

DURABILIDADE DA RESISTÊNCIA INDUZIDA POR ULVANA E EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO NO CONTROLE DA ANTRACNOSE DO FEIJÃO

PERSISTENCE OF ULVAN-INDUCED RESISTANCE AND EFFECT OF INOCULUM CONCENTRATION IN THE CONTROL OF BEAN ANTHRACNOSE

Rafael Fascin SCHONS¹; Mateus Brusco de FREITAS²; Marciel João STADNIK³

1. Engenheiro Agrônomo, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC, Brasil. rafael_schons@hotmail.com; 2. Mestre em ciências, área de concentração: Recursos Genéticos Vegetais, Centro de Ciências Agrárias – UFSC, Florianópolis, SC, Brasil; 3. Professor, Doutor, UFSC, Florianópolis, SC, Brasil. stadnik@cca.ufsc.br

RESUMO: O presente trabalho teve por objetivo avaliar a duração da resistência induzida, a eficiência do número e intervalo de aplicações de ulvana, bem como a influência de diferentes concentrações de inóculo no controle e na severidade da antracnose do feijão. Para tanto, foram realizados três experimentos independentes. Plantas de feijão (*P. vulgaris*, cv. Uirapuru) foram cultivadas em condições de casa-de-vegetação e, no primeiro experimento, foram pulverizadas com ulvana em uma única aplicação aos: nove dias antes da inoculação (dai) V3(i); seis dai V3(m); três dai V3(f); ou duas aplicações consecutivas realizadas aos nove e seis dai V3(i)/(m); nove e três dai V3(i)/(f) ou seis e três dai V3(m)/(f) e inoculadas em um mesmo momento. No segundo e terceiro experimentos, plantas de feijão foram tratadas duas vezes (seis e três dai) e inoculadas em diferentes momentos ou com diferentes concentrações de inóculo, respectivamente. A pulverização de ulvana reduziu a severidade da antracnose em cerca de 50%. Duas aplicações de ulvana foram mais eficientes em induzir respostas de defesa em feijão contra a antracnose que somente uma. A maior redução (96%) da doença ocorreu com pulverizações sucessivas em V3(m)/(f). O efeito de duas aplicações do polissacarídeo persistiu até nove dias após o tratamento. A redução na severidade da antracnose foi maior quando foram utilizadas concentrações intermediárias de inóculo (10^5 e 10^6 conídios por mL).

PALAVRAS-CHAVE: *Colletotrichum lindemuthianum*. *Phaseolus vulgaris*. Resistência induzida. *Ulva fasciata*. Ulvana.

INTRODUÇÃO

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Scrib. é uma das doenças mais importantes da cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). A doença tem sua origem, geralmente, pela utilização de sementes contaminadas ou pela presença de restos culturais infectados, podendo causar grandes perdas de produção (WORDELL FILHO; STADNIK, 2008). Até o presente momento, a utilização de cultivares resistentes e a pulverização de fungicidas são as principais medidas recomendadas para o controle da doença (WORDELL FILHO; STADNIK, 2008). Por outro lado, a exigência crescente dos consumidores por alimentos livres de agrotóxicos aliada ao aumento nos custos da produção, contaminação do ambiente e a ocorrência de microorganismos resistentes, vem levando a uma necessidade de se utilizar métodos alternativos para o controle de doenças. A utilização de extratos de vegetais e de algas marinhas surge como uma alternativa barata e menos agressiva ao homem e ao ambiente

(TALAMINI; STADNIK, 2004; PAULERT et al., 2009).

Em trabalho de bioprospecção com algas nativas da costa catarinense, verificou-se que extratos e polissacarídeos da alga verde *Ulva fasciata* apresentam potencial para controlar doenças da cultura do feijão, tais como o oídio (*Erysiphe polygoni*) e a antracnose (*C. lindemuthianum*) (TALAMINI; STADNIK, 2004). Algas do gênero *Ulva*, conhecidas popularmente como “alface do mar”, encontram-se amplamente distribuídas e vêm sendo utilizadas na alimentação humana, na medicina e agricultura (CLUZET et al., 2004; PAULERT et al., 2009). Devido a sua rápida proliferação e produção de biomassa em ambientes eutrofizados, indivíduos desta espécie podem provocar problemas ecológicos, conhecidos como marés verdes, ao longo de áreas costeiras (PAULERT et al., 2009).

A ulvana é um heteropolissacarídeo sulfatado solúvel em água, extraído das paredes celulares de algas marinhas do gênero *Ulva*, representando de 8 a 29% do peso seco da alga (PAULERT et al., 2009). Este polissacarídeo é composto por ramnose, xilose, glicose, manose,

galactose e ácidos urônicos (PAULERT et al., 2009). Em condições de casa-de-vegetação, verificou-se que a aplicação foliar preventiva de ulvana, em feijão, é capaz de reduzir a severidade da antracnose (*C. lindemuthianum*) em 40% (PAULERT et al., 2009). Devido ao fato de que a ulvana não inibe o crescimento micelial e a germinação de conídios do fungo *in vitro*, tem-se sugerido que o controle é resultado da indução de resistência da planta. De fato, Cluzet et al. (2004) comprovaram em alfafa (*Medicago truncatula* Gaertn.), que a aplicação preventiva de ulvana atua como um eficiente elicitor de uma série de reações de defesa nas plantas, em resposta à infecção de *Colletotrichum trifolii* (Bain.).

Embora se tenha demonstrado o potencial da ulvana como indutor de resistência em feijão, não se sabe até o momento qual a duração da resistência induzida por este polissacarídeo, bem como se a pressão de inóculo do fungo ou o estágio fenológico da planta afetam a sua eficiência. Assim, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar a duração da resistência induzida, bem como, o efeito do número e intervalo de aplicações de ulvana e, de diferentes concentrações de inóculo no controle da antracnose.

MATERIAL E MÉTODOS

Condições experimentais

Realizaram-se três experimentos em condições de casa-de-vegetação, entre os meses de setembro de 2008 e abril de 2009. Para tanto, plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Uirapuru) foram cultivadas em vasos plásticos (dois litros), contendo uma mistura de solo argiloso e composto orgânico (4:1; v/v). Aos nove dias após a semeadura (seis sementes por vaso), quando as plantas apresentavam as folhas primárias completamente expandidas, realizou-se um desbaste deixando-se três plantas por vaso. As plantas foram irrigadas de acordo com as necessidades hídricas da cultura. O controle de oídio e de insetos foi feito por meio de pulverizações quinzenais de enxofre 80% (5g L⁻¹) e dos inseticidas deltametrina (3mL L⁻¹) e malathion (2,5mL L⁻¹).

O polissacarídeo ulvana foi obtido a partir da alga *Ulva fasciata*, conforme descrito por Paulert et al. (2009). Para isso, 100g da alga seca foram autoclavadas durante duas horas a uma temperatura de 110°C em um litro de água destilada. A solução aquosa obtida foi filtrada e em seguida realizou-se a precipitação do polissacarídeo com a adição de três volumes de etanol (98°GL),

seguido do resfriamento a -20°C por 48h. Os compostos precipitados foram coletados após o tempo mencionado, secos a 45 ± 5°C por 48h até peso constante e posteriormente mantidos a 5°C até utilização nos ensaios. As plantas foram pulverizadas com uma solução de ulvana (10mg mL⁻¹) com o auxílio de uma pistola acoplada a um motocompressor de ar, até o ponto de escorrimento foliar (aproximadamente 5mL por planta).

Utilizou-se o isolado MANE 001-03 da raça fisiológica 73 de *Colletotrichum lindemuthianum*. Para obtenção e multiplicação do inóculo, utilizaram-se culturas desenvolvidas em meio BDA por 10 dias a 25°C e 12h de fotoperíodo. Discos foram retirados das placas e depositados em tubos de ensaio contendo vagens verdes previamente esterilizadas. O inóculo foi multiplicado durante 15 dias nas vagens, em temperatura e fotoperíodo idênticos aos anteriormente citados. Para a quantificação e utilização do inóculo, os esporos do fungo foram coletados mediante a adição de 10mL de água destilada e posterior agitação dos tubos. A suspensão conidial obtida foi filtrada por uma camada dupla de gaze e a concentração de conídios foi ajustada com o auxílio de hemacitômetro de Neubauer para 3 x 10⁶ conídios por mL para os dois primeiros ensaios. Para o terceiro ensaio a concentração foi ajustada conforme o tratamento relacionado. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara úmida, no escuro, por 48 horas. Findo este período, as plantas foram transferidas novamente para bancada em casa-de-vegetação, onde permaneceram até a avaliação dos sintomas da antracnose.

A severidade da antracnose foi avaliada, na primeira e segunda folha trifoliolada de cada planta, aos 15 dias após a inoculação. Para tanto, utilizou-se a escala de notas de Rava et al. (1993) que varia de 1 a 9, sendo: 1 = ausência de sintomas; 2 = até 1% das nervuras apresentando machas necróticas, perceptíveis somente na face inferior da folha; 3 = maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau 2, até 3% das nervuras afetadas; 4 = até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis em ambas as faces da folha; 5 = maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau 4, até 3% das nervuras afetadas; 6 = manchas necróticas nas nervuras, perceptíveis em ambas as faces da folha, presença de algumas lesões nos talos, ramos e pecíolos; 7 = manchas necróticas na maioria das nervuras, com grande parte do tecido do mesófilo adjacente rompendo-se e presença abundante de lesões nos talo, ramos e pecíolos; 8 = manchas necróticas quase na

totalidade das nervuras, ocasionando rompimento, desfolha, e redução do crescimento das plantas, assim como lesões muito abundantes nos talos, ramos e pecíolos; 9 = maioria das plantas mortas. Em seguida, as notas foram transformadas para porcentagem de área foliar afetada conforme descrito por Marques Júnior et al. (1997).

Experimento 1 - Influência dos estádios de desenvolvimento na resistência induzida por ulvana

Neste experimento, avaliou-se o efeito do número e do intervalo de aplicações de ulvana na severidade da antracnose. Para isso, plantas foram pulverizadas com ulvana em uma única aplicação, no início (i), meio (m) ou fim (f) do estágio fenológico V3 (primeiro trifólio completamente expandido), isto é, aos: a) nove dias antes da inoculação (dai) V3(i); b) 6 dai V3(m); c) 3 dai V3(f); ou duas aplicações consecutivas realizadas aos d) nove e seis dai V3(i)/(m); e) nove e três dai V3(i)/(f) ou f) seis e três dai V3(m)/(f). Plantas não tratadas serviram como testemunhas (T). A inoculação de todas as plantas foi realizada no estágio fenológico V4 (terceiro trifólio completamente desenvolvido), 21 dias após a semeadura.

Experimento 2 - Efeito do intervalo de tempo entre aplicações de ulvana e inoculação

Neste experimento, avaliou-se o efeito do intervalo de tempo entre aplicações de ulvana e a inoculação sobre a severidade da antracnose. Para tanto, as plantas foram pulverizadas duas vezes com ulvana, aos seis e três dai, durante o estágio fenológico V3. Diferentemente do experimento anterior, todas as plantas foram tratadas em um mesmo momento e a inoculação foi realizada aos: a) três; b) seis ou c) nove dias após a última pulverização de ulvana.

Plantas não tratadas foram utilizadas como testemunhas para cada um dos momentos de inoculação, isto para que não houvesse influência do estágio fenológico das plantas nos resultados obtidos.

Experimento 3 - Efeito da concentração do inóculo

Neste ensaio, avaliou-se o efeito de diferentes concentrações de inóculo sobre a resistência induzida pela ulvana contra a antracnose do feijão. As plantas foram pulverizadas duas vezes com ulvana (10mg mL^{-1}), durante o estágio fenológico V3, aos seis e três dias antes da inoculação com *C. lindemuthianum*. Os tratamentos

consistiram das seguintes concentrações de inóculo: 10^4 , 10^5 , 10^6 e 10^7 conídios por mL. Para cada concentração de inóculo, plantas não tratadas serviram como testemunhas.

Análise estatística

Utilizou-se o delineamento experimental completamente casualizado, com seis repetições para os experimentos 1 e 2 e cinco repetições para o experimento 3. Cada repetição foi constituída de um vaso com três plantas. No segundo experimento utilizou-se o teste T de Student ($p \leq 0,05$) para a separação de médias. Já para o primeiro e o terceiro experimento realizou-se um teste de homogeneidade de variâncias e posteriormente, a análise de variância, seguida do teste de separação de médias de Tukey ($p \leq 0,05$), com o software Statistica – Stat Soft®, versão 6.0. Para dados que não apresentaram variâncias homogêneas realizou-se a transformação com a utilização de raiz quadrada (\sqrt{x}) ou de logaritmo (Log).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1 - Influência dos estádios de desenvolvimento na resistência induzida por ulvana

No primeiro trifólio, 15 dias após a inoculação, a maior severidade da antracnose foi registrada nas plantas testemunhas, as quais receberam nota média 6 (Figura 1), correspondendo a aproximadamente 40% da área foliar com sintomas da antracnose. Uma ou duas aplicações de ulvana, em qualquer momento do estágio de desenvolvimento V3, reduziram significativamente a severidade da antracnose em relação à testemunha, no primeiro trifólio. Entretanto, a solução de ulvana pulverizada em V3(m)/(f), aos três e seis dias antes da inoculação (dai), ou em V3(i)/(m) (seis e nove dai) resultou na maior redução da severidade da antracnose. Ainda para o primeiro trifólio, observou-se que tratamentos com uma pulverização de ulvana tiveram efeitos semelhantes entre si, já duas aplicações sucessivas resultaram em maior redução na severidade da doença (Figura 1).

No segundo trifólio, 15 dias após a inoculação, a maior severidade da antracnose foi registrada em plantas testemunhas, as quais receberam nota média próxima a 7, correspondendo a aproximadamente 60% da área foliar afetada. Com exceção da aplicação em V3(i), uma ou duas aplicações de ulvana, no estágio de desenvolvimento V3, reduziram significativamente a severidade da antracnose em relação à

testemunha, no segundo trifólio. O maior controle da doença ocorreu com pulverizações em V3(m)/(f)

(aos três e seis dai).

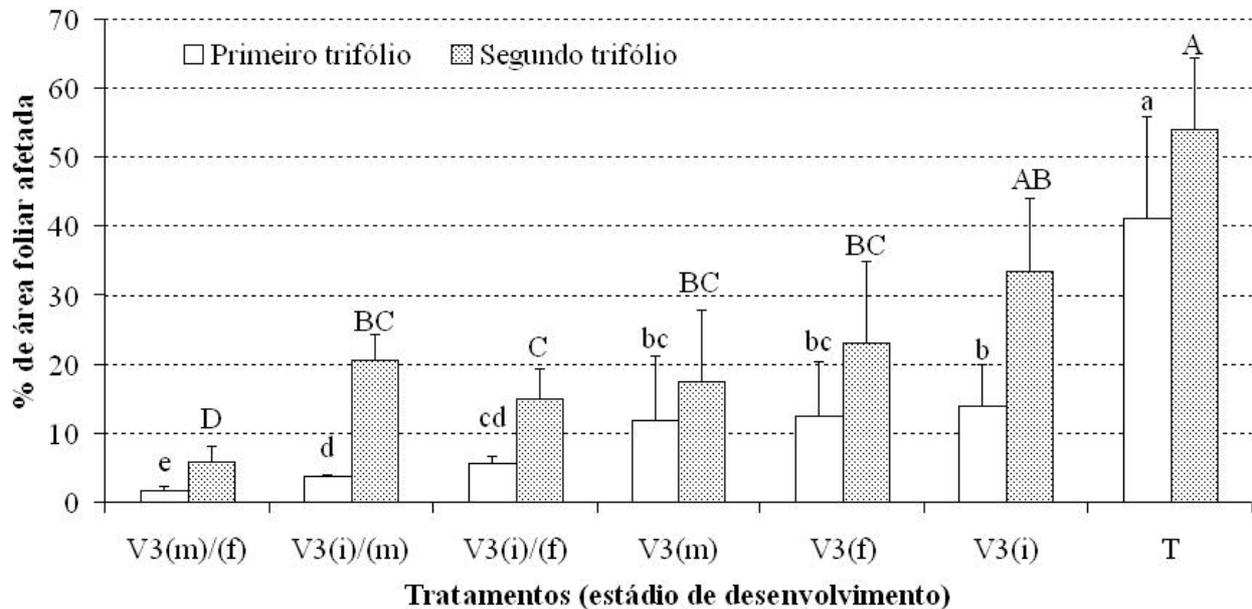


Figura 1. Severidade da antracnose em plantas de *Phaseolus vulgaris* (cv. Uirapuru), no primeiro e segundo trifólios 15 dias após a inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, tratadas preventivamente com ulvana no início (V3(i)), meio (V3(m)) e fim (V3(f)) do estágio fenológico V3 (primeiro trifólio completamente expandido). Letras diferentes, para o mesmo trifólio, indicam diferenças significativas a 5% de significância pelo teste de Tukey. Barras indicam os desvios padrões das médias.

No presente trabalho, a pulverização de ulvana (10mg mL^{-1}) promoveu uma redução de cerca de 70% na severidade da antracnose, resultados semelhantes foram obtidos por Paulert et al. (2009). Considerando que a ulvana não possui efeito antifúngico e que pode elicitar respostas de defesa tanto local quanto sistemicamente em plantas (CLUZET et al., 2004; PAULERT et al., 2009), é provável que a redução de doença tenha sido causada por mecanismos de defesa induzidos pelo polissacarídeo. Geralmente, a expressão da resistência induzida leva a uma redução no tamanho e/ou número de lesões causadas no hospedeiro pelo patógeno, levando assim, a um atraso no desenvolvimento da doença (HAMMERSCHMIDT, 1999; STADNIK; MARASCHIN, 2004).

Para o primeiro trifólio, aos 15 dias após a inoculação, observou-se uma maior redução na severidade da antracnose com duas pulverizações de ulvana. Duas aplicações sucessivas sensibilizariam melhor a planta, tendo melhor efeito para o controle da antracnose. Cluzet et al. (2004) verificaram que dois tratamentos sucessivos com ulvana protegeram plantas de *Medicago truncatula*, contra o agente causal de antracnose (*Colletotrichum trifolii*), de forma mais

eficaz do que apenas um único tratamento. Isto é evidenciado com o fato de que a expressão do gene PR10-1 persistiu até sete dias após um único tratamento e pelo menos 10 dias depois de dois tratamentos sucessivos. Cluzet et al. (2004) observaram ainda que tratamentos sucessivos induziram vários genes que não eram afetados por um único tratamento, particularmente genes relacionados a rota das oxilipinas e genes que codificam glutathione S-transferase e uma redutase de isoflavona. Esta capacidade de responder a um pré-tratamento é conhecida como *priming* (CONRATH et al., 2002).

A capacidade de sensibilizar células (*Priming*) foi recentemente descrita para a ulvana por Paulert; Ebbinghaus; Moerschbacher (2010). Segundo estes autores, a pré-incubação de culturas de células de trigo e de arroz com ulvana potencializou a explosão oxidativa gerada pela aplicação posterior de quitina, quando comparada a sua aplicação isoladamente.

A tendência anterior, de que com duas aplicações se obteria um melhor controle da doença em relação a apenas uma, não se apresenta de forma tão evidente para o segundo trifólio. O segundo trifólio no momento de algumas das aplicações de ulvana, não se encontrava totalmente

expandido. Este fato pode ter contribuído para que o trifólio recebesse o tratamento de ulvana em menor intensidade e/ou em apenas parte da sua estrutura. O polissacarídeo ulvana pode elicitar respostas de defesa sistemicamente, entretanto este efeito é mais fraco do que o local (STADNIK; FERNANDES, 2008). Isto pode explicar o menor controle da antracnose no segundo trifólio, o qual teria maior dependência do efeito sistêmico para o controle. Segundo Jung et al. (2009), a resistência sistêmica adquirida pode ser prejudicada por falhas no reconhecimento de um sinal de defesa/*priming*, decorrente de problemas na geração do sinal na folha infectada, ou na translocação do sinal de uma folha para a outra.

Experimento 2 - Efeito do intervalo de tempo entre aplicações de ulvana e inoculação

Aos 15 dias após a inoculação, a maior severidade da antracnose para ambos os trifólios foi registrada nas plantas testemunhas. Estas receberam notas 4,1, 3,9 e 4,2 no primeiro trifólio, e 4,8, 4,3 e 4,3, no segundo trifólio, para as respectivas inoculações aos três, seis ou nove dias após o tratamento com ulvana. A nota média próxima a 4 indicou que as plantas apresentaram aproximadamente 10% da área foliar afetada. A ulvana reduziu de 40 a 55% a antracnose no primeiro trifólio e de 35 a 60% no segundo trifólio.

O tratamento com dupla aplicação de ulvana, nas três situações apresentadas, reduziu significativamente a severidade da antracnose em relação à testemunha, em ambos trifólios avaliados (Figura 2). Sendo que o efeito de duas aplicações sucessivas com ulvana, em reduzir a doença, persistiu até no mínimo nove dias após o tratamento.

O efeito de duas aplicações sucessivas com ulvana, em reduzir a doença, persiste até pelo menos nove dias após o último tratamento. Sabe-se que a resistência induzida é persistente e geralmente, pode ser utilizada no controle de doenças causadas por bactérias fungos e vírus (GOTTSTEIN; KUĆ, 1989; STADNIK; MARASCHIN, 2004). A pulverização de folhas primárias de *P. vulgaris* com ácido dicloroisocotínico ou com *C. lindemuthianum*, protege o primeiro, segundo e terceiro trifólios por até 16 dias, contra os fungos *C. lindemuthianum* e *Uromyces appendiculatus* (DANN; DEVERALL, 1995). A pulverização de soluções de fosfato na primeira e segunda folhas verdadeiras de plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) protege as demais folhas contra o fungo *Colletotrichum lagenarium* (Pass) Ell. e Halst, por até cinco semanas (GOTTSTEIN; KUĆ, 1989). Assim, novos trabalhos devem ser desenvolvidos para verificar a persistência do efeito por um período maior que nove dias.

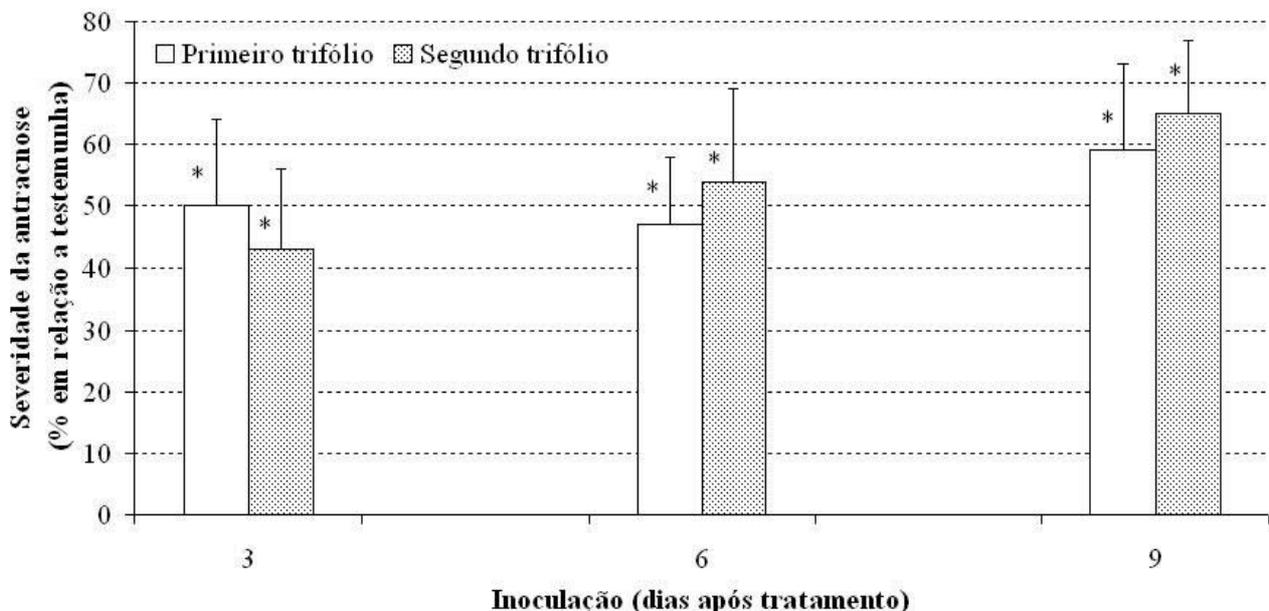


Figura 2. Severidade da antracnose no primeiro e segundo trifólios 15 dias após a inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum* de plantas de *Phaseolus vulgaris* (cv. Uirapuru) tratadas preventivamente duas vezes com ulvana. * Indica diferença significativa, em relação à testemunha, a 5% de significância pelo Teste t. Barras indicam os desvios padrões das médias.

Experimento 3 - Efeito da concentração do inóculo

Aos 15 dias após a inoculação, concentrações crescentes de inóculo resultaram em maior severidade da antracnose, em ambos trifólios avaliados (Figura 3). A menor severidade ocorreu com a menor concentração de conídios, atingindo nota em torno de 1 e 2, o que corresponde desde a ausência de sintomas até 1% da área foliar afetada. Por outro lado, em concentrações de inóculo mais elevadas, a severidade atingiu notas em torno de 4, o que corresponde a aproximadamente 10% da área foliar afetada.

Exceto para a concentração de 10^4 conídios por mL, duas aplicações sucessivas de ulvana, em todas as concentrações de inóculo utilizadas, reduziram significativamente a severidade da antracnose em relação às testemunhas para o primeiro trifólio.

Entretanto, no segundo trifólio, tanto para a concentração mais baixa de inóculo (10^4) como para as concentrações mais altas (10^6 e 10^7) não houve diferença significativa entre a severidade da antracnose de plantas testemunhas e tratadas com ulvana. Duas aplicações sucessivas de ulvana, somente na concentração de 10^5 conídios/mL, reduziram significativamente a severidade da antracnose, neste caso.

Em baixas concentrações de inóculo (10^4 conídios por mL), não foi registrada diferença significativa entre a severidade de plantas tratadas

com ulvana e testemunhas, em ambos os trifólios. Duas hipóteses podem ser levantadas para a explicação destes resultados: 1) em baixas concentrações, a severidade da doença existente é muito pequena, não permitindo a separação das médias dos tratamentos. Sabe-se que a concentração de esporos de *Colletotrichum* spp. está diretamente relacionada com a severidade da doença (DILLARD, 1989; PANDEY et al., 1997) e/ou 2) a escala de notas de Rava et al. (1993) não seria sensível o suficiente para a detecção de pequenas variações na severidade.

Em altas concentrações de inóculo (10^7 conídios por mL) não foi verificada diferença significativa entre a severidade de plantas tratadas com ulvana e testemunhas, no segundo trifólio. Nesta concentração, em que a pressão de inóculo é muito alta, a presença do fungo é tal que a resistência induzida por ulvana não controla significativamente a doença. Por se tratar do segundo trifólio, uma explicação para a ausência de controle pode estar relacionada ao fato de que o efeito sistêmico do tratamento com ulvana é mais fraco do que o efeito local, não sendo suficiente para o controle. Por outro lado, o *priming* induzido em plantas de cevada (*Hordeum vulgare* L.) pela aplicação de sacarina, contra o agente causal da escaldadura (*Rhynchosporium secalis*) foi significativo somente sobre alta pressão de inóculo (10^5 conídios por mL) (WALTERS et al., 2009).

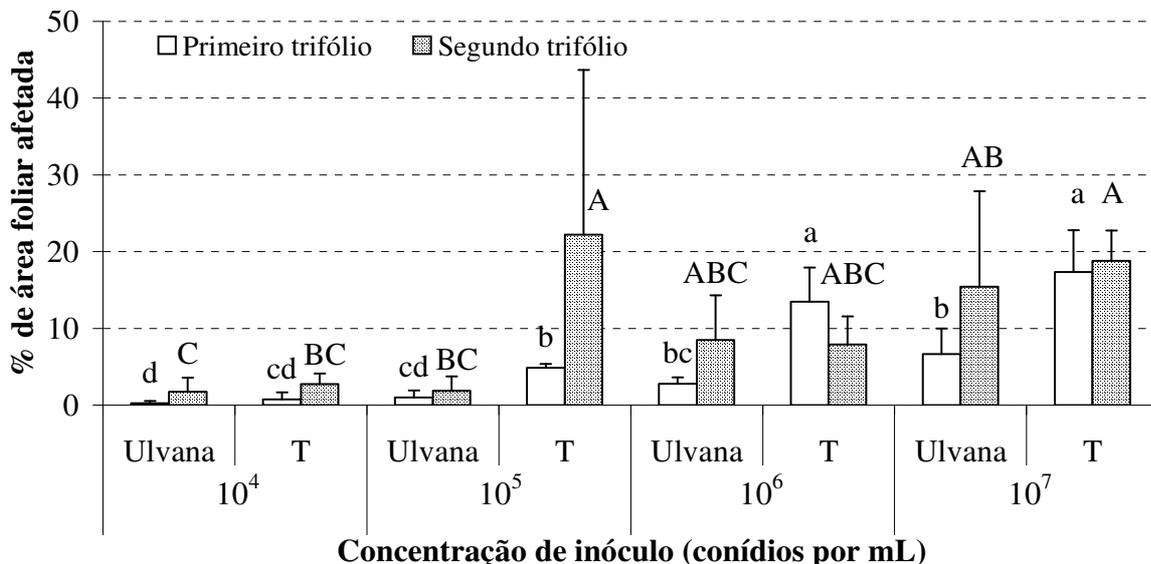


Figura 3. Severidade da antracnose, no primeiro e segundo trifólio, 15 dias após a inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum* de plantas de *Phaseolus vulgaris* (cv. Uirapuru) tratadas duas vezes (seis e três dai) e não tratadas com ulvana sob o efeito de diferentes concentrações de inóculo. Letras diferentes, para o mesmo trifólio, indicam diferenças significativas a 5% de significância pelo teste de Tukey. Barras indicam os desvios padrões das médias.

CONCLUSÕES

Pode-se concluir que, independente do estágio de desenvolvimento, duas aplicações de ulvana foram mais eficientes em controlar a antracnose do feijão (cv. Uirapuru) que somente uma. O efeito de duas aplicações do polissacarídeo persistiu por pelo menos nove dias após o último tratamento, necessitando-se que avaliações mais prolongadas sejam feitas em trabalhos futuros. A ulvana foi mais eficiente em reduzir a severidade

da antracnose quando foram utilizadas concentrações intermediárias de inóculo (10^5 e 10^6 conídios por mL).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e a concessão de bolsas ao primeiro e terceiro autor.

ABSTRACT: The present work aimed to evaluate the persistence of the induced resistance, the efficiency of the number and the interval of ulvan applications and the influence of different inoculum concentrations in the control of bean anthracnose. Three independent experiments were carried out. Bean plants (*P. vulgaris*, cv. Uirapuru) were cultivated under green house conditions and, in the first experiment, they were treated with ulvan once at nine days before inoculation (dbi) V3(i); six dbi V3(m) or three dbi V3(f) or they were treated twice at nine and six dbi V3(i)/(m); nine and three V3(i)/(f) or six and three (dbi) V3(m)/(f), the they were inoculated at the same time. In the second and third experiments, bean plants were treated twice (six and three dbi) then inoculated in different moments or with different inoculums concentrations, respectively. The application of ulvan reduced the anthracnose severity by 50%. Two ulvan applications were more efficient in inducing defense responses in bean plants than a single application. The highest disease reduction (96%) was achieved by spraying ulvan twice at V3(m)/(f). The effect of two applications persists until nine days after the treatment. The reduction on the anthracnose severity was higher when intermediate (10^5 e 10^6 conidia per mL) inoculum concentrations were used.

KEYWORDS: *Colletotrichum lindemuthianum*. *Phaseolus vulgaris*. induced resistance. *Ulva fasciata*. ulvan.

REFERÊNCIAS

- CLUZET, S.; TORREGROSA, C.; JACQUET, C.; LAFITE, C.; FOURNIER, J.; MERCIER, L.; SALAMAGNE, S.; BRIAND, X.; ESQUERRÉ-TUGAYÉ, M. T.; DUMAS, B. Gene expression profiling and protection of *Medicago truncatula* against a fungal infection in response to an elicitor from green algae *Ulva* spp. **Plant, Cell and Environment**, London, v. 27, p. 917-928, jul. 2004.
- CONRATH, U.; PIETERSE, C. M. J.; MAUCH-MANI, B. Priming in plant-pathogen interactions. **Trends in Plant Science**, London, v. 7, p. 210-216, mai. 2002.
- DANN, E. K.; DEVERALL, B. J. Effectiveness of systemic resistance in bean against foliar and soilborne pathogens as induced by biological and chemical means. **Plant Pathology**, London, v. 44, p. 458-466, jun. 1995.
- DILLARD, H. R. Effect of temperature, wetness duration, and inoculum density on infection and lesion development of *Colletotrichum coccodes* on tomato fruit. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 79, p. 1063-1066, out. 1989.
- GOTTSTEIN, H. D.; KUĆ, J. A. Induction of systemic resistance to anthracnose in cucumber by phosphates. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 79, p. 176-179, fev. 1989.
- HAMMERSCHMIDT, R. Induced disease resistance: how to induce plants stop pathogens? **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 55, p. 77-84, ago. 1999.
- JUNG, H. W.; TSCHAPLINSKI, T. J.; WANG, L.; GLAZEBROOK, J.; GREENBERG, J. T. Priming in systemic plant immunity. **Science**, Washington, v. 324, p. 89-91, abr. 2009.

LIMA-FILHO, J. V. M.; CARVALHO, A. F. F. U.; FREITAS, S. M.; MELO, V. M. M. Antibacterial activity of extracts of six macroalgae from the northeastern Brazilian coast. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 311-314, out/dez. 2002.

MARQUES JÚNIOR, O. G. M.; RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; SANTOS, J. B. Viabilidade do emprego de notas na avaliação de alguns caracteres do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 44, n. 254, p. 411-420, 1997.

PANDEY, R. R.; ARORA, D. K.; DUBEY, R. C. Effect of environmental conditions and inoculum density on infection of guava fruits by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Mycopathologia**, Netherlands, v.137, p. 165-172, mar. 1997.

PAULERT, R.; EBBINGHAUS, U. C.; MOERSCHBACHER, B. M. Priming of the oxidative burst in rice and wheat cell cultures by ulvan, a polysaccharide from green macroalgae, and enhanced resistance against powdery mildew in wheat and barley plants. **Plant Pathology**, London, v. 59, p. 634-642, ago. 2010.

PAULERT, R.; TALAMINI, V.; CASSOLATO, J. E. F.; DUARTE, M. E. R.; NOSEDA, M. D.; SMANIA JUNIOR, A.; STADNIK, M. J. Effects of sulfated polysaccharide and alcoholic extracts from green seaweed *Ulva fasciata*, on anthracnose severity and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 116, n. 6, p. 263-270, 2009.

RAVA, C. A.; MOLINA, J.; KAUFFMANN, M.; BRIONES, I. Determinación de razas fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* en Nicaragua. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 388-391, set. 1993.

STADNIK, M. J.; FERNANDES, W. S. Resistance induced by ulvan to *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean (*Phaseolus vulgaris*). In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY (ICPP), 9, 2008, Torino, Itália. **Book of abstracts of 9th International Congress of Plant Pathology**. Pisa, Itália: Edizione ETS, 2008. v. 90. p. 261-261.

STADNIK, M. J.; MARASCHIN, M. Indução de resistência de plantas a fitopatógenos. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. (Eds). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004, p.221-244.

STADNIK, M. J.; PAULERT, R. Uso de macroalgas marinhas na agricultura. In: Congresso Brasileiro de Ficologia/Simpósio latino-americano sobre Algas Nocivas, 11, 2008, Itajaí-SC. **Anais...** Rio de Janeiro: Museu Nacional do Rio de Janeiro, 2008. v. 30. p. 267-279.

TALAMINI, V.; STADNIK, M. J. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. (Eds). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004, p. 45-62.

VAN HULTEN, M.; PELSER, M.; VAN LOON, L. C.; PIETERSE, C. M. J.; TON, J. Costs and benefits of priming for defense in *Arabidopsis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 103, n. 14, p. 5602-5607, abr. 2006.

WALTERS, D.; HEIL, M. Costs and trade-offs associated with induced resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 71, p. 3-17, jul/set. 2007.

WALTERS, D. R.; PATERSON, L.; WALSH, D. J.; HAVIS, N. D. Priming for plant defense in barley provides benefits only under high disease pressure. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 73, p. 95-100, nov. 2009.

WORDELL FILHO, J. A.; STADNIK, M. J. Controle integrado da antracnose no feijoeiro. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 21, n. 1, mar. 2008.