

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS**

DAISY ZAMIRA DELGADO MÉNDEZ

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E RESISTÊNCIA INDUZIDA
POR SACARINA OU ULVANA À FERRUGEM E À MANCHA
ANGULAR DO FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Dr. Marciel J. Stadnik

Florianópolis
2011

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária da
Universidade Federal de Santa Catarina

D352a Delgado Méndez, Daisy Zamira

Aspectos epidemiológicos e resistência induzida por sacarina ou ulvana à ferrugem e à mancha angular do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) [dissertação] / Daisy Zamira Delgado Méndez ; orientador, Marciel João Stadnik. - Florianópolis, SC, 2011.
1 v.: il., grafs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais.

Inclui referências

1. Recursos genéticos vegetais. 2. Feijão comum - Doenças e pragas. 3. *Uromyces appendiculatus*. 4. *Pseudocercospora griseola*. 5. *Ulva fasciata*. 6. Feijão comum - Resistência a doenças e pragas - Aspectos genéticos. I. Stadnik, Marciel Joao. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. III. Título.

CDU 631

Aspectos epidemiológicos e resistência induzida por
sacarina ou ulvana à ferrugem e à mancha angular do
feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)

Por

Daisy Zamira Delgado Mendez

Dissertação julgada e aprovada em 15/07/2011, em sua forma final, pelo Orientador e Membros da Banca Examinadora, para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de Concentração Recursos Genéticos Vegetais, no Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, CCA/UFSC.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Marciel João Stadnik (Presidente/Orientador)

Prof. Dr. Pedro Mondino (Externo/UDELAR/Uruguai)

Prof. Dr. Cileide Maria Medeiros Coelho (Interno/CCA/UFSC)

Prof. Dr. Robson Marcelo Di Piero (Interno/UFSC)

Prof. Dr. Rubens Onofre Nodari (Coodenador do Programa)

Florianópolis, Julho de 2011

*“O senhor é o meu pastor, nada me faltará”
Salmo 23,1*

DEDICO

A Deus pelo amor incondicional que se faz presente em todos os momentos da minha vida, e por me guiar e fortalecer durante cada etapa.

Ao meu amado esposo Carlos pelo amor, apoio incondicional e companhia nesta caminhada onde alcançamos juntos este logro que é o principio de muitos mais que vem pela frente.

Ao orgulho da minha vida, meus pais Rodolfo e Nubia que com sua sabedoria, esforço e dedicação lograram que eu alcançasse mais uma meta. Muito obrigada! Eu amo muito vocês “mis cielitos”.

A meus irmãos Ingrid, Jonattan, Jessica e os meus queridos sobrinhos Santiago e Laura pelo carinho, alegrias e pelos bons momentos.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Catarina por proporcionar o curso de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (RGV) e aos professores e funcionários.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pela bolsa de estudos para a realização dos estudos de mestrado.

Ao Professor Marciel J. Stadnik, pela oportunidade, orientação e ensinamentos durante o desenvolvimento do trabalho.

Aos Professores Robson Di Piero, Pedro Mondino, Cileide Maria Medeiros Coelho e Rosete Pescador por participar da banca examinadora.

A Telma Fallieri Nascimento Queiroz pela gentileza na identificação da raça de *Uromyces appendiculatus*. A EPAGRI/CIRAM estação Itacorubi pelo fornecimento dos dados da estação meteorológica.

À minha Avó Sofia pelas suas orações, as minhas tias Lupe, Marta, Magaly e ao meu tio Dennis que sempre estiveram dando-me apoio durante meus estudos. E a todos meus demais familiares.

Ao Jairo e aos amigos Jose e Fabiana pela ajuda e pelos agradáveis momentos compartilhados.

A meus queridos amigos Mateus e Ricardo pelos conhecimentos compartilhados, pela ajuda, e, sobretudo, pela amizade e colaboração para o desenvolvimento do meu trabalho.

Aos colegas do LABFITOP: Adrielle, Aline, Amanda, Argus, Betina, Bruno, Carol, Catarina, Daniele, Diego, Guilherme, Leandro, Leonardo, Maíra, Sabrina e Valdenir pela amizade e agradáveis momentos.

As minhas “irmãs brasileiras” Paola, Danila, e Flor, muito obrigada pela amizade e, sobretudo pelo carinho.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O uso de indutores de resistência na agricultura apresenta-se como uma das alternativas eficientes para o controle de doenças. O presente trabalho teve por objetivo estudar a resistência induzida por sacarina ou ulvana à ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) e à mancha angular (*Pseudocercospora griseola*) do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Realizaram-se três experimentos em diferentes épocas sob condições de infecção natural com duas cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem). Iniciaram-se as pulverizações das plantas com o primeiro trifólio expandido, em intervalos de quinze dias com água, sacarina ou ulvana. Avaliou-se a severidade final e Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da ferrugem e mancha angular e os componentes de rendimento. Para a avaliação dos efeitos na severidade e nos mecanismos de defesa envolvidos na resistência raça-específica ou induzida da ferrugem, em casa de vegetação, plantas suscetíveis e resistentes com o primeiro trifólio expandido, foram tratadas 6 dias antes da inoculação (DAI) com água e sacarina e 6 e 3 DAI com ulvana e inoculadas com *U. appendiculatus*. Às 24 e 48 horas após a inoculação (HAI) foram retiradas amostras para avaliação da atividade de peroxidases, germinação uredósporos, formação de apressórios e células com acúmulo de peróxido de hidrogênio. Aos 15 dias após a inoculação quantificou-se a porcentagem de área foliar afetada, o número e diâmetro de pústulas e o número de uredósporos por pústula. Pulverizações de sacarina reduziram a severidade final e a AACPD da ferrugem. Para mancha angular reduziu a AACPD no segundo experimento, e a severidade final e AACPD no terceiro experimento. A sacarina aumentou o peso de 100 sementes no terceiro experimento. A ulvana não afetou a ferrugem, mas reduziu a AACPD da mancha angular na cultivar FT 911249 no terceiro experimento. Os componentes de produção nos três experimentos não foram afetados pela ulvana. No experimento em casa de vegetação, a sacarina e ulvana reduziram a severidade da ferrugem. A ulvana elevou a atividade de POX às 24 HAI. Plantas resistentes tiveram maior atividade de POX às 48 HAI. Os tratamentos não afetaram a germinação de uredósporos, formação de apressórios, ou número de células com reação de hipersensibilidade às 24 e 48 HAI respectivamente. Em conclusão sacarina atuou como um indutor de resistência contra a ferrugem e a mancha angular e aumentou o peso de 100 sementes. Sob condição natural a ulvana não afeta a

ferrugem. Em casa de vegetação a ulvana induziu resistência reduzindo a severidade da ferrugem e elevando a atividade de peroxidases.

ABSTRACT

The use of inducers of resistance in agriculture is presented as an efficient alternative for diseases control. The present work aimed to study and defense responses for saccharin and ulvan against rust (*Uromyces appendiculatus*) and angular leaf spot (*Pseudocercospora griseola*) in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). Three experiments were conducted in different periods under conditions of natural infection with two cultivars: SCS 202 Guará (susceptible to rust) and FT 911249 (resistant to rust). Plants were sprayed at the first trifoliolate growth stage at intervals of fifteen days with water, saccharin or ulvan. The final severity and Area Under Disease Progress Curve (AUDPC) of rust and angular leaf spot and yield components were determined. For the evaluation of effects on the severity and defense mechanisms involved in resistance race-specific or induced resistance to rust, in greenhouse conditions, plants susceptible and resistant plants showing the first trifoliolate leaf expanded where sprayed 6 days before inoculation (DBI) with water and saccharin and 6 and 3 DBI with ulvan and then inoculated with *U. appendiculatus*. At 24 and 48 h after inoculation (HAI) leaves were sampled for assessment of peroxidases (POX) activity, uredospores germination, appressorium formation and cells with hydrogen peroxide accumulation. At 15 days after inoculation the percentage of affected foliar area, diameter and number of pustules and number of uredospores per pustule were quantified. Saccharin spraying reduced the final severity and AUDPC of rust. The AUDPC to angular leaf spot in the second experiment, and the final severity and AUDPC in the third experiment. Saccharin spraying increased the weight of 100 seeds in the second and third experiment. The ulvan did not affect the rust, on angular leaf spot AUDPC was reduced to cultivar FT 911249 in the third experiment. The components of production in the three experiments were not affected by ulvan. In the experiment in greenhouse conditions, saccharin and ulvan reduced rust severity. Ulvan spraying increased POX activity at 24 HAI. POX activity was higher in resistant plants at 48 HAI. None of the treatments affected uredospores germination, appressorium formation and hypersensitive cells at 24 and 48 HAI. In conclusion saccharin acts as an inducer resistance against rust and angular leaf spot and increases the weight of 100 seeds. Under natural conditions the ulvan does not affect the rust. In the greenhouse ulvan induced resistance reducing rust severity and increasing the POX activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fases de desenvolvimento do processo infeccioso de <i>U. appendiculatus</i> . Na “fase de penetração” as estruturas são mostradas em marrom, estruturas da “fase parasitária” são mostradas em verde e estruturas da “fase esporulação” são representadas em laranja (Adaptado de VOEGELE, 2006).	5
Figura 2. Folhas de feijoeiro apresentando sintomas da Ferrugem. A. Sintomas iniciais (pequenas manchas esbranquiçadas) aos 6 dias após a infecção. B. Sintoma típico da doença, pústulas com esporulação marrom-avermelhada e halo clorótico em volta da pústula.	5
Figura 3. Trifólio de planta de feijão apresentando sintomas de mancha angular (<i>Pseudocercospora griseola</i>), caracterizado por lesões angulares delimitadas pelas nervuras e acompanhada de um halo clorótico ao redor da mancha.	10
Figura 4. Estrutura dos dois principais dissacarídeos constituintes da ulvana (LAHAYE, et. al., 2008).....	14
Figura 5. Molécula da sacarina sódica.	16
Figura 6. Experimento sob condições de infecção natural de plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem).....	17
Figura 7. Experimento em casa de vegetação de plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) no estágio fenológico V3.....	20
Figura 8. Severidade da ferrugem do feijoeiro (<i>Uromyces appendiculatus</i>) em plantas das cultivares SCS 202 Guará (suscetível) e FT 911249 (resistente) cultivadas no período de 29/09/2009 a 28/12/2009 e pulverizadas a cada 14 dias com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1mg/mL). Letras indicam diferença ao nível 5% de significância pelo Teste de Tukey. Setas indicam os momentos dos tratamentos.	28
Figura 9. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para ferrugem do feijoeiro (<i>Uromyces appendiculatus</i>) em plantas das cultivares SCS 202 Guará (suscetível) e FT 911249 (resistente) cultivadas no período de 29/09/2009 a 28/12/2009 e pulverizadas com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1mg/mL) a cada 14 dias. Letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro	

de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.	28
Figura 10. Severidade da mancha angular do feijoeiro (<i>Pseudocercospora griseola</i>) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 cultivadas no período de 29/09/2009 a 28/12/2009 e pulverizadas a cada 14 dias com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1mg/mL). ns: não significativo ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey. Setas indicam momentos de aplicação dos tratamentos.	29
Figura 11. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para mancha angular do feijoeiro (<i>Pseudocercospora griseola</i>) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 cultivadas no período de 29/09/2009 a 28/12/2009 e pulverizadas a cada 14 dias com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1mg/mL). ns: não significativo ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.	29
Figure 12. Severidade da mancha angular do feijoeiro (<i>Pseudocercospora griseola</i>) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 cultivadas no período de 01/03/2010 a 23/05/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1mg/mL). ns: não significativo ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey. Setas indicam os momentos de aplicação dos tratamentos	30
Figura 13. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para mancha angular do feijoeiro (<i>Pseudocercospora griseola</i>) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 cultivadas no período de 01/03/2010 a 23/05/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1mg/mL). Dados transformados para Log x. NS: não significativo para cultivares e letras minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.	31
Figura 14. Efeito do tratamento preventivo de plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv FT 911249 no controle da mancha angular (<i>Pseudocercospora griseola</i>). A. água e B. sacarina	31
Figura 15. Severidade da ferrugem do feijoeiro (<i>Uromyces appendiculatus</i>) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 cultivadas no período de 29/09/2010 a 27/12/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL). Letras indicam diferença ao nível 5% de	

- significância pelo Teste de Tukey. Setas indicam momentos de aplicação dos tratamentos.....33
- Figura 16. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para a Ferrugem do feijoeiro (*Uromyces appendiculatus*) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 pulverizadas com água, ulvana (1mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL) a cada 14 dias. Cultivadas no período de 29/09/2010 a 27/12/2010. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.....33
- Figura 17. Severidade da mancha angular do feijoeiro (*Pseudocercospora griseola*) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 cultivadas no período de 29/09/2010 a 28/12/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL). Letras indicam diferença ao nível 5% de significância pelo Teste de Tukey. Setas indicam momentos de aplicação dos tratamentos.34
- Figura 18. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para mancha angular do feijoeiro (*Pseudocercospora griseola*) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249, pulverizadas com água, ulvana (1mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL) a cada 14 dias. Dados transformados para Log x. Cultivadas no período de 29/09/2010 a 27/12/2010. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.34
- Figura 19. Peso seco de 100 sementes (g) de feijão em plantas pulverizadas com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1 mg/mL) a cada 14 dias. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.35
- Figura 20. Peso seco de 100 sementes (g) de feijão em plantas pulverizadas com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1 mg/mL) a cada 14 dias. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 7% de significância pelo teste de Tukey.....36
- Figura 21. Peso seco de 100 sementes (g) de feijão em plantas pulverizadas com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1 mg/mL) a cada 14 dias. ns: não significativo, letras maiúsculas

para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey..	37
Figura 22. Porcentagem de área foliar afetada aos 15 DPI em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 pulverizadas com água ou sacarina (0,24 mg/mL) 6 dias antes da inoculação (DAI) ou ulvana (10 mg/mL) 6 e 3 DAI. ns: não significativo Letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey. Dados transformados para $\sqrt{x+1}$.	38
Figura 23. Porcentagem de área foliar afetada por ferrugem (<i>Uromyces appendiculatus</i>) em primeiros trifólios de plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) das cultivares A. SCS 202 Guará tratada com água. B. SCS 202 Guará tratada com sacarina; C. SCS 202 Guará tratada com ulvana; D. FT 911249 tratada com água; E. FT 911249 tratada com sacarina e F. FT 911249 tratada com ulvana.	39
Figura 24. Número de pústulas por centímetro quadrado (NP/cm ²) aos 15 DPI em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 pulverizadas com água ou sacarina (0,24mg/mL) 6 dias antes da inoculação (DAI) ou ulvana (10 mg/mL) 6 e 3 DAI. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey. Dados transformados para $\sqrt{x+1}$.	40
Figura 25. Diâmetro de pústulas 15 DPI em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 pulverizadas com água, sacarina (0,24 mg/mL) 6 dias antes da inoculação e ulvana (10 mg/mL) 6 e 3 DAI. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.	41
Figura 26. Pústulas aos 15 dias após a inoculação no primeiro trifólio de plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 tratadas com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (10mg/mL). Barra= 50 μ m.	41
Figura 27. Número de esporos por pústula 15 DPI em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) das cultivares SCS 202 Guará e	

FT 911249 pulverizadas com água, sacarina (0,24 mg/mL) 6 DAI ou ulvana (10 mg/mL) 6 e 3 DAI. Letras indicam diferença significativa ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.....42

Figura 28. Atividade de peroxidases avaliada no primeiro trifólio de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) da cultivar SCS 202 Guará (suscetível) e FT 911249 (resistente) pulverizados com água, sacarina ou ulvana, 24 (A) e 48 (b) horas após a inoculação de *U. appendiculatus* raça 59-63. Letras maiúsculas para cultivares e letras minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível 5% pelo teste Tukey. NS; ns: não significativo pelo teste Tukey ao nível 5% respectivamente.....43

Figura 29. Germinação de uredósporos da raça 59-63 de *Uromyces appendiculatus* (A e B), acúmulo de peróxido de hidrogênio e reação de hipersensibilidade em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (C), Uredósporo germinado com apressório penetrando pelo estômato com reação de hipersensibilidade nas células guarda ao redor do poro estomático 24 e 48 horas após a inoculação. UR: uredósporo; TG: tubo germinativo; AP: apressório; ES: estômato; CERH: célula epidérmica apresentando reação de hipersensibilidade; APH: acúmulo de peróxido de hidrogênio nas paredes das células do mesófilo; CMRH: célula do mesófilo com reação de hipersensibilidade; PES: poro estomático; CGRH: células guarda com reação de hipersensibilidade. Barra= 10µm46

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Nova série de cultivares diferenciadoras para *Uromyces appendiculatus* proposta no “3rd Bean Rust International Workshop”, realizado em 2002, na África do Sul (STEADMAN et al., 2002). 7
- Tabela 2. Principais fontes de resistência ao fungo *Uromyces appendiculatus* identificadas em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). 9
- Tabela 3. Número de vagens por plantas e número de sementes por vagem em plantas feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), pulverizadas com água, sacarina e ulvana a cada 14 dias, cultivadas no período de 29/09/2009 a 28/12/2009. 35
- Tabela 4. Número de vagens por plantas e número de sementes por vagem em plantas feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), pulverizadas com água, sacarina e ulvana a cada 14 dias, cultivadas no período de 01/03/2010 a 23/05/2010. 36
- Tabela 5. Número de vagens por planta e número de sementes por vagem em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) pulverizadas com água, sacarina e ulvana a cada 14 dias, cultivadas no período de 29/09/2010 a 27/12/2010. 37
- Tabela 6. Porcentagem de germinação de uredósporos e formação de apressórios de *Uromyces appendiculatus* sobre a superfície foliar de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249, tratadas com água, sacarina ou ulvana. 44
- Tabela 7. Número de células epidérmicas com reação de hipersensibilidade/cm² na superfície foliar de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249, pulverizadas com água, sacarina ou ulvana, 24 e 48 horas após a inoculação com a raça 59-63 de *Uromyces appendiculatus*. 45

LISTA DE ABREVIATURAS

AACPD	Área abaixo da curva do progresso da doença
APH	Acúmulo de peróxido de hidrogênio
ANOVA	Análise de variância
AP	Apressório
BSA	Albumina de soro bovino
CH	Célula Hipersensitiva
CERH	Célula epidérmica com reação de hipersensibilidade
CGRH	Células guarda com reação de hipersensibilidade
CMRH	Célula do mesófilo com reação de hipersensibilidade
DAB	Diaminobenzidina
DAI	Dias antes da inoculação
ES	Estômato
HAI	Horas após a inoculação
ISR	Resistência sistêmica induzida
NS	Não significativo
PES	Poros estomáticos
POX	Peroxidases
PR	Proteína relacionada à patogênese
RH	Reação de hipersensibilidade
SAR	Resistência sistêmica adquirida
TG	Tubo germinativo
UR	Uredóspero

LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1. Estádios de desenvolvimento do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) Adaptado de Schoonhoven & Pastor-Corrales (1987). 69
- Anexo 2. Dados metereológicos registrados durante os experimentos nos períodos de 29/09/2009 a 28/12/2009; 01/03/2010 a 23/05/2010 e 29/09/2010 a 27/12/2010. Estação Epagri/Ciram Itacorubi, Florianópolis, SC. 70
- Anexo 3. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) da severidade final e Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 29/09/2009 a 28/12/2009 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL). 71
- Anexo 4. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) da severidade final e Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da mancha angular (*Pseudocercospora griseola*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 29/09/2009 a 28/12/2009 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL). 72
- Anexo 5. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) do peso seco de 100 sementes, número de vagens por planta e número de sementes por vagem em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 29/09/2009 a 28/12/2009 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL). 73
- Anexo 6. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) da severidade final e AACPD da mancha angular (*Pseudocercospora griseola*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no primeiro experimento 01/03/2010 a 23/05/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL). 74

- Anexo 7. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) do peso seco de 100 sementes, número de vagens por planta, número de sementes por vagem em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 01/03/2010 a 23/05/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL). 75
- Anexo 8. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) da severidade final e Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da Ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 29/09/2010 a 28/12/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL). 76
- Anexo 9. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) da severidade final e Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da mancha angular (*Pseudocercospora griseola*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 29/09/2010 a 28/12/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL). 77
- Anexo 10. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) do peso seco de 100 sementes, número de vagens por planta e número de sementes por vagem em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 29/09/2010 a 28/12/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL). 78
- Anexo 11. Análises de variância da atividade de peroxidases às 24 e 48 horas após a inoculação com *Uromyces appendiculatus* raça 59-63 em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) pulverizadas 6 dias antes da inoculação (DAI) com água, sacarina (0,24 mg/mL) e 6 e 3 DAI com ulvana (10 mg/mL). 79
- Anexo 12. Curva padrão utilizando BSA (Albumina de soro bovino) e equação, utilizados para o cálculo do conteúdo de

proteínas em amostras retiradas para a avaliação de peroxidases. 79

- Anexo 13. Análises de variância da porcentagem de área afetada, número de pústulas por centímetro quadrado, diâmetro de pústulas, taxa de esporulação em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) pulverizadas 6 dias antes da inoculação com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (10 mg/mL). 80
- Anexo 14. Análises de variância (ANOVA) para o número de células com reação de hipersensibilidade/cm², avaliando 24 e 48 horas após a inoculação de *Uromyces appendiculatus* raça 59-63, em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) pulverizadas 6 dias antes da inoculação com água, sacarina (0,24 mg/mL) e 6 e 3 DAI com ulvana (10 mg/mL). 81
- Anexo 15. Análises de variância (ANOVA) para germinação de uredósporos e formação de apressórios avaliados às 24 e 48 horas após a inoculação (HAI), em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) pulverizadas 6 dias antes da inoculação com sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (10 mg/mL). 82

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	1
2	OBJETIVOS	2
2.1	Objetivo geral	2
2.2	Objetivos específicos.....	2
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3.1	A CULTURA DO FEIJOEIRO.....	3
3.2	FERRUGEM DO FEIJOEIRO	4
3.3	RESISTÊNCIA RAÇA ESPECÍFICA	7
3.4	MANCHA ANGULAR.....	10
3.5	RESISTÊNCIA INDUZIDA	11
3.6	MECANISMOS DE DEFESA EM PLANTAS	12
3.7	<i>Ulva</i> sp. E ULVANA.....	13
3.8	SACARINA SÓDICA.....	15
4	METODOLOGIA.....	17
4.1	EFEITO DA PULVERIZAÇÃO DE SACARINA E ULVANA SOBRE A FERRUGEM E A MANCHA ANGULAR DO FEIJOEIRO SOB INFECÇÃO NATURAL.....	17
4.1.1	Condições de cultivo	17
4.1.2	Preparação e aplicação dos tratamentos	18
4.1.3	Avaliação da Ferrugem e Mancha Angular.....	18
4.1.4	Avaliação de componentes de rendimento	19
4.1.5	Delineamento experimental e Estatística.....	19
4.2	AVALIAÇÃO DO EFEITO NA SEVERIDADE E NOS MECANISMOS DE DEFESA INTERAÇÃO PATÓGENO- HOSPEDEIRO	20
4.2.1	Condições de cultivo de feijoeiro	20
4.2.2	Obtenção de ulvana	21
4.2.3	Tratamento das plantas.....	22

4.2.4	Manutenção do inóculo	22
4.2.5	Inoculação das plantas de feijoeiro	22
4.2.6	Avaliação da severidade da ferrugem	23
4.2.7	Determinação da atividade de peroxidases.....	24
4.2.8	Detecção da reação de hipersensibilidade	25
4.2.9	Delineamento experimental e análise estatística	25
5	RESULTADOS.....	27
5.1	EFEITO DA PULVERIZAÇÃO DE SACARINA E ULVANA SOBRE A FERRUGEM E A MANCHA ANGULAR DO FEIJOEIRO SOB INFECCÃO NATURAL	27
5.1.1	Avaliação de doença no Experimento I.....	27
5.1.2	Avaliação de doença no Experimento II	30
5.1.3	Avaliação de doença no Experimento III	32
5.1.4	Componentes de rendimento	35
5.2	EFEITO NA SEVERIDADE E NOS MECANISMOS DE DEFESA NA INTERAÇÃO FERRUGEM-FEIJOEIRO	38
5.2.1	Porcentagem de área afetada.....	38
5.2.2	Número de pústulas por centímetro quadrado.....	39
5.2.3	Diâmetro de pústulas	40
5.2.4	Taxa de esporulação	42
5.2.5	Peroxidasas.....	43
5.2.6	Germinação de uredósporos e formação de apressórios de <i>U.</i> <i>appendiculatus</i>	44
5.2.7	Reação de hipersensibilidade	45
6	DISCUSSÃO.....	47
7	BIBLIOGRAFIA.....	57
8	ANEXOS	69

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) possui uma grande importância social e econômica em diferentes países, principalmente em países em desenvolvimento da América Latina e África. No Brasil, o feijão constitui umas das principais fontes de proteína utilizada na alimentação da população brasileira (FANCELLI & DOURADO NETO, 1997). Com isso, esforços têm sido despendidos para se obter melhores níveis de produtividade, a qual tem sido severamente afetada pela incidência de doenças, sobretudo as de origem fúngica. Entre tais doenças merece destaque a ferrugem, incitada pelo fungo *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Unger e a mancha angular ocasionada pelo fungo *Pseudocercospora griseola* Crous & Braun, que quando presentes as condições ideais, têm causado sérios prejuízos aos produtores (VIEIRA et al., 2005).

Para o manejo integrado destas doenças, as medidas de controle comumente utilizadas são cultivares resistentes e a pulverização com fungicidas, por reduzirem a taxa de progresso da doença (STAVELY e PASTOR-CORRALES, 1989; PAULA JUNIOR e ZAMBOLIM, 1998). Apesar da existência de cultivares resistentes à ferrugem e à mancha angular, o controle genético dessas doenças é dificultado devido à existência de muitas raças fisiológicas e à alta taxa de variabilidade destes patógenos (SINGH, 2001; SILVA et al., 2001). Nesse contexto, o uso de indutores de resistência tem se mostrado como uma alternativa eficiente e seu uso tem baixo risco ao meio ambiente.

Dentre os indutores de resistência temos os de origem natural como os polissacarídeos extraídos de algas verdes. Estudos têm demonstrado seu potencial indutor para o controle de diferentes doenças do feijoeiro como a antracnose, o oídio e a ferrugem (PAULERT et al., 2009; DE FREITAS et al., 2011; JAULNEAU et al., 2011; BORSATO et al., 2010). Outro grupo de indutores de resistência é representado por aqueles sintéticos, como a sacarina que induz resistência em feijoeiro contra a ferrugem, mediante aplicação via solo (SIEGRIST et al. 1998). Considerando o exposto anteriormente o objetivo do trabalho foi estudar aspectos epidemiológicos e a resistência induzida por sacarina ou ulvana à ferrugem e a mancha angular do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar os aspectos epidemiológicos e a resistência induzida por sacarina ou ulvana à ferrugem e à mancha angular do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da pulverização da água (testemunha), sacarina ou ulvana sobre a ferrugem e a mancha angular sob condições de infecção natural, das plantas identificadas como suscetíveis e resistentes;

Avaliar o efeito da pulverização da água (testemunha), sacarina ou ulvana sobre os componentes de rendimento: número de vagens por planta, número de sementes por vagem e peso de 100 sementes;

Avaliar o efeito da aplicação foliar de sacarina ou ulvana na severidade da ferrugem em casa de vegetação;

Monitorar a atividade da enzima peroxidase 24 e 48 horas após a inoculação de *Uromyces appendiculatus* raça 59-63 em plantas suscetíveis e resistentes à ferrugem e tratadas com água (testemunha), sacarina ou ulvana;

Verificar o acúmulo de peróxido de hidrogênio nos sítios de interação 24 e 48 horas após a inoculação de *Uromyces appendiculatus* raça 59-63 em plantas identificadas como suscetíveis e resistentes à ferrugem e tratadas com água (testemunha), sacarina e ulvana;

Avaliar o efeito da aplicação foliar de sacarina ou ulvana sobre a germinação de uredósporos e formação de apressórios às 24 e 48 horas após a inoculação com *Uromyces appendiculatus* raça 59-63 em plantas identificadas como suscetíveis e resistentes.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A CULTURA DO FEIJOEIRO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a espécie mais conhecida do gênero *Phaseolus*, da família Fabaceae. É uma planta anual, herbácea e com uma ampla distribuição no mundo. Dentro do gênero *Phaseolus* existem cerca de 55 espécies já identificadas além de *P. vulgaris*, e entre as que são cultivadas estão *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolius* A. Gray var. *latifolius* Freeman, e *P. polyanthus* Greenman. Seu centro de origem localiza-se na América Latina, um centro de origem mesoamericano, principalmente no México e o segundo de origem andina que abrange o sul dos Andes, sobretudo, o noroeste da Argentina e o sul do Peru (DEBOUCK *et al.*, 1993; SHING, 2001).

O feijão é um alimento básico das populações de países em desenvolvimento da América Latina, Caribe e no leste da África. (SINGH, 1999), por ser uma importante fonte de proteína (20-25%) e de vitaminas. Possui ainda bom conteúdo de carboidratos, ferro e ácidos graxos livres (linoléico e linolênico), além de fornecer grande quantidade de fibras solúveis e insolúveis (BROUGHTON *et al.*, 2003; SCHNEEMAN, 1986; SINGH & SINGH 1992).

No Brasil, o feijoeiro-comum é uma das principais culturas com uma área total de aproximadamente 3,7 milhões de hectares e uma produção nacional de aproximadamente 3,3 milhões de toneladas. Apesar da relevância desta cultura no Brasil, a produtividade média nacional ainda é muito baixa, cerca de 930 kg.ha⁻¹ (IBGE, 2010). Um dos fatores que explicam essa situação é o grande número de doenças que acometem o feijoeiro (VIEIRA *et al.*, 2005). Entre elas, destacam-se as de origem fúngica tais como a ferrugem, causada pelo fungo *Uromyces appendiculatus*, a mancha angular causada por *Pseudocercospora griseola*, e a antracnose causada por *Colletotrichum lindemutianum* que, dependendo das condições climáticas, do estágio de desenvolvimento das plantas e do uso de cultivares suscetíveis, podem ocasionar prejuízos na produção (JESUS JUNIOR *et al.*, 2001).

3.2 FERRUGEM DO FEIJOEIRO

A ferrugem do feijoeiro é causada pelo fungo *Uromyces appendiculatus*. Esta doença está distribuída por várias partes do mundo, mas causa os maiores danos à produção nas áreas com temperatura tropical e subtropical e em regiões com períodos longos de alta umidade (STAVELY *et al.* 1989; PASTOR-CORRALES, 2003).

U. appendiculatus é um parasita obrigatório que pertence ao Filo Basidiomycota, classe Teliomycetes da ordem Uredinales e família Puccianiceae (ITIS, 2008; STAVELY & PASTOR CORRALES 1989). Infecta principalmente as folhas, mas também pode ser encontrados em vagens, ramos e em todas as partes verdes das plantas de feijão. O fungo completa todo o ciclo em um único hospedeiro (autóico) e é macrocíclico, produzindo vários tipos de esporos que são os uredósporos, teliósporos, basidiósporos, picniósporos e aeciósporos. Os picnidísporos e aeciósporos são raramente observados na natureza (MCMILLAN *et al.*, 2003). No Brasil, *U. appendiculatus* sobrevive na fase uredial onde os uredósporos são produzidos na urédia (pústulas), são marrom-alaranjados, unicelulares, elipsóides ou globosos com parede ornamentada, podem ter dois poros germinativos equatoriais ou superequatorial e medem 20-27 µm x 24-30 µm (BIANCHINI *et al.*, 2005).

Os uredósporos de *U. appendiculatus* são favorecidos por períodos (10-18 horas) de umidade relativa de 95% e temperaturas entre os 16 a 24 °C. Nessas condições ideais, a germinação ocorre durante as primeiras seis a oito horas. O patógeno inicia o processo infeccioso desenvolvendo o tubo germinativo e formando o apressório que entra em contacto com as bordas dos estômatos, e emite uma hifa que penetra e forma uma vesícula subestomática. Em seguida, forma os haustórios intracelulares nas células do mesófilo para a retirada dos nutrientes das células. Eventualmente, vão se formando mais haustórios e hifas intracelulares, até a formação de uma pequena urédia (Figura 1) (STAVELY & PASTOR-CORRALES, 1989). Estas pequenas urédias são os primeiros sintomas observados aos 6 e 7 dias após a infecção como pequenas manchas esbranquiçadas, levemente salientes, recobertas pela cutícula da folha, que aumentam de tamanho com o desenvolvimento da doença (Figura 2a), até que aos 10 a 12 dias rompem a epiderme formando os sinais típicos da doença que são

pústulas maduras marrom-avermelhadas (Figura 2b) (BIANCHINI *et al.*, 2005).

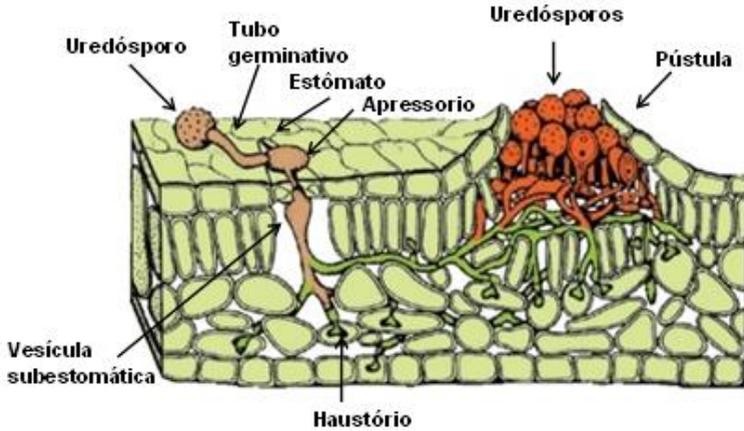


Figura 1. Fases de desenvolvimento do processo infeccioso de *U. appendiculatus*. Na “fase de penetração” as estruturas são mostradas em marrom, estruturas da “fase parasitária” são mostradas em verde e estruturas da “fase esporulação” são representadas em laranja (Adaptado de VOEGELE, 2006).

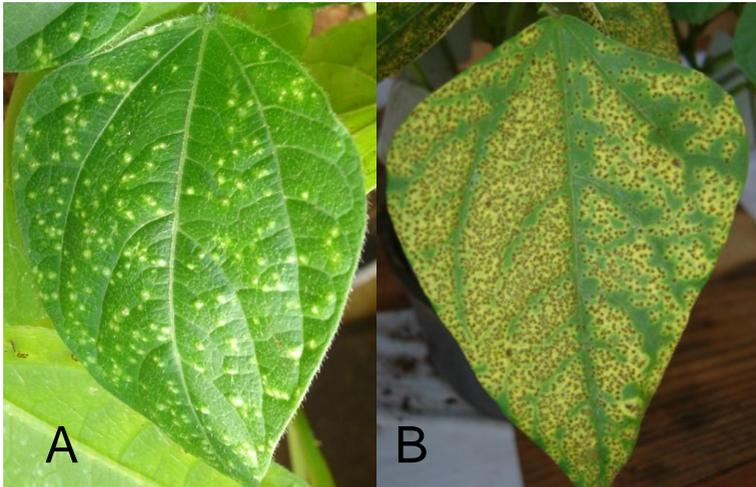


Figura 2. Folhas de feijoeiro apresentando sintomas da Ferrugem do feijoeiro. A. Sintomas iniciais (pequenas manchas esbranquiçadas) aos 6 dias após a infecção. B. Sintoma típico da doença, pústulas com esporulação marrom-avermelhada e halo clorótico em volta da pústula.

U. appendiculatus apresenta uma alta variabilidade patogênica, expressa em um grande número de raças identificadas e relatadas em todas as áreas produtoras de feijão do mundo. Na região tropical e subtropical, sua reprodução é assexuada e pode apresentar diversas gerações durante o ciclo de vida do hospedeiro, podendo gerar grande variabilidade genética ao longo das várias gerações do fungo (STAVELY *et al.*, 1989; STAVELY & PASTOR-CORRALES, 1989; PASTOR-CORRALES, 2001; SOUZA, *et al.*, 2008).

A utilização de cultivares resistentes no controle da ferrugem vem recebendo maior atenção por parte de pesquisadores, por ser um método mais apropriado, pois permite a redução de custos, evita o uso de agrotóxicos e é acessível a produtores de qualquer nível econômico (FALEIRO *et al.*, 2001; SOUZA *et al.*, 2008). Uma das maiores dificuldades para os avanços em programas de melhoramento que visam obter variedades resistentes é o desconhecimento da variabilidade do fungo, já que constitui a primeira parte do programa de melhoramento onde se sugere a realização de levantamentos contínuos das raças dos patógenos que prevalecem nas áreas produtoras juntamente com a procura de fontes de resistência (ALLARD, 1971; SOUZA, *et al.*, 2005).

Durante o “The Bean Rust Workshop”, realizado em 1983 em Porto Rico, 35 pesquisadores de diferentes países padronizaram uma série de 20 cultivares diferenciadoras, bem como se adotou uma escala de avaliação dos tipos de infecção causadas pelo patógeno (STAVELY *et al.*, 1983). A partir destes procedimentos, muitas raças foram descritas no mundo e no Brasil (STAVELY & PASTOR-CORRALES, 1989; MORA-NUÑES *et al.*, 1992; FALEIRO, 1999). Porém, a nomenclatura atribuída às raças continuou sendo desuniforme, dificultando a interpretação e comparação dos resultados dos diferentes grupos de pesquisa (SOUZA *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2003). No “3rd International Bean Rust Workshop” realizado em 2002, na África do Sul, foi proposta uma nova série de cultivares diferenciadoras, contendo seis cultivares de origem Andina e seis de origem mesoamericana para classificar e designar raças aos patótipos de *U. appendiculatus* com o sistema de nomenclatura binária (Tabela 1) (STEADMAN *et al.*, 2002).

Este sistema se caracteriza pela separação, por meio de um hífen, dos valores obtidos com a avaliação das diferenciadoras de origem Andina e Mesoamericana. Para a nomenclatura atribuída à raça 59-63 do presente trabalho, o primeiro número foi obtido da soma dos valores binários referentes às variedades Andinas (Early Gallatin, Redlands Pioneer, PC-50, Golden Gate Wax, PI 260418), e o segundo número após o hífen, foi dado pela soma dos valores binários das variedades Mesoamericanas (Great Northern 1140, Aurora, Mexico 309, Mexico 235, Compuesto Negro Chimaltenango, PI 181996).

Tabela 1. Série de cultivares diferenciadoras para *Uromyces appendiculatus* proposta no “3rd Bean Rust International Workshop”, realizado em 2002, na África do Sul (STEADMAN *et al.*, 2002).

Ordem	Variedade	Gene	Origem	Valor Binário
A	Early Gallatin	<i>Ur-4</i>	Andina	1
B	Redlands Pioneer	<i>Ur-13</i>	Andina	2
C	Montcalm	<i>Ur-?</i> *	Andina	4
D	PC-50	<i>Ur-9, Ur-12</i>	Andina	8
E	Golden Gate Wax	<i>Ur-6</i>	Andina	16
F	PI 260418	<i>Ur-?</i> *	Andina	32
A	Great Northern 1140	<i>Ur-7</i>	Mesoamericana	1
B	Aurora	<i>Ur-3</i>	Mesoamericana	2
C	Mexico 309	<i>Ur-5</i>	Mesoamericana	4
D	Mexico 235	<i>Ur-3</i> ⁺	Mesoamericana	8
E	Compuesto Negro Chimaltenango	<i>Ur-?</i> *	Mesoamericana	16
F	PI 181996	<i>Ur-11</i>	Mesoamericana	32

* Gene ainda não caracterizado.

3.3 RESISTÊNCIA RAÇA ESPECÍFICA

A resistência do hospedeiro é o mecanismo mais eficaz de controle contra a ferrugem do feijoeiro. Mas a utilidade dessa resistência em condições de campo pode ser facilmente quebrada devido à alta variabilidade patogênica. O grande número de raças é um fator limitante para o desenvolvimento de cultivares resistentes, já que cultivares lançadas como resistentes à ferrugem em um único local ou período podem passar a ser suscetíveis pelo aparecimento de uma nova raça do

patógeno (PASTOR CORRALES *et al.*, 2010, STAVELY & PASTOR CORRALES, SOUZA *et al.*, 2011).

Existem evidências da interação gene-a-gene entre plantas de feijoeiro e a ferrugem. Esse tipo de resistência pode ser chamada de raça específica e é controlada por uma série de genes que conferem resistência para determinadas raças do fungo. Essa resistência é semelhante à que ocorre na interação entre o fungo *Melampsora lini*, agente causal da ferrugem do linho (*Linum usitatissimum* L.), e que descreve que quando existe um sistema de reconhecimento do tipo gene-gene, a reação é incompatível quando o hospedeiro possui um gene dominante de resistência “R” e o patógeno possui um gene dominante de avirulência “avr” correspondente. Nesse patossistema também existem vários alelos dominantes e de herança simples controlando resistência raça específica, onde a resistência pode ser controlada por dois ou mais genes dominantes complementares (STAVELY & PASTOR CORRALES, 1989; SINGH 1991; LIEBENBERG E PRETORIUS, 2004).

A resistência à ferrugem do feijoeiro é controlada por uma série de genes do tipo dominante (KELLY *et al.*, 1996) (Tabela 2). A maioria destes genes é pertencente ao pool gênico da região Andina e outros ao pool gênico Mesoamericano. Genes provenientes de pool gênico andino são mais suscetíveis à maioria de raças de *U. appendiculatus* de origem andina. No entanto, esses mesmos genes apresentam resistência a muitas raças de origem Mesoamericano. Genes de origem Mesoamericanos têm mais amplo espectro de resistência a diferentes raças da ferrugem do feijoeiro (PASTOR-CORRALES & LIEBENBERG, 2010; SOUZA *et al.*, 2011).

No Brasil, a cultivar Ouro Negro tem sido a mais usada para introduzir genes de resistência à ferrugem do feijoeiro, esta cultivar tem sido resistente a vários patótipos de *U. appendiculatus* identificados em Minas Gerais por Faleiro *et al.* (1999). Esta cultivar está caracterizada pelo gene *Ur-ON*, assim denominado pelo fato de não ser ainda caracterizado. No entanto, Souza *et al.* (2011) verificaram recentemente que a cultivar Ouro Negro, apresenta genes distintos dos genes já caracterizados (Tabela 2). Deste modo eles propuseram que esse gene fosse nomeado de *Ur-14*.

Tabela 2. Principais fontes de resistência ao fungo *Uromyces appendiculatus* identificadas em feijão* (*Phaseolus vulgaris*).

Origem	Cultivar / fonte	Gene
Mesoamericana	B1627 (Genótipo Gallaroy I)	<i>Ur-1</i>
Mesoamericana	B2090 (Gallaroy Genótipo II)	<i>Ur-2</i>
Mesoamericana	AxS 37	<i>Ur-22</i>
Mesoamericana	Aurora	<i>Ur-3</i>
Mesoamericana	México e Equador 235 299	<i>Ur-3+</i>
Andina	Beleza Gallatin e Brown início	<i>Ur-4</i>
Mesoamericana	México 309	<i>Ur-5</i>
Andina	Golden Gate Wax	<i>Ur-6</i>
Andina / Mesoamericana	Pinto Olathe	<i>Ur-6+</i>
Mesoamericana	Grande do Norte 1140	<i>Ur-7</i>
Andina	EUA # 3	<i>Ur-8</i>
Andina	PC-50	<i>Ur-9</i>
Andina	Resisto	<i>Ur-10</i>
Mesoamericana	PI181996	<i>Ur-11</i>
Andina	PC-50	<i>Ur-12</i>
Andina (?)	Redlands Pioneer	<i>Ur-13</i>

* Adaptado de SOUZA *et al.* (2011).

3.4 MANCHA ANGULAR

A mancha angular do feijoeiro vem se tornando nos últimos anos uma das doenças mais importantes na produção do feijão, já que pode chegar a causar perdas na produção de até 70%, sob condições ambientais favoráveis à doença (SARTORATO, 2002; SARTORATO & RAVA, 1992).

O agente causal é *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & U. Braun, pertence à classe Deuteromicetos, à ordem Moniliales e à família Stilbalceae (CROUS *et al.*, 2006; BARNETT & HUNTER 1972). A mancha angular afeta principalmente as folhas, além de vagens, caules e ramos. Seus sintomas característicos são lesões de formato angular delimitada pelas nervuras e dependendo da cultivar, podem apresentar um halo clorótico ao redor de forma indefinida (Figura 3).



Figura 3. Trifólio de planta de feijão apresentando sintomas de mancha angular (*Pseudocercospora griseola*), caracterizado por lesões angulares delimitadas pelas nervuras e acompanhada de um halo clorótico ao redor da mancha.

Inicialmente aparecem na face abaxial da folha pequenos pontos cinza, produzidos pelo fungo que são grupos de conidióforos denominados de corêmios. Estes são compostos por um pequeno número de conidióforos, geralmente de 8 a 40, que crescem eretos e

mais ou menos paralelos, formando tufos, em cuja parte superior formam-se os conídios. Os conidióforos são de cor escura na base, tornando-se gradualmente hialinas no topo.

Quando coalescem as lesões podem chegar a cobrir toda a área foliar, causando o amarelecimento das folhas e o desfolhamento prematuro. Nas vagens, as lesões podem ocasionar sementes mal formadas. Caule, ramos e pecíolos podem apresentar lesões alongadas cor castanho-escuro (CORREA-VICTORIA *et al.*, 1989).

As condições favoráveis para que ocorra uma epidemia são temperaturas com mínima de 16°C e máxima de 30°C, e uma ótima de 24° C. Para a formação de corêmios e início de esporulação é necessária alta umidade a 24°C por 24 e 48 horas, respectivamente. Sua disseminação ocorre principalmente pelas chuvas, ventos, sementes e partículas de solo contaminado. O controle pode ser através de práticas culturais como o uso de sementes sadias, a rotação de culturas por dois anos, a eliminação de restos culturais e o uso de fungicidas. O uso de cultivares resistentes seria uma medida muito eficiente e econômica para o produtor, mas no Brasil são poucas as cultivares que apresentam resistência ao patógeno devido a alta variabilidade patogênica (SARTORATO & RAVA, 2002).

3.5 RESISTÊNCIA INDUZIDA

A resistência de plantas a patógenos é comum na natureza as plantas se encontram em contínuo contato com um grande número de microorganismos potencialmente patogênicos (AGRIOS, 2005). Com isso, as plantas permanecem sadias devido à manifestação de vários mecanismos de defesa. Alguns desses mecanismos são pré-formados, que visam conter a agressão, representados por estruturas físicas, como camadas de cera, cutícula, adaptações em estômatos e compostos antifúngicos. Ainda, existem os mecanismos de defesa que são ativados após o reconhecimento do patógeno, os quais envolvem a formação de papilas, halos, lignificação, formação de tilose, além da síntese de compostos de defesa como as fitoaleximas, proteínas relacionadas à patogênese e espécies ativas de oxigênio (AGRIOS, 2005; PASCHOLATI & LEITE, 1995, KIRALY *et al.*, 2007).

Dependo de sua origem, os agentes indutores podem ser classificados como sintéticos ou naturais. No patossistema ferrugem-feijoeiro, têm sido relatados como indutores de origem natural, organismos não patogênicos como rizobactérias fluorescentes e fungos como *Trichoderma* spp. (ABEYSINGHE, 2009 a, ABEYSINGHE, 2009 b.) e extrato de algas, tais como *Ulva fasciata* (BORSATO, 2010). Vários trabalhos identificaram como potentes indutores sintéticos em feijoeiro contra a ferrugem o benzothiadiazole (BTH), um composto químico sintético que apresenta estrutura similar ao ácido salicílico, e sacarina sódica. A sacarina é uma imida sulfobenzóica derivada do probenazole, usado também no controle de doenças das culturas do arroz e da cevada (MAFFI *et al.*, 2011; IRITI & FAORO 2003; SIEGRIST, 1998).

A resistência induzida é quando o aumento dos níveis de resistência da planta atua como uma consequência da ativação de seus genes ou grupos de genes aparentemente inatos, usando agentes externos (indutores bióticos ou abióticos), sem a modificação do genoma da planta. Deste modo, a resistência induzida é evidenciada pela redução no tamanho e/ou número de lesões causadas no hospedeiro pelo patógeno, resultando em um atraso no desenvolvimento da doença (STADNIK & MARASCHIN, 2004; VAN LOON *et al.*, 2006).

3.6 MECANISMOS DE DEFESA EM PLANTAS

Uma vez que ocorre a interação planta-patógeno, inicia-se o reconhecimento da planta ao patógeno, quando o hospedeiro responde de uma forma incompatível, que pode culminar com a formação de barreiras estruturais como o espessamento da parede celular e cutícula, além da formação de papilas, tilose e camadas de cortiça, além de respostas bioquímicas como compostos fenólicos, proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-RP) e espécies ativas de oxigênio (CAVALCANTI, 2005; PASCHOLATI & LEITE, 1995).

As peroxidases são enzimas que participam nos mecanismos de defesa das plantas e têm um papel importante na indução de resistência por estarem diretamente associadas com processos tais como a deposição de lignina e suberização na parede celular das plantas, participar no cross-linking de hidroxiprolina rica em proteínas na matriz

da parede celular e tem uma importante função de controle do estado de redox no apoplasto (VAN LOON *et al.*, 2006).

As espécies ativas de oxigênio são moléculas reduzidas, transitórias e altamente reativas, produzidas na via metabólica de transformação do oxigênio molecular (O_2) em água (H_2O). Essas, são produzidas após a percepção dos sinais de avirulência do patógeno, desencadeando uma explosão oxidativa. Uma das principais funções das EAO's é o efeito tóxico direto, de forma que atua como um agente antifúngico e antibacteriano, porém pode ainda estar envolvida na sinalização durante a indução da formação de fitoalexinas (VAN LOON & VAN STREIN, 1999; RESENDE *et al.*, 2003; CAVALCANTI, 2005).

Outro mecanismo de defesa é a reação de hipersensibilidade (RH) que é a morte repentina de um número determinado de células do hospedeiro ao redor dos sítios de infecção do patógeno levando a um bloqueio da doença (THORDAL-CHRISTENSEN *et al.*, 1997; PASCHOLATI & LEITE, 1995). Além disso, o reconhecimento do patógeno, associado ou não com a RH, estabelece um estado de imunidade em tecidos próximos do local de infecção (resistência sistêmica local, RSL) e muitas vezes também em órgãos distais (resistência sistêmica adquirida, RSA) (STICHER *et al.*, 1997). Para patógenos biotróficos, como as ferrugens, a morte celular localizada pode ser eficaz para conter seu desenvolvimento, já que elas sobrevivem a partir dos nutrientes extraídos de células vivas. Entretanto, para patógenos necrotróficos, a morte celular pode ser considerada nociva pelo acarretamento da liberação de compostos pré-formados que se acumulam nos locais de infecção possibilitando o estabelecimento desses patógenos (HAMMOND-KOSACK & JONES, 1996).

3.7 *Ulva* sp. E ULVANA

As algas marinhas produzem diversos compostos bioativos de interesse agrícola com atividades antimicrobianas, bioestimulantes e podem ser usados como indutores de resistência. As principais algas usadas na agricultura são as algas-marrom, que desde há muito tempo vêm sendo usadas como fertilizantes do solo, e recentemente estudos têm revelado seu potencial no crescimento de plantas, germinação de

sementes e como indutor de resistência de plantas a doenças (TALAMINI & STADNIK, 2004; PAULERT *et al.*, 2009).

A macroalga *Ulva fasciata* Delile pertence ao filo *Chlorophyta*, de cor predominantemente verde, talo ereto e achatado, medindo de 2-2,5 cm de comprimento e 1-5,5cm de largura, apresenta um apressório pequeno com o qual se fixa nos costões rochosos (BOKER-TORRES, 2005). Esta alga pode ser encontrada em praticamente todo o litoral brasileiro onde frequentemente estão envolvidas em problemas ecológicos devido a sua proliferação como marés-verdes. O seu uso potencial na biomassa para a obtenção de compostos bioativos poderia resolver este problema (PAULERT *et al.*, 2009).

A ulvana é um heteropolissacarídeo sulfatado solúvel em água e representa a maior fração polimérica da parede celular com 8 a 29% do peso seco *Ulva* spp. (PAULERT *et al.*, 2009, LAHAYE & ROBIC, 2007). Os dois açúcares principais repetitivos são ácidos aldobiurônicos designados como designados como tipo A (ácido ulvanobiurônico 3-sulfato) (A_{3s}) e tipo B (ácido ulvanobiurônico 3-sulfato) (B_{3s}) (Figura 4).

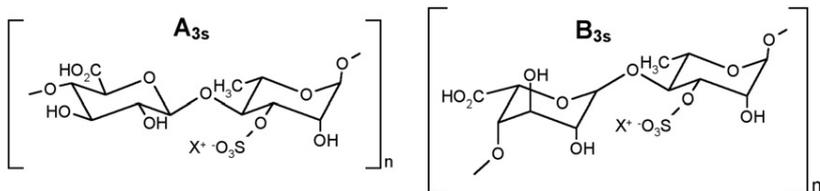


Figura 4. Estrutura dos dois principais dissacarídeos constituintes da ulvana (LAHAYE, et. al., 2008).

Fernandes (2007) analisou diferentes extratos de algas e de plantas aquáticas e observou que o tratamento com ulvana reduziu local e sistemicamente o número e o desenvolvimento de lesões nas cultivares de feijoeiro suscetível à antracnose IPR Uirapuru e Mouro Graúdo.

Paulert *et al.*, (2009) verificaram que aplicações foliares preventivas de ulvana em feijoeiro reduziram a severidade da antracnose (*Colletotrichum lindemutianum*) em 38%. No mesmo patossistema, Freitas (2011), usando uma formulação de ulvana em mistura com sílica

amorfa ou caulinita, obteve uma redução de 45%, na severidade da antracnose.

No patossistema *U. appendiculatus*-feijoeiro, BORSATO *et al.*, (2010) observou que em plantas tratadas com ulvana houve a redução do diâmetro das pústulas de *U. appendiculatus* em plantas de feijão das cultivares Brígida, Pérola e Juriti, pulverizadas aos 6 e 3 dias antes da inoculação do patógeno, quando comparadas com as plantas da mesma cultivar tratadas com água destilada.

A pulverização de ulvana reduziu local e sistemicamente em cerca de 65% a severidade da mancha foliar de *Glomerella* em plântulas de maçã cv. Gala, quando aplicada 6 dias antes da inoculação com o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (ARAÚJO *et al.*, 2008), demonstrando o potencial da ulvana como possível indutor de resistência em macieira.

3.8 SACARINA SÓDICA

A sacarina foi descoberta pelos químicos Ira Remsen e Constantin Fahlberg, em 1879, quando estavam investigando a oxidação de toluenosulfonamida. Fahlberg notou um inexplicável sabor doce em seus alimentos e descobriu que essa doçura estava presente em suas mãos e braços, mesmo após tê-los lavado (KAUFFMAN & PRIEBE, 1978).

Sua fórmula química é $C_7H_4NNaO_3S \cdot 2H_2O$ (Figura 5) e é um metabólito do probenazole que é capaz de induzir resistência no arroz para melhorar o controle de *Magnaporthe grisea* e *Xanthomonas oryzae*, eventualmente através da indução dos mecanismos de defesa do hospedeiro (UCHIYAMA *et al.*, 1973).

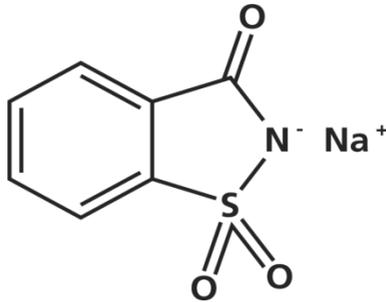


Figura 5. Fórmula estrutural da molécula da sacarina sódica.

Tem sido demonstrado que a sacarina induz resistência sistêmica quando aplicada no solo, contra o vírus do mosaico do fumo, em pepino contra *C. lagenarium* e no feijão contra *U. appendiculatus* (SIEGRIST *et al.*, 1998). Também o tratamento das folhas com sacarina levou a reduções significativas de 50-71% da escaldadura causada pelo fungo *Rhynchosporium secalis* em plantas de cevada inoculadas artificialmente com o patógeno (WALTERS *et al.*, 2009).

Boyle & Walters (2005, 2006) observaram que o tratamento via solo com sacarina reduziu significativamente a porcentagem de área foliar afetada por ferrugem (*U. viciae fabae*) em plantas de fava (*Vicia faba*). Também em cevada (*Hordeum vulgare*), o tratamento protegeu local ou sistemicamente as plantas contra o oídio (*Blumeria graminis*).

No patossistema ferrugem-soja, a sacarina aplicada via solo induz resistência sistêmica adquirida incrementando um dia após a aplicação e não teve nenhum efeito adverso sobre o crescimento da planta (SRIVASTAVA *et al.*, 2011).

4 METODOLOGIA

4.1 EFEITO DA PULVERIZAÇÃO DE SACARINA E ULVANA SOBRE A FERRUGEM E A MANCHA ANGULAR DO FEIJOEIRO SOB INFECÇÃO NATURAL

Os experimentos foram realizados no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, utilizando-se duas cultivares de feijoeiro-comum do grupo carioca, SCS 202 Guará e FT 911249, classificadas como suscetível e resistente à ferrugem do feijoeiro por Borsato (2009), respectivamente.

4.1.1 Condições de cultivo

Foram realizados três experimentos sob condições de infecção natural (Figura 6), o primeiro no período de 29/09/2009 e 28/12/2009, o segundo de 01/03/2010 a 23/05/2010 e o terceiro de 29/09/2010 a 27/12/2010.



Figura 6. Experimento sob condições de infecção natural de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) das cultivares SCS 202 Guará (susceptível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem).

A semeadura foi realizada em vasos plásticos pretos com capacidade para 20 L contendo uma mistura de solo argiloso e composto orgânico, na proporção 3:1 (v/v). Realizou-se um desbaste no estádio V2 (folhas primárias expandidas) deixando-se quatro plantas por vaso. O solo foi adubado a partir do estádio V3 (primeiro trifólio expandido) com 100 ml de uma solução nutritiva e uréia (Eurofit Max[®] fornecendo N, P₂O₅, Fe, Mn, Zn: 10,75; 8,75; 0,005; 7 e 2,5 mg N L⁻¹, respectivamente) em intervalos de 14 dias, totalizando quatro aplicações. As plantas foram irrigadas de acordo com as necessidades hídricas da cultura.

4.1.2 Preparação e aplicação dos tratamentos

A sacarina sódica comercial (C₇H₄NNaO₃S.2H₂O) apresentando 98% de pureza, foi adquirida de Vetec, Rio de Janeiro. A ulvana foi obtida de acordo com a metodologia descrita por Paulert (2005). Para tanto, 100 g de alga seca foram autoclavadas por 2h a 110°C em 1L de água destilada. A solução aquosa foi filtrada e o polissacarídeo foi precipitado pela adição de três volumes de etanol (96°GL) a -20 °C por 48 horas. O precipitado foi coletado, seco em estufa a 40-45°C durante 48 horas e armazenado em freezer a -20°C até utilização nos ensaios.

Quando as plantas apresentavam o estádio V3, iniciou-se a aplicação dos tratamentos em intervalos de 14 dias, totalizando quatro aplicações. Para tanto, sacarina sódica (0,24 mg/mL ou 1mM) ou ulvana (1 mg/mL) foram dissolvidas completamente em água destilada sob agitação a temperatura ambiente. As plantas foram pulverizadas com o auxílio de pulverizador manual de compressão prévia (capacidade 2L, vazão 240 mL/min), até atingir o ponto de escorrimento.

4.1.3 Avaliação da Ferrugem e Mancha Angular

As severidades da ferrugem (*U. appendiculatus*) e da mancha angular (*P. griseola*) foram quantificadas, semanalmente, a partir do aparecimento dos primeiros sintomas (estádio V3) até o estádio R8 (enchimento de grãos). A intensidade de ferrugem foi avaliada visualmente, através de atribuição de uma porcentagem para a área foliar sintomática.

Para a avaliação da mancha angular utilizou-se a seguinte escala de notas de Schoonhoven & Pastor-Corrales (1987) representadas de 1 a 9, sendo 1: sem sintomas visíveis da doença; 3: presença de poucas lesões, sem esporulação e afetando até 2% da área foliar ou das vagens; 5: presença de várias lesões, com esporulação limitada e afetando até 5% da área foliar ou das vagens; 7: Lesões abundantes, com esporulação abundante que geralmente podem juntar-se e estão associadas com tecidos clorótico, afetando cerca de 10% das folhas ou das vagens; 9: 25 % da área foliar ou das vagens coberta por lesões esporulantes grandes que são geralmente cloróticas e podem causar uma desfolha severa e precoce. As vagens afetadas estão geralmente deformadas e enrugadas e com baixo número de sementes.

Cada nota representou um valor em porcentagem de área foliar afetada pelo qual cada nota foi transformada para porcentagem para o cálculo da curva de progresso da doença (AACPD) conforme a seguinte fórmula (1):

$$\text{AACPD} = [((y_1 + y_2)/2 * (t_2 - t_1))] \quad (1)$$

Onde y_1 e y_2 são duas avaliações consecutivas de severidade realizadas nos tempos t_1 e t_2 , respectivamente.

4.1.4 Avaliação de componentes de rendimento

Quando as plantas atingiram o estágio R9 (Maturação fisiológica) colheram-se as plantas e contou-se o número de vagens por planta. Em seguida, as sementes foram retiradas das vagens para a avaliação do número de sementes por vagens. Após a retirada de todas as sementes foram levadas a estufa por 48-72 horas a 50°C até peso constante, e contou-se 100 sementes para avaliação do peso seco de 100 sementes.

4.1.5 Delineamento experimental e Estatística

O experimento foi conduzido sob delineamento em blocos completamente casualizados, com quatro repetições por tratamento, sendo que cada parcela constituída por um vaso com quatro plantas. A bordadura foi formada por vasos com a cultivar SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) para permitir o desenvolvimento da ferrugem.

As análises estatísticas foram realizadas com o programa Sisvar (FERREIRA, 2000). Depois de verificada a homogeneidade das variâncias pelo teste de Bartlett a 5% de significância, os dados foram submetidos à análise de variância e o respectivo teste de F a 5% de significância. A separação das médias foi realizada com o teste de Tukey a 5% de significância.

4.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO NA SEVERIDADE E NOS MECANISMOS DE DEFESA INTERAÇÃO PATÓGENO-HOSPEDEIRO

Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação e no Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina – CCA/UFSC, com as mesmas cultivares utilizadas nos experimentos anteriores (SCS 202 Guará e FT 911249).

4.2.1 Condições de cultivo de feijoeiro

Plantas foram cultivadas sob condições de casa-de-vegetação (Figura 7) em vasos plásticos pretos nº 3 (Plasticofer Ltda.) com capacidade de dois litros contendo uma mistura de solo argiloso e composto orgânico, na proporção 3:1.



Figura 7. Experimento em casa de vegetação de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) no estágio fenológico V3.

Para tanto, distribuiu-se equidistantemente nove sementes por vaso, que foram cobertas com aproximadamente 2,5 cm da mesma mistura de solo. Quando as plântulas atingiram o estágio fenológico V2 (folhas primárias expandidas) foi realizado um desbaste, deixando-se quatro plantas por vaso. Após o desbaste o solo foi adubado a partir do estágio V3 (primeiro trifólio expandido) com 100 ml de uma solução nutritiva e uréia (Eurofit Max[®] fornecendo N, P₂O₅, Fe, Mn, Zn: 10,75; 8,75; 0,005; 7 e 2,5 mg.L⁻¹, respectivamente). Para o controle de oídio, as plantas foram pulverizadas semanalmente com enxofre 80% (3 g/L, Basf, Brasil). A irrigação foi baseada nas necessidades hídricas da cultura.

4.2.2 Obtenção de ulvana

A macroalga marinha *U. fasciata* foi coletada nos costões rochosos da Praia da Armação no litoral de Florianópolis, SC, em janeiro de 2010. A coleta da alga foi registrada no Laboratório de Fitopatologia – Labfitop do CCA sob o número 68. A exsicata da alga encontra-se também depositada no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná sob o código UPCB 61313.

As algas coletadas foram submetidas a uma limpeza manual, para a eliminação de contaminantes. Em seguida, o material selecionado foi lavado com água corrente de torneira, a alga foi pesada e imediatamente colocada em estufa com aeração a 40°C, por 48h. A macroalga seca foi triturada obtendo-se um pó fino, o qual foi pesado e armazenado a 0°C até o momento da extração do polissacarídeo.

O polissacarídeo ulvana foi extraído de acordo com a metodologia descrita por Cluzet *et al.* (2004) e Paulert *et al.* (2009), autoclavando-se 30g do pó seco da macroalga marinha *U. fasciata* em 300mL de água destilada, durante 2h a 110°C. A solução aquosa obtida foi filtrada com auxílio de um pano e em seguida, a ulvana foi precipitada adicionando-se três volumes de etanol 96GL a -20°C por 48h. Após este período retirou-se o primeiro precipitado e incubou-se a solução por mais 48 h para obtenção do segundo precipitado. Após a precipitação, o segundo polissacarídeo foi coletado, seco em estufa a 45°C por 48h, e armazenado a -20°C, até a utilização nos ensaios.

4.2.3 Tratamento das plantas

No estádio V3 (primeiro trifólio expandido), as plantas foram aspergidas duas vezes (6 e 3 dias antes da inoculação) com o polissacarídeo (10 mg/mL). As pulverizações com água ou sacarina (0,24 mg/mL) foram realizadas seis dias antes da inoculação. As soluções foram pulverizadas até atingir o ponto de escorrimento (aproximadamente 3mL/planta).

4.2.4 Manutenção do inóculo

Para a realização dos experimentos foi utilizado o isolado MANE- 4 (Micoteca Anne-Lore Schroeder – CCA – UFSC), raça 59-63 de *U. appendiculatus* que foi obtido de lavoura comercial de feijoeiro da região do Alto Vale do Itajaí – SC (MARTINS, 2006). O inóculo foi multiplicado em feijoeiro cv. SCS 202 Guará por meio de inoculações periódicas de plantas jovens com suspensão (10^6 uredósporos/mL) de uredósporos do fungo.

4.2.5 Inoculação das plantas de feijoeiro

As plantas foram aspergidas com uma suspensão de uredósporos de *Uromyces appendiculatus* (10^6 uredósporos/mL) com auxílio de pistola acoplada a motocompressor de ar com o auxílio de pistola (LPHV, pressão máxima 58psi, bico 0,7mm de diâmetro, marca Grifo, Itália) acoplada a um motocompressor de ar (marca Schulz, Brasil; pressão de 25lbf/pol2; potência de 180W; vazão 105mL/min). O volume de suspensão de uredósporos empregado por planta foi 2 mL/planta. Após a inoculação as plantas foram acondicionadas em câmara úmida no escuro por 48 h (UR >90%, $\pm 18^\circ\text{C}$). Ao final deste período as plantas foram transferidas para bancadas em casa-de-vegetação (temperatura média de $20,5^\circ\text{C}$) onde permaneceram até a avaliação da severidade.

4.2.6 Avaliação da severidade da ferrugem

Para a avaliação da severidade os parâmetros usados foram: porcentagem de área foliar afetada, número de pústulas por centímetro quadrado, diâmetro das pústulas e taxa de esporulação.

Aos 15 dias após inoculação, dois trifólios foram destacados e escaneados (Genius Color Page- Vivid 4). Para a determinação da área total do trifólio e da área afetada pela ferrugem, utilizou-se o software Quant V.1.01 (VALE *et al.*, 2001). A contagem do número de pústulas por centímetro quadrado foi realizada nos mesmos trifólios usados anteriormente, na face adaxial da folha com auxílio de um estereoscópio e um contador manual.

Para a obtenção do número de uredósporos por pústulas, utilizou-se um vazador de discos de 10 mm de diâmetro para retirar três discos da área mais afetada dos folíolos. Estes discos foram depositados em tubos plásticos cônicos tipo falcon contendo 3 mL de água destilada, com 0,1% de Tween 20 (v/v). Em seguida, os tubos foram colocados sob agitação em vortex por um minuto para a liberação dos uredósporos e coletados por centrifugação (4000 g por 1 min). O concentrado de esporos foi coletado e estimou-se a concentração de esporos em câmara de Neubauer. Paralelamente, os discos foram usados para a quantificação do número de pústulas. Com tais resultados, calculou-se o número de uredósporos por pústula (ANGELOTTI *et al.*, 2008).

A partir dos discos usados para a determinação do número de uredósporos por pústula, foi medido o diâmetro de 30 pústulas. Para tanto, os discos foram depositados em placas Petri (8 cm de diâmetro) contendo papel filtro com solução de etanol e ácido acético (3:1, v/v; 7 mL/placa) para o clareamento dos tecidos da planta. Uma vez clareado foram transferidos para placas contendo solução de lactoglicerol, ácido láctico e água destilada (1:1:1 v/v/v) para a conservação e fixação dos discos até o momento da avaliação. Para a visualização, os discos foram montados em lâminas de vidro e visualizados com auxílio de microscópio óptico (modelo FWL1500T, Feldmann Wild Leitz, Brasil), equipado com ocular micrométrica sob aumento 100x.

4.2.7 Determinação da atividade de peroxidases

Os folíolos laterais do lado direito do primeiro trifólio de duas plantas foram coletados às 24 e 48h após a inoculação. Durante a coleta, o material foi pesado, acondicionado em papel alumínio, congelado por imersão em nitrogênio líquido e então, armazenado a -20°C até o momento da análise.

Para a análise da atividade de peroxidases foi utilizada a metodologia descrita por Cipollini (1998) com modificações. Para a obtenção do extrato, os folíolos foram macerados usando-se cadinho e pistilo de porcelana na presença de nitrogênio líquido, até a obtenção de um pó. Em seguida foi adicionado tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 7,0) (4ml/g). A suspensão foi transferida para microtubos de 2 mL (Axygen, EUA) e centrifugada (modelo 5804R, Eppendorf, Alemanha) a 11.600 g/15 min, a 4°C . O sobrenadante foi então coletado e armazenado em gelo até o momento da determinação da atividade da enzima.

A atividade de peroxidases foi medida espectrofotometricamente conforme Stadnik & Buchenauer (2000). Para tal, 100 μL do extrato protéico foram adicionados em 2,9 mL de tampão fosfato de sódio (10 mM, pH 6,0), contendo 0,25% de guaiacol (v/v) (Sigma, EUA) e 0,125% peróxido de hidrogênio (v/v) (Merck, Alemanha). Os valores de absorbância da reação foram registrados a cada 30 segundos durante 3 minutos a 30°C por meio de um espectrofotômetro a 470 nm (modelo 700 Plus, Femto, Brasil). As atividades de peroxidases foram expressas em unidades de Densidade Óptica a 470 nm/mg proteína/min.

O teor de proteínas totais em cada amostra foi determinado através do método de Bradford (1976). A curva padrão de proteínas foi determinada utilizando-se como padrão concentrações de albumina de soro bovino (Sigma, EUA) variando de 0 a 19 $\mu\text{g/mL}$. A reação foi realizada em cubetas de plástico com capacidade para 1 mL, contendo 962 μL de reagente de Bradford (0,01% (p/v) de Azul Brillhante de Coomassie; 4,7% (v/v) de etanol 95% e 8,5% (v/v) de ácido fosfórico 85%) e 38 μL do extrato protéico de amostra. Após a reação à temperatura ambiente por 5 minutos, foi determinada a absorbância a 595nm em espectrofotômetro.

4.2.8 Detecção da reação de hipersensibilidade

A avaliação do número de células epidérmicas com reação de hipersensibilidade (RH) foi realizada conforme metodologia adaptada de Hückelhoven *et al.* (1999). Para tanto, discos foliares (8 mm de diâmetro) após retirados, foram imediatamente depositados em placas Petri (5cm de diâmetro, área total cm²) contendo papel filtro e 5mL de uma solução de 1mg/mL de diaminobenzidina (DAB, Sigma, EUA), onde permaneceram por 12h, para a formação de polímeros de DAB na presença de peroxidases e peróxido de hidrogênio.

Em seguida, a solução foi substituída por uma solução de clareamento (etanol:ácido acético, 3:1, v/v) por 48 horas. Ao final deste período, a solução de clareamento foi substituída por uma solução de conservação (ácido láctico, glicerol e água, 1:1:1, v/v/v). Para a visualização das estruturas do fungo, os discos permaneceram por 10 minutos em uma solução de azul de Aman em lactoglicerol (10 mL ácido láctico; 10 mL glicerina; 10 g de cristais de ácido fênico; 0,1 g de azul de algodão e 10 mL água destilada) e foram montados em lâminas e examinados ao microscópio óptico no aumento de 400x células que apresentaram uma coloração marrom-avermelhada.

4.2.9 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi bifatorial completamente casualizado: cultivares (suscetível ou resistente à ferrugem) e tratamentos (água, sacarina ou ulvana) com quatro repetições/tratamento, sendo cada repetição constituída por dois vasos contendo quatro plantas cada. O experimento foi realizado duas vezes com condições semelhantes para. Para a detecção da reação de hipersensibilidade foram retirados seis discos foliares de duas plantas sendo 3 discos/planta. Para avaliação da severidade da doença, foram avaliados os seguintes parâmetros: porcentagem de área afetada da doença, número de pústulas por centímetro quadrado e diâmetro das pústulas. Para a porcentagem de área foliar afetada e número de pústulas por centímetro quadrado, foi utilizado o primeiro trifólio de duas plantas. Para o diâmetro das pústulas, foram retirados do primeiro trifólio de duas plantas 60 pústulas sendo 30 pústulas/planta. Realizaram-se análises de variância fatorial. Para as avaliações de

atividade de peroxidases, reação de hipersensibilidade, germinação de uredósporos e formação de apressórios realizaram-se as análises de variância separadamente para as 24 e 48 horas após da inoculação. Quando se observou diferença significativa ($p \leq 0,05$) foi realizado o teste Tukey. Para as análises de variância foi utilizado o software Statística 6.0-Statsoft[®], versão 2001.

5 RESULTADOS

5.1 EFEITO DA PULVERIZAÇÃO DE SACARINA E ULVANA SOBRE A FERRUGEM E A MANCHA ANGULAR DO FEIJOEIRO SOB INFECÇÃO NATURAL

Durante os três experimentos realizados as doenças que ocorreram foram a ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) e a mancha angular (*Pseudocercospora griseola*). Tanto as severidades destas duas doenças foliares como a eficiência dos tratamentos variaram de acordo com as condições climáticas prevalecentes nos experimentos descritos a seguir:

5.1.1 Avaliação de doença no Experimento I

No primeiro experimento realizado no período na safra, de 29/09/2009 a 28/12/2009, a ferrugem iniciou precocemente aos 26 dias após a semeadura no estádio V3 (primeiro trifólio) nas duas cultivares. Em plantas testemunhas, a ferrugem atingiu 14,5% de severidade na cultivar suscetível (SCS 202 Guará), enquanto que 3,3% na cultivar resistente (FT 9111249) (Figura 8) no estádio fenológico R8 (enchimento de vagens).

Em plantas tratadas quinzenalmente com sacarina (0,24 mg/mL) a severidade da doença atingiu 1,8% na cultivar suscetível e 0,8% na resistente. Em plantas tratadas com ulvana (1 mg/mL) a área afetada pela ferrugem foi de 12,1% na cultivar suscetível e 1,8% na cultivar resistente (Figura 8).

A pulverização de sacarina reduziu a severidade final em 86% na cultivar suscetível e em 75% na cultivar resistente. De modo esperado, a sacarina reduziu a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da ferrugem em 85% nas duas cultivares. A pulverização com ulvana não afetou a AACPD da doença (Figura 9).

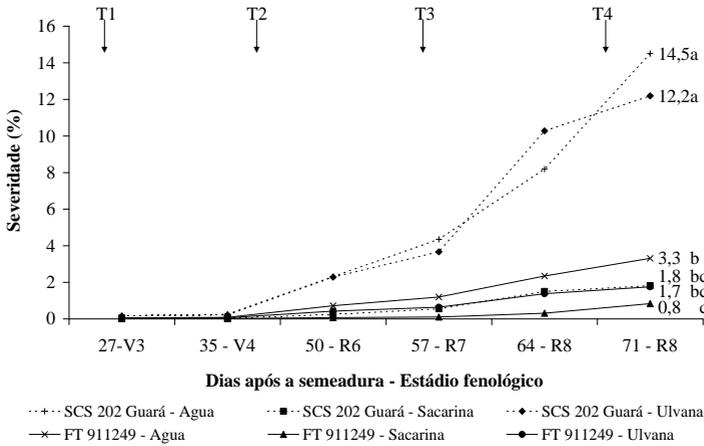


Figura 8. Severidade da ferrugem do feijoeiro (*Uromyces appendiculatus*) em plantas das cultivares SCS 202 Guará (susceptível) e FT 911249 (resistente) cultivadas no período de 29/09/2009 a 28/12/2009 e pulverizadas a cada 14 dias com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1 mg/mL). Letras indicam diferença ao nível 5% de significância pelo Teste de Tukey. Setas indicam os momentos dos tratamentos.

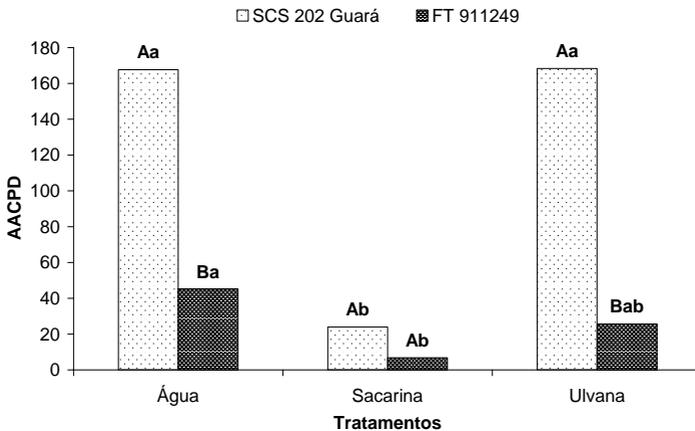


Figura 9. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para ferrugem do feijoeiro (*Uromyces appendiculatus*) em plantas das cultivares SCS 202 Guará (susceptível) e FT 911249 (resistente) cultivadas no período de 29/09/2009 a 28/12/2009 e pulverizadas com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1 mg/mL) a cada 14 dias. Letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

A mancha angular iniciou aos 26 dias após a semeadura, pela formação de pequenas manchas com esporulação na face inferior das folhas e atingiu em média 7,3 % da área foliar afetada no estágio R8 (enchimento de vagens) em plantas testemunhas tratadas com água (Figura 10). As pulverizações de sacarina e ulvana não afetaram o desenvolvimento da doença (Figura 11).

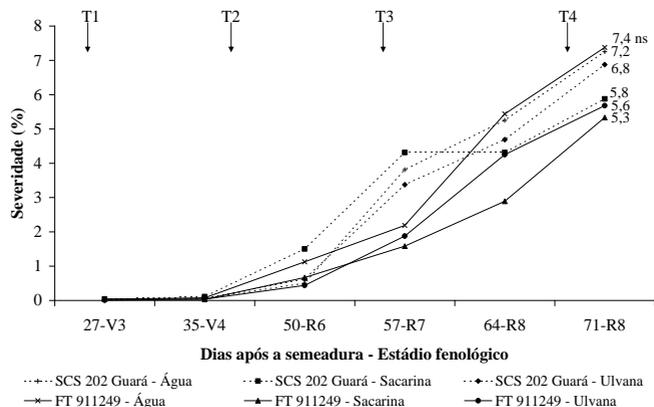


Figura 10. Severidade da mancha angular do feijoeiro (*Pseudocercospora griseola*) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 91-1249 cultivadas no período de 29/09/2009 a 28/12/2009 e pulverizadas a cada 14 dias com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1mg/mL). ns: não significativo ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey. Setas indicam momentos de aplicação dos tratamentos.

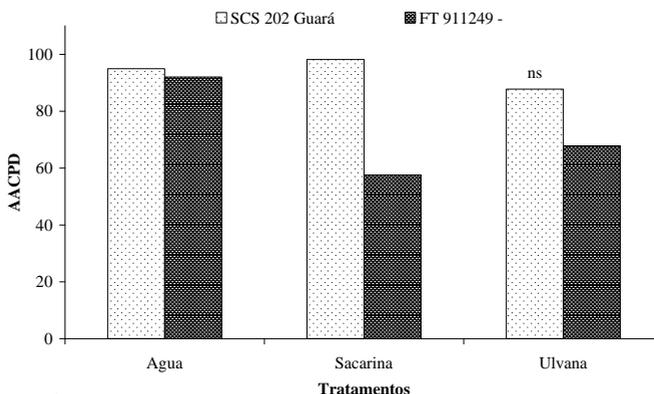


Figura 11. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para mancha angular do feijoeiro (*Pseudocercospora griseola*) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 91-1249 cultivadas no período de 29/09/2009 a 28/12/2009 e pulverizadas a cada 14 dias com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1mg/mL). ns: não significativo ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

5.1.2 Avaliação de doença no Experimento II

No segundo experimento conduzido no período da safrinha, de 01/03/2010 a 23/05/2010, a mancha angular foi a doença que ocorreu com maior severidade. Os primeiros sintomas apareceram aos 21 dias após a semeadura, no estágio V3 (primeiro trifólio expandido), apresentando poucas manchas necróticas sem esporulação. A doença atingiu 25% da área foliar (Figura 12), com trifólios apresentando grandes manchas esporulantes e causando nas plantas uma desfolha prematura e deformação nas vagens no estágio R8 (67 após a semeadura).

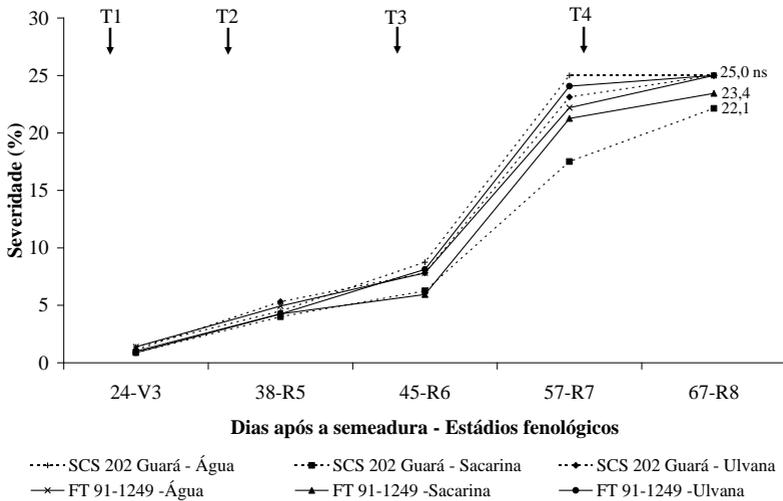


Figure 12. Severidade da mancha angular do feijoeiro (*Pseudocercospora griseola*) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 91-1249 cultivadas no período de 01/03/2010 a 23/05/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1mg/mL). ns: não significativo ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey. Setas indicam os momentos de aplicação dos tratamentos.

A pulverização de sacarina reduziu em 20% a AACPD para mancha angular comparada à testemunha (Figura 13 e 14). As duas cultivares foram igualmente suscetíveis. A ulvana não afetou a área foliar infectada nem a AACPD.

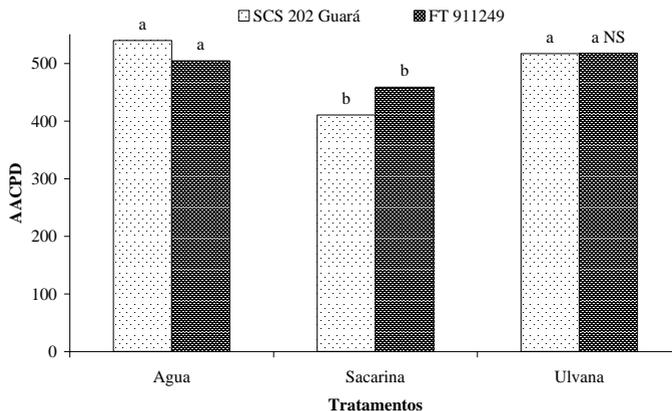


Figura 13. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para mancha angular do feijoeiro (*Pseudocercospora griseola*) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 91-1249 cultivadas no período de 01/03/2010 a 23/05/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1mg/mL). Dados transformados para Log x. NS: não significativo para cultivares e letras minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.

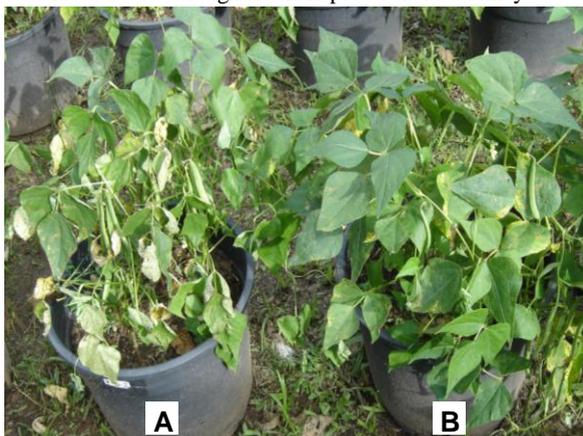


Figura 14. Efeito do tratamento preventivo de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cv FT 911249 no controle da mancha angular (*Pseudocercospora griseola*). A. água e B. sacarina.

5.1.3 Avaliação de doença no Experimento III

No terceiro experimento conduzido no período da safra de 29/09/2010 a 27/12/2010, a ferrugem iniciou aos 41 dias após a semeadura no estádio R5 (pré-florescimento) evoluindo até atingir na cultivar suscetível 7,6% e na cultivar resistente 0,4% da área foliar afetada em plantas testemunhas tratadas com água.

Em plantas pulverizadas com sacarina, a severidade da ferrugem foi de 2% na cultivar suscetível e 0,1% na resistente. Em plantas tratadas com ulvana, a área foliar afetada evoluiu até atingir 6,6% e 0,4%, nas cultivares suscetível e resistente, respectivamente (Figura 15). A pulverização de sacarina reduziu a AACPD em 72,3% na cultivar suscetível, na cultivar resistente não afetou a doença. A pulverização de ulvana não afetou a ferrugem (Figura 16).

A mancha angular teve início aos 27 dias após a semeadura evoluindo até atingir 10,6% e 5,8% de área foliar afetada nas cultivares FT 911249 e SCS 202 Guará, respectivamente (Figura 17). Em relação à testemunha, a sacarina reduziu a AACPD em 59%, enquanto que a ulvana teve uma redução de 26% na cultivar FT 911249 em relação à testemunha (Figura 18).

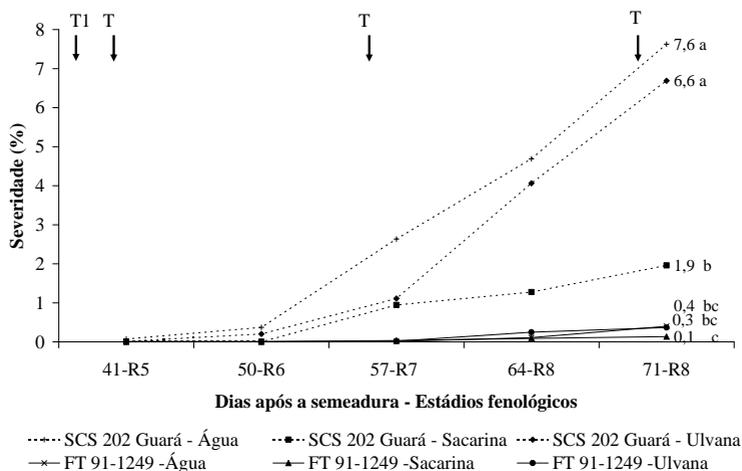


Figura 15. Severidade da ferrugem do feijoeiro (*Uromyces appendiculatus*) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 cultivadas no período de 29/09/2010 a 27/12/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL). Letras indicam diferença ao nível 5% de significância pelo Teste de Tukey. Setas indicam momentos de aplicação dos tratamentos.

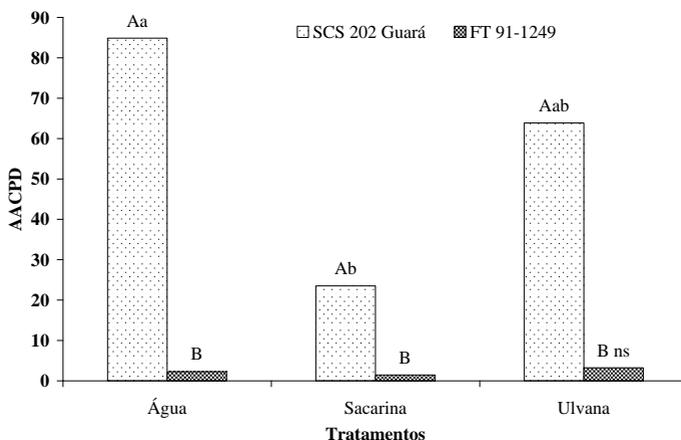


Figura 16. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para a Ferrugem do feijoeiro (*Uromyces appendiculatus*) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 pulverizadas com água, ulvana (1mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL) a cada 14 dias. Cultivadas no período de 29/09/2010 a 27/12/2010. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

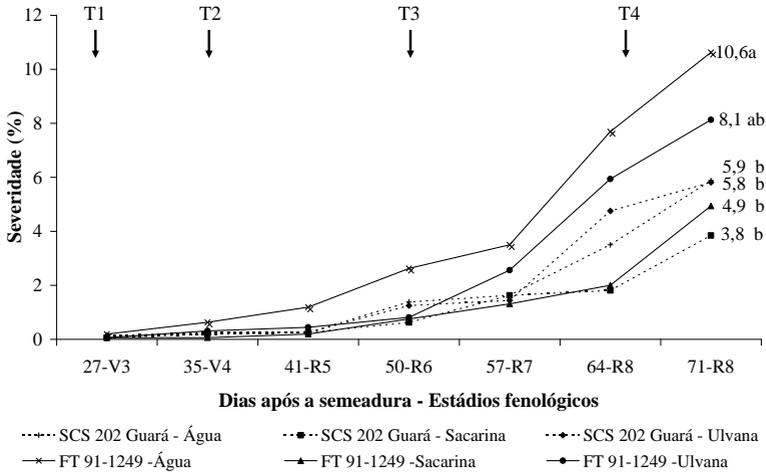


Figura 17. Severidade da mancha angular do feijoeiro (*Pseudocercospora griseola*) em plantas das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 cultivadas no período de 29/09/2010 a 28/12/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (mg/mL). Letras indicam diferença ao nível 5% de significância pelo Teste de Tukey. Setas indicam momentos de aplicao dos tratamentos.

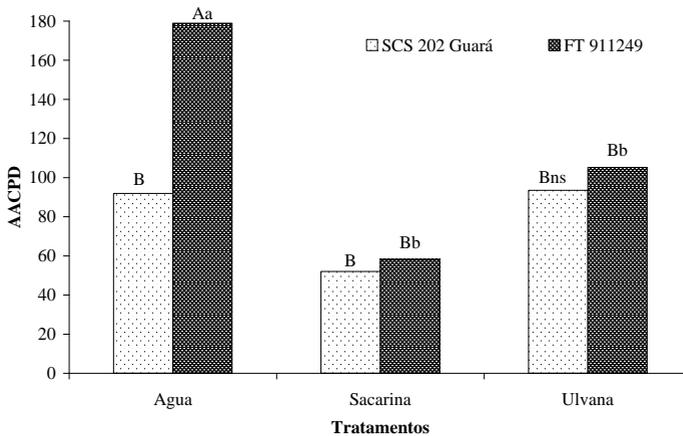


Figura 18. rea Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para Mancha Angular do feijoeiro (*Pseudocercospora griseola*) em plantas pulverizadas com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL) a cada 14 dias. Dados transformados para Log x. Cultivadas no período de 29/09/2010 a 27/12/2010. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

5.1.4 Componentes de rendimento

No primeiro experimento (29/09/2009 a 28/12/2009) o número de vagens por planta e o número de grãos por vagem não diferiram significativamente para as cultivares e tratamentos (Tabela 3). Para o peso seco de 100 sementes, observou-se diferença significativa entre as cultivares (Figura 19). As sementes da cultivar SCS 202 Guará apresentaram 12% a mais de peso seco de 100 sementes que a cultivar FT 911249.

Tabela 3. Número de vagens por plantas e número de sementes por vagem em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), pulverizadas com água, sacarina e ulvana a cada 14 dias, cultivadas no período de 29/09/2009 a 28/12/2009.

Tratamentos	Vagens/Plantas			Sementes/Vagem		
	SCS 202 Guará	FT 911249	Media	SCS 202 Guará	FT 911249	Média
Água	10,1	14,5	12,3	3,9	3,7	3,8
Sacarina	11,1	10,7	10,9	3,7	3,6	3,6
Ulvana	10,8	12,6	11,7 ns	3,9	4,1	4,0 ns
Média	10,6	12,6 ns		3,8	3,8 ns	

ns: não significativo pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância.

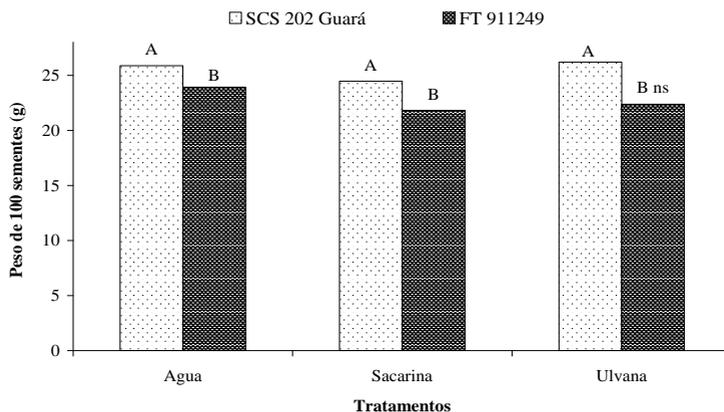


Figura 19. Peso seco de 100 sementes (g) de feijão em plantas pulverizadas com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1mg/mL) a cada 14 dias. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

No segundo experimento conduzido de 01/03/2010 a 23/05/2010, o número médio de vagens por planta foi de 6 não havendo diferença estatística entre as cultivares ou tratamentos. O número médio de sementes por vagem foi de 4, não diferindo estatisticamente nos fatores cultivares ou tratamentos (Tabela 4). Para o peso seco de 100 sementes, houve diferença nas cultivares e tratamentos. Para a cultivar FT 911249, a pulverização de plantas com sacarina aumentou a produção em 29% em relação à testemunha (Figura 20).

Tabela 4. Número de vagens por plantas e número de sementes por vagem em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), pulverizadas com água, sacarina e ulvana a cada 14 dias, cultivadas no período de 01/03/2010 a 23/05/2010.

Tratamentos	Vagens/Plantas			Sementes/Vagem		
	SCS 202 Guará	FT 911249	Media	SCS 202 Guará	FT 911249	Média
Água	5,9	6,1	6,0	3,6	3,3	3,4
Sacarina	6,5	6,1	6,3	3,6	3,3	3,4
Ulvana	5,3	5,4	5,4 ns	3,8	3,5	3,6 ns
Média	5,9	5,9 ns		3,7	3,3 ns	

ns: não significativo pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância.

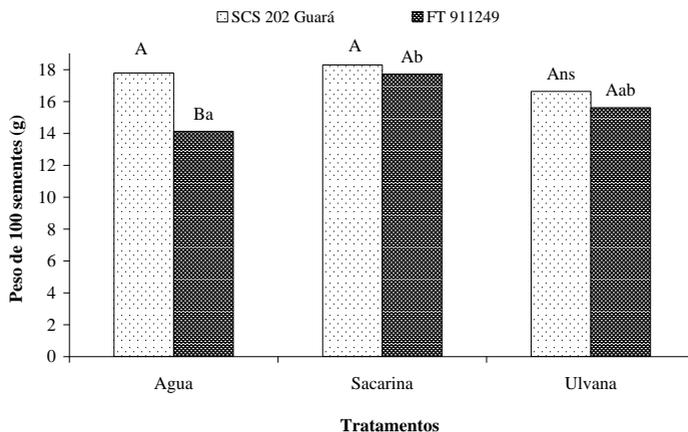


Figura 20. Peso seco de 100 sementes (g) de feijão em plantas pulverizadas com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (1 mg/mL) a cada 14 dias. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 7% de significância pelo teste de Tukey.

No terceiro experimento conduzido no período safra de 29/09/2010 a 27/12/2010, o número médio de vagens por planta e número de sementes por vagem não diferiu significativamente para cultivares ou tratamentos (Tabela 5). O peso seco de 100 sementes teve diferença nas cultivares e nos tratamentos, sendo que o tratamento da cultivar SCS 202 Guará com sacarina aumentou o peso de sementes em 21% em relação à testemunha. Por outro lado, o peso de 100 sementes na cultivar FT 911249 não foi afetado pelos tratamentos (Figura 21).

Tabela 5. Número de vagens por plantas e número de sementes por vagem em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), pulverizadas com água, sacarina e ulvana a cada 14 dias, cultivadas no período de 29/09/2010 a 27/12/2010.

	Vagens/Plantas			Sementes/Vagem		
	SCS 202 Guará	FT 911249	Media	SCS 202 Guará	FT 911249	Média
Água	12,2	11,5	11,9	5,1	4,6	4,9
Sacarina	10,1	11,4	10,8	4,9	4,7	4,8
Ulvana	11,5	11,0	11,3 ns	5,0	4,6	4,8 ns
Média	11,3	11,3 ns		5,0	4,6 ns	

ns: não significativo pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância.

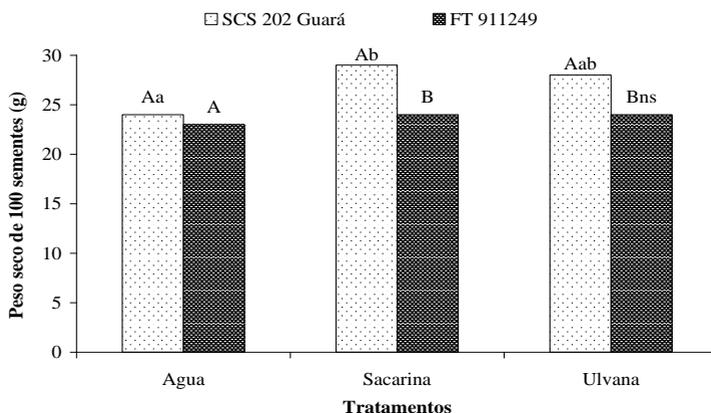


Figura 21. Peso seco de 100 sementes (g) de feijão em plantas pulverizadas com água, sacarina ou ulvana a cada 14 dias, totalizando quatro aplicações. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

5.2 EFEITO NA SEVERIDADE E NOS MECANISMOS DE DEFESA NA INTERAÇÃO FERRUGEM-FEIJOEIRO

5.2.1 Porcentagem de área afetada

A porcentagem de área foliar apresentou diferença significativa para cultivares e para tratamentos. Porém, a interação entre cultivares e tratamentos não foi significativa ($p \leq 0,05$). A cultivar SCS 202 Guará (suscetível) apresentou as maiores porcentagens de ferrugem diferindo estatisticamente da cultivar FT 911249 (resistente) (Figura 22 e 23). Na cultivar SCS 202 Guará, os tratamentos sacarina e ulvana reduziram a porcentagem de área afetada em 68 e 74%, respectivamente. Na Cultivar FT 911249, que apresentou 3% da área afetada, a sacarina e a ulvana reduziram a porcentagem de área afetada em 66 e 81%, respectivamente.

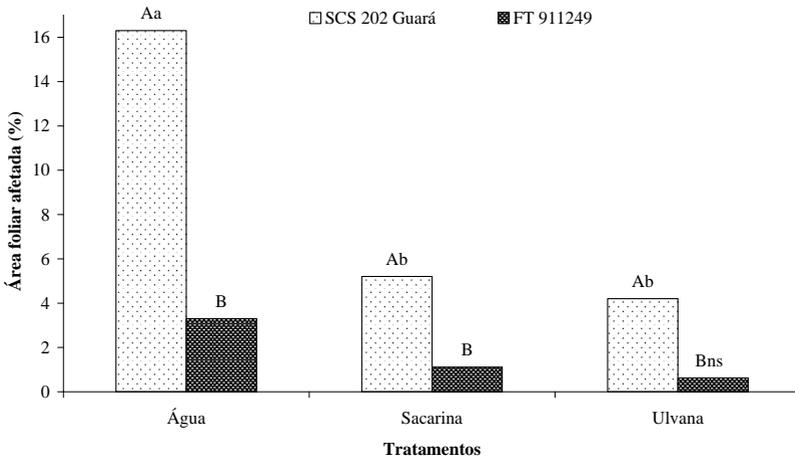


Figura 22. Porcentagem de área foliar afetada aos 15 DPI em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 pulverizadas com água ou sacarina (0,24 mg/mL) 6 dias antes da inoculação (DAI) ou ulvana (10 mg/mL) 6 e 3 DAI. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey. Dados transformados para $\sqrt{x+1}$.

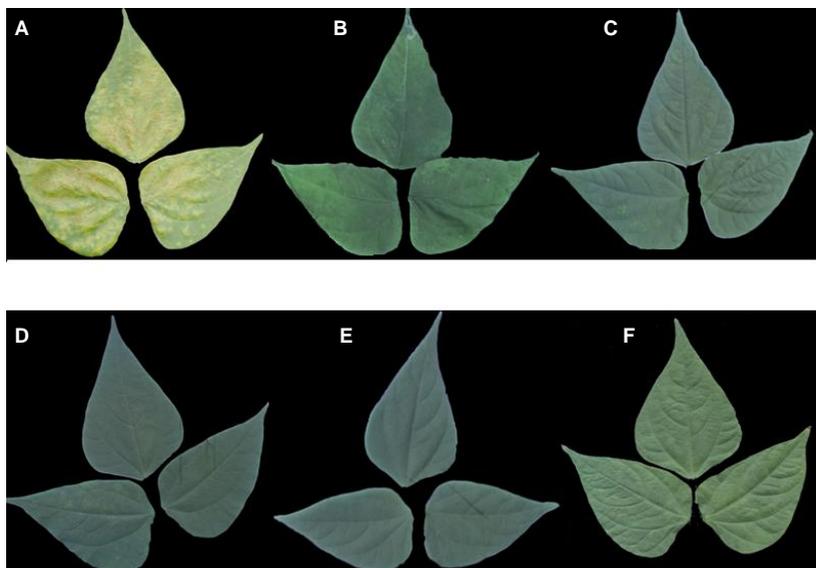


Figura 23. Porcentagem de área foliar afetada por ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) em primeiros trifólios de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares A. SCS 202 Guará tratada com água. B. SCS 202 Guará tratada com sacarina; C. SCS 202 Guará tratada com ulvana; D. FT 911249 tratada com água; E. FT 911249 tratada com sacarina e F. FT 911249 tratada com ulvana.

5.2.2 Número de pústulas por centímetro quadrado

O número de pústulas por centímetro quadrado (NP/cm²) nas duas cultivares variou de 0,5 a 11,3 pústulas/cm². Em plantas testemunhas, o NP/cm² foi aproximadamente 3 vezes maior na cv SCS 202 Guará que em cv FT 911249. Quando as plantas da cv SCS 202 Guará foram pulverizadas com ulvana, o NP/cm² foi reduzido a níveis encontrados na cv FT 911249. A sacarina não afetou significativamente o NP/cm². Em plantas da cultivar resistente os tratamentos não afetaram a doença (Figura 24).

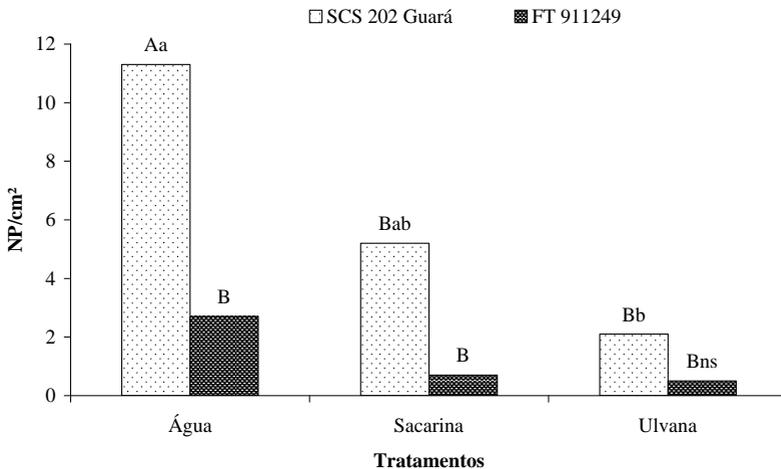


Figura 24. Número de pústulas por centímetro quadrado (NP/cm²) aos 15 DPI em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 pulverizadas com água ou sacarina (0,24mg/mL) 6 dias antes da inoculação (DAI) ou ulvana (10 mg/ml) 6 e 3 DAI. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey. Dados transformados para $\sqrt{x+1}$.

5.2.3 Diâmetro de pústulas

Quanto ao diâmetro de pústulas, a análise de variância revelou efeito significativo ($p \leq 0,05$) e interação dos fatores cultivar (cv) e tratamento. Em plantas tratadas com água, o diâmetro das pústulas foi de aproximadamente 3 vezes maior na cv SCS 202 Guará que em na cv FT 911249. Quando as plantas da cv SCS 202 Guará foram pulverizadas com sacarina ou ulvana, o diâmetro das pústulas foi reduzido aos níveis encontrados na cv FT 911249 (Figura 25), não diferindo estatisticamente dessa cultivar. Nenhum dos tratamentos afetou o diâmetro de pústulas na cultivar resistente (Figura 26).

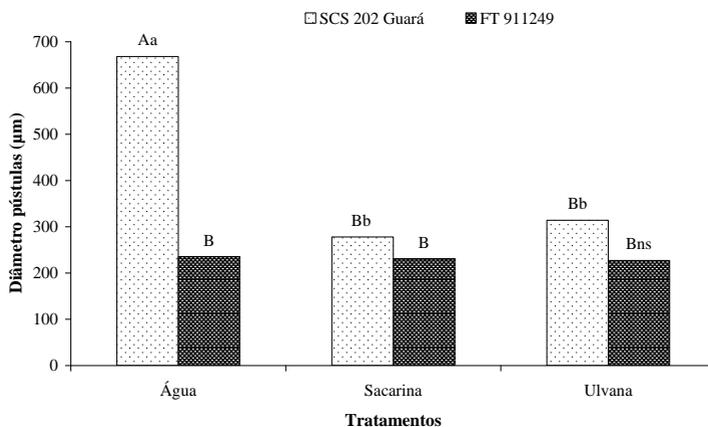


Figura 25. Diâmetro de pústulas 15 DPI em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 pulverizadas com água, sacarina (0,24 mg/mL) 6 dias antes da inoculação e ulvana (10 mg/mL) 6 e 3 DAI. ns: não significativo, letras maiúsculas para cultivares e minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.

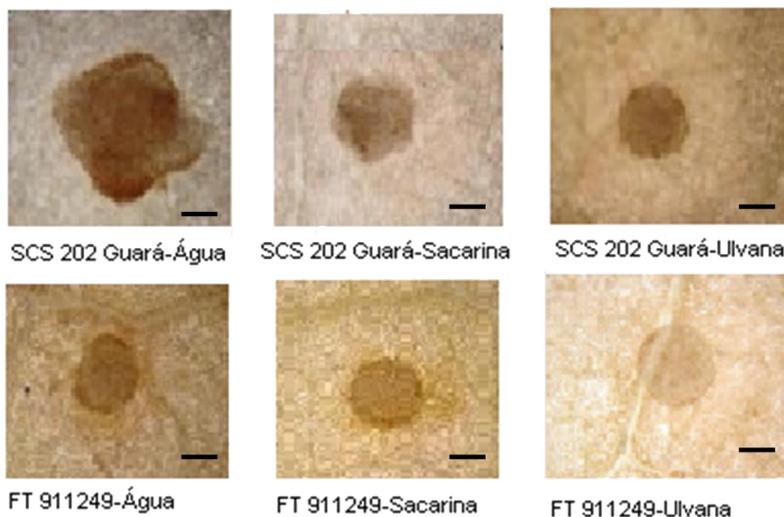


Figura 26. Pústulas aos 15 dias após a inoculação no primeiro trifólio de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 tratadas com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (10mg/mL). Barra= 50 µm.

5.2.4 Taxa de esporulação

Quanto ao número de uredósporos/pústula, a análise de variância mostrou efeito significativo ($p \leq 0,05$) e interação dos fatores cultivar e tratamentos. Em plantas tratadas com água o número de esporos/pústula foi de aproximadamente 3 vezes maior na cv SCS 202 Guará em relação a cv FT 911249. Quando as plantas suscetíveis foram pulverizadas com sacarina ou ulvana, o número de uredósporos/pústula foi reduzido aos níveis encontrados na cv FT 911249, não diferindo estatisticamente desta. Nenhum dos tratamentos afetou o número de uredósporos/pústula na cv resistente FT 911249 (Figura 27).

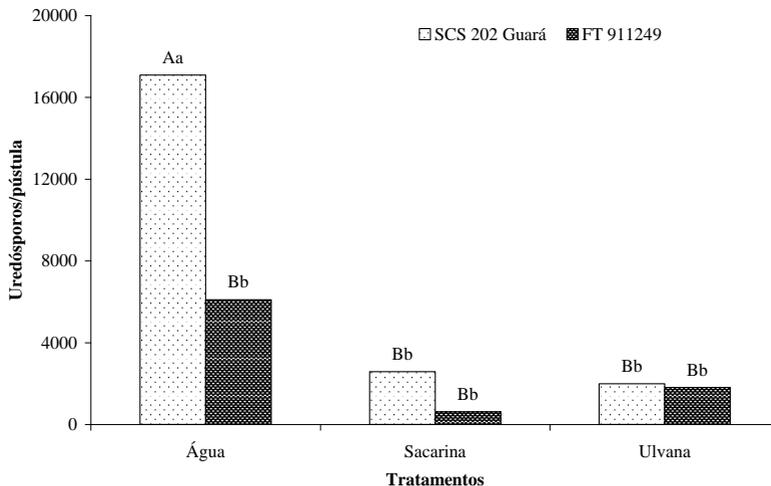


Figura 27. Número de esporos por pústula 15 DPI em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 pulverizadas com água, sacarina (0,24 mg/mL) 6 DAI ou ulvana (10 mg/mL) 6 e 3 DAI. Letras indicam diferença significativa ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

5.2.5 Peroxidases

A atividade de peroxidases às 24 horas após a inoculação de *U. appendiculatus* raça 59-63 (HAI), foi 60 e 65% maior em plantas tratadas com ulvana nas cv SCS 202 Guará (suscetível), e FT 911249 (resistente), respectivamente, que nas respectivas testemunhas.

A sacarina não alterou significativamente a atividade da enzima em nenhuma cultivar. A atividade de peroxidases 48 HAI na cv FT 911249 foi 47% maior que em cv SCS 202 Guará.

A pulverização das plantas com sacarina e ulvana não afetou a atividade de peroxidases às 48 HAI (Figura 28).

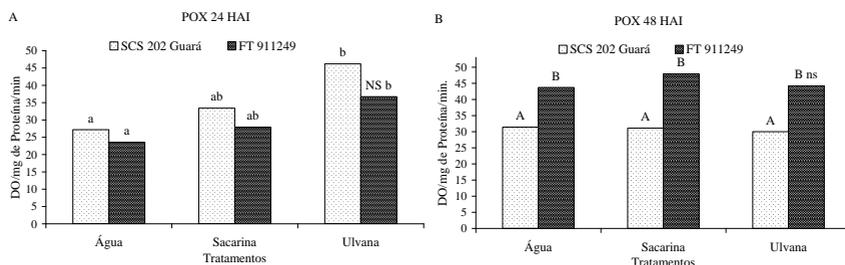


Figura 28. Atividade de peroxidases avaliada no primeiro trifólio de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249 pulverizados com água, sacarina ou ulvana, 24 (A) e 48 (b) horas após a inoculação de *U. appendiculatus* raça 59-63. ns: não significativo, Letras maiúsculas para cultivares e letras minúsculas para tratamentos dentro de uma mesma cultivar indicam diferença significativa ao nível 5% pelo teste Tukey.

5.2.6 Germinação de uredósporos e formação de apressórios de *U. appendiculatus*

Os tratamentos dos primeiros trifólios com sacarina ou ulvana em plantas suscetíveis e resistentes não afetaram a germinação de uredósporos e formação de apressórios sobre os estômatos (Tabela 6). Às 24 ou 48 horas após a inoculação, a germinação de uredósporos de *U. appendiculatus* raça 59-63 foi em média de 63 e 92%, respectivamente em ambas cultivares.

Tabela 6. Porcentagem de germinação de uredósporos e formação de apressórios de *Uromyces appendiculatus* sobre a superfície foliar de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249, tratadas com água, sacarina ou ulvana.

HAI	Tratamentos	Germinação de Uredósporos (%)			Formação de apressórios (%)		
		SCS 202 GUARA	FT 911249	Média*	SCS 202 GUARA	FT 911249	Média
24	Água	65,3	65,1	63,6	10,5	4,2	7,4
	Sacarina	68,9	67,3	62,1	17,5	13,2	15,4
	Ulvana	68,7	75,0	70,5ns	12,7	11,2	12,0ns
	Média	63,9 ns	66,9 ns		13,6 ns	9,6 ns	
48	Água	87,5	91,8	92,6	37,0	35,7	36,3
	Sacarina	88,5	86,6	84,6	38,2	40,0	39,1
	Ulvana	89,2	89,5	88,0ns	32,0	28,5	30,2ns
	Média	86,4ns	90,4ns		35,7 ns	34,7 ns	

*ns: não significativo pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância.

5.2.7 Reação de hipersensibilidade

O número de células epidérmicas exibindo reação de hipersensibilidade às 24 HAI (Figura 29) e 48 HAI no primeiro trifólio de plantas de feijão suscetível e resistente à ferrugem tratadas com água, sacarina ou ulvana, variou de 1,3 a 5,3 RH/cm² não havendo diferença entre cultivares e tratamentos (Tabela 7).

Tabela 7. Número de células epidérmicas com reação de hipersensibilidade/cm² na superfície foliar de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará e FT 911249, pulverizadas com água, sacarina ou ulvana, 24 e 48 horas após a inoculação com a raça 59-63 de *Uromyces appendiculatus*.

HAI	Tratamentos	Células com reação de Hipersensibilidade/cm ²		
		SCS 202 Guará	FT 911249	Média
24	Água	1,3	2,3	1,8
	Sacarina	2,6	2,2	2,4
	Ulvana	3,5	4,5	4,0 ns
	Média	2,5 ns	3,0 ns	
48	Água	4,1	3,3	3,7
	Sacarina	3,2	5,3	4,2
	Ulvana	2,0	4,8	3,4 n.s
	Média	3,1 ns	4,5 ns	

*ns: não significativo pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância.

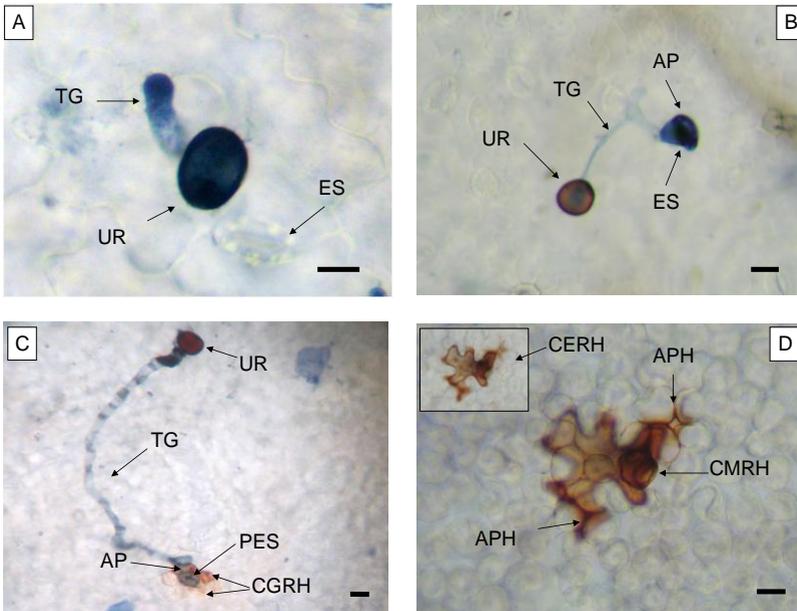


Figura 29. Germinação de uredósporos da raça 59-63 de *Uromyces appendiculatus* (A e B), acúmulo de peróxido de hidrogênio e reação de hipersensibilidade em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (C), Uredósporo germinado com apressório penetrando pelo estômato com reação de hipersensibilidade nas células guarda ao redor do poro estomático 24 e 48 horas após a inoculação. UR: uredósporo; TG: tubo germinativo; AP: apressório; ES: estômato; CERH: célula epidérmica apresentando reação de hipersensibilidade; APH: acúmulo de peróxido de hidrogênio nas paredes das células do mesófilo; CMRH: célula do mesófilo com reação de hipersensibilidade; PES: poro estomático; CGRH: células guarda com reação de hipersensibilidade. Barra= 10 μ m.

6 DISCUSSÃO

As doenças que incidiram, em diferentes níveis, nos três experimentos sob condições de infecção natural foram a ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) e a mancha angular (*Pseudocercospora griseola*). Essas doenças foram favorecidas pelas condições climáticas e pela presença do inóculo nas áreas circundantes.

No primeiro experimento, realizado no período de safra, os primeiros sinais de ferrugem e mancha angular foram observados precocemente no estágio V3 (primeiro trifólio). Sabe-se que geralmente essas doenças, principalmente a mancha angular, aparecem a partir do estágio R5 (pré-florescimento) momento no qual a planta fica mais vulnerável (RIOS, 1994; OLIVEIRA, 1999). Com a evolução das doenças, a ferrugem apresentou maior severidade, possivelmente pelo fato de que nos meses de outubro e dezembro, ocorreram chuvas por períodos prolongados e dias frios (em média 18°C), estas condições são ideais para o desenvolvimento da ferrugem porque aumenta a esporulação como descrito por Stavely & Pastor-Corrales (1989). Já estas baixas temperaturas atrasam o desenvolvimento da mancha angular como foi observado neste experimento onde a mancha angular evoluiu até atingir uma severidade máxima de 7,4%.

No segundo experimento, ocorreu apenas mancha angular que atingiu a nota máxima de severidade, descrita como folhas ou vagens apresentando 25% da área afetada com manchas grandes esporulantes, com ocorrência de desfolha prematura e deformação nas vagens (SCHOONHOVEN & PASTOR-CORRALES, 1987). Tal severidade foi devida ao fato de que seus primeiros sintomas (pequenas manchas não esporulantes) iniciaram-se no estágio V3 (primeiro trifólio expandido). Além do início precoce, foram observadas temperaturas médias favoráveis no início do experimento durante o mês de março, em média, a temperatura mínima foi de 21°C e a máxima de 30°C. Essas condições favorecem uma maior severidade, maior tamanho da lesão e maior velocidade de desenvolvimento da doença no campo como observado no trabalho de Bazzanesi *et al.* (1997).

Durante o segundo experimento a ferrugem não foi observada, já que nos meses de março a maio (Anexo 2) durante vários dias a temperatura esteve acima dos 30°C, sendo tal condição pouco favorável ao patógeno pois pode limitar seu desenvolvimento e causar até sua

morte. Outro motivo deve ter sido o rápido avanço da mancha angular necrosando o tecido e por ser a ferrugem um fungo biotrófico não teria disponibilidade de crescer junto a mancha angular pois existiria pouco tecido sadio para o seu desenvolvimento (STAVELY & PASTOR CORRALES, 1989).

No terceiro experimento, as duas doenças foram observadas, porém a ferrugem ocorreu em uma intensidade menor quando comparada ao primeiro experimento. Isto pode ser explicado pelo início mais tardio da epidemia (estádio R5 - pré-florescimento). A mancha angular iniciou no estágio V3, mas não conseguiu atingir níveis elevados de severidade como aqueles observados no segundo experimento.

As cultivares usadas neste estudo foram escolhidas pelo grau de resistência que apresentam à ferrugem. Esses diferentes graus de resistência foram estudados em casa-de-vegetação previamente por Borsato (2009), o qual classificou 37 cultivares de feijão em cinco grupos de resistência: imune, resistente, moderadamente suscetível e altamente suscetível. A cultivar SCS 202 Guará foi classificada como altamente suscetível, já que apresentou 5 vezes mais pústulas por centímetro quadrado que o padrão moderadamente suscetível (Pérola). No presente trabalho, confirmou-se a alta suscetibilidade da cultivar SCS 202 Guará frente a isolados locais, pois apresentou altas porcentagens de área foliar afetada pela ferrugem nos dois experimentos.

A cultivar FT 911249 foi classificada por Borsato (2009) no grupo das cultivares resistentes por apresentar menor número de pústulas por centímetro quadrado e menor diâmetro de pústulas que a cultivar Pérola (PMS). Outro motivo pelo qual foi classificada nesse grupo foi o fato de apresentar pontos necróticos, expressão típica da resistência à ferrugem caracterizada como lesão necrótica hipersensitiva. Essas necroses ocorrem no entorno da lesão do patógeno e de forma tardia no hospedeiro (STAVELY *et al.*, 1989; SILLERO *et al.*, 2000).

A resistência de FT 911249 descrita por Borsato (2009) foi confirmada no presente trabalho onde também se observou um menor número e diâmetro de pústulas comparado com a cultivar SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem). Por outro lado, a reação de hipersensibilidade não foi observada em nenhum dos experimentos, tanto em condições de infecção natural como também em casa-de-

vegetação. A não ocorrência de reações de hipersensibilidade poderia ser explicada, ao menos para os experimentos sob infecção natural, pela alta variabilidade de *Uromyces appendiculatus*, que durante um ciclo de cultivo pode produzir várias gerações e assim formarem-se novas raças ou mutações do patógeno. Como a reação de hipersensibilidade é resultado da incompatibilidade de alguns genes de resistência com raças específicas do patógeno isso seria então possível (STAVELY *et al.*, 1989; STAVELY & PASTOR-CORRALES, 1989; PASTOR-CORRALES, 2001; SOUZA, *et al.*, 2008). Entretanto, em casa-de-vegetação o patógeno vem sendo mantido, com relativo grau de pureza, há vários anos em feijoeiro na cv SCS 202 Guará e recentemente foi identificado como a raça 59-63.

Para mancha angular ambas cultivares apresentaram-se suscetíveis. Os elevados níveis de severidade observados nos experimentos devem-se, em grande parte, à inexistência de resistência monogênica das plantas, baixo nível de resistência poligênica. Além disso, as às condições climáticas ideais como temperatura média de 24°C, alta umidade relativa e períodos de chuvas intercalados com períodos secos, devem ter contribuído para o desenvolvimento da mancha angular nos experimentos, principalmente durante os meses de março a maio. As temperaturas necessárias para a germinação dos esporos de *Pseudocercospora griseola* são muito amplas (5-33°C), com uma temperatura ótima entre 18-28°C. Além disso, as freqüentes chuvas presentes durante os três experimentos permitiram a disseminação e infecção eficiente do patógeno, ao facilitar condições de molhamento foliar, que segundo a literatura, apresenta intervalos ótimos de 16 horas. Todos estes fatores influenciaram positivamente a severidade da mancha angular durante os experimentos (ALLORENT & SAVARY 2005; SARTORATO & RAVA, 1994; STAVELY & PASTOR CORRALES 1989).

As pulverizações com sacarina protegeram o feijoeiro contra a ferrugem e a mancha angular sob condições de infecção natural. Assim, a severidade final e a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) foram reduzidas significativamente para as duas doenças. Nos primeiro e terceiro experimentos, a sacarina reduziu a AACPD e a severidade final da ferrugem para a cv SCS 202 Guará (suscetível a ferrugem) em média de 85 e 72%, respectivamente. Para mancha angular o tratamento de plantas com sacarina reduziu significativamente a AACPD no segundo e no terceiro experimento, em 20 e 59%

respectivamente. Estes resultados confirmam que a sacarina é um eficiente protetor das plantas contra os patógenos foliares ferrugem e mancha angular.

Apesar da eficiência da sacarina como indutor de resistência em feijoeiro contra a ferrugem já ter sido demonstrada em condições de casa-de-vegetação e laboratório por Siegrist *et al.* (1998), os resultados obtidos são o primeiro relato de sua capacidade em controlar um patógeno necrotrófico nesta espécie. A sacarina induz comprovadamente resistência ao vírus do mosaico em fumo, à antracnose no pepino (*Colletotrichum lagenarium*) (SIEGRIST *et al.*, 1998) e à escaldadura (*Rhynchosporium secalis*) e ao oídio (*Erysiphe graminis*) em cevada (WALTERS *et al.*, 2007; BOYLE & WALTERS, 2006). Corroborando com estes trabalhos, a sacarina revela-se com potencial para o controle de doenças do feijoeiro, podendo ser mais uma ferramenta na proteção da cultura do feijão. Assim, como descrito para outros indutores, o uso de sacarina teria como três principais vantagens: baixo impacto ambiental, amplo espectro de ação a diferentes doenças e baixo risco de selecionar patógenos resistentes como acontece com o uso contínuo de determinados fungicidas (STADNIK & MARASCHIN, 2004).

Um dos obstáculos para a implementação de indução de resistência na agricultura é o fato de que uma vez a planta ativa seus mecanismos de defesa, isto pode levar a um desvio de recursos do metabolismo primário e assim ocasionar um efeito negativo na quantidade ou atividade de proteínas, no funcionamento do carbono, assimilação do nitrogênio e na fotossíntese resultando na redução da produção e o crescimento das plantas. No entanto, para a indução de resistência ser benéfica, plantas resistentes devem ter maior aptidão que plantas suscetíveis sob pressão de doença (WALTERS & HEIL, 2007).

O sucesso da indução de resistência por sacarina no presente trabalho foi evidenciado pela proteção contra a ferrugem e a mancha angular e expresso em aumento da produção. Além da proteção contra a mancha angular no segundo experimento, foi observado que plantas tratadas com sacarina na cultivar FT 911249 tiveram um aumento na produção no peso de sementes em 29% em relação à testemunha. No terceiro experimento, as pulverizações de sacarina aumentaram em 21% o peso de sementes em plantas da cultivar SCS 202 Guará. De modo semelhante Walters *et al.* (2008) encontraram, em cevada tratada com

sacarina e infectada com Oídio (*Blumeria graminis*), um aumento significativo do número e peso das sementes quando as plantas estiveram submetidas a uma alta pressão do inóculo (5×10^5 esporos/mL).

No presente trabalho, os maiores acréscimos por sacarina na produção (Figura 20) se deram justamente no segundo experimento, onde a mancha angular chegou a atingir os maiores valores de área afetada (Figura 12), ocasionando uma desfolha prematura e deformação nas vagens. Também foi observado que no segundo experimento o número de vagens por planta e sementes por vagem foi drasticamente reduzido pela severidade da mancha angular, já que ocorreu um desfolhamento prematuro, que levou a uma redução da área foliar total útil para a fotossíntese. Perdas na produção de até 70% causadas pela mancha angular tem sido relatadas no Brasil e na Colômbia de até 80% (JESUS JUNIOR *et al.* 2001; SCHWARTZ *et al.*, 1981).

A ulvana é conhecida por induzir resistência em diferentes patossistemas, assim confirmado no presente trabalho em condições de casa de vegetação. A ulvana tem sido muito eficiente contra fungos causadores de antracnose em alfafa (CLUZET *et al.*, 2004), feijoeiro (*Colletotrichum lindemuthianum*) (ABREU, 2008; FREITAS, 2010; FREITAS *et al.*, 2011; PAULERT *et al.*, 2009), contra a mancha foliar de glomerella (*Colletotrichum gloeosporioides*) em macieira (*Malus domestica*) (ARAUJO *et al.*, 2008; ARAUJO, 2010). Também tem sido muito eficaz em induzir resistência em plantas contra fungos biotróficos como o oídio do feijoeiro (*Erysiphe polygoni*), da uva (*Uncinula necator*), do pepino (*Spherotheca fuliginea*) (JAULNEAU *et al.*, 2011), da cevada e do trigo (*Blumenaria graminis*) (PAULERT *et al.*, 2010) e contra a ferrugem do feijoeiro (*Uromyces appendiculatus*) (BORSATO *et al.*, 2010).

Por outro lado, no presente trabalho, em condições de infecção natural e usando doses reduzidas (1mg/ml), aplicações quinzenais de ulvana não reduziram significativamente o desenvolvimento epidemiológico da ferrugem. Contudo, no terceiro experimento, a ulvana reduziu em 26% a AACPD para mancha angular na cultivar FT 911249. Apesar do efeito reduzido em controlar doenças no presente trabalho, há relatos de campo de que tratamento de plantas de feijão com ulvana, aplicada na concentração 10mg/ml, é capaz de induzir resistência contra a mancha angular reduzindo a AACPD em 49%

(SANTOS *et al.*, 2011) e que aplicações mensais reduzem a severidade da antracnose em 50% LOFFAGUEM *et al.*, 2004). Assim é possível que a dose do polissacarídeo tenha sido insuficiente para ativar os mecanismos de defesa da planta. Outra explicação seria que a proteção induzida por elicitores naturais como a ulvana pode ser afetado por outros fatores como o intervalo de tempo entre ação elicitora e o ataque de patógenos, o número de aplicações e as condições ambientais. Outro fator importante é a qualidade e o conteúdo dos compostos extraídos que podem variar de acordo com as condições ambientais. Tem sido demonstrado que a composição de ulvana pode variar ligeiramente em amostras colhidas em local diferente ou durante vários períodos de tempo (JAULNEAU *et al.*, 2011; LAHAYE *et al.*, 2007; ROBIC *et al.*, 2008). Além disso, existem evidências, de que a ulvana não funciona em alguns patossistemas. Por exemplo, o tratamento foliar de cebola (*Allium cepa* L.) com ulvana a campo não controlou o míldio causado por *Peronospora destructor* (Berk.) (WORDELL *et al.* 2007).

Existem indutores de resistência bióticos e abióticos que são conhecidos por induzir resistência a um grande número de patógenos em diferentes culturas em condições controladas, porém em condições de campo, os resultados são pouco eficientes. O probenazole é um indutor de resistência utilizado na cultura do arroz, no entanto utilizado para o controle de doenças em outras culturas o efeito não é significativo (SIEGRIST *et al.*, 1998) . Outro caso em que a resistência induzida não apresentou controle da doença em condições de campo é o trabalho de Huth & Balke (2002) em que o ASM não controlou o vírus BYDV em cevada. Assim a falta de consistência e controle de doenças em condições de campo, se deve a que a resistência induzida pode ser afetada por muitos fatores como o genótipo, fenologia, idade da planta, pressão da doença, nutrição, micorrizas (WALTERS & FOUNTAINE, 2009).

Experimentos realizados em casa de vegetação confirmaram o efeito indutor da sacarina e da ulvana, porém em campo a ulvana, quando aplicada em menor concentração, teve pouco efeito sobre as doenças. A sacarina reduziu a porcentagem de área afetada, o diâmetro das pústulas e o número de uredósporos por pústula, estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos em outro estudo, em que aplicações de sacarina reduziram a área afetada e o número de esporos por pústulas da ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) (SRIVASTAVA *et al.*, 2011).

Em casa-de-vegetação a pulverização de ulvana reduziu a porcentagem de área foliar, o diâmetro das pústulas e o número de esporos por pústula. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por BORSATO et al. (2010) onde plantas de feijoeiro das cultivares BR IPA - 11 Brígida (resistente), Pérola (moderadamente suscetível) e IPR Juriti (suscetível), que foram pulverizadas com ulvana (10 mg/mL) ou água destilada (testemunha) aos 6 e 3 dias antes da inoculação com *Uromyces appendiculatus* tiveram uma redução no diâmetro das pústulas de 24% comparadas a plantas tratadas com água.

Dentro do processo infeccioso das ferrugens existem várias etapas para o desenvolvimento da doença: fase de infecção, fase de penetração e fase de esporulação (VOEGELE, 2006). Na fase de infecção o uredósporo germina, forma o tubo germinativo e passa a formar o apressório para realizar a penetração. No presente estudo não se verificou efeito inibitório de sacarina ou ulvana na germinação e formação de apressório dos uredósporos. Resultados semelhantes foram obtidos por Borsato (2009) no mesmo patossistema, demonstrando que a ulvana não afeta os processos de germinação de uredósporos e a formação de apressórios de *U. appendiculatus*. De modo semelhante, Walters & Boyle (2005) não observaram efeito de sacarina sobre a germinação de conídios e formação de apressórios do fungo biotrófico *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* em cevada. Com esses resultados demonstrou-se que a ulvana não inibe a germinação e formação de apressório e sugere-se que o controle da severidade da ferrugem foi resultado obtido da indução de resistência por parte da planta.

A atividade da enzima peroxidase às 24 HAI foi maior em plantas tratadas com ulvana. Em plantas resistentes, o reconhecimento do patógeno rapidamente e assim são ativados seus mecanismos de defesa como a produção de espécies ativas de oxigênio, reforço na parede celular, síntese de fitoalexinas e acúmulo de proteínas relacionadas à patogêneses (Proteínas PR), que atuam eficientemente contra a invasão (METRAUX, 2001; LOW & MERIDA, 1996).

Às 48 HAI a atividade de peroxidases foi 47% maior na cv FT 911249 que na cultivar SCS 202 Guará (suscetível). A maior atividade desta enzima tem sido relatada em plantas resistentes e tratadas com ulvana às 48 horas após a inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* (FREITAS, 2010). Em macieira foi observado que plântulas resistentes

apresentaram maior atividade às 24 e 72 horas após a inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* (ARAÚJO, 2010).

Por outro lado, Borsato (2010) que trabalhou com o mesmo patossistema, observou aumento de 65% na atividade de peroxidases 48 horas após a inoculação em plantas de feijoeiro da cultivar suscetível IPR Juriti, em relação à atividade da cultivar resistente BR IPA -11 Brígida. A atividade de peroxidases em plantas tratadas com sacarina não diferiu estatisticamente da testemunha. No entanto, Boyle & Walters (2006) observaram que o tratamento de plantas de cevada com sacarina 6 dias antes da inoculação com oídio elevou a atividade de peroxidases às 48 HAI. De fato, a atividade de peroxidases tem comportamento variável frente ao ataque de diferentes patógenos em plantas resistentes ou suscetíveis de diferentes hospedeiros (ASADA, 1992).

A reação de hipersensibilidade (RH) desempenha um papel muito importante na resistência das plantas, resultando na repentina morte das células do hospedeiro vizinhas aos lugares de infecção. Para *U. appendiculatus*, fungo biotrófico que precisa de células vivas para a obtenção de nutrientes durante seu desenvolvimento, esta RH resulta em um ambiente inóspito que não permite seu crescimento, como uma interação incompatível entre o patógeno e o hospedeiro (HEAT, 1998; HEATH & SKALAMERA, 1997). No presente trabalho o número de células com RH/cm² ocorreu em baixa frequência e se mostrou independente da indução de resistência por sacarina e ulvana.

Em algumas células do mesófilo e nas paredes das mesmas foi observado acúmulo de peróxido de hidrogênio mas não o suficiente para ser quantificado (Figura 29) . Estes resultados estão de acordo com o trabalho do Iriti & Faoro (2003) que verificaram que aplicações de Benzothiazole (BTH) em cultivares suscetíveis de feijoeiro induziram resistência sistêmica contra a ferrugem, mas esta indução foi independente da morte celular. Esses autores também observaram um acúmulo de peróxido de hidrogênio nas paredes das células do mesófilo em tecidos tratados com BTH às 12-48 horas após a inoculação.

Em conclusão, sob condições de infecção natural, aplicações quinzenais de sacarina ofereceram proteção contra a ferrugem e a mancha angular e aumentaram o peso de sementes, enquanto a ulvana não afetou estas variáveis. Em casa de vegetação, foi confirmado o

efeito indutor de resistência por sacarina e ulvana, que se expressou em reduções significativas da ferrugem. Ambos compostos não afetaram a germinação de uredósporos e formação de apressórios. A ulvana aumentou a atividade de peroxidases às 24 hai, porém sem ocasionar reação de hipersensibilidade. Sacarina não afetou a atividade enzimática. As cultivares SCS 202 Guará (suscetível) e FT 911249 (resistente) mantiveram sua classificação e reação de resistência frente à ferrugem e se mostraram suscetíveis a mancha angular.

7 BIBLIOGRAFIA

ABEYSINGHE, S. Induced systemic resistance (ISR) in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) mediated by rhizobacteria against bean rust caused by *Uromyces appendiculatus* under greenhouse a field conditions. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 42, n. 11, p. 1079-1087, 2009 a.

ABEYSINGHE, S. Systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* RU01 against *Uromyces appendiculatus* on *Phaseolus vulgaris* **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**, v. 37, n. 3, p. 203-207, 2009.

ABREU, G. F. de, TALAMINI, V., STADNIK, M.J. Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 34, p. 22-26, 2008.

AGRIOS, G. N. (Ed.) **Plant Pathology**, Academic Press, San Diego 635 p. 2005.

ALLARD, R.W. Principio do melhoramento genetico das plantas. São Paulo: Edgard Blücher, p. 381, 1971

ALLORENT, D., SAVARY S. Epidemiological characteristics of angular leaf spot of bean: a systems analysis. **European Journal of Plant Pathology**, v. 113, p. 329-341, 2005.

ANGELOTTI, F., SCAPIN, C.R., TESSMANN, D.J., VIDA, J.B, VIEIRA R.A., SOUTO E. R. Resistência de genótipos de videira à ferrugem. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira** v. 43, p. 1129-1134, 2008.

ARAÚJO, L., STADNIK, M.J., BORSATO, L.C.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Fosfito de potássio e ulvana no controle da mancha foliar da gala em macieira. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n.2, p. 148-152, 2008.

ARAÚJO, L. Mecanismos de resistência e eficiência de formulações de ulvana no controle da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Dissertação de Mestrado**. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, p. 94, 2010.

ASADA, K. Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. **Plant Physiology**, v. 85 p. 235-241, 1991.

BASSANEZI, R.B., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A. & GODOY, C.V. Análise comparativa entre a ferrugem e a mancha angular do feijoeiro: efeito da temperatura nos parâmetros monocíclicos. **Fitopatologia Brasileira** v. 22, p. 432-436, 1997.

BIANCHINI, A., MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L. REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.) **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**, 4^a ed., Editora Agronômica Ceres, São Paulo, v. 2, p. 112-128, 2005.

BÖKER-TÔRRES, M. Composição florística do acrofitobentos da Lagoa da Conceição. **Dissertação de mestrado**. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, p. 74, 2005.

BORSATO, L.C. Avaliação da resistência de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) à ferrugem e mecanismos de defesa elicitados por ulvana contra *Uromyces appendiculatus* **Dissertação de mestrado**. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, p. 73, 2009.

BORSATO, L.C., DI PIERO, M.R., STADNIK, M.J. Mecanismos de defesa elicitados por ulvana contra *Uromyces appendiculatus* em três cultivares de feijoeiro. **Tropical Plant Pathology**, v. 35 n.5, p 318-322, 2010.

BOYLE C, WALTERS D. Induction of systemic protection against rust infection in broad bean by saccharin: effects on plant growth and development. **New Phytologist**, v. 167, p. 607–12, 2005.

BOYLE C., WALTERS D. Saccharin-induced resistance to powdery mildew in barley: effects on growth and phenylpropanoid metabolism. **Plant Pathology**, v. 55, p. 82–91, 2006.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n.1/2, p. 248-254, 1976.

BROUGHTON W.J., HERNANDEZG, B.M., BEEBE S., GEPTS P., VANDERLEYDEN J. Beans (*Phaseolus* spp) - model food legumes. **Plant and Soil**, v. 252, p. 55-128, 2003.

CAVALCANTI, L.S., BRUNELLI, K.R., STANGARLIN, J.R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, A.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Ed.) **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba – SP, p. 81-124, 2005.

CIPOLLINI, D.F.Jr. The induction of soluble peroxidase activity in bean leaves by wind-induced mechanical perturbation. **American Journal of Botany**, v. 85, p. 1586-1591, 1998.

CLUZET, S., TORREGROSA, C., JACQUET, C., LAFITTE, 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**, v. 27, n. 7, p. 917–928, 2004.

CROUS, P.W., LIENBERG, M.M., BRAUN, U., GROENEWALD, J.Z. Re-evaluating the taxonomic status of *Phaseoisariopsis griseola*, the causal agent of angular leaf spot of bean. **Studies in Micology**, v. 55, n. 1, p. 163-173, 2006.

DEBOUCK, D.G., TORO, O., PAREDES, O.M., JOHNSON, W.C., GEPTS, P. Genetic diversity and ecological distribution of *Phaseolus vulgaris* in northwestern South America. **Economic Botany**, v. 47, p. 408-423, 1993.

DE FREITAS, M.B. Mecanismos de resistência e eficiência de formulações de ulvana no controle da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Dissertação de mestrado**. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina p. 103, 2010.

DE FREITAS, M.B., MEDUGNO, C.C., SCHONS, R.F., STADNIK, M.J. Eficiência de formulações de ulvana em induzir resistência em *Phaseolus vulgaris* contra *Colletotrichum lindemuthianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 1, p. 45-49, 2011

FALEIRO, F.G., VINHADELLI, W.S., RAGAGNIN, V.A., ZAMBOLIM, L., PAULA JR T.J., MOREIRA, M.A., E.G. BARROS, E.G. Identificação de raças fisiológicas de *Uromyces appendiculatus* no estado de Minas Gerais, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p. 166–169, 1999.

FALEIRO, F.G., RAGAGNIN, V.A., VINHADELLI, W.S., MOREIRA, M.A., STAVELY J.R., BARROS, E.G. Resistência de linhagens de feijoeiro a quatro raças de *Uromyces appendiculatus* isoladas em Minas Gerais, Brasil. **Fitopatologia brasileira**, v. 26, n. 1, p.77 - 80, 2001.

FANCELLI, A.L., DOURADO NETO, D. **Ecofisiologia e fenologia do feijoeiro: Tecnologia da produção de Feijão irrigado**. Piracicaba: ESALQ/USP, Departamento de Agricultura, p. 182, 1997.

FERNANDES, W.S. Respostas de defesa e resistência induzida por ulvana à antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Dissertação de mestrado**. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina. p. 85, 2007.

FERREIRA, D. F. Sisvar. Lavras: UFLA, 2000.

HAMMOND-KOSACK, K.E., JONES, J.D.G. Resistance gene-dependent plant defense responses. **The Plant Cell**, v. 8, p. 1773-1791, 1996

HEAT, M.C. Apoptosis, programmed cell death and the hypersensitive response. **European Journal of Plant Pathology**, v. 104, p. 117-124, 1998.

HÜCKELHOVEN, R., FODOR, J., PREIS, C., KOGEL, K. H. Hypersensitive cell death and papilla formation in barley attacked by the powdery mildew fungus are associated with hydrogen peroxide but not with salicylic acid accumulation. **Plant Physiology**, v. 119, p. 1251-1260, 1999.

HUTH, W. & BALKE, K. Bion – without effect on the development of BYDV infected plants of winter barley. **Journal of Plant Diseases and Protection** v. 109, p. 286–290, 2002.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: maio 2011

IRITI, M., FAORO, F. Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death dependent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. **Journal of phytopathology**, v.151, p. 171–180, 2003.

ITIS, Integrated Taxonomic Information System. Disponível em: <www.itis.usda.gov>. Acesso em: Maio de 2009

JAULNEAU V., LAFITTE C., CORIO-COSTET, M.F., STADNIK, M.J., SALAMAGNE, S., BRIAND X., ESQUERRÉ-TUGAYÉ, M. T., DUMAS, B. An *Ulva armoricana* extract protects plants against powdery mildew pathogens. **European Journal of Plant Pathology**, v. 130, 2011

JESUS JUNIOR, W.C.; VALE, F.X.R.; MARTINEZ, C.A.; COELHO, R.R.; COSTA, L.C.; HAU, B.; ZAMBOLIM, L. Effects of angular leaf spot and rust on leaf gas exchange and yield of common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Photosynthetica**, v. 39, p. 603–606, 2001.

KAUFFMAN, G.B., PRIEBE, P. M. The Discovery of Saccharin: A Centennial Retrospect. **Ambix** v. 25, n. 3, p. 191-207, 1978.

KELLY J.D., STAVELY J.R. MIKLAS P.N. Proposed symbols for rust resistance genes. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative** v. 39, p. 25-31, 1996.

KIRALY, L., BARNA, B., KIRALY, Z. Plant resistance to pathogen infection: forms and mechanisms of innate and acquired resistance. **Journal of Phytopathology**, v. 155, p. 385–396, 2007.

LAHAYE M., ROBIC A. Structure and functional properties of ulvan, a polysaccharide from green seaweeds. **Biomacromolecules**. v. 8, n. 6, p. 1765-1774, 2007.

LIEBENBERG, M.M., PRETORIUS, Z.A. Common Bean Rust: Pathology and Control. **Horticultural Reviews**. v. 37, 2010.

LOFFAGUEN, J.C., HARTMANN, O.E.L., TALAMINI, V., STADNIK, M.J. Extratos naturais no controle da antracnose e na

produtividade do feijoeiro. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2004, **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29 (suplemento), p. 107-107, 2004.

LOW, P.S., MERIDA, J.R. The oxidative burst in plant defense: Function and signal transduction. **Physiologia Plantarum**, v. 96, p. 533-542, 1996.

MAFFI, D., IRITI, M., PIGNI, M., VANNINI, C., FAORO, F. *Uromyces appendiculatus* infection in BTH- Treated Bean Plants: Ultrastructural Details of a Lost Fight. **Mycopathologia**, v. 17, n. 3, p. 209-221, 2011.

MARTINS, D. A. Uso de extratos à base de algas para controlar a antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) e a ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) do feijoeiro. **Trabalho de Conclusão de Curso de Agronomia**. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, p. 49, 2006.

STICHER, MAUCH-MANI, B., MÈTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. **Annual Review Phytopathology**. v. 35, p. 235-270, 1997.

MCMILLAN, M.S., SCHWARTZ, H. F., OTTO, K. L. Sexual stage development of *Uromyces appendiculatus* and its potential use for disease resistance screening of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Disease**, v. 87, p. 1133-1138, 2003.

METRAUX, J.P. Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, p. 13-18, 2001.

MOURA-NUÑES, O.A., VIEIRA, C., ZAMBOLIM, L. Variedades diferenciadoras de feijão para identificação de raças fisiológicas de *Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth **Revista Ceres**, v. 39, p. 391-404, 1992

PARLEVLJET, J.E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**, v. 17, p. 203-222, 1979.

PASCHOLATI, S.F., LEITE, B., Hospedeiro: Mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de**

fitopatologia: Princípios e conceitos, Ed. Agronomica Ceres, São Paulo, v. 1, p. 417-454, 1995.

PASTOR-CORRALES, M.A., The reaction of 19 bean rust differential cultivars to 94 races of *Uromyces appendiculatus* and the implication for the development of rust resistance cultivars. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 44, p. 103-104, 2001.

PASTOR-CORRALES, M.A., Sources, genes for resistance, and pedigrees of 52 rust and mosaic resistant dry bean germplasm lines released by the USDA Beltsville Bean Project in collaboration with Michigan Nebraska and North Dakota Agricultural Experiment Stations. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, v. 46 p. 235-241, 2003.

PASTOR CORRALES, T., LIEBENBERG, M. Common Bean rust. Disponível em: <http://www.css.msu.edu/bic/pdf/rust.pdf> Acesso em Maio de 2011.

PAULA JÚNIOR, T.J. ZAMBOLIM, L., Doenças. In: VIEIRA, C, PAULA JÚNIOR, T.J. BOREMA., (Eds.) Feijão: Aspectos gerais e cultura no estado de Minas Gerais; Viçosa: UFV, 1998

PAULERT, R. Atividade antimicrobiana e controle da antracnose do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) utilizando polissacarídeo e extratos da macroalga marinha *Ulva fasciata*. **Dissertação de mestrado**. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, p. 90, 2005.

PAULERT, R., SMANIA JUNIOR, A., STADNIK, M. J.; PIZZOLATTI, M. G. Antimicrobial properties of extracts from the green seaweed *Ulva fasciata* Delile against pathogenic bacteria and fungi. **Algological Studies**, v. 123 p. 123 – 130, 2007.

PAULERT, R., TALAMINI, V., CASSOLATO, J. E. F., DUARTE, M. E. R.; NOSEDA, M. D., SMANIA JÚNIOR, 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**, v. 116, n. 6, p. 263-270, 2009.

PAULERT, R., EBBINGHAUS, D., URLASS, 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**, v. 59, p. 634–642, 2010.

RESENDE, M.L.V., SALGADO, S.M.L., CHAVES, Z.M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 123-130, 2003.

ROBIC, A., SASSI, J. F., LAHAYE, M. Impact of stabilization treatments of the green seaweed *Ulva rotundata* (Chlorophyta) on the extraction yield, the physico-chemical and rheological properties of ulvan. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 344-352, 2008.

SANTOS, A.A., WORDELL, F.J.A., STADNIK, M.J. Efeito de tratamentos com extrato de alga e fungicida na severidade da mancha angular e na produtividade de três cultivares de feijão. In: In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 36 (suplemento), 2011.

SCHEEMAN, B.O. Dietary fiber: physical and chemical properties, methods of analysis and physiological effects. **Food Technology**, v. 40 p. 104-110, 1986.

SCHWART, H.F., CORREA F.V., PINEDA, P.A. OTOYA, M.M., KATHERMAN, MJ. Dry Yield Losses Caused by *Ascochyta*, Angular and White leaf Spots in Colombia. **Plant Disease**, v. 65 n. 6, p. 494-496, 1981.

SIEGRIST J, MÜHLENBECK S, BUCHENAUER H. Cultured parsley cells, a model system for the rapid testing of abiotic and natural substances as inducers of systemic acquired resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 53, p. 223–238, 1998.

SILLERO, J. C., MORENO, M. T., RUBIALES, D. Identification and characterization of new sources of resistance to *Uromyces viciae-fabae* in a germplasm collection of *Vicia faba*. **Plant Pathology**, v. 49, p. 389-395, 2000.

SILVA, S. R., RIOS, G. P., SILVANDO, C. S. Influência da resistência e do período de molhamento na infecção e desenvolvimento de lesões de ferrugem no feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 726-731, 2001.

SINGH, S.P; NODARI R, GEPTS P. Genetic diversity in cultivated common bean: I allozymes. **Crop Science** v. 31, p. 19-23, 1991.

SING, S. Bean Genetics. In: VAN SCHOONHEVEN, A., VOYSSEST, O. (Eds). **Common beans: research for crop improvement**. Wallingford, EUA, p. 199-286, 1991.

SINGH, U., SINGH, B. Tropical grain legumes as important human foods. *Economic Botany*, v. 46, p. 310-321, 1992.

SINGH, S.P. Broadening the genetic base of common bean cultivars: A review. **Crop Science**, v. 41, p 1659-1675, 2001.

SOUZA, T.L.P.O., RAGAGNIN, V.A., SANGLARG, D.A. MOREIRA, M.A., BARROS, E.G. Classification of *Uromyces appendiculatus* physiological races from Minas Gerais, Brazil, using the new binary system. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 48, p. 158 -161, 2003.

SOUZA, T.L.P.O.; ALZATE-MARIN, A.L.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Análise comparativa da variabilidade patogênica de *Uromyces appendiculatus* em algumas regiões brasileiras. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 143-149, 2005

SOUZA, T. L. P. O., ALZATE-MARIN, A. L., FALEIRO, F. G.; BARROS, E. G. de. Pathosystem common bean-*Uromyces appendiculatus*: host resistance, pathogen specialization, and breeding for rust resistance. **Pest Technology**, v. 2, n. 2, p. 56-69, 2008.

SOUZA, T.L.P.S., DESSAUNE, D.A., SANGLARD, M.A. MOREIRA, BARROS, E.G. Characterization of the rust resistance gene present in the common bean cultivar Ouro Negro, the main rust resistance source used in Brazil. **Plant Pathology**, v. 60, p. 839-845, 2011.

SRIVASTAVA, P., GEORGE, S., MAROIS, J., WRIGHT D.L., WALKER D.R. Saccharin-induced systemic acquired resistance against

rust (*Phakopsora pachyrhizi*) infection in soybean: Effects on growth and development. **Crop Protection**, v. 30, n. 6, p. 726-732, 2011

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, p. 221-244, 2004.

STADNIK, M.J., BUCHENAUER, H. Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase suppresses the resistance induced by benzothiadiazole in wheat to *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 57, p. 25-34, 2000.

STAVELY, J.R., FREYTAG, G.F., STEADMAN, J.R., SCHWARTZ, H.F. The 1983 bean rust workshop. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 26, 1983.

STAVELY, J.R, PASTOR-CORRALES, M.A. Rust. In SCHWARTZ, H.F., PASTOR-CORRALES, M.A. (Eds.) Bean production problems in the tropics. 2ed. CIAT; Cali, Colombia, 1989.

STAVELY, J. R., STEADMAN, J. R., MCMILLAN, R. T. New pathogenic variability in *Uromyces appendiculatus* in North America. **Plant Disease**, v. 73, p. 428-432, 1989.

STEADMAN, J.R., PASTOR-CORRALES, M.A., BEAVER, J.S. An overview of the 3rd bean rust and 2nd bean common bacterial blight international workshops. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Pietermaritzburg, South Africa , v. 45, p. 120-125, 2002.

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, p. 45-62, 2004.

THORDAL-CHRISTENSEN H, ZHANG Z, WEI Y, COLLINGE DB. Subcellular localization of H₂O₂ in plants. H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley powdery mildew interaction. **Plant Journal**, v. 11 p. 1187-1194. 1997.

UCHIYAMA, M., ABE, H., SATO, R. Fate of 3 allyloxy 1,2 benzisothiazole 1,1 dioxide (Oryzamate) in rice plants. **Journal Agricultural and Biological Chemistry**, v. 37, n. 4, p. 737-745, 1973.

VALE, FX,R, FERNANDES FILHO, E.I, LIBERATO, J.R, Quantificação de doenças Quant v.1.0.1. CD-ROM, Viçosa: UFV, 2001.

VAN LOON, L.C., REP, M., PIETERSE, C.M.J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annual Reviews of Phytopathology**, v. 44, p. 135-162, 2006.

VAN LOON, L. C., VAN STRIEN, E. A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 55, p. 85-97, 1999.

VAN SCHOONHOVEN, A. & PASTOR-CORRALES, M. A. (comps.) Sistema estandar para evaluación de germoplasma de frijol. **CIAT Cali**, Colombia. 1987.

VIEIRA, C.; BORÉM, A.; RAMALHO, M. A. P., CARNEIRO J.E.S, Melhoramento do feijão. In: BORÉM, A (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, p. 301-391, 2005.

VOEGELE, R. T., *Uromyces fabae*: development, metabolism, and interactions with its host *Vicia faba*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 259, n. 2, p. 165-173, 2006.

WALTERS, D.; HEIL, M. Costs and trade- offs associated with induced resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 71, n. 3, p. 3-17, 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**, v. 73, p. 95–100, 2009.

WALTERS, D.R.; FOUNTAINE, J.M. Practical application of induced resistance to plant diseases: an appraisal of effectiveness under field conditions. **Journal of Agricultural Science**, v, 147 p. 523-535, 2009.

8 ANEXOS

Anexo 1. Estádios de desenvolvimento do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) Adaptado de Schoonhoven & Pastor-Corrales (1987).

Estádio ^a	Descrição ^b
V0	Germinação: Absorção de água pelas sementes, emissão da radícula e sua transformação em raiz primária.
V1	Emergência: Os cotilédones aparecem ao nível do solo, separam-se e o epicótilo começa seu desenvolvimento.
V2	Folhas primárias: Folhas primárias totalmente abertas.
V3	Primeira folha trifoliada: Abertura da primeira folha trifoliada e aparece aparecimento da segunda folha trifoliada.
V4	Terceira folha trifoliada: Abertura da terceira folha trifoliada e formação de ramos nas gemas e nos nós inferiores.
R5	Pré-floração: Aparecimento do primeiro botão floral e do primeiro racemo. Os botões florais das variedades determinadas se formam no último nó do talo e do ramo. Nas variedades indeterminadas os racemos aparecem primeiro nos nós mais baixos.
R6	Floração: Abertura da primeira flor.
R7	Formação das vagens: Aparecimento da primeira vagem até apresentar 2,5 cm de comprimento.
R8	Enchimento de vagens: Início do enchimento da primeira vagem (crescimento da semente). Ao final do estágio, as sementes perdem a cor verde e começam a mostrar as características da variedade. Início da desfolha
R9	Maturação fisiológica: As vagens perdem sua pigmentação e começam a secar. As sementes desenvolvem a cor típica da variedade

a. V = vegetativo; R = reprodutivo b. Cada estágio inicia quando 50% das plantas apresentam as condições correspondentes à descrição.

Anexo 2. Dados meteorológicos registrados durante os experimentos nos períodos de 29/09/2009 a 28/12/2009; 01/03/2010 a 23/05/2010 e 29/09/2010 a 28/12/2010. Estação Epagri/Ciram Itacorubi, Florianópolis, SC.

Ano	Mês	Temperatura (°C)			Precipitação mm	Nº de dias	UR (%)
		T min.	T máx.	T média			
2009	Setembro	10.9	18.5	14.7	4,5	1	69.5
	Outubro	16.8	24.3	20.5	130	15	82.2
	Novembro	22.0	29.7	25.8	109	17	79.2
	Dezembro	22.1	29.3	25.7	148	18	79.9
2010	Março	21.2	30.0	25.1	344	21	88.2
	Abril	18.3	26.0	22.2	189	15	88.1
	Maio	16.6	23.7	20.2	334	15	88.1
	Setembro	18,5	25,5	22,2	3,5	1	78
	Outubro	15,8	23,4	19,6	106,6	14	77
	Novembro	18,2	26	22,3	150,7	11	81
	Dezembro	20,4	27,3	23,9	161,	20	82

Anexo 3. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) da severidade final e Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (susceptível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 29/09/2009 a 28/12/2009 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL).

Severidade final*						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV (%)
Cultivar	1	2,01	2,01	47,71	0,00	38,91
Tratamento	2	2,11	1,05	24,97	0,00	
C*T	2	0,56	0,28	6,66	0,00	
Bloco	3	0,07	0,02	0,58	0,63	
Erro	14	0,59	0,04			
AACPD						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV (%)
Cultivar	1	48984,85	48984,85	128,71	0,00	25,75
Tratamento	2	35629,44	17814,72	46,81	0,00	
C*T	2	22292,80	11146,40	29,28	0,00	
Bloco	3	743,23	247,74	0,65	0,59	
Erro	14	5327,92	380,56			

FV: Fonte de variação; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado; CV(%): Coeficiente de variação. * Dados transformados para Log x.

Anexo 4. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) da severidade final e Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da mancha angular (*Pseudocercospora griseola*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 29/09/2009 a 28/12/2009 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL).

Severidade final						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	1,23	1,23	0,84	0,37	18,81
Tratamento	2	10,76	5,38	3,66	0,05	
C*T	2	2,15	1,07	0,73	0,49	
Bloco	3	5,37	1,79	1,21	0,33	
Erro	14	20,57	1,46			
AACPD						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	2278,57	2278,57	2,53	0,13	35,64
Tratamento	2	1082,23	541,11	0,60	0,56	
C*T	2	1392,74	696,37	0,77	0,48	
Bloco	3	26,14	8,71	0,01	0,99	
Erro	13	12610,63	900,75			

FV: Fonte de variação; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado; CV(%): Coeficiente de variação.

Anexo 5. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) do peso seco de 100 sementes, número de vagens por planta e número de sementes por vagem em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 29/09/2009 a 28/12/2009) e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL).

Peso seco de 100 grãos						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	47,18	47,18	11,39	0,00	8,44
Tratamento	2	12,55	6,27	1,51	0,25	
C*T	2	3,61	1,80	0,43	0,65	
Bloco	3	40,69	13,56	3,27	0,05	
Erro	15	62,09	4,13			
Vagens/ plantas						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	23,16	23,16	2,36	0,14	26,95
Tratamento	2	7,59	3,79	0,38	0,68	
C*T	2	22,67	11,33	1,15	0,34	
Bloco	3	4,49	1,49	0,15	0,92	
Erro	15	147,15	9,81			
Sementes/ vagem						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	0,00	0,00	0,04	0,83	10,10
Tratamento	2	0,63	0,31	2,16	0,14	
C*T	2	0,27	0,13	0,94	0,41	
Bloco	3	0,23	0,07	0,53	0,66	
Erro	15	2,22	0,14			

FV: Fonte de variação; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado; CV(%): Coeficiente de variação.

Anexo 6. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) da severidade final e AACPD da mancha angular (*Pseudocercospora griseola*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 01/03/2010 a 23/05/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL).

Severidade final						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	0,18	0,18	0,09	0,76	5,7
Tratamento	2	17,76	8,88	4,50	0,02	
C*T	2	0,36	0,18	0,09	0,91	
Bloco	3	8,94	2,98	1,51	0,25	
Erro	15	29,56	1,97			
AACPD						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	130,2	130,29	0,04	0,83	10,7
Tratamento	2	38830,3	19415,16	6,94	0,00	
C*T	2	7086,9	3543,49	1,26	0,31	
Bloco	3	7573,6	2524,53	0,90	0,46	
Erro	15	41961,9	2797,46			

FV: Fonte de variação; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado; CV(%): Coeficiente de variação.

Anexo 7. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) do peso seco de 100 sementes, número de vagens por planta, número de sementes por vagem em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 01/03/2010 a 23/05/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL).

Peso de 100 sementes						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	18,39	18,39	6,66	0,02	9,95
Tratamento	2	21,08	10,54	3,82	0,04	
C*T	2	11,29	5,64	2,04	0,16	
Bloco	3	14,42	4,80	1,74	0,20	
Erro	15	41,40	2,76			
Vagens por plantas						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	0,01	0,01	0,00	0,93	21,52
Tratamento	2	3,64	1,82	1,13	0,34	
C*T	2	0,33	0,16	0,10	0,90	
Bloco	3	3,46	1,15	0,71	0,55	
Erro	15	24,15	1,61			
Sementes por vagem						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	0,57	0,57	2,35	0,14	
Tratamento	2	0,17	0,08	0,36	0,70	
C*T	2	0,01	0,00	0,03	0,09	
Bloco	3	0,57	0,19	0,78	0,52	
Erro	15	3,63	0,24			

FV: Fonte de variação; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado; CV(%): Coeficiente de variação.

Anexo 8. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) da severidade final e Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da Ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 29/09/2010 a 28/12/2010) e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL).

Severidade final						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	157,59	157,59	266,89	0,00	26,86
Tratamento	2	40,50	20,25	34,30	0,00	
C*T	2	33,48	16,74	28,35	0,00	
Bloco	3	2,06	0,68	1,16	0,35	
Erro	15	8,85	0,59			

AACPD*						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	10,64	10,64	79,03	0,00	37,47
Tratamento	2	1,42	0,71	5,28	0,01	
C*T	2	0,22	0,11	0,84	0,44	
Bloco	3	0,32	0,10	0,81	0,50	
Erro	15	2,01	0,13			

FV: Fonte de variação; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado; CV(%): Coeficiente de variação. *Dados transformados para $\text{Log } x+0,5$

Anexo 9. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) da severidade final e Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da mancha angular (*Pseudocercospora griseola*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 29/09/2010 a 28/12/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL).

Severidade final						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	37,80	37,80	9,35	0,00	31,25
Tratamento	2	60,16	30,08	7,44	0,00	
C*T	2	15,40	7,70	1,90	0,18	
Bloco	3	7,40	2,46	0,61	0,61	
Erro	15	60,59	4,03			
AACPD						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	7339,15	7339,15	5,67	0,03	37,21
Tratamento	2	25868,39	12934,19	10,00	0,07	
C*T	2	8148,63	4074,31	3,15	0,07	
Bloco	3	3303,09	1101,03	0,85	0,48	
Erro	15	19391,76	1292,78			

FV: Fonte de variação; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado; CV(%): Coeficiente de variação.

Anexo 10. Análises de variância fatorial ($p \leq 0,05$) peso seco de 100 sementes, número de vagens por planta e número de sementes por vagem em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) cultivadas no período 29/09/2010 a 28/12/2010 e pulverizadas a cada 14 dias com água, ulvana (1 mg/mL) ou sacarina (0,24 mg/mL).

Peso de 100 sementes						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	63,27	63,27	9,10	0,00	10,40
Tratamento	2	52,88	26,44	3,80	0,04	
C*T	2	17,42	8,71	1,25	0,31	
Bloco	3	46,40	15,46	2,22	0,12	
Erro	15	104,20	6,94			

Vagens por plantas						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	0,00	0,00	0,00	0,99	19,72
Tratamento	2	3,08	1,54	0,30	0,74	
C*T	2	3,25	1,62	0,32	0,73	
Bloco	3	13,50	4,50	0,88	0,46	
Erro	15	76,00	5,06			

Sementes por vagem						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	0,04	0,04	0,27	0,60	8,16
Tratamento	2	0,08	0,04	0,27	0,76	
C*T	2	1,08	0,54	3,54	0,05	
Bloco	3	0,45	0,15	1,00	0,41	
Erro	15	2,29	0,15			

FV: Fonte de variação; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado; CV(%): Coeficiente de variação.

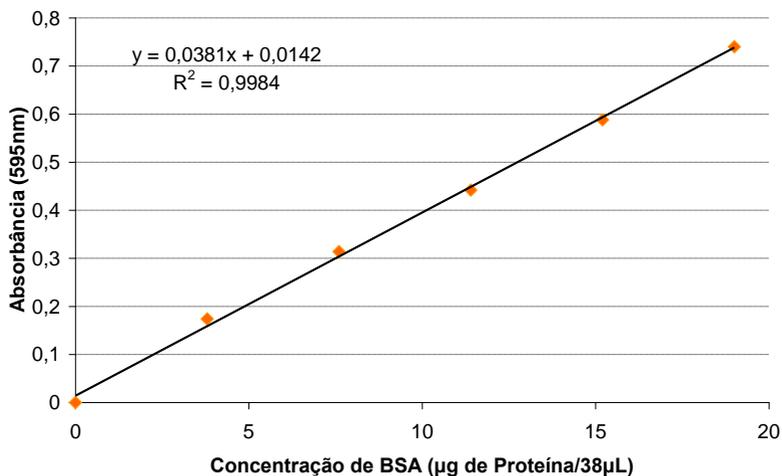
Anexo 11. Análises de variância da atividade de peroxidases às 24 e 48 horas após a inoculação com *Uromyces appendiculatus* raça 59-63 em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) pulverizadas 6 dias antes da inoculação com água, sacarina (0,24 mg/mL) ou 6 e 3 DAI com ulvana (10 mg/mL).

HAI*	FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
24	Cultivar	1	1,56	1,56	2,05	0,17	15,4
	Tratamento	2	7,41	3,70	4,87	0,02	
	C*T	2	0,22	0,11	0,14	0,86	
	Erro	18	13,69	0,76			
HAI	FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
48	Cultivar	1	7,61	7,61	8,70	0,01	15,3
	Tratamento	2	0,26	0,13	0,15	0,85	
	C*T	2	0,15	0,07	0,09	0,91	
	Erro	18	15,73	0,87			

*Dados transformados para $\sqrt{x+1}$

GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado; CV(%): Coeficiente de variação.

Anexo 12. Curva padrão utilizando BSA (Albumina de soro bovino) e equação, utilizados para o cálculo do conteúdo de proteínas em amostras retiradas para a avaliação de peroxidases



Anexo 13. Análises de variância da porcentagem de área afetada, número de pústula por centímetro quadrado (NP/cm²), diâmetro de pústulas, taxa de esporulação em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) pulverizadas 6 dias antes da inoculação com água, sacarina (0,24 mg/mL) e 6 3 DAI com ulvana (10 mg/mL).

Área afetada⁺						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	0,21	0,20	22,28	0,00	17,89
Tratamento	2	0,07	0,03	4,22	0,00	
C*T	2	0,00	0,00	0,38	0,00	
Erro	18	0,14	0,01			
NP/cm²*						
Cultivar	1	5,80	5,80	9,02	0,00	40
Tratamento	2	5,12	2,56	3,98	0,00	
C*T	2	0,81	0,40	0,63	0,54	
Erro	15	11,58	0,64			
Diâmetro de pústulas						
Cultivar	1	119947	119947	32,32	0,00	17,75
Tratamento	2	170684	85342	23,00	0,00	
C*T	2	169246	84623	22,80	0,00	
Erro	15	55653	3710			
Uresdósporos/pústula*						
Cultivar	1	4736	4736	10,59	0,00	32,4
Tratamento	2	16500	8250	18,44	0,00	
C*T	2	2882	1441	3,22	0,04	
Erro	15	6708	447			

*Dados transformados para $\text{Log } x+0,5$

⁺ Dados transformados para $\sqrt{x+1}$

GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado; CV(%): Coeficiente de variação.

Anexo 14. Análises de variância (ANOVA) para o número de células com reação de hipersensibilidade/cm², avaliando 24 e 48 horas após a inoculação de *Uromyces appendiculatus* raça 59-63, em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) pulverizadas 6 dias antes da inoculação com sacarina (0,24 mg/mL) ou 6 e 3 DAI com ulvana (10 mg/mL).

HAI	FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
24	Cultivar	1	0,22	0,22	0,54	0,54	35
	Tratamento	2	1,50	0,75	1,81	1,81	
	C*T	2	0,18	0,09	0,22	0,79	
	Erro	18	7,43	0,41			
HAI	FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
48	Cultivar	1	0,54	0,54	2,21	0,15	23,3
	Tratamento	2	0,16	0,08	0,34	0,71	
	C*T	2	0,86	0,43	1,71	0,20	
	Erro	18	4,42	0,24			

*Dados transformados $\sqrt{x+1}$

GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado; CV(%): Coeficiente de variação.

Anexo 15. Análises de variância (ANOVA) para germinação de uredósporos e formação de apressórios avaliados às 24 e 48 horas após a inoculação (HAI), em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares SCS 202 Guará (suscetível à ferrugem) e FT 911249 (resistente à ferrugem) pulverizadas 6 dias antes da inoculação com sacarina (0,24 mg/mL) ou ulvana (10 mg/mL).

Germinação 24 horas						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	140,20	140,20	2,32	0,14	8,7
Tratamento	2	182,30	91,10	1,51	0,24	
C*T	2	53,60	26,80	0,44	0,64	
Erro	18	1086,00	60,30			
Germinação 48 horas						
Cultivar	1	48,20	48,20	0,38	0,54	17,1
Tratamento	2	339,70	169,90	1,34	0,28	
C*T	2	40,60	20,30	0,16	0,85	
Erro	18	2273,50	126,30			
Apressórios 24 horas*						
FV	GL	SQ	QM	Fc	p	CV
Cultivar	1	96,00	96,00	1,76	0,20	33,3
Tratamento	2	258,08	129,42	2,36	0,12	
C*T	2	22,75	11,37	0,20	0,81	
Erro	18	981,00	54,50			
Apressórios 48 horas						
Cultivar	1	8,17	8,17	0,07	0,79	30,5
Tratamento	2	310,58	155,29	1,33	0,28	
C*T	2	33,08	16,54	0,14	0,86	
Erro	18	2093,50	116,31			

GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado; CV(%): Coeficiente de variação. *Dados transformados para $\sqrt{x+1}$.