C. H; FREITAS, M. A. & MENEZES, J. R. 2003. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro, em Goiás e no Distrito Federal. *Fitopatologia Brasileira*. 28(3): 324, 2003.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. 1999. Wastewater Technology Fact Sheet Ozone Disinfection. 1999. <http://www.epa.gov/npdes/pubs/ozon.pdf>. Consultado em: 30/09/2014.

VALENTINI, G.; GUIDOLIN, A.F.; BALDISSERA, J.N. da C. & COIMBRA, J.L.M. 2010. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*: etiologia, detecção e medidas de controle. *Biotemas*. 23 (4):1-8. Revisão.

VENETTE, J.R., LAMPRA, R.S. & GROSS, P.L. 1995. First report of bean bacterial wilt caused by *Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* in North Dakota. *Plant Disease* 79:966.

VIEIRA, M.G.G.C. 1988. Aspectos da integração, tecnologia e sanidade em estudos de sementes. *In*: III SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES. Lavras. Fundação Cargill. Campinas. p.48-57.

VIEIRA, R.D. & KRZYZANOWSKI, F.C. 1999. Teste de condutividade elétrica. *In*: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D. & Franca Neto, J.B. Vigor de sementes; conceitos e testes. ABRATES. Londrina. p.4-20.

VILHORDO, B.W. BURIN, M.E. & GANDOLFI, V.H. 1988. Morfologia. *In*: ZIMMERMANN, M.J.de O.; ROCHA, M. & YAMADA, T. (eds.). Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. Piracicaba. p.87-124.

VOLOUDAKIS, A.E.; REIGNIER, T.M. & COOKSEY D.A. 2005. Regulation of resistance to copper in *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*. *Applied and Environmental Microbiology* 71:792-789.

WENDLAND, A.; ALENCAR, N. E.; MELO, L. C.; COSTA, J. G. C. da; DEL PELOSO, M. J.; PEREIRA, H. S.; FARIA, L. C. de; CÔRTEZ, M. V. de C. B. & BRODANI, R.P.V. 2008. Padrão de Sintomas de Isolados de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em Dois Genótipos de Feijoeiro Comum. 2008. Santo Antônio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão. 19p. (Embrapa Arroz e Feijão. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 33).

YOUNG, J.M.; SADDLER, G.S.; TAKIKAWA, Y.; DE BOER, S.H.; VAUTERIN, L.; GARDAN, L.; GVOZDYAK, R. I. & STEAD, D.E. 1966. Names of Plant Pathogenic Bacteria 1864-1995. *Review of Plant Pathology*. 75:721-763.

ZAUMEYER, W.J. & THOMAS, H.R. 1957. A monographic study of bean disease and methods of their control. U.S. Department Agriculture Technical Bulletin. 868:84-88.

ZEVENHUIZEN, L.P.T.M.; DOLFING J.; ESHUIS E.J. & SCHOLTERN KOERSELMAN, J. 1979. Inhibitory effects of copper on bacteria related to the free ion concentration. *Microbial Ecology* 5:139-146.

# ANEXOS

---

---



## ANEXO 1. MEIOS DE CULTURA UTILIZADOS

### Anexo 1.1. Meio 523 (Kado & Heskett, 1970).

Sacarose.....	10,0 g
Caseína hidrolisada.....	8,0 g
Extrato de levedura.....	4,0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	2,0 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O.....	300 mg
Ágar.....	20,0 g
Água destilada (q.s.p).....	1000 mL

### Anexo 1.2. Meio CYE-glycerol (Zevenhuizen *et al.* , 1979).

Casitona.....	1,7 g
Extrato de levedura.....	0,35 g
Glicerol.....	2,0 g
Ágar.....	15,0 g
Água destilada (q.s.p).....	1000 mL

**ANEXO 2. DADOS REFERENTES AOS TESTES DE SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, ISOLADO UnB 1736 AO COBRE.**

**Anexo 2.1.** Número médio de colônias (UFC/mL) de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, isolado UnB 1376, observado “*in vitro*” em meio CYE-glycerol contendo produtos cúpricos em diferentes concentrações.

Princípio Ativo	Concentração Cu <sup>++</sup> µg/mL							
	0	10	20	30	40	50	100	200
Hidróxido de Cobre	1360	1096	936	0	0	0	0	0
Oxicloreto de Cobre	1344	1320	564	156	60	0	0	0
Óxido Cuproso	1144	836	0	0	0	0	0	0
Sulfato de Cobre	1740	1388	0	0	0	0	0	0

### ANEXO 3. ANÁLISES DE VARIÂNCIA

Efeito dos diferentes tratamentos de sementes na erradicação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

Variável analisada: PORCENTAGEM DE SEMENTES CONTAMINADAS

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	7	17266.311133	2466.615876	95.066	0.0000
erro	16	415.140867	25.946304		
Total corrigido	23	17681.452000			
CV (%) =	8.57				
Média geral:	59.4450000	Número de observações:		24	

Variável analisada: UFC/100µL

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	7	84366.069850	12052.295693	613.271	0.0000
erro	16	314.439800	19.652488		
Total corrigido	23	84680.509650			
CV (%) =	10.36				
Média geral:	42.7775000	Número de observações:		24	

## EXPERIMENTO DE CAMPO

### Variável analisada: EMERGÊNCIA EM CAMPO

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	4	991.018456	247.754614	15.516	0.0000
TRATAMENTO	7	3626.875708	518.125101	32.448	0.0000
SEMENTE*TRATAMENTO	28	187.157374	6.684192	0.419	0.9953
BLOCO	3	450.441362	150.147121	9.403	0.0000
erro	117	1868.235838	15.967828		
Total corrigido	159	7123.728737			
CV (%) =	4.72				
Média geral:	84.7343750	Número de observações:	160		

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

#### TRATAMENTO

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE /1	4	133.273920	33.318480	2.087	0.0865
SEMENTE /2	4	116.368080	29.092020	1.822	0.1287
SEMENTE /3	4	195.186150	48.796537	3.056	0.0194
SEMENTE /4	4	138.597820	34.649455	2.170	0.0762
SEMENTE /5	4	133.751450	33.437862	2.094	0.0855
SEMENTE /6	4	138.238930	34.559733	2.164	0.0769
SEMENTE /7	4	209.426130	52.356532	3.279	0.0137
SEMENTE /8	4	113.333350	28.333337	1.774	0.1381
Erro	117	1868.235838	15.967828		

Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

#### SEMENTE

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO /1	7	658.677350	94.096764	5.893	0.0000
TRATAMENTO /2	7	790.525900	112.932271	7.072	0.0000
TRATAMENTO /3	7	751.607672	107.372525	6.724	0.0000
TRATAMENTO /4	7	1071.106972	153.015282	9.583	0.0000
TRATAMENTO /5	7	542.115188	77.445027	4.850	0.0001
Erro	117	1868.235838	15.967828		

Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE COM 10% DE INÓCULO 3 = SEMENTE COM 30% DE INÓCULO 4 = SEMENTE COM 50% DE INÓCULO 5 = SEMENTE NATURALMENTE INFECTADA

**Variável analisada: Índice de Velocidade de Emergência (IVE)**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	4	53.966279	13.491570	10.175	0.0000
TRATAMENTO	7	189.765314	27.109331	20.445	0.0000
SEMENTE*TRATAMENTO	28	19.580901	0.699318	0.527	0.9738
BLOCO	3	11.488062	3.829354	2.888	0.0385
erro	117	155.140863	1.325990		
Total corrigido	159	429.941419			
CV (%) =	7.15				
Média geral:	16.1120625	Número de observações:	160		

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

TRATAMENTO

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE /1	4	6.773920	1.693480	1.277	0.2823
SEMENTE /2	4	3.604870	0.901218	0.680	0.6069
SEMENTE /3	4	4.707330	1.176832	0.888	0.4731
SEMENTE /4	4	10.110650	2.527662	1.906	0.1135
SEMENTE /5	4	9.071980	2.267995	1.710	0.1518
SEMENTE /6	4	7.132530	1.783133	1.345	0.2569
SEMENTE /7	4	25.420730	6.355182	4.793	0.0013
SEMENTE /8	4	6.725170	1.681293	1.268	0.2859
Erro	117	155.140863	1.325990		

Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

SEMENTE

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO /1	7	36.893347	5.270478	3.975	0.0006
TRATAMENTO /2	7	37.225300	5.317900	4.011	0.0006
TRATAMENTO /3	7	30.545672	4.363667	3.291	0.0031
TRATAMENTO /4	7	67.440800	9.634400	7.266	0.0000
TRATAMENTO /5	7	37.241097	5.320157	4.012	0.0006
Erro	117	155.140863	1.325990		

Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE COM 10% DE INÓCULO 3 = SEMENTE COM 30% DE INÓCULO 4 = SEMENTE COM 50% DE INÓCULO 5 = SEMENTE NATURALMENTE INFECTADA.

**EXPERIMENTO CASA DE VEGETAÇÃO**

**Variável analisada: EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS EM VASO**

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	1	624.875006	624.875006	6.508	0.0142
TRATAMENTO	7	1909.402819	272.771831	2.841	0.0153
SEMENTE*TRATAMENTO	7	112.819519	16.117074	0.168	0.9904
BLOCO	3	705.111131	235.037044	2.448	0.0759
erro	45	4320.597519	96.013278		
-----					
Total corrigido	63	7672.805994			
-----					
CV (%) =	11.20				
Média geral:	87.4996875	Número de observações:	64		

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

TRATAMENTO

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE /1	1	78.187513	78.187513	0.814	0.3716
SEMENTE /2	1	34.652812	34.652812	0.361	0.5510
SEMENTE /3	1	175.687512	175.687512	1.830	0.1829
SEMENTE /4	1	138.861112	138.861112	1.446	0.2354
SEMENTE /5	1	78.062512	78.062512	0.813	0.3720
SEMENTE /6	1	2.173613	2.173613	0.023	0.8811
SEMENTE /7	1	175.781250	175.781250	1.831	0.1828
SEMENTE /8	1	54.288200	54.288200	0.565	0.4560
Erro	45	4320.597519	96.013278		

Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

SEMENTE

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO /1	7	833.208387	119.029770	1.240	0.3014
TRATAMENTO /2	7	1189.013950	169.859136	1.769	0.1170
Erro	45	4320.597519	96.013278		

Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE INOCULADA

**Variável analisada: IVE**

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	1	1.081600	1.081600	5.555	0.0228
TRATAMENTO	7	3.987500	0.569643	2.926	0.0130
SEMENTE*TRATAMENTO	7	0.379950	0.054279	0.279	0.9590
BLOCO	3	1.049325	0.349775	1.796	0.1614
erro	45	8.762025	0.194712		
-----					
Total corrigido	63	15.260400			
-----					
CV (%) =	13.33				
Média geral:	3.310000	Número de observações:	64		
-----					

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

TRATAMENTO

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE /1	1	0.061250	0.061250	0.315	0.5777
SEMENTE /2	1	0.037813	0.037813	0.194	0.6616
SEMENTE /3	1	0.352800	0.352800	1.812	0.1850
SEMENTE /4	1	0.043513	0.043513	0.223	0.6387
SEMENTE /5	1	0.189112	0.189112	0.971	0.3296
SEMENTE /6	1	0.014450	0.014450	0.074	0.7865
SEMENTE /7	1	0.649800	0.649800	3.337	0.0744
SEMENTE /8	1	0.112813	0.112813	0.579	0.4505
Erro	45	8.762025	0.194712		
-----					

Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

SEMENTE

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO /1	7	1.424350	0.203479	1.045	0.4137
TRATAMENTO /2	7	2.943100	0.420443	2.159	0.0561
Erro	45	8.762025	0.194712		
-----					

Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE INOCULADA

**Variável analisada: PESO DE MATÉRIA VERDE DE PARTE AÉREA (15 DAS)**

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	1	19.780256	19.780256	118.695	0.0000
TRATAMENTO	7	1.693350	0.241907	1.452	0.2090
SEMENTE*TRATAMENTO	7	2.539044	0.362721	2.177	0.0544
BLOCO	3	1.266412	0.422137	2.533	0.0688
erro	45	7.499137	0.166647		
-----					
Total corrigido	63	32.778200			
-----					
CV (%) =	10.01				
Média geral:	4.0800000	Número de observações:	64		

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

TRATAMENTO

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV		GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	/1	1	1.540012	1.540012	9.241	0.0039
SEMENTE	/2	1	2.464200	2.464200	14.787	0.0004
SEMENTE	/3	1	3.328200	3.328200	19.971	0.0001
SEMENTE	/4	1	1.575313	1.575313	9.453	0.0036
SEMENTE	/5	1	2.475313	2.475313	14.854	0.0004
SEMENTE	/6	1	0.288800	0.288800	1.733	0.1947
SEMENTE	/7	1	4.004450	4.004450	24.029	0.0000
SEMENTE	/8	1	6.643012	6.643012	39.863	0.0000
Erro		45	7.499137	0.166647		

-----  
Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

SEMENTE

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV		GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	/1	7	1.727622	0.246803	1.207	0.3186
TRATAMENTO	/2	7	2.651647	0.378807	1.852	0.1003
Erro		45	9.204744	0.204550		

-----  
Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE INOCULADA



**Variável analisada: NÚMERO DE TRIFÓLIOS (28 DAS)**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	1	2.843439	2.843439	43.669	0.0000
TRATAMENTO	7	0.695136	0.099305	1.525	0.1833
SEMENTE*TRATAMENTO	7	0.538598	0.076943	1.182	0.3324
BLOCO	3	0.276130	0.092043	1.414	0.2512
erro	45	2.930095	0.065113		
Total corrigido	63	7.283398			
CV (%) =	9.10				
Média geral:	2.8051562	Número de observações:	64		

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

TRATAMENTO

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE /1	1	0.031250	0.031250	0.480	0.4920
SEMENTE /2	1	0.732050	0.732050	11.243	0.0016
SEMENTE /3	1	0.378450	0.378450	5.812	0.0201
SEMENTE /4	1	0.252050	0.252050	3.871	0.0553
SEMENTE /5	1	0.145800	0.145800	2.239	0.1415
SEMENTE /6	1	0.195313	0.195313	3.000	0.0901
SEMENTE /7	1	0.588612	0.588612	9.040	0.0043
SEMENTE /8	1	1.058513	1.058513	16.256	0.0002
Erro	45	2.930095	0.065113		

Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

SEMENTE

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO /1	7	0.072447	0.010350	0.159	0.9918
TRATAMENTO /2	7	1.161288	0.165898	2.548	0.0267
Erro	45	2.930095	0.065113		

Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE INOCULADA

**Variável analisada: ALTURA PLANTA (28 DAS)**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	1	154.846914	154.846914	81.795	0.0000
TRATAMENTO	7	33.634223	4.804889	2.538	0.0273
SEMENTE*TRATAMENTO	7	18.569223	2.652746	1.401	0.2285
BLOCO	3	8.472280	2.824093	1.492	0.2296
erro	45	85.189595	1.893102		
Total corrigido	63	300.712236			
CV (%) =	7.34				
Média geral:	18.7379688	Número de observações:	64		

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

TRATAMENTO

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE /1	1	9.746113	9.746113	5.148	0.0281
SEMENTE /2	1	26.317513	26.317513	13.902	0.0005
SEMENTE /3	1	12.525012	12.525012	6.616	0.0135
SEMENTE /4	1	13.338613	13.338613	7.046	0.0109
SEMENTE /5	1	17.582450	17.582450	9.288	0.0039
SEMENTE /6	1	16.791013	16.791013	8.870	0.0047
SEMENTE /7	1	11.162812	11.162812	5.897	0.0192
SEMENTE /8	1	65.952613	65.952613	34.838	0.0000
Erro	45	85.189595	1.893102		

Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

SEMENTE

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO /1	7	12.957497	1.851071	0.978	0.4588
TRATAMENTO /2	7	39.245950	5.606564	2.962	0.0121
Erro	45	85.189595	1.893102		

Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE INOCULADA

**Variável analisada: NÚMERO DE VAGENS POR PARCELA**

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	1	2916.000000	2916.000000	111.593	0.0000
TRATAMENTO	7	394.500000	56.357143	2.157	0.0565
SEMENTE*TRATAMENTO	7	615.250000	87.892857	3.364	0.0057
BLOCO	3	46.125000	15.375000	0.588	0.6258
erro	45	1175.875000	26.130556		
-----					
Total corrigido	63	5147.750000			
-----					
CV (%) =	12.34				
Média geral:	41.4375000	Número de observações:	64		

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

TRATAMENTO

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV		GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	/1	1	288.000000	288.000000	11.022	0.0018
SEMENTE	/2	1	364.500000	364.500000	13.949	0.0005
SEMENTE	/3	1	450.000000	450.000000	17.221	0.0001
SEMENTE	/4	1	105.125000	105.125000	4.023	0.0509
SEMENTE	/5	1	480.500000	480.500000	18.388	0.0001
SEMENTE	/6	1	15.125000	15.125000	0.579	0.4507
SEMENTE	/7	1	578.000000	578.000000	22.120	0.0000
SEMENTE	/8	1	1250.000000	1250.000000	47.837	0.0000
Erro		45	1175.875000	26.130556		

Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

SEMENTE

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV		GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	/1	7	258.875000	36.982143	1.415	0.2226
TRATAMENTO	/2	7	750.875000	107.267857	4.105	0.0014
Erro		45	1175.875000	26.130556		

Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE INOCULADA

**Variável analisada: NÚMERO DE GRÃOS POR PARCELA**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	1	104086.890625	104086.890625	180.202	0.0000
TRATAMENTO	7	3237.484375	462.497768	0.801	0.5909
SEMENTE*TRATAMENTO	7	15062.734375	2151.819196	3.725	0.0029
BLOCO	3	1481.171875	493.723958	0.855	0.4715
erro	45	25992.578125	577.612847		
Total corrigido	63	149860.859375			
CV (%) =	15.21				
Média geral:	158.0468750		Número de observações:	64	

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

TRATAMENTO

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE /1	1	15051.125000	15051.125000	26.057	0.0000
SEMENTE /2	1	11325.125000	11325.125000	19.607	0.0001
SEMENTE /3	1	14878.125000	14878.125000	25.758	0.0000
SEMENTE /4	1	4608.000000	4608.000000	7.978	0.0070
SEMENTE /5	1	11935.125000	11935.125000	20.663	0.0000
SEMENTE /6	1	1682.000000	1682.000000	2.912	0.0948
SEMENTE /7	1	23220.125000	23220.125000	40.200	0.0000
SEMENTE /8	1	36450.000000	36450.000000	63.105	0.0000
Erro	45	25992.578125	577.612847		

Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

SEMENTE

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO /1	7	8588.500000	1226.928571	2.124	0.0600
TRATAMENTO /2	7	9711.718750	1387.388393	2.402	0.0353
Erro	45	25992.578125	577.612847		

Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE INOCULADA

**Variável analisada: NÚMERO DE GRÃOS ABORTADOS POR VAGEM**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	1	7.847002	7.847002	58.755	0.0000
TRATAMENTO	7	1.957373	0.279625	2.094	0.0637
SEMENTE*TRATAMENTO	7	3.267361	0.466766	3.495	0.0045
BLOCO	3	0.020342	0.006781	0.051	0.9850
erro	45	6.009933	0.133554		
Total corrigido	63	19.102011			
CV (%) =	32.83				
Média geral:	1.1132813	Número de observações:	64		

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

TRATAMENTO

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE /1	1	0.551250	0.551250	4.128	0.0481
SEMENTE /2	1	2.442050	2.442050	18.285	0.0001
SEMENTE /3	1	2.587813	2.587813	19.377	0.0001
SEMENTE /4	1	0.019013	0.019013	0.142	0.7077
SEMENTE /5	1	1.117512	1.117512	8.367	0.0059
SEMENTE /6	1	0.027613	0.027613	0.207	0.6515
SEMENTE /7	1	1.548800	1.548800	11.597	0.0014
SEMENTE /8	1	2.820312	2.820312	21.117	0.0000
Erro	45	6.009933	0.133554		

Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

SEMENTE

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO /1	7	0.327888	0.046841	0.351	0.9254
TRATAMENTO /2	7	4.896847	0.699550	5.238	0.0002
Erro	45	6.009933	0.133554		

Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE INOCULADA

**Variável analisada: PORCENTAGEM DE SEMENTES ABORTADAS**

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	1	3099.148900	3099.148900	101.204	0.0000
TRATAMENTO	7	346.566775	49.509539	1.617	0.1553
SEMENTE*TRATAMENTO	7	874.982800	124.997543	4.082	0.0015
BLOCO	3	44.704438	14.901479	0.487	0.6933
erro	45	1378.027863	30.622841		
-----					
Total corrigido	63	5743.430775			
-----					
CV (%) =	24.53				
Média geral:	22.5618750	Número de observações:	64		

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

TRATAMENTO

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV		GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	/1	1	328.448450	328.448450	10.726	0.0020
SEMENTE	/2	1	633.680000	633.680000	20.693	0.0000
SEMENTE	/3	1	749.812812	749.812812	24.485	0.0000
SEMENTE	/4	1	0.667013	0.667013	0.022	0.8833
SEMENTE	/5	1	444.467112	444.467112	14.514	0.0004
SEMENTE	/6	1	26.645000	26.645000	0.870	0.3559
SEMENTE	/7	1	781.508113	781.508113	25.520	0.0000
SEMENTE	/8	1	1008.903200	1008.903200	32.946	0.0000
Erro		45	1378.027863	30.622841		

Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

SEMENTE

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV		GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	/1	7	145.223687	20.746241	0.677	0.6898
TRATAMENTO	/2	7	1076.325887	153.760841	5.021	0.0003
Erro		45	1378.027863	30.622841		

Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE INOCULADA

**Variável analisada: PRODUÇÃO POR PARCELA**

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	1	15972.852264	15972.852264	244.401	0.0000
TRATAMENTO	7	540.778398	77.254057	1.182	0.3321
SEMENTE*TRATAMENTO	7	1429.487173	204.212453	3.125	0.0089
BLOCO	3	144.054392	48.018131	0.735	0.5368
erro	45	2940.974983	65.355000		
-----					
Total corrigido	63	21028.147211			
-----					
CV (%) =	16.68				
Média geral:	48.4732813	Número de observações:	64		

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

TRATAMENTO

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE /1	1	1988.912450	1988.912450	30.432	0.0000
SEMENTE /2	1	1516.903200	1516.903200	23.210	0.0000
SEMENTE /3	1	2029.800613	2029.800613	31.058	0.0000
SEMENTE /4	1	906.102450	906.102450	13.864	0.0005
SEMENTE /5	1	1652.262613	1652.262613	25.281	0.0000
SEMENTE /6	1	813.657800	813.657800	12.450	0.0010
SEMENTE /7	1	3343.575313	3343.575313	51.160	0.0000
SEMENTE /8	1	5151.125000	5151.125000	78.818	0.0000
Erro	45	2940.974983	65.355000		

Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

SEMENTE

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO /1	7	1102.663550	157.523364	2.410	0.0347
TRATAMENTO /2	7	867.602022	123.943146	1.896	0.0922
Erro	45	2940.974983	65.355000		

Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE INOCULADA

**Variável analisada: NÚMERO DE GRÃOS POR VAGEM**

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	1	8.287202	8.287202	64.508	0.0000
TRATAMENTO	7	0.752486	0.107498	0.837	0.5628
SEMENTE*TRATAMENTO	7	0.898686	0.128384	0.999	0.4443
BLOCO	3	0.735805	0.245268	1.909	0.1416
erro	45	5.781020	0.128467		
-----					
Total corrigido	63	16.455198			
-----					
CV (%) =	9.55				
Média geral:	3.7548437	Número de observações:	64		
-----					

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

TRATAMENTO

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE /1	1	1.786050	1.786050	13.903	0.0005
SEMENTE /2	1	0.667013	0.667013	5.192	0.0275
SEMENTE /3	1	1.110050	1.110050	8.641	0.0052
SEMENTE /4	1	0.515113	0.515113	4.010	0.0513
SEMENTE /5	1	0.535612	0.535612	4.169	0.0471
SEMENTE /6	1	0.328050	0.328050	2.554	0.1170
SEMENTE /7	1	2.163200	2.163200	16.839	0.0002
SEMENTE /8	1	2.080800	2.080800	16.197	0.0002
Erro	45	5.781020	0.128467		
-----					

Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

SEMENTE

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO /1	7	1.066372	0.152339	1.186	0.3298
TRATAMENTO /2	7	0.584800	0.083543	0.650	0.7119
Erro	45	5.781020	0.128467		
-----					

Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE INOCULADA



**Variável analisada: NÚMERO DE GRÃOS POR GRAMA**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE	1	4.136139	4.136139	64.900	0.0000
TRATAMENTO	7	0.558873	0.079839	1.253	0.2951
SEMENTE*TRATAMENTO	7	0.344898	0.049271	0.773	0.6128
BLOCO	3	0.042542	0.014181	0.223	0.8804
erro	45	2.867883	0.063731		

Total corrigido 63 7.950336

CV (%) = 7.52  
 Média geral: 3.3570313 Número de observações: 64

Análise do desdobramento de SEMENTE dentro de cada nível de:

TRATAMENTO

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE /1	1	0.292613	0.292613	4.591	0.0376
SEMENTE /2	1	0.281250	0.281250	4.413	0.0413
SEMENTE /3	1	0.726013	0.726013	11.392	0.0015
SEMENTE /4	1	0.456013	0.456013	7.155	0.0104
SEMENTE /5	1	0.292612	0.292612	4.591	0.0376
SEMENTE /6	1	1.029612	1.029612	16.156	0.0002
SEMENTE /7	1	0.300313	0.300313	4.712	0.0353
SEMENTE /8	1	1.102612	1.102612	17.301	0.0001
Erro	45	2.867883	0.063731		

Codificação usada para o desdobramento

cod. TRATAMENTO

1 = COBRE 2 = CASUGAMICINA 3 = ÁCIDO PERACÉTICO 4 = CLORETOS DE BENZALCÔNIO 5 = VAPOR ETANOL 6 = VAPOR METANOL 7 = OZÔNIO 8 = SEM TRATAMENTO.

Análise do desdobramento de TRATAMENTO dentro de cada nível de:

SEMENTE

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO /1	7	0.372772	0.053253	0.836	0.5634
TRATAMENTO /2	7	0.531000	0.075857	1.190	0.3273
Erro	45	2.867883	0.063731		

Codificação usada para o desdobramento

cod. SEMENTE

1 = SEMENTE BÁSICA 2 = SEMENTE INOCULADA

**Variável analisada: INCIDÊNCIA (30 DAS)**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	7	3261.822950	465.974707	0.703	0.6695
BLOCO	3	544.690975	181.563658	0.274	0.8435
erro	21	13917.586875	662.742232		
Total corrigido	31	17724.100800			
CV (%) =	28.99				
Média geral:	88.8025000	Número de observações:		32	

**Variável analisada: INCIDÊNCIA (45 DAS)**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	7	3574.218750	510.602679	1.356	0.2747
BLOCO	3	683.593750	227.864583	0.605	0.6191
erro	21	7910.156250	376.674107		
Total corrigido	31	12167.968750			
CV (%) =	20.53				
Média geral:	94.5312500	Número de observações:		32	

**Variável analisada: INCIDÊNCIA (60 DAS)**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	7	3574.218750	510.602679	1.356	0.2747
BLOCO	3	683.593750	227.864583	0.605	0.6191
erro	21	7910.156250	376.674107		
Total corrigido	31	12167.968750			
CV (%) =	20.53				
Média geral:	94.5312500	Número de observações:		32	

**Variável analisada: SEVERIDADE (30 DAS)**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	7	8.524197	1.217742	0.558	0.7808
BLOCO	3	3.325684	1.108561	0.508	0.6809
erro	21	45.805391	2.181209		
Total corrigido	31	57.655272			
CV (%) =	42.21				
Média geral:	3.4990625	Número de observações:		32	

**Variável analisada: SEVERIDADE (45 DAS)**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	7	11.717222	1.673889	0.597	0.7510
BLOCO	3	6.461109	2.153703	0.769	0.5244
erro	21	58.841316	2.801967		
Total corrigido	31	77.019647			
CV (%) =	30.36				
Média geral:	5.5128125	Número de observações:		32	

**Variável analisada: SEVERIDADE (60 DAS)**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	7	33.291250	4.755893	1.815	0.1371
BLOCO	3	7.717900	2.572633	0.982	0.4202
erro	21	55.021850	2.620088		
Total corrigido	31	96.031000			
CV (%) =	24.16				
Média geral:	6.7000000	Número de observações:		32	

**Variável analisada: ÁREA ABAIXO DA CURVA DE PROGRESSO DA MURCHA DE CURTOBACTERIUM (AACPMC)**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	7	13101.580200	1871.654314	0.974	0.4753
BLOCO	3	4316.526675	1438.842225	0.749	0.5353
erro	21	40360.910125	1921.948101		
Total corrigido	31	57779.017000			
CV (%) =	27.54				
Média geral:	159.2000000	Número de observações:		32	