

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

GUILHERME FERNANDES DE ABREU

BIOPROSPECÇÃO DE MACROALGAS MARINHAS E PLANTAS
AQUÁTICAS PARA O CONTROLE DA ANTRACNOSE (*Colletotrichum
lindemuthianum*) DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.).

Orientador: Marciel João Stadnik

Dissertação apresentada ao Curso
de Pós-graduação em Recursos
Genéticos Vegetais, da Universidade
Federal de Santa Catarina, para a
obtenção do título de mestre em
Ciências. Área de concentração:
Recursos Genéticos Vegetais.

Florianópolis – SC
2005

Abreu, Guilherme Fernandes de

Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.): UFSC, 2005.

80p.

Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

1. *Colletotrichum lindemuthianum*. 2. *Phaseolus vulgaris*, 3. algas marinhas e plantas aquáticas. 4. bioprospecção. 5. doenças de plantas.

BIOPROSPECÇÃO DE MACROALGAS MARINHAS E PLANTAS
AQUÁTICAS PARA O CONTROLE DA ANTRACNOSE (*Colletotrichum
lindemuthianum*) DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.).

GUILHERME FERNANDES DE ABREU

Dissertação julgada e aprovada em sua
forma final, pelo Orientador e Membros
da Comissão Examinadora.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Marciel João Stadnik

Dra. Viviane Talamini

Dr. João A. Wordell Filho

Dr. Luis Aquiles Martins Medeiros

Florianópolis, setembro de 2005.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Marciel J. Stadnik e ao Departamento de Fitotecnia e ao Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais (RGV), pela oportunidade de realização deste trabalho, pela formação adquirida nas disciplinas cursadas, pela orientação dedicada.

À Dra. Viviane Talamini e ao Dr. Paulo A. Horta Junior, pela orientação na condução dos trabalhos.

Aos meus pais, Aparecido Mauro F.de Abreu e Lenite Lúcia Zanesco de Abreu pela educação, estrutura familiar sólida, e apoio financeiro para realização deste trabalho.

Aos amigos, Maximiliano C.Gonzalez, Beatriz Berj, Maurício Zanetti, Rafael Gueller, amigos do RGV e do CCA/UFSC, pelos momentos vividos.

A Dr. Yodiro Masuda, pelo exemplo.

A Deus pela perfeição e poder.

SUMÁRIO

Resumo	1
Abstract	2
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. Bioprospecção	5
2.2. Considerações gerais sobre a cultura do feijoeiro	6
2.2.1. O Feijoeiro em Santa Catarina	7
2.3. Antracnose do Feijoeiro	9
2.3.1. Etiologia	9
2.3.2. Sintomas	9
2.3.3. Mecanismos de resistência do hospedeiro e de ataque do patógeno	10
2.3.4. Indução de resistência	12
2.3.5. Presença e importância de raças	14
2.3.6. Perspectivas de controle da doença	15
2.3.6.1. Melhoramento genético	15
2.3.6.2. Químico	16
2.4. Utilização de algas marinhas na agricultura	17
3. METODOLOGIA	25
3.1. Obtenção e conservação do isolado de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	25
3.2. Coleta e preparo dos extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas	25
3.3. Testes <i>in vitro</i>	27
3.3.1. Crescimento micelial de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	27
3.3.2. Germinação de conídios de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	29
3.4. Testes <i>in vivo</i>	30
3.4.1. Material vegetal e cultivo das plantas	31
3.4.2. Tratamento das plantas e Inoculação do fungo	31
3.4.3. Avaliação da severidade da doença	34
3.5. Análise dos Dados	36
4. RESULTADOS	37
4.1. Pré-seleção em testes <i>in vitro</i>	37

4.2. Pré-seleção em testes <i>in vivo</i>.....	39
4.2. Estudo comparativo entre os extratos selecionados.....	41
4.2.1. Testes <i>in vitro</i>.....	42
4.2.2. Testes <i>in vivo</i> sob efeito local ou direto	43
4.2.3. Testes <i>in vivo</i> sob efeito residual.....	44
4.2.4. Testes <i>in vivo</i> sob efeito sistêmico.....	45
4.3. Correlação entre as variáveis experimentais.....	46
5. DISCUSSÃO	42
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
7. ANEXOS	69

Índice de Tabelas

Tabela 1. Gêneros de algas marinhas utilizadas na agricultura e os países envolvidos no cultivo. _____	18
Tabela 2. Classificação das espécies de macroalgas marinhas e plantas aquáticas coletadas, quanto ao filo, família, local e época de coleta. _____	26
Tabela 3. Escala descritiva para avaliação do padrão de germinação de conídios (PGC) de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> germinados em solução aquosa, na presença de diferentes extratos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas. ___	30
Tabela 4. Caracterização dos estádios fenológicos da cultura do Feijoeiro (<i>Phaseolus vulgaris</i>), segundo Fancelli, (1987). _____	32
Tabela 5. Escala descritiva da severidade da antracnose do feijoeiro, proposta por Rava (1993). _____	35
Tabela 6. Escala descritiva da severidade da antracnose do feijoeiro, proposta por Tamayo (1993). _____	36
Tabela 7. Efeito dos extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas sobre o IVCm (Índice de Velocidade de Crescimento Micelial), a porcentagem de germinação de conídios e o padrão de germinação conidial (PGC) de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> . _____	37
Tabela 8. Efeito local, residual e sistêmico de extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas na severidade de antracnose em plantas de feijoeiro (<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. Uirapuru). Sendo avaliados a 5 d.a.i. (dias após inoculação) e 11 d.a.i.. _____	40
Tabela 9. Coeficiente de correlação entre variáveis experimentais considerando todos tratamentos. _____	46
Tabela A1. Efeito dos extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas sobre o IVCm (Índice de Velocidade de Crescimento Micelial), a porcentagem de germinação de conídios e o padrão de germinação conidial (PGC) de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> . _____	69
Tabela A2. Efeito de extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas na severidade de antracnose do feijoeiro sob efeito local, sob efeito residual e sob efeito sistêmico em pulverizações preventivas. _____	70
Tabela A3. Coeficiente de correlação e significância ($P \leq 0,05$) entre variáveis experimentais considerando todos tratamentos. _____	71

Índice de Figuras

- Figura 1. Esquema ilustrativo do modelo biológico utilizado na seleção de extratos de macroalgas marinha e plantas aquáticas, sob efeito, local (A), residual e sistêmico (B) no controle da antracnose do feijoeiro. O efeito sistêmico foi obtido pela avaliação do trifólio não tratado envolto pelo círculo. _____ 33
- Figura 2. Índices de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *C.lindemuthianum* sob diferentes tratamentos com extratos etanólicos de macroalgas marinhas em meio BDA de cultura (Tukey, $P \leq 0,05$). _____ 42
- Figura 3. Efeito local de extratos etanólicos de macroalgas marinhas na severidade de antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) avaliada aos 5 e 11 dias após inoculação (d.a.i.) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Uirapuru) em estágio fenológico V3. _____ 433
- Figura 4. Efeito residual de extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas na severidade de antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) avaliada a 5 e 11 dias após inoculação (d.a.i.) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Uirapuru) em estágio fenológico V3. _____ 44
- Figura 5. Efeito sistêmico de extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas na severidade de antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) avaliada a 5 e 11 dias após inoculação (d.a.i.) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Uirapuru) em estágio fenológico V3. _____ 45

Resumo

ABREU, G.F. Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Dissertação de mestrado. 2005.

Realizou-se bioprospecção de espécies de macroalgas marinhas e plantas aquáticas com o objetivo de encontrar pelo menos um extrato eficiente para o controle da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) do feijoeiro. Para tanto, foram coletadas e identificadas 17 espécies de macroalgas marinhas: *Acanthophora spicifera*, *Bostrychia* sp., *Bryothamnion seaforthii*, *Bryothamnion triquetrum*, *Centroceras clavulatum*, *Cheilosporum sagittatum*, *Codium isthmocladum*, *Codium* sp., *Enteromorpha* sp., *Enteromorpha lingulata*, *Gracilaria tepocensis*, *Hypnea spinella*, *Lithophyllum* sp., *Petalonia* sp., *Sargassum stenophyllum*, *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata*; e duas espécies de plantas aquáticas: *Lemna* sp. e *Spartina juncea*. Posteriormente, o material foi seco em estufa e os compostos foram extraídos em etanol e concentrados por evaporação. Os extratos foram testados *in vitro*, avaliando a influência sobre o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) em meio de cultura, sobre a germinação de conídios e o padrão de germinação conidial (PGC) de *C. lindemuthianum*, em lâminas escavadas. Em ambos os testes, a concentração utilizada foi de 50 mg peso seco/ mL. Realizaram-se também testes em casa-de-vegetação onde os extratos foram testados por meio de pulverizações preventivas em plantas de feijoeiro cv. Uirapuru com posterior inoculação dessas plantas com uma suspensão de *C. lindemuthianum* ($1,2 \times 10^6$ conídios/ mL). Para a verificação do efeito local e residual, plantas tratadas foram inoculadas 4 horas e 7 dias após o tratamento, respectivamente, e foram avaliadas as plantas inteiras. Para a verificação do efeito sistêmico, plantas tratadas foram inoculadas 7 dias após o tratamento e somente o trifólio não tratado foi avaliado. A severidade da antracnose foi avaliada aos 5 e 11 dias após inoculação. O extrato de *H. spinella* apresentou forte ação sobre o crescimento vegetativo de *C. lindemuthianum*, reduzindo o IVCM em 74% comparado à testemunha. Os extratos de *Lemna* sp. e *S. stenophyllum* inibiram a germinação de conídios de *C. lindemuthianum* em 100% e 99%, respectivamente. Nos testes *in vivo*, verificou-se que sob efeito local o extrato de *B. seaforthii* reduziu 35% a severidade da antracnose aos 11 d.a.i.. Embora sem apresentar efeito local, o extrato de *Ulva fasciata* reduziu 24% a severidade da antracnose aos 11 d.a.i. sob efeito residual e 42% a severidade da antracnose aos 5 d.a.i. sob efeito sistêmico. A indução de resistência foi considerada para explicar a redução de doença pelo extrato de *Ulva fasciata*. Dados de avaliações *in vitro* não correlacionaram com os dados obtidos nos experimentos com plantas.

Palavras-chave: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaseolus vulgaris*, algas marinhas, plantas aquáticas, bioprospecção, doenças de plantas, controle de doenças.

Abstract

ABREU, G.F. Bioprospecting of marine macroalgae and aquatic plants to control the anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). M.Sc. dissertation. 2005.

A bioprospecting work was performed with species of marine macroalgae and aquatic plants, in order to screen at least an extract able to control the bean anthracnose. For that, it was collected and identified 17 marine macroalgae species, *i.e.* *Acanthophora spicifera*, *Bostrychia* sp., *Bryothamnion seaforthii*, *Bryothamnion triquetrum*, *Centroceras clavulatum*, *Cheilosporum sagittatum*, *Codium isthmocladum*, *Codium* sp., *Enteromorpha* sp., *Enteromorpha lingulata*, *Gracilaria tepocensis*, *Hypnea spinella*, *Lithophyllum* sp., *Petalonia* sp., *Sargassum stenophyllum*, *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata* as well as two aquatic plant species, *i.e.* *Lemna* sp. and *Spartina juncea*. Thereafter, these species were dried in a chamber and, their compounds were extracted with ethanol and concentrated by solvent evaporating. The extracts were tested *in vitro* for evaluating the effect of them on the mycelial growth velocity index (IVCM) in culture medium and the conidial germination as well as the pattern of conidial germination (PGC) of *C. lindemuthianum* in well slides. The extract concentration used in both tests was always 50 mg dry weight/ mL. Experiments were also carried out under greenhouse conditions where bean plants cv. Uirapuru were previously sprayed with the extracts and inoculated with a conidial suspension of *C. lindemuthianum* ($1,2 \times 10^6$ conidia/ mL). To verify the presence of local effect and residual effect, treated plants were inoculated 4 hours and 7 days after treatment, respectively, and whole plants were evaluated. To investigate the systemic effect, treated plants were treated 7 days after treatment, but the disease was evaluated only on the non-treated uppermost three-leaflet leaf. Anthracnose severity was determined on 5th and 11th day after inoculation (dai). The extract of *H. spinella* presented a strong action towards the mycelial growth of *C. lindemuthianum*, reducing the IVCM by 74% when compared to the control. The extracts of *Lemna* sp. and *S. stenophyllum* inhibited the fungus conidial germination by 100% and 99%, respectively. In greenhouse tests the *B. seaforthii* revealed local effect, reducing the disease severity by 35% on the 11 dai. Although without showing local effect, the extract of *Ulva fasciata* reduced the anthracnose severity on the 11th dai by 24% in whole plants and on the 5th dai systemically by 42% as well. The induction of resistance was taken in consideration to explain the disease severity reduction by the extract of *Ulva fasciata*. *In vitro* data did not correlate with those obtained from greenhouse experiments.

Key-words: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaseolus vulgaris*, seaweeds, aquatic plants, bioprospecting, plant diseases, plant protection.

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

No Brasil, estudos com algas marinhas estão gerando conhecimento científico útil em diversas áreas, tais como: na Farmacologia, identificando compostos com atividade antiviral e anticâncer (Frugulhetti et al. 2005; Romanos, 2005); na área ambiental, como formadoras de fluxo biológico através de corredores ecológicos marinhos (Alves, 2005), e para o monitoramento e previsão de impactos ambientais (Pupo, 2005); na área sócio-econômica, implementando a produção de algas para gerar renda adicional em atividades maricultoras (Reis, 2005); na agricultura, utilizando extratos de macroalgas para proteção de plantas contra patógenos (Stadnik, 2005), entre outras linhas de pesquisa relevantes.

Atualmente, o Brasil possui aproximadamente 800 táxons de macroalgas marinhas identificadas em sua flora litorânea. O uso desse recurso natural apresenta grande potencial para a agricultura. Em países da Europa e nos Estados Unidos produtos comerciais à base de algas já vêm sendo utilizados com sucesso como bioestimulantes e bioprotetores de plantas, e/ou fertilizantes e condicionadores de solo.

O cultivo do feijoeiro apresenta grande importância econômica para o país, pois é um alimento presente na grande maioria das residências dos brasileiros. Várias doenças interferem na produtividade dessa leguminosa, destacando-se a antracnose. O agente causador da antracnose do feijoeiro, *Colletotrichum lindemuthianum*, é um patógeno agressivo e causa grandes perdas nos cultivos comerciais do Sul, Sudeste e Cerrado. Devido à existência de muitas raças fisiológicas e à alta taxa de variabilidade do patógeno, o melhoramento genético na busca de resistência à doença possui eficiência limitada. Diante da ausência de cultivares de feijoeiro resistentes para todas as regiões produtoras, frequentemente são aplicados fungicidas na prevenção da doença. Uma vez instalada a campo e com alta severidade, a antracnose é dificilmente controlada pela aplicação de fungicidas, tornando-se uma prática além de pouco eficiente, dispendiosa. O controle alternativo por meio de aplicação de extratos de macroalgas marinhas pode vir a colaborar no manejo integrado e/ou ecológico da

antracnose do feijoeiro, de uma forma menos impactante ao agroecossistema e também, levando ao consumidor um alimento livre de agrotóxicos.

Para a realização de prospecção de extratos etanólicos de macroalgas marinhas que passam a ter efeito na proteção de plantas é necessário que a espécie vegetal, o patógeno e o patossistema atendam a requisitos como: espécie vegetal de crescimento rápido e ciclo curto; uma cultivar estável e com alta suscetibilidade à inoculação do patógeno; e o patógeno tem que ser agressivo e passível de conservação e crescimento *in vitro*. O patossistema “antracnose x feijoeiro” e a cultivar de feijão Uirapuru, para Santa Catarina, atendem tais exigências.

Visando selecionar no mínimo um extrato etanólico de macroalga marinha para controlar a antracnose do feijoeiro comum, o presente trabalho teve como objetivos:

- Testar *in vitro* o efeito dos extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas sobre o crescimento micelial e sobre a germinação de conídios de *C. lindemuthianum*.
- Estudar o efeito local (em tecido foliar diretamente tratado), residual e sistêmico da aplicação dos extratos no controle da antracnose do feijoeiro comum.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Bioprospecção

A bioprospecção pode ser entendida como a busca e coleta de material biológico para fins comerciais, como a exploração da biodiversidade, e eventualmente a exploração do conhecimento indígena ou tradicional, ou ainda como a pesquisa de recursos biológicos e genéticos, e seus conhecimentos associados (Assad, 2002).

A bioprospecção é capaz de proporcionar benefícios para a humanidade, ao mesmo tempo em que para um grande número de indústrias agrega-se valor comercial a atividades relacionadas à biodiversidade. É crescente o interesse nos recursos provindos da bioprospecção pelas indústrias de cosméticos, de fitomedicamentos, químicas, alimentares e agropecuárias. Além das indústrias, podem ser incluídos no processo as instituições de pesquisa, as universidades, as populações locais e as ONGs (Organizações não governamentais). Recursos gerados pela bioprospecção podem possibilitar a geração sustentável de renda para as populações locais, como forma de financiamento para a conservação da biodiversidade (Assad, 2002).

Sobre os problemas atuais da bioprospecção brasileira, Assad (2002) levanta que a capacidade técnico-científica e jurídico-institucional não tem sido suficiente para instituir de forma regularizada a prospecção da biodiversidade no país. Prova disso é a quase inexistência dessas atividades no contexto brasileiro. Na prática, o que se tem observado, de uma parte, é o uso comercial da biodiversidade brasileira, sem a caracterização da atividade junto a órgãos competentes; e, de outra, as reações adversas de eventuais parceiros da atividade da bioprospecção (povos indígenas, populações locais que há tempos têm relação com determinado recurso de biodiversidade), por não verem seus interesses atendidos, não participarem da partição dos benefícios provindos da atividade, não terem acesso à tecnologia e benefícios gerados. Vale salientar que as informações fornecidas por tais parceiros tiveram grande importância no produto final da atividade.

Para solucionar tais problemas, Lapa (2004) aponta o financiamento pelas agências federais a cientistas acadêmicos e a indústria farmacêutica para o desenvolvimento de novos produtos provindos da bioprospecção.

2.2. Considerações gerais sobre a cultura do feijoeiro

O gênero *Phaseolus* pertencente à subclasse Rosidae, ordem Fabales e família Fabaceae (Cronquist, 1988). O número de espécies de *Phaseolus* pode variar de 31 a 52 espécies, sendo que somente cinco são cultivadas: *P. vulgaris* L., *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolius* A. Gray e *P. polyanthus* Greeman. O centro de origem do feijoeiro é o Continente Americano, embora suas espécies estejam amplamente distribuídas pelo mundo, entre as zonas temperadas dos hemisférios Norte e Sul (Debouck, 1991; 1999).

A produção mundial de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é da ordem de 18,9 milhões de toneladas. O Brasil é o maior produtor mundial de feijão (3-4 milhões de toneladas) (FAO, 2004; Agriannual, 2005) com produção atingindo de 15-20 % da produção mundial.

A produção de feijão no Brasil sofre, porém, muitas oscilações. Assim por exemplo, registrou-se na safra das águas de 2003/04 quebra significativa da produção nas regiões produtoras. Contudo, o bom resultado da safra do Paraná e São Paulo acabou compensando essa quebra. A safra da seca também foi muito prejudicada pelo clima, em especial na região Sul, e no Sudeste, afetando de modo significativo a qualidade do produto colhido. Há indícios de menor colheita na terceira safra do Centro-Sul e na safra das águas de 2004/05, por desestímulo ao plantio, devido à queda dos preços nos meses precedentes. Desse modo, é provável maior equilíbrio entre oferta e demanda, favorecendo quem insistir no negócio (Agriannual, 2005).

Há problemática com a antracnose do feijoeiro nos cultivos de inverno, onde o plantio e as fases fenológicas iniciais da cultura coincidem com a época de baixas temperaturas e umidade alta, devido à necessidade de sucessivas irrigações. Os estados brasileiros que praticam cultivo de inverno são relacionados por Stone & Sartorato (1994), sendo eles: Paraná, São Paulo, Minas Gerais,

Bahia, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul. Esses estados cultivam o feijoeiro por praticamente o ano todo, utilizando-se de alta tecnologia de irrigação, principalmente sob pivô central. Nesse caso os melhores preços são alcançados na safra de inverno, pois poucos produtores detêm as condições tecnológicas necessárias para o cultivo nessa época.

O Estado de São Paulo encontra-se entre os maiores produtores brasileiros desta leguminosa, com as regiões produtoras obtendo até três colheitas anuais (águas, seca e inverno), num sistema quase que contínuo de plantio (Ito et al., 2003).

2.2.1. O Feijoeiro em Santa Catarina

Dentre os produtos agrícolas produzidos em Santa Catarina, o feijão destaca-se pela importância econômica e social, por representar uma fonte de renda para grande número de produtores e por ser a principal fonte de proteínas para a população de baixa renda. A importância econômica da cultura fica evidenciada pelo fato de 60% da produção estadual ser comercializada em outros estados, principalmente em São Paulo (Hemp & Massignma, 2003).

Com uma produção anual entre 290 a 340 mil toneladas, Santa Catarina participa com cerca de 12% da produção nacional de feijão. Em área, o feijão é atualmente a segunda cultura mais cultivada em Santa Catarina, sendo superada apenas pelo milho. Nos últimos anos a área de feijão tem oscilado entre 350 a 400 mil hectares. Dentre os produtos agrícolas produzidos no estado, o feijoeiro comum é o 3º em termos de Valor Bruto da Produção (VBP), logo após do fumo e do milho. Na safra 1992/93, o fumo em folha participou com 31% do VBP, o milho em grão com 28% e o feijão com 10% (Instituto Cepa, 1994). Na mesorregião Oeste Catarinense, o maior destaque cabe à microrregião de Chapecó, embora as outras microrregiões também apresentem valores expressivos. No Norte Catarinense destaca-se a microrregião de Canoinhas e a mesorregião Serrana (Planalto), essas duas microrregiões, destacam-se pela área e quantidade produzida no cultivo da "safra". Outro aspecto a observar é que a produção

catarinense de feijão está distribuída em duas épocas ou períodos de semeadura/cultivo. A primeira, denominada de "safra" (águas), corresponde ao período de semeadura entre os meses de agosto a dezembro e compreende as maiores áreas e volumes de produção. A segunda época, conhecida como "safrinha" (seca), corresponde à semeadura nos meses de janeiro e fevereiro e é menor em termos de área cultivada e produção. A quantidade produzida neste cultivo corresponde à cerca de 30% da obtida na "safra" (Hemp & Massignma, 2003).

A produção catarinense de feijão vem oscilando com tendência a decrescer. Há cinco anos colhia-se 13% mais feijão. Mas após ter atingido seu ponto mais baixo em 2001, esta produção dá sinais de recuperação (8% nos dois últimos anos), ainda que insuficientes para alcançar os patamares dos dois primeiros anos do período. Positivamente relacionado houve crescimento expressivo em produtividade (17% entre os dois últimos anos e 63% em cinco anos) (Silva, 2003).

O feijão na região oeste de Santa Catarina apresentou desempenho razoável na primeira safra 2003/2004. Nas microrregiões de Curitibanos e dos Campos de Lages, onde o cultivo é mais tardio, as estiagens provocaram perdas significativas. Em razão disso e de leves prejuízos em outras microrregiões, a produção estadual caiu de um potencial de 151,4 mil para apenas 177,3 mil toneladas. A falta de chuva também prejudicou a safrinha, seja no montante da área prevista para o plantio, seja no que tange ao desenvolvimento das lavouras. A área plantada, que inicialmente foi esperada em 41 mil hectares, ficou em 35 mil hectares. A produção projetada em 43,24 mil toneladas situou-se em apenas 29,5 mil toneladas; ou seja, apresentou um decréscimo de 31,8% (Brugnago, 2004).

2.3. Antracnose do Feijoeiro

2.3.1. Etiologia

O fungo causador da antracnose do feijoeiro é o *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc.&Magn) Scrib. pertencente à classe Deuteromycetes, ordem Melanconiales, família Melanconiaceae. A fase perfeita desse fungo, conhecida como *Glomerella cingulata* (Ston.) Spaud & Scherenk f.sp. *phaseoli* Kimati, pertence a classe Ascomycetes e a ordem Diaportales (Vale et al, 1997).

O fungo é patogênico à muitas espécies de leguminosas, tais como, *Phaseolus lunatus*, *P. acutifolius*, *P. coccineus*, *P. aureus*, *P. limensis*, *Vigna unguiculata* e *Vicia faba* (Vale et al., 1997).

2.3.2. Sintomas

As lesões de antracnose estabelecem-se preferencialmente sobre as nervuras da face inferior da folha e dos pecíolos, causando maceração dos tecidos, devido à destruição da integridade estrutural da lamela média (Schwartz, 1991). Com o colapso do sistema de feixes vasculares nas nervuras e pecíolos das folhas infectadas, ocorre uma descontinuidade do fluxo normal de água e fotoassimilados para as diversas regiões da folha. A redução da translocação de fotoassimilados resulta no acúmulo de carboidratos que, por sua vez, causa diminuição da taxa de assimilação de CO₂ (Neales & Incoll, 1968).

Quando a doença afeta plântulas, observam-se lesões pequenas de coloração marrom ou preta nos cotilédones. O hipocótilo pode apresentar lesões alongadas, superficiais ou deprimidas, podendo ocorrer o estrangulamento do hipocótilo e morte da plântula. Lesões produzidas no caule e nos pecíolos são alongadas, escuras e às vezes deprimidas. Nas vagens, são geralmente circulares e deprimidas, de coloração marrom, com os bordos escuros e salientes, circundados por um alo pardo-avermelhado. As lesões nas vagens podem ainda

apresentar o centro de coloração mais clara ou rosada, devido à esporulação do fungo. As lesões podem coalescer e cobrir parcialmente as vagens. Sementes infectadas são geralmente descoloridas e podem apresentar lesões levemente deprimidas e de coloração marrom (Bergamim Filho et al., 1995).

A produção de conídios e a infecção da planta são favorecidas por temperaturas entre 13 e 26°C, com ótimo em 17°C. Umidade relativa maior que 92% (ou água livre) é requerida durante a germinação de conídios, incubação e esporulação. Chuvas moderadas e intervaladas, particularmente se forem acompanhadas de vento, são essenciais para disseminação local de conídios e desenvolvimento de epidemias severas (Schwartz, 1991). Nestas condições ambientais e sobre cultivares suscetíveis, semeados com sementes infectadas, pode causar reduções de até 100% no rendimento da cultura (Chaves, 1980).

2.3.3. Mecanismos de resistência do hospedeiro e de ataque do patógeno

As espécies de *Colletotrichum* possuem diversas estratégias para a invasão dos tecidos do hospedeiro, desde hemibiotrófico intracelular a necrotrófico subcuticular/intramural. O patógeno desenvolveu uma série de estruturas infectivas como tubos germinativos, apressórios, ganchos de penetração, vesículas infectivas, hifas primárias e secundárias (O'Connell et al., 2000).

Os esporos de *C. lindemuthianum* possuem uma capa esponjosa, porosamente estruturada, semelhante à camada manoprotéica da *Candida albicans*. A capa do esporo é composta por uma série de glicoproteínas, incluindo ainda polissacarídeos, como a quitina e a β -1-3 glucana. No processo infectivo, o conídio adere à cutícula e germina produzindo o tubo germinativo, este se diferencia formando o apressório. Da base dos apressórios emergem as hifas de penetração que penetram diretamente na cutícula. Há relatos de que também há a penetração através dos estômatos. Apartir desse momento há duas vias, a hemibiotrófica intracelular e a necrotrófica subcuticular (O'Connell et al., 2000).

Muitas espécies iniciam a infecção através da fase biotrófica, introduzindo hifas primárias intracelulares. Posteriormente vem a fase necrotrófica, destrutiva,

associada a hifas secundárias que colonizam os tecidos do hospedeiro (O'Connell et al.,2000).

No patossistema antracnose/feijoeiro, em cultivares suscetíveis, as células penetradas se mantêm inicialmente vivas, apresentando suas ultraestruturas do citoplasma acumulando compostos vitais e aptas a plasmólise. Durante a fase biotrófica, a membrana plasmática e o protoplasma da célula do hospedeiro expandem e invaginam em torno da vesícula infectiva e da hifa primária, e uma camada matricial interfacial é depositada entre a parede celular do fungo e a membrana plasmática do hospedeiro. A matriz é composta de polissacarídeos e glicoconjugados com grupos de hidroxilas. Após 24 horas a penetração a membrana plasmática do hospedeiro perde a integridade das funções, degenera e morre. As hifas intracelulares começam a retirar nutrientes das células mortas, iniciando a fase necrotrófica. Células morrem, mas não há indução dos mecanismos de defesa, sintomas macroscópicos começam a aparecer, como manchas necróticas marrons. Hifas primárias continuam os processos biotróficos simultaneamente (O'Connell et al., 1987 e 2000).

Hífas secundárias atuam colonizando o tecido intra e intercelularmente. As paredes celulares do hospedeiro são degradadas sob ação de enzimas depolimerizadoras, matando mais rapidamente as células e potencializando a fase necrotrófica. Inicia-se a apresentação de sintomas típicos e a produção de compostos de defesa, mas o crescimento do fungo não é afetado, pois as células que produzem os compostos estão sendo mortas antes que haja o acúmulo das substâncias em concentrações letais ao fungo (O'Connell et al., 2000).

A pectina, heteropolímero metilado ligado ao ácido α -1-4 galactonurônico, é o polímero predominante na parede celular das plantas. Contribui como barreira mecânica a fitopatógenos, por isso, muitos patógenos secretam enzimas pectinolíticas, como a poligalacturonase, pectina metil esterase, pectato liase ou pectina liase. Essas enzimas depois de secretadas inter e intracelularmente pelos patógenos causam maceração dos tecidos. As enzimas têm dupla relação de patogenicidade com o hospedeiro, induzindo a degradação dos tecidos e expressão gênica de defesa (Dumas et al., 2000).

2.3.4. Indução de resistência

Na indução a resistência, a planta tenta barrar a penetração do apressório e o crescimento das hifas do fungo através da oposição/barreira aos pontos de tentativa de invasão, como a parede celular e o núcleo da célula do hospedeiro. Quando ocorre a invasão a planta dispõe ainda da Resposta hipersensitiva (HR), onde sacrifica as células ao redor da invasão (Cloud & Deverall, 1987).

Elicitores ativam genes que codificam proteínas das células da parede celular do hospedeiro, tais como glicoproteínas ricas em hidroxiprolina (HRGP), fenilalanina amônia-liase (PAL), calcone sintetase (CHS). Concomitantemente há uma rápida acumulação de mRNAs. As atividades de defesa são transmitidas intercelularmente e endogenamente a toda a planta, sinalizando uma resposta sistêmica de defesa (Lawton & Lamb, 1988). Tepper et al. (1989) observaram níveis diferenciados de acúmulo de sintatos fenólicos em diferentes cultivares de feijoeiro, e que nem sempre havia relação entre este acúmulo e realmente a produção de fitoalexinas, dando indícios de íntima relação de especificidade entre planta/patógeno.

Filtrados de culturas de *C. lindemuthianum* elicítaram *in vitro* a atividade do mRNA polissomal, que vem a codificar a biosíntese de fitoalexinas como a fenilalanina amônia-liase (PAL), síntese de chalcona, e calcone isomerase (Handam & Dixon, 1987). Também trabalhando com preparados de *C.lindemuthianum*, Rogers et al. (1988) observou o acúmulo de peroxidados de lipídios, de pigmentos de lipofuscina (LFP) e malondialdeído em células de tecido de feijoeiro. Após 6 horas a inoculação houve a produção e acúmulo de fitoalexinas, com Kievitone, faseolina e faseolinaisoflavonona. As fitoalexinas e o LFP são ativados após as explosões oxidativas, onde participam os compostos de xantina oxidase.

C. lindemuthianum secreta a endopoligalacteronase (endoPG), quando em meio de cultura contendo pectina. Essa enzima quebra a ligação α -(O)-D-galactonurase com homogalacturonana e polímeros de pectina, produzindo ácidos

mono-, di-, e trigalctorânicos como produtos finais da hidrólise. O processo de parasitismo a endoPG pode ser inibido pela proteína de inibição de poligalactorunase (PGIP). Purificados de endoPGs extraídos da raça β de *C. lindemuthianum* estimulam a biosíntese de proteínas relacionadas a patogênese (PR) (Dumas et al.,2000).

Foram quantificados as PR proteínas, β -1-3 glucanase e quitinase, e também o ácido salicílico (SA) glicosilado, tratados quimicamente com ácido 2,6-dichloro-isonicotinico e em folhas infectadas por *C. lindemuthianum* . Os resultados obtidos foram: Um dia após tratamento a quitinase aumentaram em ambos os tratamentos. As duas PR proteínas aumentaram cinco dias após tratamentos. Plantas inoculadas com *Colletotrichum lindemuthianum* tiveram aumento e acúmulo de ácido salicílico (SA) glicosilado nas primeiras folhas trifoliadas após sete dias do tratamento e na segunda inserção de folhas trifoliadas, esse acúmulo foi aos 13 dias (Dann et al., 1996).

A ativação da transcrição da quitinase é muito rápida, cinco minutos após a elicitação de defesa em feijoeiro, inicia-se a produção e acúmulo da quitinase nas células do hospedeiro. Tem-se o máximo acúmulo do composto após duas horas a elicitação. Analisando-se híbridos de cDNA quitinase em alguns fragmentos genômicos de cultivares de feijoeiro, sugere-se que haja alguns genes envolvidos na transcrição da quitinase no genoma do feijoeiro (Hedrick et al., 1988).

Há o efeito de monômeros de açúcares, presentes no compartimento apoplástico de células de plantas, sobre a expressão gênica do endoPG. Açúcares neutros, como a arabinose e rhamnose, são fortes indutores de produção celular de endoPG, mais especificamente da endoPG, *clpg1* (Dumas et al., 2000).

Purificados de endoPG e fragmentos pecticos são absorvidos com certa facilidade pela parede celular de plantas hospedeiras. Em resposta as endoPG, há o aumento da atividade de β -1-3 glucanase e quitinases (tidas como proteínas PR) caracterizando a elicitação a indução de resistência no patossistema feijoeiro/antracnose (Dumas et al., 2000).

Estudando o efeito da temperatura de inoculação de *C. lindemuthianum* na produção de elicitores não específicos ao patógeno. Leina & O'Connell (1995)

observaram que lesões foram mais severas em infecção a 25°C, do que a 17°C. A temperatura de infecção tem relação com a resposta de severidade a antracnose em feijoeiro. Os diferentes cultivares de feijoeiro apresentam respostas particulares à inoculação de uma mesma raça. Não se observou especificidade raça – cultivar, no entanto, a extensão da lesão da doença variou entre os diferentes cultivares inoculados pela raça gamma, indicando que nas interações de compatibilidade entre patógeno-hospedeiro há a produção de elicitores não específicos ao patógeno.

2.3.5. Presença e importância de raças

As raças 65 e 81 pertencem ao grupo de raças disseminadas amplamente no Brasil, o grupo Alfa. Isso demonstra a adaptação dessas raças, facilitada pelo livre comércio de grãos entre os estados, e pelo fato de muitos produtores reutilizarem seus grãos para futuros plantios em uma mesma área, o que aumenta o potencial de inóculo do patógeno de uma safra para outra. Ressalta-se a importância de monitorar as raças do *C. lindemuthianum*, principalmente nas regiões onde a antracnose pode apresentar alta taxa de progresso (Talamini et al, 2004). Rava (1994) constatou que as raças 65 e 89 apresentam maior distribuição geográfica nas regiões produtoras do feijoeiro comum no Brasil.

Relatou-se no Brasil a presença das raças alpha, delta, epsilon, kappa, lambda e quatro novas raças, a zeta, eta, teta e mu de *C.lindemuthianum* (Menezes et al., 1988).

Balardin (1990) no estado de Santa Catarina, estudou a variabilidade do *C. lindemuthianum*, e reuniu os isolados em oito grupos. As raças identificadas foram: alfa-brasil, alfa, alfa-brasil típica, epsilon, kappa, Ba-I e um isolado novo. Nenhum isolado foi patogênico às cultivares diferenciadores Kaboon, TO, TU, PI 207-262, G 2338, AB 136 e G 2333.

No Rio Grande do Sul a raça de *C. lindemuthianum* observada com mais frequência foi a brasileiro I, seguida das raças 65 (epsilon), 31 (capa), 453 (zeta), 17 (alfa), 23 (delta), 73 e 55. Raças 17 (alfa) e beta, anteriormente relatadas como

abundantes, tem sido observada em baixa incidência ou mesmo não têm sido detectadas. Por outro lado a identificação das raças 31 (capa), 55 (lambda), 73 e 453 (zeta) é um indicativo do aumento da população de alelos úteis para patogenicidade ou mesmo o surgimento de novos genes capazes de quebrar a resistência de genes amplamente utilizados em programas de melhoramento (Balardin, 1997).

Estudos de Carbonell (1999), objetivando identificar as raças fisiológicas de *C. lindemuthianum* existentes no Estado de São Paulo, identificaram nove raças (23, 31, 65, 73, 81, 87, 89, 95, 127), predominando as raças 65, 81 e 89.

Dos 17 cultivares de feijão preto recomendados para a região sul do Brasil, testados sob inoculação de diversos patótipos de *C. lindemuthianum*, encontraram-se cultivares resistentes a todos os diferentes patótipos, estes podendo ser utilizados como fonte de resistência em programas regionais de melhoramento genético (Emygdio et al., 1998).

2.3.6. Perspectivas de controle da doença

2.3.6.1. Melhoramento genético

A exacerbada utilização de fungicidas, o monocultivo, a ampla distribuição das culturas comerciais pelo mundo, a restrita gama de variedades cultivadas, têm exercido pressão na recente história evolucionária das espécies de *Colletotrichum*. A redução da diversidade genética das culturas favorece a seleção de linhagens clonais do fungo (Cannon et al., 2000).

A piramidação de genes maiores de resistência é a forma mais apropriada de resistência por um maior período de tempo. O patógeno normalmente consegue superar a resistência localizada em um pool gênico. O piramidação de genes em diferente locus pode ser uma estratégia para obtenção de resistência durável por mais tempo (Melotto et al., 2000).

2.3.6.2. Controle Químico

O controle químico da antracnose do feijoeiro é feito através de tratamento de sementes e pulverizações na parte aérea da planta. Bianchini et al. (1995), recomendam a aplicação na parte aérea com produtos como mancozeb, carbendazin, tiofanato metílico+chlorothalonil, trifenil óxido de estanho, trifenil acetato de estanho, chloratalonil; e tratamento de sementes com captan e tiofanato metílico. A eficiência de pulverizações de fungicidas no tratamento de sementes de feijão requer várias repetições, elevando o custo de produção (Freitas, 2003). Ito et al. (1986) afirmam que o tratamento de sementes é limitado no controle de certos patógenos, sendo que nenhum dos fungicidas aplicado em seu experimento reduziu a porcentagem de sementes infectadas com *Colletotrichum lindemuthianum*. Uma série de ensaios com defensivos agrícolas mostram que a severidade de antracnose pode ser reduzida com pulverizações foliares de: strobirulina, pyraclostrobin, sozinhos ou combinados com epoxiconazole (Rava, 2002); ou, tebuconazole + fentin hydroxide, azoxystrobin e fentin hydroxide (Barros et al. 1999); ou, azoxystrobin (60g i.a./ ha); trifloxystrobin (62,5 a 100 g i.a./ ha); trifloxystrobin+propiconazole (125+187,5g i.a./ ha). Ou, rotação de fungicidas com carbendazim (500 g a.i./ha) e fluquinconazole (62,5 g i.a./ ha) (Oliveira, 2003). O fungicida manzate 800 (mancozeb a 1,6 g i.a./ ha) com o adjuvante Max Oleo controlou 83,3% (Alleoni & Passos, 2000) e o trifenil hidróxido de estanho 300g e azoxystrobin 120g apresentou controle superior a 70% (Picinini & Fernandes, 2000).

O controle da antracnose se dá de forma preventiva ao estabelecimento da doença. Normalmente aplicado como sugere Oliveira (2003), em três aplicações preventivas, em intervalos de 15 dias, a partir de 30 dias após emergência das plântulas. Fungicidas sistêmicos têm efeito curativo apenas quando são aplicados até 2 dias após infecção (Cantieri et al., 1998), ou seja, depois do estabelecimento da doença quaisquer aplicações de defensivos só vem a aumentar o dispêndio financeiro com a cultura, assim aumentando o prejuízo ocasionado pela doença.

Levando em conta a biodiversidade e a conservação do meio ambiente, optar por controles alternativos ao controle químico é uma forma de diminuir os impactos da agricultura na natureza. Sendo que os defensivos acima listados, utilizados no controle da antracnose do feijoeiro apresentam as mais diversas formas de impacto ao meio-ambiente.

2.4. Utilização de algas marinhas na agricultura

Um indicativo da nossa incipiente exploração de algas marinhas na agricultura é a presença do Brasil em apenas uma das citações da Tabela 1. O cultivo de algas marinhas no Brasil foi iniciado no litoral do Nordeste, em 1998, por intermédio da FAO (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura). Na premissa sócio-econômica de substituir as importações brasileiras de Ágar-Ágar e carragenana, e também, engajando o pescador nas artes dos cultivos aquáticos, transformando pescadores em maricultores. Atualmente o “Projeto Algas” produz *Gracilaria birdiae* e pesquisa sobre a *Hypnea* sp. (Carvalho Filho, 2004). Segundo o autor “O Brasil tem como fazer uma alga de grande qualidade por ser um país tropical e ter muito sol para ajudar nesse trabalho”. Devido a mão-de-obra barata no país, nossos custos de produção são menores comparados aos outros países produtores, possibilitando ao Brasil oferecer ao mercado externo um produto com preço competitivo. Horta Junior et al. (2001) afirmam que o potencial brasileiro é enorme, levando em conta a extensa faixa litorânea e que as macroalgas são organismos muito diversificados e de ocorrência frequente em ambientes marinhos, especialmente no litoral sul-brasileiro.

Tabela 1. Gêneros de algas marinhas utilizadas na agricultura e os países envolvidos no cultivo.

África do Sul	<i>Ecklonia maxima</i> ; <i>Laminaria schinzii</i>
Alasca	<i>Alaria fitulosa</i> ; <i>Nereocystis luetkaena</i>
Austrália	<i>Macrocystis pyrifera</i>
Brasil	<i>Sargassum</i> spp.
Canadá	<i>Ascophyllum nodosum</i> ; <i>Fucus gardneri</i> ; <i>Nereocystis luetkaena</i>
Chile	<i>Ahnfeltia plicata</i> ; <i>Ascophyllum nodosum</i>
China	<i>Ascophyllum nodosum</i>
Filipinas	<i>Laurencia papillosa</i> ; <i>Hydroclathrus clathratus</i>
França	<i>Lithothamnion corallioides</i> ; <i>Ascophyllum nodosum</i> ; <i>Fucus</i> spp.
Irlanda	<i>Lithothamnion corallioides</i>
Itália	<i>Ulva</i> spp.
Kenya	<i>Dictyosphaeria cavernosa</i> ; <i>Halymenia venusta</i> ; <i>Laurencia papillosa</i>
Nova Zelândia	<i>Gracilaria chilensis</i>
Portugal	<i>Enteromorpha</i> spp.; <i>Ulva</i> spp.; <i>Gracilaria</i> spp.
Ucrânia	<i>Lithothamnion corallioides</i> ; <i>Phimatotithon calcareum</i>
Vietnã	<i>Sargassum</i> spp.; <i>Turbinaria</i> spp.

Baseada em Zemke-White&Ohno (1999); Talamini & Stadnik (2004).

Em estudos realizados por Pascholati (1997) sobre os efeitos de cianobactérias (algas azul-verdes) na germinação e formação de apressórios por *Colletotrichum graminicola* e *Hemileia vastatrix*. Verificou-se que a *Anabaena* sp reduziu a germinação dos conídios de *C. graminicola*, porém não interferiu na formação de apressórios. Por sua vez, as preparações de *Limnotrix planctonica*, *Merismopedia tenuissima*, *Pseudanabaema galeata* e *Rhabdogloea brasilica* reduziram a germinação dos urediniosporos e a formação de apressórios por *H. vastatrix*. Concluiu-se que as cianobactérias podem interferir no desenvolvimento de fungos fitopatogênicos.

Leonetti et al. (2003) avaliando o efeito de extratos etanólicos obtidos das macroalgas marinhas *Cheilosporum sagittatum*, *Gracilaria tepocensis*, *Ulva fasciata* e *Codium decorticatum* no controle de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (crestamento bacteriano do feijoeiro), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (cancro bacteriano do tomateiro) e *Erisiphe polygoni* (oídio do feijoeiro), concluíram que nenhum dos extratos afetou o crescimento de *X. axonopodis* e *C. michiganensis*. Lima-Filho et al. (2002), também não encontraram efeito de *Ulva fasciata* sobre bactérias. No entanto, o extrato de *Ulva fasciata* reduziu em 80% o número de colônias de Oídio nas plantas de feijoeiro. Os demais extratos não demonstraram efeito. Leonetti et al. (2003) testaram o efeito da *Ulva fasciata* para o controle de oídio em duas cultivares de feijoeiro (Carioca e FT-Bonito) e verificaram redução da severidade do oídio, porém somente para efeito local. O extrato da alga não afetou o Oídio de modo sistêmico quando as inoculações foram feitas nove dias após a pulverização do extrato.

O extrato da alga *Ulva fasciata* também reduziu o índice de velocidade de crescimento micelial e a germinação de conídios de *Colletotrichum lindemuthianum*, agente etiológico da antracnose do feijoeiro (Talamini et al., 2004; Abreu et al., 2005). Loffaguem et al. (2004) em experimento de campo com a cultivar Uirapuru de feijão (altamente suscetível a antracnose nas regiões de Petrolândia e Campos Novos – SC), observaram que em parcelas que receberam pulverizações a cada 30 dias com o extrato de *Ulva fasciata*, houve redução de 50% na severidade da antracnose em relação à testemunha, superando o efeito da aplicação de fungicida. Loffaguem acredita que, nesse caso, o extrato da alga tenha atuado como indutor de resistência. Pode-se também encontrar bioatividade em bactérias associadas a *Ulva* sp., Egan et al. (2000) isolaram bactérias da superfície de *Ulva reticulata* e encontraram forte atividade sobre larvas de poliqueta que se alimenta dessa alga.

Em estudos com espécies de *Sargassum* no controle de doenças radiculares do girassol, Ara (1996) concluiu que a incorporação no solo de algas marinhas *Sargassum tenerrimum*, *S. swartzii*, *S. wightii* e agentes de biocontrole *Paecilomyces lilacinus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bradyrhizobium japonicum*,

reduziu a infecção radicular de *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium solani*. *S. swartzii* e *S. wightii* aumentaram a infecção por *Rhizoctonia solani*. O controle completo de *F. solani* e o controle mais eficiente de *M. phaseolina* e *F. solani* foram combinando *S. swartzii* e *P. lilacinus*, quando comparado a seus usos separados. A utilização de algas marinhas promoveu maior crescimento da fitomassa.

Extratos etanólicos de *Laminaria japonica* e *Undaria pinnatifida* estimularam o desenvolvimento de hifas e o crescimento vesicular-arbuscular de fungo micorrízico (*Gigaspora ramisporophora*) em raízes de plantas cítricas (Kuwada et al., 1999).

A aplicação de extrato de *Ascophyllum nodosum* diminuiu o número de juvenis de segundo estágio e de ovos de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* em raízes de tomateiro. Plantas de *Arabidopsis thaliana* tratadas com extrato tiveram diminuição na colonização por fêmeas de *M. javanica* em raízes (Jenkins et al., 1998). Paracer et al. (1987) demonstraram que o extrato de *Spatoglossum schroederi*, em concentrado aquoso de 1,0 a 0,50%, apresentou efeito direto sobre alguns gêneros de nematóides matando espécies de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. acrita* e *Hoplolaimus galeatus*. Também constatou-se que extratos de *Spatoglossum schroederi*, *Botryocladia occidentalis* e *Bryothamnion triquestrum* reduzem significativamente o número de galhas em raízes de tomateiro quando usados como condicionadores de solo entre 0,5 - 1% peso de alga/ peso de solo, causadas por *M. incognita*.

O extrato da macroalga marrom *Ascophyllum nodosum* foi testado na pimenteira e na videira para controlar míldios, causados respectivamente por *Phytophthora capsici* e *Plasmopara viticola*. Ambos os parasitas foram controlados com a pulverização foliar do extrato dessa espécie de macroalga. Nos tecidos foliares de pimenteira, a atividade solúvel das peroxidases e a concentração da fitoalexina capsidiol foram altamente incrementadas. Por isso, os autores concluíram que a aplicação de extratos de *Ascophyllum nodosum* atua como indutor de resistência (Lizzi et al., 1998). Jenkins et al. (1998) detectou os

seguintes compostos no extrato de *Ascophyllum nodosum*: ácido betaino gamma - aminobutírico, ácido betaino delta -aminovalérico e glicinobetaina.

A aplicação preventiva de 1% de extrato líquido de algas mostrou-se eficiente contra *Pythium ultimum* em *Brassica oleracea* var. *capitata* (Dixon & Walsh, 2004).

Pensando (1984), na Costa Francesa do Mediterrâneo, testou extratos etanólicos de 31 espécies de algas marinhas, contra fungos e bactérias Gram- e Gram+, (causadores de dermatofitoses e candidíase em humanos, leveduras e decompositores de matéria-orgânica). Os extratos de *Zanardinia prototypus*, *Cystoseira stricta*, *C. compressa* inibiram o crescimento das diferentes bactérias; *Dictyota dichotoma*, *D. lineares*, *Dilophus fasciola* inibiram o crescimento da maioria dos fungos; *Hypnea musciformis*, *Falkenbergia rufolanosa*, *Laurencia obtusa*, *Nereia filiformis*, *Sporochnus pedunculatus* tiveram atividade significativa contra fungos e bactérias. Neste trabalho, os melhores resultados foram observados pela aplicação dos extratos preparados com algas em máximo estágio vegetativo. O controle foi mais efetivo sobre bactérias gram positivas, mesmo fato observado por outros autores. Magallanes et al. (2003) encontraram atividade antibacteriana, em cepas clínicas das algas coletadas no Perú: *Grateloupia doryphora*, *Prionitis decipiens*, *Petalonia fascia*, *Bryopsis plumosa*, *Ahnfeltiopsis durvellaei*. Houve grande atividade dos extratos etanólicos dessas algas sobre bactérias Gram positivas, neste trabalho não houve bioatividade em bactérias Gram negativas, fato também observado por Del Val et al. (2001).

Após a prospecção de 28 espécies de algas marinhas das Ilhas Canárias levantando a produção de compostos antibactericidas e antifúngicos, Del Val et al. (2001) encontraram nas algas *Asparagopsis taxiformis* e *Cymopolia barbata*, forte ação contra amplo espectro de microrganismos.

Vlachos et al. (1997) fizeram a bioprospecção antibiótica de 56 espécies de algas coletadas na costa leste e oeste da África do Sul, e verificaram que, entre os extratos etanólicos testados, o da alga marrom *Zonaria subarticulata* mostrou mais amplo e intenso espectro de atividade antimicrobiana. Já Abouriche et al. (1999) e Bennamara et al. (1999) identificaram na alga marrom *Cystoseira tamariscifolia*

diferentes compostos bioativos, entre eles, o diterpenóide metoxifurcarenona, o qual mostrou forte atividade contra os fungos fitopatogênicos vasculares *Fusarium oxysporum* e *Verticillium albo-atrum*, e a bactéria *Agrobacterium tumefaciens*. A partir da alga marrom *Jolina laminarioides* isolou-se o fucosterol, que inibiu o crescimento de fungos (Rahman et al., 1997). Horikawa et al. (1996) isolaram três substâncias antibacterianas da alga vermelha *Laurencia okamurae* que ocorria no Japão. Já König e Wright (1997) identificaram a partir de uma espécie semelhante *Laurencia obtusa* que ocorre no Caribe, alolaurinterol. Esse composto apresentou atividade contra diversos fungos fitopatogênicos, entre eles, *Ustilago violacea* e *Fusarium oxysporum*. O extrato metanólico, a fração acetato-etílico e quatro esteróis isolados de uma alga verde *Chara wallichii* mostraram, embora em diferentes graus, atividade contra diferentes espécies de bactérias e fungos (Khaliq-uz-Zaman et al. 2001).

Cluzet et al. (2004) monitoraram a expressão de 152 genes de alfafa a eliciação ao extrato de *Ulva* sp. em resposta a infecção de *Colletotrichum trifolii*, causador de antracnose. O extrato da alga eficientemente elicitou múltiplas respostas de defesa, estas sendo: a biosíntese de fitoalexinas, de proteínas relacionadas à patogênese (PRPs) e proteínas de parede celular. A resposta de máxima eficiência ocorreu dois dias após eliciação com 500 µg/ mL, aplicado em pulverização foliar. Não se constatou fitotoxicidade do extrato, nem alteração do metabolismo primário da planta devido sua aplicação.

A laminarina, o oligômero β-1,3 glucano naturalmente abundante nas algas marinhas marrons, elicitador de variadas reações de defesa no fumo, confere resistência ao agente da doença da podridão mole, *Erwinia carotovora*. Os polissacarídeos presentes nas algas marrons são reconhecidos e elicitam sinais de defesa em plantas terrestres. Isso acontece pela laminarina ser uma estrutura análoga a linear β-1,3 glucano, um oligossacarídeo naturalmente envolvido nos mecanismos de reconhecimento natural célula a célula, nas interações de planta-patógeno, e também exógenos (resultantes da degradação das paredes celulares de fungos) ou endógenos (calose fragmentada) no hospedeiro. Ainda a laminarina e os oligômeros de laminarina são potentes elicitores de defesa, ambos nas

dicotiledôneas (tomate e feijão) e nas monocotiledôneas (trigo e arroz). Esse poderoso β -1,3 glucano torna-se importante, ferramenta alternativa para o controle de doenças nas culturas agrônômicas (Klarzynski, 2000). Mercier et al. (2001) elicitou defesa em folhas de fumo com a aplicação de carragenana, polissacarídeo extraído de algas marinhas. Foi observado após a aplicação de carragenana a codificação de vias metabólicas de etileno, ácido jasmônico e ácido salicílico, como também a produção local de quitinase e inibidores de proteinases.

Polissacarídeos isolados de *Ulva lactuca* promoveram diminuição na reprodução de partículas vírais humanas e avícolas (Ivanova, et al. 1994).

Aglutininas presentes na fração protéica extraída do extrato de *Hypnea musciformis* possuem propriedades antifúngicas, inibindo a germinação do fitopatógeno *C. lindemuthianum* e do fungo dermatófito *Trichophyton rubrum* (Melo et al., 1997). O mecanismo antifúngico de ação da aglutinina é elucidado pela ligação da aglutinina a camada de quitina presente nas paredes celulares da hifa do fungo, inibindo a síntese de quitina necessária para o crescimento de novas hifas.

Fattorusso et al. (1986) extraíram os diterpenos Dictyol A e Dictyol B de *Dictyota dichotoma*. Também Faulkner et al. (1977), estudando espécies de Dityotales, encontraram nos extratos, diterpenos com atividade antibiótica.

Em testes em feijoeiro com o produto comercial RootsTM (Lisa Products Corp., New Haven, Conn.), uma mistura de propriedades de ácidos húmicos, extratos de algas marinhas, tiamina, e ácido ascórbico, relataram aumento de peso fresco das vagens (Russo & Berlyn, 1992). Não foram observadas diferenças no crescimento vegetativo e a água contida nas vagens manteve-se similar nos tratamentos. O bioestimulante não funciona usualmente como regulador de crescimento. Nenhum hormônio sintético de plantas foi adicionado. RootsTM contém extratos de algas marinhas e estas são conhecidas por conter citoquininas naturais. De qualquer maneira, a citoquinina (0,1 mg/ L) está contida na solução de trabalho recomendada por RootsTM (10ml de RootsTM por litro de água). Essa é provavelmente uma quantidade muito baixa para exercer um efeito biológico

quando adicionado ao solo, embora seja suficiente na atividade em cultura de tecidos e hidroponia.

Três diluições do produto comercial Algaenzims™ foram testadas por Martinez-Louzano et al. (2000) em cinco variedades de feijão (Negro, Bianco, Pinto Americano, Bayo and Peruano) em aplicações via solo, na semeadura. Bayo e Peruano foram as que apresentaram a melhor resposta em desenvolvimento e crescimento quando tratadas com Algaenzims™. Quando o produto foi aplicado na semeadura e 15 dias depois, via solo e via foliar, observou-se um aumento no número de nós e alongamento entre inserções de nós.

Os produtos a base de extrato de algas, Maxicrop® (a base de extrato de *A. nodosum*) e Seasol®, não tiveram influência na produtividade do morangueiro (Washington, 1999). Eris et al. (1995) testaram Maxicrop® e observaram aumento de produtividade, peso e tamanho de frutos, sólidos solúveis totais em fruto, e clorofila nas folhas de pimenteira.

A utilização do produto comercial a base de extratos de algas, N PROTM (registrada por Grupo Roullier) aumentou a atividade de nitrato reductase, indicando efeito estimulante em plantas crescendo em condições nutritivas adversas, principalmente em deficiência de nitrogênio (Durand et al., 2003).

A utilização de extratos de algas e ácidos húmicos aumentou a resistência dos gramados à seca (Zhang & Ervin, 2004).

Koo & Mayo (1994) constataram aumento de 10-25% em produtividade e diminuição de queda de frutos em plantas de citrus com a aplicação aérea de extratos de algas. Em relação à qualidade de frutos, tem-se observado que a pulverização aérea com extrato de algas aumentou a coloração avermelhada de maçãs em cultivo orgânico (Marangoni et al., 2004). Em cultivo convencional Malaguti et al. (2002) encontraram o mesmo resultado para a cultivar Mondial Gala, mas inverso para Fuji.

3. METODOLOGIA

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e em casa-de-vegetação do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina.

3.1. Obtenção e conservação do isolado de *Colletotrichum lindemuthianum*

Utilizou-se o isolado monospórico (Labfitop 001-03) da raça 73 de *C. lindemuthianum*, obtido a partir de vagens de feijoeiro com sintomas de antracnose, originadas de lavoura severamente infectada, localizada no município de Ituporanga – SC (Loffaguen et al., 2005).

O isolado original do fungo foi conservado a longo prazo em água pelo método Castellani (1939). Para a execução dos testes *in vivo* e *in vitro*, discos de 9mm da cultura fúngica monospórica foram transferidos para 10 placas de Petri com meio de cultura BDA (Batata Dextrose Agar, Biolife), as placas foram incubadas por 10 dias, a 21°C e fotoperíodo de 12 horas. Após o crescimento do fungo, as placas foram mantidas a 6°C. Estas placas foram utilizadas em repicagens de discos de cultura para vagens (obtenção de conídios) ou para placas de Petri (testes de crescimento micelial).

3.2. Coleta e preparo dos extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas

Esse trabalho de bioprospecção de macroalgas foi autorizado pelo Departamento de Patrimônio Genético do Ministério do Meio Ambiente no âmbito da deliberação número 195 (autorização 016/2007).

As algas foram coletadas durante as horas de maré baixa, na zona intermarés, conforme recomendação de Magallanes et al. (2003). A abrangência da área de coleta foram os costões rochosos, nos contornos das praias da ilha de Florianópolis, com coletas mais concentradas na praia de Ponta das Canas. Para tanto, utilizou-se uma faca de mergulho para desprendê-las da rocha e sempre se coletaram pequenas quantidades, para causar o mínimo impacto às comunidades

que ali interagem. Depois de coletadas, as algas foram acondicionadas em sacos plásticos e transportadas imediatamente para o laboratório para lavagem e seleção. O período de coleta foi compreendido entre outubro de 2002 e agosto de 2004. As algas e plantas aquáticas coletadas encontram-se listadas na Tabela 2.

Tabela 2. Classificação das espécies de macroalgas marinhas e plantas aquáticas coletadas, quanto ao filo, família, local e época de coleta.

Espécie	Filo	Família	Local, mês e ano de coleta
<i>Acanthophora spicifera</i>	Rhodophyta ^R	Rhodomelaceae	Ponta das Canas, abr/04
<i>Bostrychia</i> sp.	Rhodophyta ^R	Rhodomelaceae	Ponta das Canas, abr/04
<i>Bryothamnion seaforthii</i>	Rhodophyta ^R	Rhodomelaceae	Ponta das Canas, jul/03
<i>Bryothamnion triquetrum</i>	Rhodophyta ^R	Rhodomelaceae	João Pessoa/PA, mar/04
<i>Centroceras clavulatum</i>	Rhodophyta ^R	Ceramiaceae	Ponta das Canas, abr/04
<i>Cheilosporum sagittatum</i>	Rhodophyta ^R	Corallinaceae	Armação, out/02
<i>Codium isthmocladum</i>	Chlorophyta ^V	Codiaceae	Ponta das Canas, abr/04
<i>Codium</i> sp.	Chlorophyta ^V	Codiaceae	Ponta das Canas, abr/04
<i>Enteromorpha</i> sp.	Chlorophyta ^V	Ulvaceae	Lagoa da Conceição, jan/04; Ponta das Canas, abr/04
<i>Enteromorpha lingulata</i>	Chlorophyta ^V	Ulvaceae	Mole, mar/02; Ponta das Canas, out/03
<i>Gracilaria tepocensis</i>	Rhodophyta ^R	Gracilariaceae	Armação, out/02; Ponta das Canas, out/03
<i>Hypnea spinella</i>	Rhodophyta ^R	Hypneaceae	Sambaqui, abr/04
<i>Lemna</i> sp.	Anthophyta ^P	Lemnaceae	Paulo Lopes, abr/04
<i>Lithophyllum</i> sp.	Rhodophyta ^R	Corallinaceae	Ponta das Canas, out/03
<i>Petalonia</i> sp.	Heterokontophyta ^M	Scytosiphonaceae	Ponta das Canas, out/03
<i>Spartina juncea</i>	Anthophyta ^P	Poaceae	Ponta das Canas, abr/04; Sambaqui, abr/04
<i>Sargassum stenophyllum</i>	Heterokontophyta ^M	Sargassaceae	Ponta das Canas, out/03
<i>Ulva lactuca</i>	Chlorophyta ^V	Ulvaceae	Ponta das Canas, out/03
<i>Ulva fasciata</i>	Chlorophyta ^V	Ulvaceae	Mole, ago/03 e 2004; Ponta das Canas, abr/04; Armação, out/02

^M = algas marrons; ^V = algas verdes; ^R = algas vermelhas; ^P = planta aquática.

As espécies coletadas foram lavadas em água corrente, selecionadas quanto à mistura de espécies e separadas de partículas sólidas, como conchas e pedaços de rocha. A identificação foi realizada pelo Dr. Paulo A. Horta Junior do Departamento de Aqüicultura da UFSC.

As algas e plantas aquáticas foram secas em estufa, a 50°C por 48 horas. O material seco foi finamente macerado em liquidificador. O pó seco de cada alga foi mantido em recipiente opaco em refrigerador a 6°C. Para a extração dos compostos, adicionou-se etanol (92,8° INPM) ao pó seco de alga, na relação massa/volume de 3,5g/ 100mL. Após 24 horas, o extrato foi filtrado em papel filtro Whatman (nº4). Em seguida, o extrato etanólico foi colocado em placas de Petri de 14cm abertas e mantidas sob fluxo contínuo de ar dentro de câmara de fluxo laminar horizontal para promover a evaporação do etanol. O tempo de evaporação variou de 4 a 8 horas. Após a total evaporação do etanol, a fração aquosa foi recolhida da placa de Petri e quantificada. O extrato bruto foi diluído em água e usado nos tratamentos de plantas de feijoeiro ou em testes de germinação de conídios. Usou-se também o extrato diluído em meio de cultura BDA para realizar os testes de crescimento micelial. Em todos os casos, manteve-se sempre a concentração do extrato em 50mg de alga seca/ mL de água ou meio de cultura.

3.3. Testes *in vitro*

Os testes *in vitro* foram realizados em Laboratório com objetivo de verificar o efeito dos extratos sobre o crescimento micelial e sobre a germinação de conídios de *C. lindemuthianum*.

3.3.1. Crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum*

Para testar o efeito dos extratos etanólicos sobre o crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, o extrato bruto (item 3.2.) foi adicionado ao meio de cultura BDA (fase líquida e resfriado até 55°C). Também se adicionaram ao meio de cultura 5 gotas de ácido láctico (25%) para cada 100mL de meio (Abreu et al., 2004). Verteram-se 10 mL de meio de cultura em cada placa de Petri. Após a

solidificação do meio, transferiu-se um disco de 9mm da cultura do fungo para o centro de cada placa. As placas foram incubadas em câmara de crescimento BOD (Biological Oxygen Demand) a 21°C, com fotoperíodo de 12 horas. As placas testemunhas foram preparadas com meio BDA somente com a adição do ácido láctico.

Para a obtenção das medidas do crescimento micelial, as placas de Petri foram riscadas em dois eixos perpendiculares com o auxílio de uma caneta de retroprojektor. Sobre os eixos foram tomadas as medidas aos 3, 5, 7, 9, 11 e 13 dias após a transferência dos discos da cultura do patógeno. O diâmetro ocupado pela colônia foi mensurado com paquímetro (marca Mitutoyo). Registrou-se a média entre os eixos.

Após a obtenção do diâmetro da colônia em cada dia de avaliação foi calculado o IVCM (Índice de Velocidade de Crescimento Micelial) para cada repetição e expressa em cm/dia, conforme metodologia descrita por Labanca (2002), utilizando-se da seguinte fórmula:

$$IVCM = \frac{\sum (D - D_a)}{N}$$

Onde,

IVCM: Índice de velocidade de crescimento micelial

D: Diâmetro médio atual

Da: Diâmetro médio anterior

N: número de dias após a repicagem

Em uma pré-seleção foram testados 17 extratos etanólicos de macroalgas marinhas e dois extratos etanólicos de plantas aquáticas. Os 19 extratos foram subdivididos e testados em seis etapas independentes, utilizando-se o delineamento inteiramente ao acaso, com sete repetições, sendo considerada cada placa uma repetição. As placas permaneceram na câmara de crescimento BOD, a 21°C, fotoperíodo de 12h, distribuídas em ordem casualizada na prateleira

e entre prateleiras. Em cada etapa, foram usados em média três extratos mais a testemunha.

Na pré-seleção, selecionaram-se os extratos que reduziram significativamente (Tukey, $P \leq 0,05$) o IVCM de *C. lindemuthianum* dentro de cada etapa. Em uma seleção final foi feito um estudo comparativo entre os extratos selecionados.

3.3.2. Germinação de conídios de *Colletotrichum lindemuthianum*

Conídios de *C. lindemuthianum* foram produzidos em vagens de feijão cv. Carioca. As vagens ainda verdes foram mantidas em tubos de ensaio vedados, e foram esterilizadas duas vezes em autoclave, à 120°C por 1 hora. Após foram transferidos discos de 9mm de cultura de *C. lindemuthianum* para as vagens e, estas foram incubadas por 8 a 10 dias em BOD, a 21°C e com fotoperíodo de 12 horas, para produção dos conídios (Talamini et al., 2004). Para coletar os conídios adicionou-se 5 mL de água destilada dentro dos tubos e raspam-se levemente as vagens com alça de platina para desprender os conídios. A suspensão concentrada de esporos coletada foi quantificada com auxílio de um hemacitômetro, tipo Neubauer, e calibrada em $1,2 \cdot 10^4$ conídios/ mL, através de devidas diluições com água destilada estéril.

A germinação de conídios de *C. lindemuthianum* foi avaliada em lâminas escavadas (medidas 26 x 76 x 2 mm), contendo água destilada (testemunha) ou extratos de algas/ plantas aquáticas.

Para manter as lâminas escavadas em câmara úmida, ao fundo de cada placa de Petri de 9cm foram depositadas duas folhas de papel de filtro previamente umedecidos com água destilada. Sobre o papel colocou-se uma base feita com dois palitos de madeira, para não permitir que a lâmina escavada tivesse contato direto com o papel umedecido.

O preparo dos extratos etanólicos foi feito de acordo com o item 3.2. Para iniciar o teste, adicionou-se 20µL da suspensão de conídios e 20µL do extrato de alga em cada cavidade da lâmina escavada. Logo após, as lâminas escavadas foram colocadas sobre os suportes dentro das placas de Petri, e estas foram

então vedadas com um filme de polietileno. As placas de Petri foram mantidas a 21°C e fotoperíodo de 12 horas. Após 48 horas avaliou-se a porcentagem de germinação e o padrão de germinação dos conídios (PGC). A porcentagem de conídios germinados foi calculada através da comparação numérica entre conídios germinados e não germinados. Foi considerado conídio germinado aquele que emitiu um tubo germinativo, independente do seu tamanho. O padrão de germinação de conídios foi avaliado por meio de uma escala descritiva (Tabela 3).

Tabela 3. Escala descritiva para avaliação do padrão de germinação de conídios (PGC) de *Colletotrichum lindemuthianum* germinados em solução aquosa, na presença de diferentes extratos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas.

Padrão	Descrição do padrão de germinação
1	Não germinado
2	Tubo germinativo duas vezes o tamanho do conídio
3	Tubo germinativo quatro vezes o tamanho do conídio
4	Tubo germinativo mais de quatro vezes o tamanho do conídio
5	Hifa apresentando ramificações
6	Hifa apresentando mais de quatro ramificações

Foram testados 17 extratos etanólicos de macroalgas marinhas e dois extratos etanólicos de plantas aquáticas. Os 19 extratos foram subdivididos e testados em duas etapas independentes, utilizando-se o delineamento inteiramente ao acaso, com quatro repetições, sendo considerada cada contagem de 100 conídios uma repetição. Cada tratamento ocupou uma lâmina escavada com duas cavidades. Em cada cavidade da lâmina foram feitas duas contagens. As placas permaneceram na câmara de crescimento BOD, a 21°C, fotoperíodo de 12h. Em cada etapa, foram usados de nove e dez extratos mais a testemunha.

3.4. Testes *in vivo*

Com o objetivo de avaliar os efeitos local, residual e sistêmico de aplicações preventivas de extratos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas no controle da antracnose do feijoeiro, realizaram-se experimentos em casa-de-vegetação com plantas previamente tratadas.

3.4.1. Material vegetal e cultivo das plantas

O cultivar IPR88 – Uirapuru foi escolhido para a realização do trabalho devido à reação de suscetibilidade ao isolado Labfitop 001-03, da raça 73 de *C. lindemuthianum*. As principais características do cultivar de feijão IPR88 – Uirapuru são: hábito de crescimento indeterminado com ramificação ereta e fechado, hipocótilo pigmentado, semente preta com halo preto, flor violeta, início de floração em 42 dias, maturação ideal para a colheita em 90 dias (Hemp, 2004).

Sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Uirapuru) foram semeadas em vasos plásticos nº3 (marca Plasticofer Ltda.), contendo solo orgânico (capacidade 1,5 L) e irrigadas periodicamente, conforme as necessidades hídricas da cultura.

3.4.2. Tratamento das plantas e Inoculação do fungo

Plantas de feijoeiro foram tratadas, antes da inoculação com diferentes extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas e, a testemunha recebeu aplicação de água.

A aplicação dos extratos etanólicos e do inóculo nas plantas foi realizado com pistola em motocompressor de ar (Marca Schulz, 60Hz, 220v, 20L/ min, 25lbf/pol², ¼cv) até ponto de escorrimento (aproximadamente 4 mL/ planta). O preparo dos extratos etanólicos foi descrito no item 3.2.

O inóculo consistiu de uma suspensão de conídios de *C. lindemuthianum*, na concentração de $1,2 \cdot 10^6$ esporos/ mL (conforme descrito no item 3.3.2)

Para testar o efeito de ação local dos extratos etanólicos (Figura 1), as plantas foram pulverizadas com o extrato etanólico no estágio fenológico V3

(Tabela 4). Após 3 horas (secagem completa do extrato na planta), procedeu-se a inoculação.

Tabela 4. Caracterização dos estádios fenológicos da cultura do Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), segundo Fancelli (1987).

Estádio	Características
V0	Germinação iniciada em 50% das sementes.
V1	Cotilédones de 50% das plantas completamente desenvolvidos.
V2	Folhas primárias de 50% das plantas completamente desenvolvidas.
V3	Primeiro trifólio de 50% das plantas completamente desenvolvidos.
V4	Terceiro trifólio de 50% das plantas completamente desenvolvidos.
R5	Primeiros botões florais observados em 50% das plantas.
R6	Terceiros botões florais observados em 50% das plantas.
R7	Primeiras vagens observadas em 50% das plantas.
R8	Primeiras vagens cheias observadas em 50% das plantas.
R9	Modificação de cor das vagens (de verde ao amarelo pigmentado) em 50% das plantas.

Para testar a ação residual e sistêmica dos extratos etanólicos (Figura 1), as plantas foram pulverizadas com extrato no estágio fenológico V3 e após 7 dias as plantas foram inoculadas. No momento da inoculação, a planta ainda permanecia em estágio fenológico V3 e já com o segundo trifólio completamente expandido (trifólio este que não recebeu tratamento com extrato).

Depois de inoculadas, as plantas foram levadas para câmara úmida a 21°C, 98% de umidade relativa por 48h. Após, foram retiradas e levadas para casa-de-vegetação, onde foram avaliadas aos 5 e aos 11 dias após inoculação.

Em uma pré-seleção foram testados em aplicações preventivas, 17 extratos etanólicos de macroalgas marinhas e dois extratos etanólicos de plantas aquáticas. Os 19 extratos foram subdivididos e testados em duas etapas

independentes, utilizando-se o delineamento inteiramente ao acaso, com cinco repetições, sendo considerado cada vaso com três plantas como uma repetição. Em cada etapa da pré-seleção foram testados nove e dez extratos mais a testemunha.

Na pré-seleção selecionaram-se os extratos que reduziram significativamente (Tukey, $P \leq 0,05$) a severidade da antracnose dentro de cada etapa. Em uma seleção final foi feito um estudo comparativo entre os extratos selecionados.

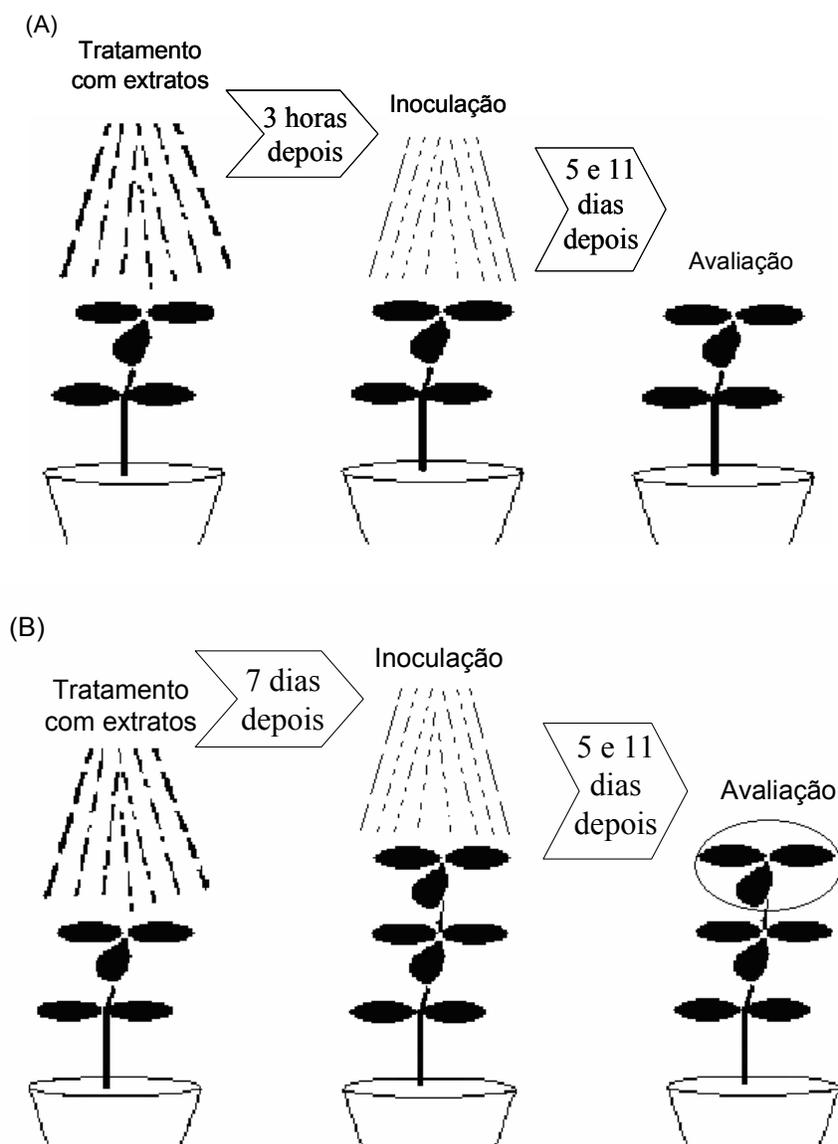


Figura 1. Esquema ilustrativo do modelo biológico utilizado na seleção de extratos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas, sob efeito local (A), residual e sistêmico (B) no controle da antracnose do feijoeiro. O efeito

sistêmico foi obtido pela avaliação do trifólio não tratado envolto pelo círculo.

3.4.3. Avaliação da severidade da doença

Cinco e onze dias após a inoculação procederam-se às avaliações de severidade de doença. Para efeito local e residual dos extratos utilizou-se a escala de notas de um a nove, descrita por Rava et al. (1993) (Tabela 5). Exclusivamente para os testes de efeito sistêmico foram avaliados apenas os trifólios não tratados com escala descritiva proposta por Tamayo (1995) (Tabela 6 e Anexo 3).

A eficiência dos extratos etanólicos, pulverizados de forma preventiva em plantas de feijoeiro foi demonstrada através da redução significativa (Tukey, $P \leq 0,05$) na severidade de antracnose.

Tabela 5. Escala descritiva da severidade da antracnose do feijoeiro, proposta por Rava (1993).

Nota	Descrição dos sintomas
1	Ausência de sintomas.
2	Até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptível somente na face inferior da folha.
3	Maior frequência dos sintomas dos sintomas foliares descritos na face superior, até 3% das nervuras afetadas.
4	Até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis em ambas as faces da folha.
5	Maior frequência dos sintomas foliares descritos na face superior da folha, até 3% das nervuras atacadas.
6	Manchas necróticas nas nervuras, perceptíveis em ambas as faces da folha, presença de algumas lesões nos talos, ramos e pecíolos.
7	Manchas necróticas na maioria das nervuras e grande parte do tecido do mesófilo adjacente rompendo-se. Presença abundante de lesões nos talos, ramos e pecíolos.
8	Manchas necróticas quase na totalidade das nervuras, ocasionando rompimento, desfolha, e redução do crescimento das plantas. Lesões muito abundantes nos talos, ramos e pecíolos.
9	Maioria das plantas mortas.

Tabela 6. Escala descritiva da severidade da antracnose do feijoeiro, proposta por Tamayo (1993).

Nota	Descrição dos sintomas
1	Ausência sintomas visíveis da doença.
3	Poucas lesões pequenas, geralmente nas nervuras da face inferior da folha, aproximadamente 1% de área foliar atacada.
5	Muitas lesões pequenas no pecíolo e nas nervuras primárias e secundárias da face inferior da folha.
7	Numerosas lesões grandes na face inferior da folha. Lesões necróticas nas hastes e nos pecíolos. Nas nervuras, presença de lesões medianas (mais de 2mm de diâmetro). Sinais de esporulação. Lesões em aproximadamente 10% das nervuras.
9	Necrose em folhas, pecíolos, ramos e gema apical, cobrindo mais de 25% dos tecidos da planta. Morte dos tecidos. Presença abundante de acérvulos esporulando.

3.5. Análise dos Dados

Os dados foram sumarizados inicialmente pela estatística descritiva, e conforme as características dos dados estes foram classificados como paramétricos ou não. A grande maioria dos dados foi classificada como paramétrica procedendo-se a Análise de Variância (ANOVA) dos experimentos. Encontrada diferença significativa pela ANOVA, fez-se teste de separação de médias Tukey ($P \leq 0,05$). O software utilizado para as análises foi o SISVAR[®], da Universidade Federal de Lavras.

4. RESULTADOS

4.1. Pré-seleção em testes *in vitro*

Os resultados dos ensaios de pré-seleção *in vitro* dos extratos etanólicos estão apresentados resumidamente na tabela 7. Os valores estão expressos em porcentagem em relação à testemunha de cada grupo de teste.

Tabela 7. Efeito dos extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas sobre o IVCM (Índice de Velocidade de Crescimento Micelial), a porcentagem de germinação de conídios e o padrão de germinação conidial (PGC) de *Colletotrichum lindemuthianum*.

Espécies testadas	IVCM	germinação	PGC
<i>Acanthophora specifera</i>	102	76	85
<i>Bostrychia</i> sp.	105	31*	80
<i>Bryothamnion seaforthii</i>	50*	nd	nd
<i>Bryothamnion triquetrum</i>	107	327*	135*
<i>Centroceras clavulatum</i>	106	32*	48*
<i>Cheilosporum sagittatum</i>	109	192*	115
<i>Codium isthmocladum</i>	47*	358*	282*
<i>Codium</i> sp.	82*	64*	63*
<i>Enteromorpha</i> sp.	131*	56*	53*
<i>Enteromorpha lingulata</i>	87	198*	118
<i>Gracilaria tepocensis</i>	94	73*	58*
<i>Hypnea spinella</i>	36*	76*	59*
<i>Lemna</i> sp.	91	0*	83
<i>Lithophyllum</i> sp.	154*	25*	45*
<i>Petalonia</i> sp.	56*	264*	121
<i>Sargassum stenophyllum</i>	106	1*	70*
<i>Spartina juncea</i>	203*	48*	51*
<i>Ulva fasciata</i>	62*	436*	135*
<i>Ulva lactuca</i>	54*	189*	108
coeficiente de variação (%)	7 a 20	21 a 42	22 e 42

Valores expressos em porcentagem em relação à testemunha, em testes de pré-seleção. Valores originais estão apresentados em Tabela A1 que segue em anexo.

*) indica diferença significativa entre o tratamento e a testemunha, segundo análise de variância em teste (Tukey, $P \leq 0,05$).

nd) valor não determinado pela insuficiência de alga coletada.

Os Índices de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *C. lindemuthianum* nas placas testemunha com BDA foram em média de 3,2 cm/ dia, variando de 1,92 a 3,77 cm/ dia. Entre os tratamentos com os 19 extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas testados, nove extratos afetaram significativamente a velocidade de crescimento micelial de *C. lindemuthianum*. Assim, *B. seaforthii*, *C. isthmocladum*, *Codium* sp., *H. spinella*, *Petalonia* sp., *U. fasciata*, *U. lactuca*, reduziram a velocidade de crescimento de *C. lindemuthianum*. Já os extratos de *Lithophyllum* sp. e *S. juncea* estimularam o crescimento fúngico, aumentando o IVCM de *C. lindemuthianum*. A maior redução (de 84%) do IVCM foi observada quando o extrato de *H. spinella* (concentração de 50 mg de peso seco de alga/ mL de meio) foi adicionado ao meio de cultura BDA. Por outro lado, os extratos de *Lithophyllum* sp. e *S. juncea* aumentaram o IVCM em 54 e 103%, respectivamente.

Os extratos de *H. spinella* e *Lemna* sp., em meio de cultura BDA, alteraram a coloração normal das colônias de *C. lindemuthianum*, passando da coloração cinza escuro para tons claros a rosados.

A porcentagem de germinação de conídios de *C. lindemuthianum* nas lâminas escavadas contendo água (testemunhas) foi de 28 e 85%. Exceto o extrato de *A. specifera*, todos os demais afetaram a germinação de conídios do fungo, em teste realizado em lâminas escavadas. Assim, os extratos de *Bostrychia* sp., *C. clavulatum*, *Codium* sp., *Enteromorpha* sp., *G. tepocensis*, *H. spinella*, *Lithophyllum* sp., *S. stenophyllum*, *S. juncea* reduziram significativamente a porcentagem de germinação de conídios. Já os extratos de *B. triquetrum*, *C. sagittatum*, *C. isthmocladum*, *E. lingulata*, *Petalonia* sp., *U. fasciata*, *U. lactuca* estimularam a germinação de conídios de *C. lindemuthianum*.

Avaliando o padrão de germinação conidial (PGC), puderam-se classificar conídios germinados de *C. lindemuthianum* após 48 horas na presença dos diferentes extratos etanólicos. Assim, observou-se que conídios não germinaram na presença dos extratos de *S. stenophyllum* e *Lemna* sp. E que conídios apresentaram tubo germinativo duas vezes o tamanho do conídio na presença dos extratos de *A. specifera*, *B. triquetrum*, *C. clavulatum*, *C. sagittatum*, *Codium* sp.,

Enteromorpha sp., *E. lingulata*, *G. tepocensis*, *H. spinella*, *Lithophyllum* sp., *S. juncea*, *U. fasciata*, *U. lactuca*. E também que, conídios apresentaram tubo germinativo quatro vezes maior que o tamanho do conídio na presença do extrato de *C. isthmocladum* e que conídios apresentaram tubo germinativo duas e quatro vezes maior que o tamanho do conídio na presença dos extratos etanólicos de *Bostrychia* sp. e *Petalonia* sp.. Em comparação do PGC dos diferentes extratos é possível afirmar que *B. triquetrum*, *C. clavulatum*, *C. isthmocladum*, *Codium* sp., *Enteromorpha* sp., *E. lingulata*, *H. spinella*, *Lithophyllum* sp., *S. stenophyllum*, *S. juncea*, *U. fasciata* diferiram em relação à testemunha.

4.2. Pré-seleção em testes *in vivo*

Os resultados dos ensaios de pré-seleção *in vivo* dos extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas com efeito sobre a antracnose do feijoeiro (*C. lindemuthianum*) estão apresentados resumidamente na tabela 8. Os valores estão expressos em porcentagem em relação à testemunha.

Na verificação do efeito local, observou-se que cinco extratos reduziram significativamente a severidade de antracnose, quando a avaliação foi feita aos cinco dias após inoculação. Esta redução significativa da doença não foi, no entanto, mais observável por ocasião da segunda avaliação, isto é, aos 11 dias após inoculação (Tabela 8). Na avaliação aos 5 d.a.i., as notas de severidade de doença em plantas testemunhas foram em média de 6,8, variando entre 6 e 7,46. Já na avaliação aos 11 d.a.i., as notas de severidade de doença em plantas testemunhas foram notas em média de 7,3, variando entre 7,16 a 7,46. Os extratos que reduziram a severidade da doença aos 5 d.a.i. foram: *A. specifera*, *B. seaforthii*, *C. isthmocladum*, *E. lingulata*, *S. stenophyllum*. A redução da severidade de doença em plantas tratadas com estes extratos foi semelhante, reduzindo de 17% a 30% a antracnose em relação às plantas testemunhas.

Tabela 8. Efeito local, residual e sistêmico de extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas na severidade de antracnose em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Uirapuru). Sendo avaliados a 5 d.a.i. (dias após inoculação) e 11 d.a.i..

Espécies testadas	efeito local ^{1,2}		efeito residual ^{1,3}		efeito sistêmico ^{1,4}	
	5 d.a.i.	11 d.a.i.	5 d.a.i.	11 d.a.i.	5 d.a.i.	11 d.a.i.
<i>Acanthophora specifera</i>	76*	102	109	102	161	176
<i>Bostrychia</i> sp.	104	109	112	103	123	126
<i>Bryothamnion seaforthii</i>	83*	106	nd	nd	nd	nd
<i>Bryothamnion triquetrum</i>	nd	nd	99	103	127	140
<i>Centroceras clavulatum</i>	95	111	105	110	70	149
<i>Cheilosporum sagittatum</i>	88	113	97	100	150	84
<i>Codium isthmocladum</i>	70*	110	94	99	155*	137
<i>Codium</i> sp.	98	100	95	102	96	105
<i>Enteromorpha</i> sp.	92	114	91*	89	122	89
<i>Enteromorpha lingulata</i>	82*	92	89	95	109	144
<i>Gracilaria tepocensis</i>	99	119	108	112	331*	196
<i>Hypnea spinella</i>	94	115	99	102	71	53
<i>Lemna</i> sp.	89	96	87*	91	46*	45
<i>Lithophyllum</i> sp.	95	109	99	102	146	113
<i>Petalonia</i> sp.	94	119	79	91	144*	72
<i>Sargassum stenophyllum</i>	80*	100	93	84	46	97
<i>Spartina juncea</i>	96	119	117	110	236*	147
<i>Ulva fasciata</i>	84	111	76*	81	99	79
<i>Ulva lactuca</i>	97	111	97	90	119	33
coeficiente de variação (%)	8 a 17	7 a 11	14 a 16	15 a 18	25 a 51	61 a 83

¹) Valores expressos em porcentagem em relação à testemunha, em testes de pré-seleção. Valores originais estão apresentados em Tabela A2 que segue em anexo.

²) Plantas foram inoculadas 4 horas após tratamento.

³) Plantas foram inoculadas 7 dias após tratamento e a doença foi avaliada em planta inteira.

⁴) Plantas foram inoculadas 7 dias após tratamento e a doença foi avaliada em trifólio não tratado.

*) indica diferença significativa entre o tratamento e a testemunha, segundo análise de variância em teste (Tukey, $P \leq 0,05$).

nd) valor não determinado pela insuficiência de material coletado.

Na verificação do efeito residual, observou-se que três extratos reduziram significativamente a severidade de antracnose, quando a avaliação foi feita aos 5 d.a.i.. Esta redução significativa da doença não foi, entretanto, mais observável por ocasião da segunda avaliação, isto é aos 11 dias após inoculação (Tabela 8).

De acordo com a avaliação aos 5 d.a.i., as notas de severidade de doença variaram de 6,33 a 6,39 em plantas testemunhas. Os extratos que reduziram a doença a 5 d.a.i. foram: *Enteromorpha* sp., *Lemna* sp. e *U. fasciata*. A redução da severidade de doença em plantas tratadas com estes extratos foi semelhante, reduzindo de 9% a 14% a antracnose em relação à severidade apresentada em plantas testemunhas.

Na verificação do efeito sistêmico, observou-se que cinco extratos alteraram significativamente a severidade de antracnose em trifólio não tratado, quando a avaliação foi feita aos 5 d.a.i.. Esta redução significativa da doença também não foi mais observável por ocasião da segunda avaliação, isto é, aos 11 dias após inoculação (Tabela 8). Na avaliação aos 5 d.a.i., as notas de severidade de doença em trifólio não tratado de plantas testemunhas foram notas em média de 3, variando entre 2,14 a 4,13. Já na avaliação aos 11 d.a.i., as notas de severidade de doença em plantas testemunhas foram notas em média de 3,6, variando entre 2,88 a 4,85. Os extratos de *A. specifera*, *C. isthmocladum*, *G. tepocensis*, *Petalonia* sp., *S. juncea* aumentaram a severidade de doença em trifólio não tratado em relação à testemunha. Em testes de pré-seleção não se encontrou nenhum tratamento que viesse a reduzir significativamente a severidade de doença de forma sistêmica, muito embora o extrato de *U. lactuca* tenha reduzido em 67% a doença em trifólio não tratado 11 d.a.i..

Após a obtenção dos resultados dos testes de pré-seleção, fez-se teste comparativo entre os extratos etanólicos que obtiveram diferença significativa na redução de severidade de doença e na redução do crescimento vegetativo do fungo. Os resultados são apresentados no item a seguir.

4.2. Estudo comparativo entre os extratos selecionados

4.2.1. Testes *in vitro*

Em avaliação comparativa entre Índices de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) dos extratos pré-selecionados, obtiveram-se os resultados apresentados na Figura 2:

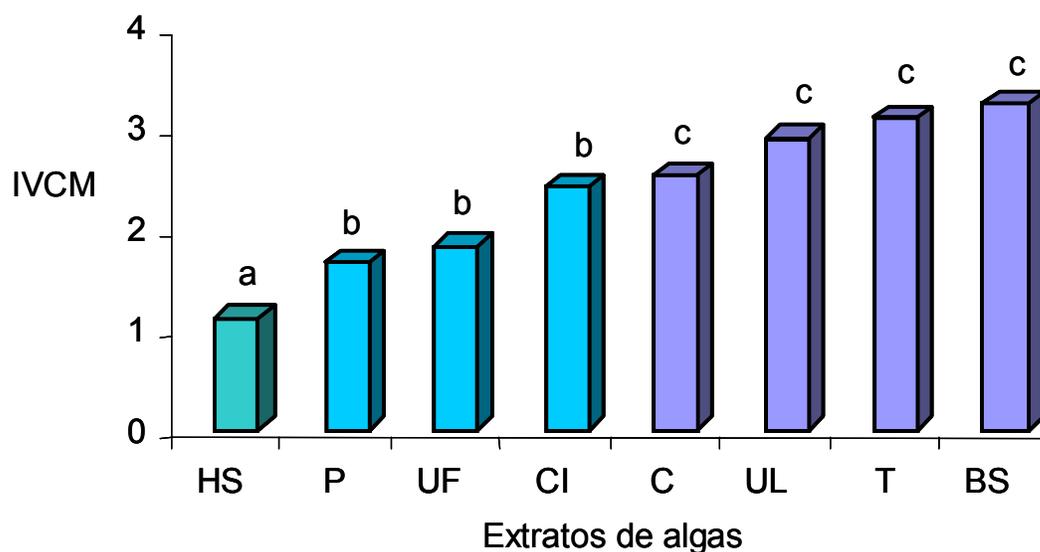


Figura 2. Índices de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *Colletotrichum lindemuthianum* sob diferentes tratamentos com extratos etanólicos de macroalgas marinhas em meio BDA de cultura (Tukey, $P \leq 0,05$). Legenda: *Bryothamnion seaforthii* (BS); *Petalonia* sp., (P); *Codium isthmocladum* (CI); *Codium* sp. (C); *Hypnea spinella*, (HS); Testemunha (T); *Ulva lactuca* (UL); *Ulva fasciata*, (UF).

O extrato de *H. spinella* mostrou-se o mais eficiente em retardar o crescimento micelial do *C. lindemuthianum*, seguido pelos extratos de *Petalonia* sp., *U. fasciata*, *C. isthmocladum*, com semelhante eficiência. Ao contrário dos resultados da seleção preliminar (Tabela 7), os extratos de *U. lactuca*, *Codium* sp., *B. seaforthii* não afetaram significativamente o crescimento micelial de *C. lindemuthianum* em relação à testemunha.

4.2.2. Testes *in vivo* sob efeito local ou direto

Em comparação da eficiência de redução na severidade da antracnose pelos extratos pré-selecionados observou-se que, ao contrário do observado em testes de pré-seleção, nenhum dos tratamentos afetou a severidade de doença a 5 d.a.i.. Por outro lado, houve redução significativa (Tukey, $P \leq 0,05$) de severidade da doença pelo extrato etanólico de *B. seaforthii* em 11 d.a.i. (Figura 3), reduzindo 35% da severidade de antracnose na folha previamente tratada, em relação à testemunha.

Ao contrário dos resultados da pré-seleção (Tabela 7), os extratos de *C. isthmocladium*, *Enteromorpha* sp., *A. specifera*, *S. stenophyllum* não afetaram significativamente a severidade da antracnose do feijoeiro em relação à testemunha.

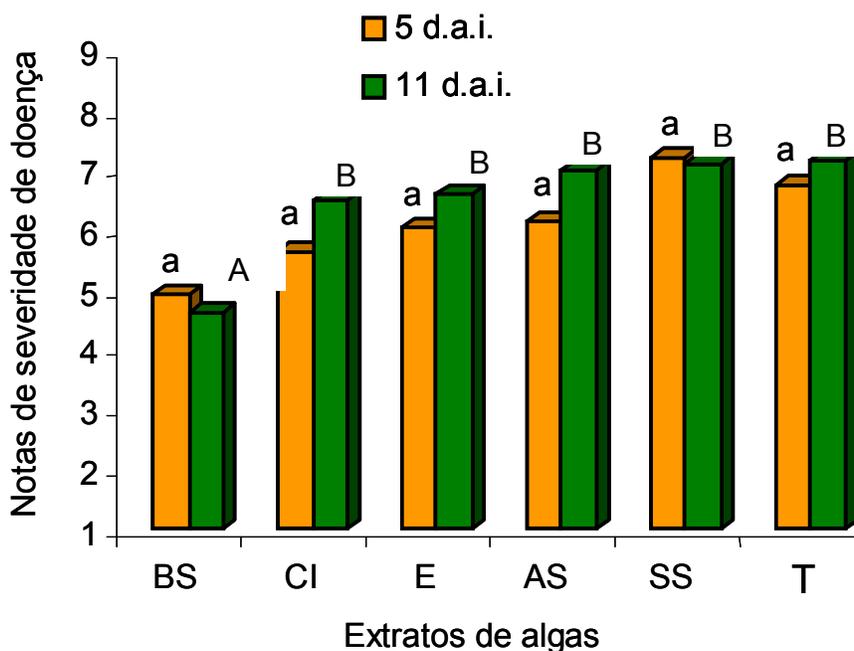


Figura 3. Efeito local de extratos etanólicos de macroalgas marinhas na severidade de antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) avaliada aos 5 e 11 dias após inoculação (d.a.i.) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Uirapuru) em estágio fenológico V3. Legenda: *Acanthophora specifera* (AS); *Bryothamnion seaforthii* (BS); *Codium isthmocladium* (CI); *Enteromorpha* sp. (E); *Sargassum stenophyllum* (SS); Testemunha (T).

4.2.3. Testes *in vivo* sob efeito residual

O efeito residual do extrato é o período em dias entre a aplicação do extrato e a ação eficaz na redução de doença, no caso, caracterizado pelo ação do produto em plantas inoculadas com conídios de *C.lindemuthianum* após 7 dias do tratamento com extrato. A avaliação da doença é realizada em planta inteira.

Em comparação entre a eficiência de redução na severidade da antracnose pelos extratos pré-selecionados sob efeito residual, observou-se que: Nenhum dos tratamentos afetou a severidade de doença a 5 d.a.i.. Houve redução significativa (Tukey, $P \leq 0,05$) de severidade da doença pelo extrato etanólico de *U. fasciata* em 11 d.a.i. (Figura 4), reduzindo 22% da severidade de antracnose em relação à testemunha.

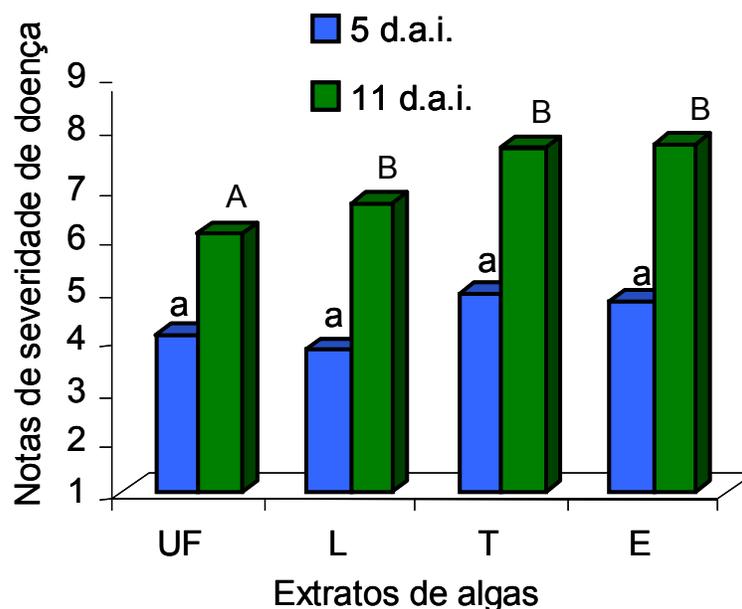


Figura 4. Efeito residual de extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas na severidade de antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) avaliada a 5 e 11 dias após inoculação (d.a.i.) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Uirapuru) em estágio fenológico V3. Legenda: *Enteromorpha* sp (E); *Lemna* sp. (L); testemunha (T); *Ulva fasciata* (UF).

4.2.4. Testes *in vivo* sob efeito sistêmico

Avaliando o efeito sistêmico dos extratos, observou-se que houve redução na severidade de doença em trifólio não tratado a 5 d.a.i. pelos extratos de *Lemna* sp. e *Ulva fasciata* na ordem de 55 e 44%, respectivamente, em relação a testemunha. Tal fato comprova o efeito sistêmico dos tratamentos. Esta redução significativa da doença não foi, no entanto, mais observável por ocasião da segunda avaliação, isto é, aos 11 dias após inoculação (Figura 5).

Ao contrário dos resultados da seleção preliminar (tabela 7), os extratos de *Enteromorpha* sp. e *Lemna* sp. não influenciaram a severidade da antracnose do feijoeiro em planta inteira. Embora o extrato de *Lemna* sp. não repetiu efeito na redução da severidade da doença em planta inteira, foi constatado efeito sistêmico do extrato.

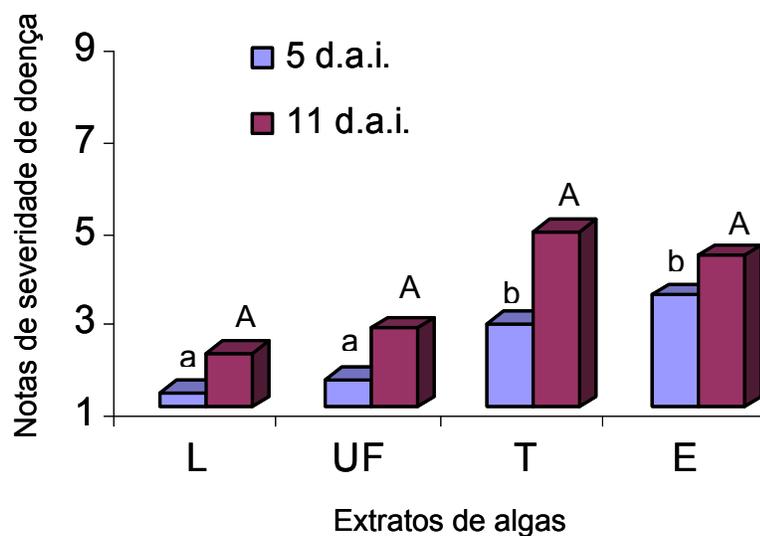


Figura 5. Efeito sistêmico de extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas na severidade de antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) avaliada a 5 e 11 dias após inoculação (d.a.i.) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Uirapuru) em estágio fenológico V3. Legenda: *Enteromorpha* sp (E); *Lemna* sp. (L); testemunha (T); *Ulva fasciata* (UF).

4.3. Correlação entre as variáveis experimentais

Foi encontrada correlação positiva entre as variáveis de avaliação a 5 e 11 d.a.i. em efeito residual (Tabela 9), significativa a 5% (Tabela A3, em anexo).

Tabela 9. Coeficiente de correlação entre variáveis experimentais considerando todos tratamentos. Legenda: avaliação do efeito local 5 d.a.i. (L1), avaliação do efeito local 11 d.a.i. (L2), avaliação do efeito residual 5 d.a.i. (R1), avaliação do efeito residual 11 d.a.i. (R2), avaliação do efeito sistêmico 5 d.a.i. (S1), avaliação do efeito sistêmico 11 d.a.i. (S2), e Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), germinação de conídios (%) e Padrão de Germinação de Conídios (PGC) de *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliadas em todos os tratamentos com extratos etanólicos.

IVCM	GER	PGC	L1	L2	R1	R2	S1	S2
IVCM	-0,40	-0,27	0,25	0,11	0,50	0,31	0,30	0,39
	GER	0,48	-0,43	0,14	-0,52	-0,33	0,01	-0,14
		PGC	-0,10	0,39	0,04	0,20	0,29	0,21
			L1	0,39	0,29	0,29	0,19	-0,13
				L2	0,21	0,27	0,52	0,01
					R1	0,81*	0,52	0,63
						R2	0,57	0,69
							S1	0,63

*Significativo ($P \leq 5\%$)

5. DISCUSSÃO

Como recurso marítimo abundante na costa brasileira, as algas marinhas exibem grande potencial de utilização na agricultura, como já comentado por diferentes autores (Paracer et al., 1987; Lizzi et al., 1998; Talamini & Stadnik, 2004; entre outros). A presença de compostos com bioatividade em algas marinhas é fato já conhecido (Melo et al., 1997; Febles et al., 1995). No entanto, desde a identificação de algas com potencial até sua utilização na agricultura existe um longo caminho de pesquisa e testes a serem realizados. Neste sentido, o presente trabalho representa uma etapa inicial do processo de pesquisa sobre a utilização de algas marinhas como protetores de plantas no Brasil. Resumidamente, este trabalho compreendeu primeiramente, a prospecção de diversas espécies comuns de macroalgas, processamento de extratos dessas algas, testes *in vitro* para verificação do efeito direto sobre *Colletotrichum lindemuthianum*, e por fim, testes com plantas de feijoeiro para estudar o efeito direto e sistêmico dos extratos em resposta à inoculação do patógeno. Os resultados aqui apresentados são a base de etapas de pesquisa posteriores que devem ser realizadas, para entender melhor os efeitos relatados, e que talvez permitam sua utilização na agricultura.

Extratos de algas e de plantas podem apresentar ação direta e/ou atividade elicitora de reações de defesa da planta contra fitopatógenos (Talamini & Stadnik, 2004). A importância de se conhecer qual(is) o(s) modo(s) de ação envolvidos no controle da doença, dá-se não apenas no sentido acadêmico, mas sim, abre a possibilidade de se combinar futuramente extratos com efeitos diferenciados, atingindo melhores níveis de controle da doença.

Nos estudos *in vitro* para a verificação do efeito direto, constatou-se que o extrato de *Hypnea spinella* foi o que apresentou a maior e mais consistente atividade contra *C. lindemuthianum*. Na presença de 50 mg/ mL desse extrato houve uma redução da velocidade de crescimento micelial e da germinação dos conídios do fungo em aproximadamente 74% e 34%, respectivamente. Atividade antimicrobiana em outra espécie correlacionada, *H. musciformis*, já foi freqüentemente relatada (Melo et al., 1997; Selvin & Lipton, 2004). Melo e

colaboradores (1997) demonstraram que a fração protéica obtida do extrato de *H. musciformis* é rica em aglutininas e tem forte efeito inibitório *in vitro* sobre *C. lindemuthianum*, reduzindo totalmente a germinação dos esporos em concentrações superiores a 500 µg/ mL. Ao contrário do presente trabalho, onde se utilizou etanol como solvente extrator, Melo et al. (1997) obtiveram a fração protéica de *H. musciformis*, utilizando PBS (solução salina de tampão fosfato) e sulfato de amônia.

O tipo de solvente extrator e mesmo o método de extração usado podem afetar, quantitativamente e qualitativamente os metabólitos obtidos a partir de algas marinhas. Por exemplo, Sastry & Rao (1994) encontraram no extrato de *H. musciformis* em clorofórmio, em comparação ao benzeno e ao metanol, uma ação maior sobre bactérias. Ao contrário, Febles et al. (1995), trabalhando com *H. musciformis*, encontraram na extração metanólica maior ação antibacteriana, particularmente contra *Bacillus cereus* e *B. subtilis*. A priori, o etanol e o metanol têm a capacidade de extrair metabólitos com grau de polaridade semelhante, isto é, compostos polares. Selvin & Lipton, (2004) encontraram significativa ação do extrato de *H. musciformis* contra bactérias gram positivas. Arun Kumar & Regasamy (2000) isolaram a partir de extrato metanólico dois compostos de *H. musciformis* com atividade inibitória contra a fitobactéria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, porém os compostos não foram identificados.

Em meio de cultura, os extratos de *U. fasciata*, *Petalonia* sp., *Codium isthmocladum* tiveram forte influência sobre o IVCM (Tabela 7, Figura 2), porém eles estimularam a germinação de conídios em solução aquosa. Sabe-se que muitas algas são ricas em compostos protéicos e açúcares (Quemener et al., 1997), os quais poderiam servir de nutrientes e estimular a germinação de conídios pelo enriquecimento nutritivo do meio em relação à testemunha, onde eles foram mantidos apenas em água destilada. Em extrato metanólico da alga verde *Codium intertextum*, Febles et al. (1995) encontraram ação direta contra bactérias e a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, influenciando o seu crescimento. Por meio de cromatografia fina, Arun Kumar & Regasamy (2000) isolaram dois compostos de *U. lactuca* com bioatividade contra a bactéria agente

causal da queima foliar, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Magallanes et al. (2003) relataram algum efeito inibitório do extrato metanólico de *Petalonia fascia* sobre as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*.

Os extratos de *Lemna* sp. e *Sargassum stenophyllum* inibiram a germinação de conídios de maneira total (0%) e quase total (1%), respectivamente. Embora este seja provavelmente o primeiro relato do efeito inibitório do extrato de *Lemna* sp. sobre a germinação de conídios de um fungo fitopatogênico, Mesmar & Abussaund (1991), em estudo sobre a atividade antimicrobiana de extratos de algas e plantas aquáticas da Jordânia, demonstraram que o extrato de *Lemna minor* possui atividade antimicrobiana contra a bactéria *Staphylococcus aureus*, mas não contra *Escherichia coli*. Apesar dos extratos de *Lemna* sp. e *S. stenophyllum* inibirem a germinação de conídios, curiosamente, eles não afetaram o crescimento micelial de *C. lindemuthianum in vitro* (Tabela 7). *S. stenophyllum* ainda alterou o PGC de *C. lindemuthianum*. Há relatos contraditórios de presença e ausência de atividade antibacteriana por espécies de *Sargassum*. Por exemplo, Del Val et al. (2001) encontraram em *S. furcatum* atividade contra *Bacillus subtilis*. Já em *S. desfontainessi*, os mesmos autores não verificaram nenhuma atividade contra nove espécies de bactérias testadas. Arun Kumar & Regasamy (2000) encontraram em duas substâncias isoladas de *S. wightii* a máxima inibição contra a fitobactéria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dentre onze algas testadas. A detecção e isolamento das substâncias foram realizados segundo protocolo de fotodensitômetro TLC (cromatografia de camada fina).

Embora não tenha influenciado o crescimento micelial do fungo, o extrato de *B. triquetrum* estimulou a germinação de conídios (germinação aproximadamente o dobro da testemunha), alterando também o padrão de germinação conidial (PGC) de *C. lindemuthianum*. Outros extratos apresentaram comportamento semelhante, como o de *C. clavulatum*, diminuindo a porcentagem de germinação (redução de 68%) e alterando o PGC em relação à testemunha.

O extrato de *C. isthmocladum* estimulou a germinação de esporos, fazendo com que todos os esporos germinassem e apresentassem um padrão de desenvolvimento mais avançado (PGC nota 4, com conídios apresentando tubo

germinativo quatro vezes maior em relação ao tamanho do conídio). Porém, contraditoriamente ele reduziu o IVCM em 53% em relação à testemunha.

O extrato de *B. seaforthii* reduziu em 50% a velocidade de crescimento micelial do fungo, embora o fato não pode ser constatado novamente em posterior repetição (Tabela 7 e Figura 2).

A ausência de correlação significativa entre os testes *in vitro* e os testes *in vivo* apresentados neste trabalho mostraram que os testes *in vitro* não são um bom método para selecionar extratos com efeito direto, embora se esperasse que extratos que apresentassem ação direta de redução de doença tivessem algum tipo de atividade contra o patógeno, seja na redução de seu crescimento vegetativo ou na redução de germinação conidial. Contradições deste tipo ocorreram quando extratos como por exemplo, aqueles de *Acanthophora specifera* e *Enteromorpha lingulata*, mesmo não apresentando nenhum efeito sobre o patógeno *in vitro*, foram capazes de reduzir a antracnose na planta. Nesse sentido, reafirma-se a importância da realização de testes comparativos entre extratos pré-selecionados, para verificar os efeitos locais anteriormente detectados.

Entretanto, examinando o efeito local, o extrato de *B. seaforthii* quando pulverizado em plantas de feijoeiro, três horas antes da inoculação com conídios de *C. lindemuthianum*, reduziu em 35% da severidade da doença aos 11 d.a.i. em tecidos previamente tratados. A alga *B. seaforthii* é encontrada em abundância no litoral do nordeste do Brasil (Ainouz et al., 1995), fato que viria a facilitar sua possível utilização na agricultura. Há relatos que a incorporação de extrato de *B. triquetrum* ao solo diminuiu o número de galhas de raízes em tomateiro, causados por *Meloydogine* sp. (Paracer et al. 1987).

Compostos antimicrobianos têm sido encontrados com maior frequência em algas marinhas marrons e vermelhas. Vlachos et al. (1997) testaram extratos etanólicos de 56 espécies de algas marinhas e verificaram que a alga marrom *Zonaria subarticulata* tinha uma forte e ampla atividade antimicrobiana. Abouriche et al. (1997) e Bennamara et al. (1999) identificaram na alga marrom *Cystoseira tamariscifolia* diferentes compostos bioativos, entre eles, o diterpenóide

metoxifurcarenona, o qual revelou forte atividade contra os fungos fitopatogênicos *Fusarium oxysporum* e *Verticillium albo-atrum*, e a fitobactéria *Agrobacterium tumefaciens*. A partir da alga marrom *Jolina laminarioides* isolou-se o fucosterol, que inibiu o crescimento de fungos (Rahman et al. 1997). Horikawa et al. (1996) isolaram três substâncias antibacterianas da alga vermelha *Laurencia okamurae* que ocorria no Japão. Já König e Wright (1997) identificaram a partir de uma espécie semelhante, *Laurencia obtusa*, que ocorre no Caribe, alolaurinterol. Esse composto apresentou atividade contra diversos fungos fitopatogênicos, entre eles, *Ustilago violacea* e *Fusarium oxysporum*. O extrato metanólico, a fração acetato-etílico e quatro esteróis isolados de uma alga verde *Chara wallichii* mostraram, embora em diferentes graus, atividade contra várias espécies de bactérias e fungos (Khaliq-uz-Zaman et al. 2001). Analisando o IVCM das 17 algas marinhas testadas, pode-se observar que entre os extratos que apresentaram efeito de redução do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, quatro eram algas verdes (67% das algas desse filo testadas), duas eram algas vermelhas (22%), e uma alga marrom (50%).

O extrato de *Ulva fasciata*, quando aplicado em pulverização preventiva em plantas de feijoeiro, reduziu a severidade de doença em teste sob efeito residual, onde as plantas foram tratadas com extrato e após 7 dias inoculadas com conídios de *C. lindemuthianum*. O extrato reduziu a severidade da antracnose em 14% aos 5 d.a.i. (Tabela 8) e 24% aos 11 d.a.i. (Figura 4), embora tais resultados tenham sido obtidos em testes separados. Efeito residual semelhante foi descrito por Talamini et al. (2005), quando a inoculação de plantas de feijoeiro com *C. lindemuthianum* foi realizada três dias após a pulverização com extrato de *U. fasciata*. Neste caso, foi observada uma redução significativa da severidade da doença.

Os extratos de *Enteromorpha* sp. e *Lemna* sp. apresentaram fraco efeito de redução de severidade de doença aos 5 d.a.i. (Tabela 8) e que não pôde ser novamente comprovado em teste posterior (Figura 4) (inoculação feita 7 dias após o tratamento).

Alguns extratos que apresentaram efeito local não apresentaram efeito residual (inoculação feita 7 dias após tratamento), como por exemplo os extratos de *A. specifera*, *B. seaforthii*, *C. isthmocladum*, *E. lingulata*, *S. stenophyllum*. Tal fato poderia ser explicado pela possibilidade dos compostos que atuaram na redução de doença serem degradados no período entre tratamento e inoculação, a exemplo do observado por Stadnik et al. (2003) utilizando-se de extratos de fungos e plantas no controle de oídio do pepino.

Diferenças nos resultados obtidos nos testes de pré-seleção e no teste comparativo entre extratos pré-selecionados (Tabelas 7 e 8 em relação às Figuras 1 a 5) podem ser explicados pela influência de fatores ambientais e suas interações com as plantas de feijoeiro. Mesmo as plantas sendo mantidas em casa-de-vegetação, onde se espera uma maior estabilidade ambiental, existem variações ambientais não passíveis de controle. Quando a ação dos extratos é predominantemente contra o fungo, os fatores ambientais continuam a influenciar o patossistema, pois estes afetam a translocação e a degradação dos compostos bioativos. Fato semelhante já foi relatado em outros trabalhos de bioprospecção (Stadnik et al., 2003).

A correlação positiva (0,81) significativa (superior a 1%) entre as severidades de antracnose em efeito residual avaliadas 5 d.a.i. e 11 d.a.i. (Tabela 9) indica que qualquer uma das duas datas de avaliação seria representativa para verificação do efeito residual dos extratos contra a antracnose. No entanto, somente no 5 d.a.i. se detectou diferença significativa entre os três extratos e suas respectivas testemunhas. O fato desta diferença não ser mais significativa na avaliação aos 11 d.a.i. foi devido provavelmente à exposição prolongada delas ao ambiente, aumentando a variação dentro do experimento. Outro ponto a ser considerado é a alta pressão do inóculo, dada pela utilização de suspensão de conídios em elevada concentração ($1,2 \cdot 10^6$ conídios/ mL). Esta alta pressão de inóculo pode dificultar a verificação do efeito dos tratamentos.

Quando a avaliação se restringiu ao trifólio não diretamente tratado (efeito sistêmico), os extratos de *Ulva fasciata* e *Lemna* sp., aplicados em pulverização preventiva em plantas de feijoeiro, reduziram sistemicamente a severidade de

doença aos 5 d.a.i. em 43% e 64%, respectivamente (Figura 5). Considerando que o extrato de *U. fasciata* não apresentou efeito local, pode-se pensar que a indução de resistência sistêmica esteja envolvida neste fenômeno. De fato, Cluzet et al. (2004) relataram que polissacarídeos de *Ulva* spp. têm a capacidade de elicitar respostas de defesa sistêmica contra a infecção de *Colletotrichum trifolii* em alfafa. Resposta esta, relacionada à formação de fitoalexinas, de proteínas relacionadas à patogênese (PRPs) e de proteínas formadoras de parede celular. Klarzynski et al. (2001) encontraram também que a laminarina, um polissacarídeo extraído da alga marrom *Laminaria digitata*, tem a capacidade de elicitação de defesa em plantas de fumo a uma gama variedade de patógenos. Já Lizzi et al. (1998) detectou através de estudos bioquímicos a síntese da fitoalexina capsidiol e atividade de peroxidase após aplicação do extrato da alga marrom *Ascophyllum nodosum* em plantas de videira e pimentão. Observou-se redução de doença nos dois patossistemas estudados, o míldio da videira (*Plasmopara viticola*) e a requeima do pimentão (*Phytophthora capsici*).

Alguns extratos, entre eles os de *C. isthmocladum*, *G. tepocensis*, *Petalonia* sp., *S. juncea*, estimularam a severidade de doença em trifólio não tratado aos 5 d.a.i.. Tal fato pode indicar uma inibição da ativação de mecanismos sistêmicos de defesa na planta, vindo a favorecer o estabelecimento da doença. Mudanças no metabolismo da planta devido à aplicação do extrato podem vir a suprimir componentes bioquímicos da resistência, como já observado por Stadnik & Buchenauer (2000) e Stadnik et al. (2001).

No patossistema oídio – feijoeiro, o extrato de *U. fasciata* reduziu a severidade de doença em tecidos previamente tratados 4 horas antes da inoculação (Gonzaga et al, 2003; Zeferino & Stadnik, 2004), fato não observado no patossistema antracnose – feijoeiro.

Embora o extrato de *Ulva fasciata* tenha apresentado atividade direta *in vitro* contra *C. lindemuthianum*, (Tabela 7 e Figura 2), nenhum ou fraco efeito foi observado quando as plantas foram inoculadas quatro horas após o tratamento. Provavelmente, compostos com atividade antifúngica sejam instáveis a temperatura e luminosidade. Por outro lado, constatou-se um efeito residual e

sistêmico do extrato de *U. fasciata*. Tais efeitos devem ser explicados pela indução de resistência na planta após aplicação do extrato e para que isto ocorra há provavelmente necessidade de um intervalo entre tratamento e inoculação. Embora já seja conhecido que algas marrons e vermelhas contenham polissacarídeos elicitores de defesa na planta, tais como laminarinas, carragenanas, glucanas sulfatadas (Kobayashi et al., 1993; Mercier et al., 2001; Klarzynski et al., 2003), o relato da presença de elicitores de defesa a fitopatógenos em algas verdes é recente (Cluzet et al. 2004, Loffaguen et al. 2004).

Neste trabalho, encontrou-se ampla variedade de respostas (direta e sistêmica) em plantas tratadas com extratos provindos tanto de algas vermelhas, algas marrons, algas verdes e mesmo plantas aquáticas. Nos testes *in vivo* de pré-seleção, foi encontrado algum tipo de bioatividade por três algas marrons, três algas verdes e uma alga marrom. Porém, observando os resultados da pré-seleção, pôde-se concluir que somente *Enteromorpha* sp., *U. fasciata* e *Lemna* sp. apresentaram um efeito residual contra a antracnose. Além disso, *U. fasciata* e *Lemna* sp. reduziram sistemicamente a doença. *Enteromorpha* sp. e *U. fasciata* são algas verdes e *Lemna* sp. é uma planta aquática. A ação sistêmica do extrato da alga verde *Ulva fasciata* em plantas de feijoeiro contra a antracnose, relatada por Loffaguen et al. (2004) em experimentos de campo, foi comprovada nesse trabalho.

O extrato de *Lemna* sp. apresentou uma combinação de efeitos sobre o patossistema. Ele teve um forte efeito *in vitro* sobre germinação de conídios (Tabela 7), uma fraca redução de severidade de doença sob efeito residual do extrato e um forte efeito sistêmico do extrato (Tabela 8, Figura 5). *Lemna* sp. é uma planta aquática de fácil obtenção, possui grande produtividade por hectare (Iqbal, 1999), sendo utilizada no tratamento de efluentes e na alimentação animal (Tavares, 2004), fatores que facilitam sua utilização como ingrediente na produção de um produto fitossanitário. Por outro lado, a aplicação do extrato de lentilha d'água (*Lemna minor*) no substrato de alface (*Lactuca sativa* L.) reduziu o desenvolvimento das plantas afetando as suas raízes e elevando a concentração

de manganês principalmente nas folhas (Taffarel & Reissmann, 2003). No presente trabalho não se observou, entretanto, nenhum efeito negativo sobre o crescimento de plantas de feijoeiro tratadas com o extrato de *Lemna* sp..

Benevides et al. (1998), Zavodnik (1987) e Durako (1980) afirmam que, além do componente genético, diferenças na composição química de macroalgas marinhas são influenciadas por fatores ambientais, como a salinidade, temperatura, intensidade de luz, concentração de nutrientes na água. Esses fatores ambientais variam durante o ano, influenciando a composição química das macroalgas. Tal diferença na composição química poderia explicar os diferentes resultados *in vivo* sob efeito residual e sistêmico apresentados por *U. fasciata* e *U. lactuca*, sendo que o restante dos resultados seguem as mesmas características. Deve-se lembrar que a coleta de *U. lactuca* foi pontual, coletada uma única vez, enquanto que a *U. fasciata* foi coletada diversas vezes (Tabela 2, que situa os locais e épocas de coletas).

A alga *Ulva fasciata* é encontrada em abundância no litoral de Florianópolis, passível de produção e coleta em águas ricas em nitrogênio e fósforo. Segundo Pagand et al. (2000), a sua produção e colheita pode atuar como biofiltro extrator do nitrogênio e fósforo excretados por camarões ou peixes em canais de adução de áreas produtivas. Esse autores também citam uma série de outros trabalhos que levam a crer que se pesquisa sobre o tema desde meados da década de 70. Tais constatações evidenciam o interesse pela macroalga marinha *Ulva fasciata* no litoral de Santa Catarina, criando potencial para sua utilização na agricultura e em outros segmentos.

Normalmente, espécies de *Ulva* associadas a outras algas são as principais formadoras das marés verdes (Hiraoka et al., 2004), fato também observado em Ponta das Canas (Tabela 2). Marés verdes (ou “green tides”), fenômeno no qual há grande crescimento de algas verdes (chlorophytas) que passam a flutuar sobre as águas de regiões marítimas costeiras, é o principal causador de eutrofização e diminuição de intensidade luminosa em ambiente aquático. Uma das formas de remediação dos efeitos nocivos das marés verdes é a retirada de grande parte dessas algas do local, o que cria mais um problema, o da destinação adequada do

material retirado. A utilização dessas algas na agricultura seria uma alternativa para solucionar tal problema, pois esta atividade é conhecida por sua grande demanda de insumos, devido a vastas áreas cultivadas.

Por fim, seria interessante investigar o efeito sobre a doença da aplicação da combinação de extratos de *Lemna* sp. ou *S. stenophyllum*, junto a *B. seaforthii* e *U. fasciata*. Também é possível a combinação dos extratos a outros compostos estimulantes de plantas e/ou a outros indutores de resistência a doenças, como micronutrientes de plantas e/ou ácidos húmicos, a exemplo de outros produtos registrados já eficientemente utilizados na agricultura (Russo & Berlyn, 1992; Martinez-Louzano et al., 2000; Featonby-Smith & Staden, 1983; Eris et al., 1995).

Após a realização deste trabalho torna-se possível estudar com maior profundidade as espécies que se mostraram promissoras, isto é, *U. fasciata*, *B. seaforthii* e *Lemna* sp.. Há também, a necessidade de mais estudos na identificação dos compostos envolvidos nos processos de controle da doença e elucidar com exatidão os modos de ação desses compostos na planta e/ ou no fungo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU,G.F.; TALAMINI,V; STADNIK,M.J.; HORTA JUNIOR,P.A. Extratos de macroalgas marinhas e de macrófitas para o controle da antracnose do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**. v.31, suplemento. 2005. p.82-83.

ABOURRICHE,A.; CHARROUF,M.; BERRADA,M.; BENNAMARA,A.; CHAIB,N.; FRANCISCO,C. Antimicrobial activities and cytotoxicity of the brow alga *Cystoseira tamariscifolia*. **Fitoterapia**. 70. v.6. 1999. p.611-614.

Agrianual 2005: Anuário da Agricultura brasileira. FNP Consultoria & Agroinformativos. 2004. p. 520.

AINOUZ, I.L.; SAMPAIO, A.H.; FREITAS, A.L.P.; BENEVIDES, N.M.B.; MAPURUNGA, S. Comparative study on hemagglutinins from the red algae *Bryothamnion seaforthii* and *B. triquetrum*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. 7. 1995. p.15-19.

ALLEONI,B.; PASSOS,P.A. Efeito adjuvant do oleo vegetal Max Oleo associado a defensivos agricolas no controle de pragas, doencas e plantas daninhas da cultura do feijoeiro. **Ecossistemas**. 25. v.2. 2000. p.109-113.

ALVES, J.P. As macroalgas no contexto dos corredores ecológicos marinhos. **Oficina de trabalho potencial biotecnológico das macroalgas marinhas**. Angra dos Reis – RJ. 2005. p.10.

ARA,J.; EHTESHAMUL-HAQUE,S.; SULTANA,V.; QASIM,R.; GHAFAR,A.; Efect of *Sargassum* seaweed and microbial antagonists in the control of root rot disease of sunflower. **Pakistan Journal of Botany**. 28. v.2. 1996. p. 219-223.

ARUN KUMAR, K. & RENGASAMY, R. Antibacterial Activities of Seaweed Extracts/Fractions Obtained through a TLC Profile against the Phytopathogenic Bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Botanica Marina**. v.43. 2000. p.417-421.

ASSAD,A.L.D.; in SANT'ANA,P.J.P. **A bioprospecção no Brasil**. Brasília. 2002. p.220.

BALARDIN, R.S.; PASTOR-CORRALES,M.A.; OTOYA,M.M. Variabilidade patogênica de *Colletotrichum lindemuthianum* no Estado de Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**. 15. 1990. p.243-245.

BALARDIN,R.S. Identificação de raças fisiológicas de *C.lindemuthianum* no Rio Grande do Sul –Brasil. **Fitopatologia Brasileira**. 22. v.1. 1997. p. 50.

BALARDIN,R.S.; KELLY,J.D. Interection between *C.lindemuthianum* races and gene pool diversity in *Phaseolus vulgaris*. **Journal of the American Society for Horticulture Science**. 23. v.6. 1998. p.1038-1047.

BARROS, B.C.; CASTRO, J.L.; PATRICIO, F.R.A. Comparação de fungicidas para o controle de doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Arquivos do Instituto Biológico São Paulo**. 66. v.1. 1999. p.53-58.

BASSANEZI,R.B.; MARTINS,M.C.; GODOY,C.V.; AMORIN,L.; BERGAMIM FILHO,A.; Efeito da antracnose na eficiência fotossintética do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**. 22. v.4. 1997. p. 520-524.

BENEVIDES, N.M.B.; SOUSA E SILVA, S.M.; MAGALHÃES, S.R.; MELO, F.R.; FREITAS, A.L.P.; VASCONCELOS, I.M. Proximate analysis, toxic and antinutritional factors of ten brazilian marine algae. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. 10. v.1. 1998. p.31-36.

BENAMARA,A.; ABOURRICHE,A.; BERRADA,M.; CHARROUF,M.; CHAIB,N.; BOUDOUMA,M.; GARNEAU,F.X. Methoxybifurcarone: an antifungal and antibacterial meroditerpenoid from the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*. **Phytochemistry**. 52. v.1. 1999. p.37-40.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI,H.; AMORIM, L.; **Manual de Fitopatologia**. Princípios e Conceitos. 3º edição. Agronômica Ceres, São Paulo. 1995. p. 919.

BERLYN,G.P.; SIVARAMAKRISNAN,S. The use of biostimulants to reduce fertilizer use, increase stress resistance, and promote growth. [s.d.]

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. in: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI,H.; AMORIM, L.; **Manual de Fitopatologia**. Princípios e Conceitos. 3º edição. Agronômica Ceres, São Paulo. 1995. p. 919.

BRUGNAGO NETO, S. Comportamento do clima e suas repercussões sobre a safra catarinense de grãos. **Agropecuária catarinense**. 3. v.17. 2004. p. 21-24.

CANNON, P.F.; BRIDGE, P.D.; MONTE, E. Linking the past, present, and future of *Colletotrichum* systematics. In: PRUSKY,D.; FREEMAN,S.; DICKMAN,M.B. *Colletotrichum*: Host specificity, pathology and host-pathogen interaction. St.Paul-Minnesota, APS Press. 2000. pg 57-77.

CANTERI,M.G.; DALLA PRIA,M.; AMORIN,L.; BERGAMIN FILHO,A. Efeito curativo de fungicidas no controle da antracnose e da mancha angular do feijoeiro em câmara de crescimento. **Fitopatologia Brasileira**. 23. v.4. 1998. p. 471-473.

CARBONELL,S.A.M.;ITO,M.F.; POMPEU,A.S.; FRANSISCO,F.G.; RAVAGNANI,S.; ALMEIDA,A.L.L. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* e reação de linhagens e cultivares de feijoeiros no Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**. 24.1999. p.60-65.

CARVALHO FILHO,J. **Panorama da Aquicultura**. Julho/agosto, 2004. p.53-55.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungae in distilled water. **The Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. 42. 1939. p. 225-226.

CEH, J.; MOLIS, M.; DZEHA, T.M.; WAHL, M. Induction and reduction of anti-herbivore defenses in brown and red macroalgae off the Kenyan coast. **Journal of Phycology**. June 2005.

CHAVES,G.M. La antracnosis. In: SCHWARTZ, H. & GALVEZ, G.E. **Problemas de Producción del frijol**. Cali, CIAT, 1980. p.37-53.

CLOUD,A.M.; DEVERALL,B.J. Induction and expression of systemic resistance to the antracnose disease in bean. **Plant Disease**. 36. v.4. 1987. p. 551-557.

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**. 27. 2004. p.917-928.

COBO,S.F.; PASTOR-CORRALES,M.A. Variation in pathogenicity and sources of resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib., pathogen of bean antracnose, in Colombia. **Acta Agronómica, Universidad Nacional de Colombia**. 37. v.1. 1987. p. 36-37.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. The New York Botanical Garden, New York, U.S.A. 1988. p. 555.

DANN,E.K.; MEUWLY,P.; MÉTRAUX,J.P.; DEVERALL,B.J. The effect of pathogen inoculation or chemical treatment on activities of chitinase and β -1-3 glucanase and accumulation of salicylic acid in leaves of green bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. 49. v.5. 1996. p.307-319.

DEL VAL, A.G.; PLATAS,G.; BASILIO,A.; CABELLO,A.; GORROCHATEQUI,J.; SUAY,I.; VICENTE,F.; PORTILLO,E.; DEL RIO,M.J.; REINA,G.G.; PELÁEZ,F. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Island, Spain). **Int Microbiol**. 4. 2001. p.35-40.

DEBOUCK, D. Diversity in *Phaseolus* species in relation to the common bean. **In Developments in plant breeding**. Common bean improvement in the twenty-first century. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands. 1999. p. 25–52.

DIXON, G.R.; WALSH, U.F. Suppressing *Pythium ultimum* induced damping-off in cabbage seedlings by biostimulation with proprietary liquid seaweed extracts. **Acta Horticulturae**. 635. 2004. p.103-106.

DRIJFHOUT,E.; JANSEN,J. Effect of culture medium on spore production and germination of races of *C. lindemuthianum*. **Netherlands Journal of Plant Pathology**. 95. v.2. 1989. p.119-122.

DUMAS,B.; BOUDART,G.; CENTIS,S.; ESQUERRÉ-TUGAYÉ, M-T. **The Endopolygalacturonases of *Colletotrichum lindemuthianum*: molecular characterization, gene expression, and elicitor activity.** In: PRUSKY,D.; FREEMAN,S.; DICKMAN,M.B. *Colletotrichum*: Host specificity, pathology and host-pathogen interaction. St.Paul-Minnesota, APS Press. 2000. p. 195-204.

DURAKO, M.J. & DAWES, C.J. A comparative seasonal study of two populations of *Hypnea musciformis* from the East and West Coasts of Florida, USA. **Marine Biology.** 59. 1980. p.151-156.

DURAND, N.; BRIAND, X.; MEYER, C. The effect of marine bioactive substances (N PRO) and exogenous cytokinins on nitrate reductase activity in *Arabidopsis thaliana*. **Physiologia Plantarum.** 119. v.4. 2003. p.489-493.

EGAN, S.; THOMAS, T.; HOLMSTROM, C.; KJELLEBERG, S. Phylogenetic relationship and antifouling activity of bacterial epiphytes from the marine alga *Ulva lactuca*. **Environmental Microbiology.** 2. 2000. p.343-347.

EMYGDIO, B. M.; ANTUNES, I. F. Reaction of black-seed bean cultivars recommend from southern Brazil to *Colletotrichum lindemuthianum* pathotypes. **Fitopatologia Brasileira.** 23. v.2. 1998. p.166-168.

ERIS, A.; SIVRITEPE, H.O.; SIVRITEPE, N. The effects of seaweed (*Ascophyllum nodosum*) extract on yield and quality criteria in peppers. **Acta Horticulturae.** 412. 1995. p.185-192.

FALKENBERG, M.B.; SANTOS, R.I. & SIMÕES, C.M.O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; & PETROVICK, P.R. (Eds.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** UFRGS, Porto Alegre, p.165-181.

FANCELLI,A.L. **A cultura do feijão.** Piracicaba, ESALQ. 1987.p.18-43.

FAO Statistical Databases. Disponível em <<http://faostat.fao.org/faostat/>> Acesso em março de 2004.

FAO Statistical Databases. Disponível em <<http://faostat.fao.org/faostat/>> Acesso em 11 de janeiro de 2005.

FATTORUSSO, E.; MAGNO,S.; MAGNOL,L.; SANTACROCCE,C.; SICCA,D.; AMICO,V.; ORIENTE,G.; PIATELLI,M.; TRINGALI,C. Dictyol A and B, two novel diterpene alcohol from the alga *Dictyota dichotoma*. **Journal of Chemical Society. Chemical Community.** v.2. 1976. p.575-576.

FAULKNER,D.B.N.; FINER,R.J.; CLARDY,J. Diterpene from *Dictyota dichotoma*. **Phytochemistry.** v.16. 1977. p.991-993. [ref.cruz]

FEATONBY-SMITH, B.C. & VON STADEN, J. The effect of seaweed concentrate and fertilizer on the growth of *Beta vulgaris*. **Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie**. 112. 1983. p.155-159.

FEBLES, C.I.; ARIAS, A.; HARDISSON, A.; SIERRA LOPEZ, A.; GIL RODRIGUEZ, M.C. Antimicrobial activity of extracts from some Canary species of Phaeophyta and Chlorophyta. **Phytotherapy Research**. 5. v.9. 1995. p.385-387.

FREITAS,R.A. **Patologia de sementes de feijão**. Disponível em: <www.editora.ufla.br/revista/26_2/art11.pdf > Acesso em: mai.2003.

FRUGULHETTI, I.C.P.P.; AMORIN, L.M.F.; TEIXEIRA, V.L.; PEREIRA, R.C. Estudo da atividade antiviral e anticâncer de substâncias isoladas de algas marinhas. **Oficina de trabalho potencial biotecnológico das macroalgas marinhas**. Angra dos Reis – RJ. 2005.

GIANASI, L. : Patossistema feijoeiro - antracnose: efeito do trifenil acetato de estanho no crescimento do hospedeiro e no progresso da doença. **Ciência e Agrotecnologia**. 26. v.2. 2002. p.309-317.

GIANASI,L.; AMORIN,L.; BERGAMIN FILHO,A.; FERNANDES,S.; LOURENÇO,S.A.; Antracnose do feijoeiro: relação entre severidade, desfolha, área foliar e refletância do dossel. **Fitopatologia Brasileira**. v. 25. 2000. p. 376.

GONZAGA, F.; LEONETTI, D.B.; DHINGRA, O.D. & STADNIK, M.J. Efeito de extratos naturais de plantas no controle do Oídio do feijoeiro e de bactérias fitopatogênicas. **Fitopatologia Brasileira**. v. 28 (suplemento). 2003. p. 363.

HEDRICK,S.A.; BELL,J.N.; BOLLER,T.; STAPLES,R.C. Chitinase cDNA cloning and mRNA induction by fungal elicitor, wounding and infection. **Plant Physiology**. 86. v.1.1988. p. 182-186.

HEMP, Silmar et al. Feijão. Avaliação de cultivares para o Estado de Santa Catarina 2004/2005, Florianópolis. 2004. p. 69-77.

HEMP,S.; MASSIGNMA,A.G. **Considerações sobre a cultura do feijoeiro comum e a ocorrência de mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola* (SACC.) FERR.) no Estado de Santa Catarina/Brasil**. Disponível em :< http://www.cnpaf.embrapa.br/negocios/ser_doc/doc_132/132_3.htm >Acesso em 01dez.03.

HIRAOKA, M.; SHIMADA, S.; UENOSONO, M.; MASUDA, M. A new green-tide-forming alga, *Ulva ohnoi* Hiraoka et Shimada sp. nov. (Ulvales, Ulvophyceae) from Japan. **Phycological Research**. 1. v.52. 2004. p.17.

HORIKAWA,M.; NORO,T.; KAMEI,Y. Characterization and purification of antibacterial substances from red alga, *Laurencia okamurae*. **Marine and Highland Bioscience Center Report**. 3. 1996. p.45-52.

HORTA JUNIOR,P.A.; AMANCIO,E.; COIMBRA,C.S.; OLIVEIRA,E.C. Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas marinhas brasileiras. **Hoehnea**. 28. v.3. 2001.

IBGE. **Censo Agropecuário: censos econômicos de 1985**. Rio de Janeiro, 1991. n. 23 - Santa Catarina.

INGLIS,D.A.; HAGEDORN,D.J.; RAND,R.E. Use of dry inoculum to evaluate beans for resistance to antracnose and angular leaf spot. **Plant Disease**. 72. v. 9. 1988. p.771-774.

INSTITUTO CEPA. Florianópolis, SC. **Síntese anual da agricultura de Santa Catarina**. Florianópolis, 1994. p.143.

IQBAL, S. Duckweed aquaculture. Potentials, possibilities and limitations, for combined wastewater treatment and animal feed production in developing countries. Switzerland. **Sandec report**. 6. 1999. p.91.

ITO, M.F.; DUDIENAS,C.; CASTRO, J.L. de; SOAVE, J. & MAEDA, J.A . Efeito de fungicidas aplicados na parte aérea, sobre a qualidade de sementes de feijão. **Fitopatologia Brasileira**. v.11. 1986. p.627-635.

IVANOVA,V.; ROUSEVA,R.; KOLAROVA,M.; SERKEDJIEVA,J.; RACHEV,R.; MANOLOVA,N. Isolation of a polysaccharide with antiviral effect from *Ulva lactuca*. **Preparative Biochemistry**. 24. v.2. 1994. p.83-97.

JENKINS, T.; BLUNDEN, G.; WU, Y.; HANKINS, S.D.; GABRIELSEN, B.O. Are the reductions in nematode attack on plants treated with **seaweed extracts** the result of stimulation of the formaldehyde cycle? **Acta Biologica Hungarica**. 49. 1998. p. 421-427.

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

KHALIQ-UZ-AMAN,S.M.; SIMIN,K.; SHAMEEL,M. Antimicrobial activity and phytotoxicity of sterols from *Chara wallichii* A. Br. (Charophyta). **Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research**, 44. v.5. 2001. p.301-304.

KLARZYNSKI,O.; PLESSE,B.; JOUBERT,J.M.; YVIN,J.C.; KOPP,M.; KLOAREG,B.F.; Linear β -1,3 glucans are Elicitors of Defense Responses in Tobacco. **Plant Physiology Online**. v.124. 2000. p. 1027-1038.

KÖNIG,G.M.; WRIGHT,A.D. Sesquiterpene content of the antibacterial dichloromethane extract of the marine red alga *Laurencia obtusa*. **Planta Medica**. 63. v.2. 1997. p.186-187.

KOO, R.C.J.; MAYO, S. Effects of seaweed sprays on citrus fruit production. **Proceedings of the Florida State Horticultural Science**. 107. 1995. p.82-85.

KUWADA, K.; ISHII, T.; MATSUSHITA, I.; KADOYA, K. Effect of seaweed extracts on hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and their infectivity on trifoliolate orange roots. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**. 68. v.2. 1999. p.321-326.

LABANCA, E.R.G. Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*, atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*). Tese de doutorado. USP. 2002.

LAPA, A.J. **Bioprospeção no Brasil: abordagens alternativas para fabricação de medicamentos autóctones.** Disponível em: <http://www.universiabrasil.net/nextwave/ver_materia.jsp?materia=86&subcanal=13> Acesso em 04jan.04.

LAWTON, M.A.; LAMB, C.J. Transcriptional activation of plant defense genes by fungal elicitor, wounding, and infection. **Molecular and Cellular Biology**. 7. v.1. 1988. p. 335-341.

LEONETTI, D.B.; GONZAGA, F.; HORTA, P.A.; STADNIK, M.J. Eficiência de extratos de macroalgas marinhas no controle de bactérias fitopatogênicas e do oídio do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**. 28 (suplemento). 2003. p.380.

LIMA-FILHO, J.V.M.; CARVALHO, A. F.F.U.; FREITAS, S.M.; MELO, V.M.M. Avaliação de atividade antibacteriana de extratos de seis macroalgas do nordeste brasileiro. **Brazilian Journal of Microbiology**. 4. v.33. 2002.

LIZZI, Y.; COULOMB, C.; COULOMB, P.J.; COULOMB, P.O.; POLIAN, C. L'algue face au Mildiou: que avenir? **Phytoma**. 508. 1998. p. 29-30.

LOFFAGUEN, J.C.; HARTMANN, O.E.L.; TALAMINI, V. & STADNIK, M.J. Extratos naturais no controle da antracnose e na produtividade do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**. 29 (suplemento). 2004. p.107.

LOFFAGUEN, J.C.; TALAMINI, V. & STADNIK, M.J. Identificação da raça 73 de *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causal da antracnose do feijoeiro, em dois municípios do Alto Vale do Itajaí, SC. **Agropecuária Catarinense**. 2. v.18. 2005. p. 87 - 89.

MAGALLANES, C.; CÓRDOVA, C.; OROZCO, R. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de macroalgas marinas de la costa central del Perú. *Revista Peruana Biologica*. 10. v.2. 2003. p.125-132.

MALAGUTI, D.; ROMBOLA, A.D.; GERIN, M.; SIMONI, G.; TAGLIAVINI, M.; MARANGONI, B. Effect of seaweed extracts-based leaf sprays on the mineral status, yield and fruit quality of apple. **Acta Horticulturae**. 594. 2002. p.357-359.

MARANGONI, B.; ROMBOLA, A.D.; SORRENTI, G. Use of natural compounds for plant nutrition and protection in organic farmed orchards. **Bulletin OILB/SROP**. 27. v.5. 2004. p.129-136.

MARTINEZ-LOZANO,S.J.; VERDE-STAR,J.; TORRES-CEPEDA,T.E.; MAITI,R.; MORENO-LIMON,S.; GARCIA,A.E.I. Effect of the commercial product AlgaenzimsTM on the growth and development of some varieties of *Phaseolus vulgaris* L. in the early stages. **Phyton-Internacional Journal of Experimental Botany**. 68. 2000. p. 65-75.

MELO, V.M.M.; MEDEIROS, D.A.; RIOS, F.J.B.; CASTELAR, L.I.M.; CARVALHO, F.F.U. Antifungal properties of proteins (agglutinins) from the red alga *Hypnea musformis* (Wulfen) Lamouroux. **Botanica Marina**. v.40. 1997. p.281 – 284.

MELOTTO,M.; BALARDIN,R.S.; KELLY,J.D. **Host-pathogen interaction and variability of *Colletotrichum lindemuthianum***. In: PRUSKY,D.; FREEMAN,S.; DICKMAN,M.B. *Colletotrichum*: Host specificity, pathology and host-pathogen interaction. St.Paul-Minnesota, APS Press. 2000. p. 346-361.

MENEZES, J.R. & DIANESE, J.C.. Race characterization of Brazilian isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* and detection of resistance to anthracnose in *Phaseolus vulgaris*. **Phytopathology**. 78. 1988. p.650-655.

MERCIER, L.; LAFITTE, C.; BORDERIES, G.; BRIAND, X.; ESQUERRÉ-TUGAYÉ, T.; FOURNIER, J. The algal polysaccharide carrageenans can act as an elicitor of plant defence. **New Phytologist**. 149. 2001. p.43 – 51.

MESMAR, M.N.; ABUSSAUND, M. The antibiotic activity of some aquatic plants and algal extracts from Jordan. **Qatar University Science Journal**. 11. 1991. p. 155-160.

NEALES,T.F.& INCOLL,L.D. The control of leaf photosynthesis rate by level of assimilate concentration in the leaf: review of the hypothesis. **Botanical Review**. v.34. 1968. p.107-125.

O'CONNELL,R.; PERFECT,S.; HUGHES,B.; CARZANIGA,R.; BAILEY,J.; GREEN,J. **Dissecting the cell biology of *Colletotrichum* infection process**. In: PRUSKY,D.; FREEMAN,S.; DICKMAN,M.B. *Colletotrichum*: Host specificity, pathology and host-pathogen interaction. St.Paul-Minnesota, APS Press. 2000. p. 57-77.

OLIVEIRA, S.H.F. Novos fungicidas e programas de pulverizacao para o controle da antracnose e da mancha angular do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**. 29. v.1. 2003. p.45-48.

OTERO-OTERO,R.; FRIAS-TREVINO,G.A. Effect of soil humidity and plant stage on the expression of resistance to antracnose in beans. **Revista Mexicana de Fitopatologia**. 14. v.2. 1996. p. 103-107.

PAGAND, P.; BLANCHETON, J.P.; LEMOALLE, J.; CASELLAS, C. The use of high rate algal ponds for the treatment of marine effluent from a recirculating fish rearing system. **Aquaculture Research**. 10. v.31. 2000. p. 729.

PARACER, S.; TARJAN, A.C.; HODGSON, L.M. Effective use of marine algal products in the management of plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**. 2. v.19. 1987. p.194-200.

PASCHOLATI,S.F.; RIZZO,A.F.; MARTINS,E.M.F.; GUZZO,S.D.; AZEVEDO,M.T.P.; Efeito de cianobactérias (algas azul-verdes) na germinação e formação de apressórios por *Colletotrichum graminicola* e *Hemileia vastatrix*. **Fitopatologia Brasileira**. v. 22. 1997. p. 293.

PEET,M.M.; BRAVO,A.; WALLACE,D.H.; OZBUN,J.L.; Photosynthesis, stomatal resistance, and enzyme activities in relation to yield of field-grow dry bean varieties. **Crop Science**. v.17. 1977. p.287-293.

PENSANDO,D.; CARAM,B. Screening of Marine Algae from the French Mediterranean Coast for Antibacterial and Antifungal Activity. **Botanica Marina**. v. 27. 1984. p. 381-386.

PICININI, E.C.; FERNANDES, J.M. Controle químico da mancha angular e da antracnose do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**. 25(1), p92-94. 2000.

PRIMAVESI,A.M. **Manejo ecológico de pragas e doenças: técnicas alternativas para produção agropecuária e defesa do meio-ambiente**. São Paulo. Nobel, 1988. p.137.

PUPPO, D. Monitoramento e previsão de impactos ambientais decorrentes da maricultura. **Oficina de trabalho potencial biotecnológico das macroalgas marinhas**. Angra dos Reis – RJ. 2005. p.3.

QUEMENER, B.; LAHAYE, M.; BOBIN-DUBIGEON, C. Sugar determination in ulvans by a chemical-enzymatic method coupled to high performance anion exchange chromatography. **Journal of Applied Phycology**. 9. 1997. p.179 -188.

RAHMAN,A.U.; CHOUDHARY,M.I.; MAJEED,A.; SHABBIR,M.; GHANI,U.; SHAMEEL,M. A succinylanthranilic acid ester and other bioactive constituents of *Jolyana laminarioides*. **Phytochemistry**,46. v.7. 1997. p.1215-1218.

RAVA, C.A.; MOLINA, J.; KAUFFMAN, M.; BRIONES, I. Determinacion de Razas Fisiologicas de *Colletotrichum Lindemuthianum* en Nicaragua. **Fitopatologia Brasileira**. v.18. 1993. p.388-391.

RAVA, C.A.; PURCHIO, A.F.; SARTORATO, A. Caracterização de patótipos de *Colletotrichum Lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. **Fitopatologia Brasileira**. 19. v.2. 1994. p. 167-172.

RAVA, C.A. & SARTORATO, A. Antracnose In: SARTORATO, A & RAVA, C.A. **Principais doenças do feijão comum e seu controle**. EMBRAPA-SPI, Brasília, DF, 1994. p.17-39.

RAVA, C.A. Efficiency of fungicides to control anthracnose and angular leaf spot in common beans. **Summa Phytopathologica**. 28. v.1. 2002. p.65-69.

REIS, R.P. Estudos sobre maricultura, produção de carragenana e crescimento de algas de interesse comercial no estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Oficina de trabalho potencial biotecnológico das macroalgas marinhas**. Angra dos Reis – RJ. 2005. p.24.

ROGERS, S.O. & BENDICH, A.J. Extraction of DNA from plant tissues. In: GELVIN, S. & SCHILPEROORT, R.A. **Plant Molecular Biology Manual A6**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 1988. pp. 1-10.

ROMANOS, M.T.V. Potencial antiviral de Macroalgas marinhas. **Oficina de trabalho potencial biotecnológico das macroalgas marinhas**. Angra dos Reis – RJ. 2005. p.15.

RUSSO, R.O.; BERLYN, G.P. Vitamin-Humic-Algal Root Biostimulant Increases Yield of Green Bean. **HortScience**. 27. v.7. 1992. p.847.

SANT'ANA, P.J.P. **A Bioprospecção no Brasil**. Brasília. 2002. p 220.

SASTRY, V.M.V.S. & RAO, G.R.K. Antibacterial substances from marine algae: successive extraction using benzene, chloroform and methanol. **Botanica Marina**. v.37. 1994. p.357-360.

SCHWARTZ, H.F.; Antracnose. In: Hall, R. ed. **Compendium of Bean Diseases**. St. Paul, The American Phytopathological Society. 1991. p.16-17.

SELVIN, J. & LIPTON, A.P. Biopotentials of *Ulva fasciata* and *Hypnea musciformis* collected from the peninsular Coast of India. **Journal of Marine Science and Technology**. 1. v.12. 2004. p. 1 - 6.

SILVA, C.A.F.; Feijão. In: **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina, 2002-2003**. Instituto CEPA/SC. Florianópolis, SC. 2003. p.49-61.

STADNIK, M.J.; BETTIOL, W.; SAITO, M.L. Bioprospecting for plant and fungus extracts with systemic effect to control the cucumber powdery mildew. **Journal of plant disease and protection**. 110. v.4. 2003. p.383- 393.

STADNIK, M.J. Potencial biotecnológico de algas para uso agrícola. **Oficina de trabalho potencial biotecnológico das macroalgas marinhas**. Angra dos Reis – RJ. 2005. p.13.

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**. 57, 2000. p.25–34.

STONE, L.F.; SARTORATO, A. **O cultivo de feijão: recomendações técnicas**. Brasília: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão. 1994. p.83.

TAFFAREL, A.D.; REISSMANN, C.B. Influência do extrato de lentilha d'água (*Lemna minor*) no desenvolvimento de alface (*Lactuca sativa* L.) em casa-de-vegetação. **IV Seminário do Projeto Interdisciplinar sobre Eutrofização de Águas de Abastecimento Público na Bacia do Altíssimo Iguaçu, Curitiba-PR**. 18 e 19 de novembro de 2003.

TALAMINI, V.; PAULERT, R.; BORSATO, L.C.; STADNIK, M.J.; SMÂNIA JUNIOR, A. Controle da antracnose do feijoeiro pelo extrato da alga marinha *Ulva fasciata*. **Summa Phytopathologica**. v.31 (suplemento). p.23. 2005. (resumo em congresso).

TALAMINI, V.; SOUZA, E.A.; POZZA, E.A.; CARRIJO, F.R.F.; ISHIKAWA, F.H.; SILVA, K.J.; OLIVEIRA, F.A. Identificação de raças patogênicas de *Colletotrichum lindemuthianum* a partir de isolados provenientes de regiões produtoras de feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**. 1. v.30. 2004. p.371-375.

TALAMINI, V. & STADNIK, M.J. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. p.45-62. In: STADNIK, M.J. & TALAMINI, V. **Manejo Ecológico de Doenças de Plantas**. Florianópolis, SC: CCA/UFSC. 2004. p.293.

TALAMINI, V.; SOUZA, E.A.; POZZA, E.A.; FERNANDES, F.R.; ISHIKAWA, F.K.; Identificação de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* de regiões produtoras de feijoeiro comum em Minas Gerais. In: VII CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2002, Viçosa. **Anais do VII Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão**. 2002. p. 187-189.

TALAMINI, V.; VICENTE, E.C. & STADNIK, M.J. Eficiência de extratos vegetais no controle de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Summa Phytopathologica**. 30. v.1. 2004. p.79.

TAMAYO, P.J. **Manejo y Control de las Enfermedades del Frijol Voluble (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Boletín Técnico. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA). Regional No. 4, Centro de Investigación "La Selva" Rionegro, Antioquia, Colombia. 1995. p.40.

TAVARES, F.A. Eficiência da *Lemna* sp. no tratamento de efluentes de suinocultura e sua utilização como fonte alternativa de alimento para tilápias. Dissertação de mestrado. UFSC, PPGA. Florianópolis, 2004.

TEPPER, C.; ALBERT, F.G.; ANDERSON, A.J, Differential mRNA accumulation in three cultivars of bean in response to elicitors from *Colletotrichum lindemuthianum*. *Physiology Molecular Plant Pathology*. v. 34. 1989. p. 85-98.

VALE, F.X.R.; COSTA, H.; ZAMBOLIM, L. Feijão Comum – Doenças da parte aérea causadas por fungos. In: VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. **Controle de Doenças de Plantas: grandes culturas**. Viçosa, MG. 1997. p. 335-340.

VECHIATO, M.R.; CASTRO, J.L.; ISHIMURA, I.; SABINO, J.; MENTEN, J.O.M.; Antracnose do feijoeiro: correlação entre severidade em vagens e a incidência do patógeno nas sementes. **Fitopatologia Brasileira**. v. 2. 1997. p. 159.

VLACHOS, V.; CRITCHLEY, A.T.; HOLY, A. Antimicrobial activity of extracts from selected southern African marine macroalgae. **South African Journal of Science**. 93. v.7. 1997. p.328-332.

WASHINGTON, W.S.; ENGLEITNER, S.; BOONTJES, G.; SHANMUGANATHAN, N. Effect of fungicides, seaweed extracts, tea tree oil, and fungal agents on fruit rot and yield in strawberry. **Australian Journal of Experimental Agriculture**. 39. v.4, 1999. p.487-494.

ZAUMEYER, W.J. & THOMAS, H.R. **A monographic study of bean diseases and methods for their control**. Washington. USDA, 1957. p. 5-15.

ZAVODNIK, N. Seasonal variations in the rate of photosynthetic activity and chemical composition of the littoral seaweeds *Ulva rigida* and *Porphyra leucosticta* from the North Adriatic. **Botanica Marina**. 30, p. 71-82, 1987.

ZEFERINO, S.A.D.B. & STADNIK, M.J. Extratos de algas marinhas no controle de Oídio (*Erysiphe polygoni*) do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*). **Summa Phytopatologica**, 30. v.1. 2004. p.83.

ZEMKE-WHITE, W.L. & OHNO, M. World seaweed utilisation: An end-of-century summary. **Journal of Applied Phycology**. 1999. p369-376.

ZHANG, X.Z.; ERVIN, E.H. Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping bentgrass leaf cytokinins and drought resistance. **Crop Science**. 44. v.5. 2004. p.1737-1745.

7. ANEXOS

Tabela A1. Efeito dos extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas sobre o IVCM (Índice de Velocidade de Crescimento Micelial), a porcentagem de germinação de conídios e o padrão de germinação conidial (PGC) de *Colletotrichum lindemuthianum*.

Espécies testadas	IVCM	germinação	PGC
<i>Acanthophora specifera</i>	3,12k	21,25f	2
<i>Bostrychia sp.</i>	3,84h	8,27f*	2 e 3
<i>Bryothamnion triquetrum</i>	3,25k	91,5f*	2
<i>Bryothamnion seaforthii</i>	1,82h*	nd	nd
<i>Centroceras clavulatum</i>	3,23k	28,03h*	2
<i>Cheilosporum sagittatum</i>	3,38q	53,82f	2
<i>Codium isthmocladum</i>	1,42k*	100f*	4
<i>Codium sp.</i>	2,52q*	54,21h*	2
<i>Enteromorpha sp.</i>	4,05q*	48,15h	2
<i>Enteromorpha lingulata</i>	3,18h	55,35f*	2
<i>Gracilaria tepocensis</i>	3,35f	62,18h*	2
<i>Hypnea spinella</i>	1,11q*	64,4h*	2
<i>Lemna sp.</i>	3,33i	0i*	1
<i>Lithophyllum sp.</i>	2,95j*	21,49h*	2
<i>Petalonia sp.</i>	1,66p*	74,25f*	2 e 3
<i>Sargassum stenophyllum</i>	3,75f	0,25f*	1
<i>Spartina juncea</i>	3,9j*	41,25h*	2
<i>Ulva fasciata</i>	1,82p*	63,25i*	2
<i>Ulva lactuca</i>	1,92f*	53*f	2
Testemunha			2
Testemunha f	3,55	27,95	
Testemunha h	3,67	85,25	
Testemunha i	3,65	14,5	
Testemunha j	1,92		
Testemunha k	3,05		
Testemunha p	2,95		
Testemunha q	3,09		
coeficiente de variação (%)	7 a 20	21 a 42	22 e 42

* indica diferença significativa entre o tratamento e a testemunha, segundo análise de variância em teste (Tukey, $P \leq 0,05$).

nd valor não determinado pela insuficiência de alga coletada.

Tabela A2. Efeito de extratos etanólicos de macroalgas marinhas e plantas aquáticas na severidade de antracnose do feijoeiro sob efeito local², sob efeito residual³ e sob efeito sistêmico⁴ em pulverizações preventivas.

Espécies testadas	tratamento local		tratamento residual		tratamento sistêmico	
	5 d.a.i.	11 d.a.i.	5 d.a.i.	11 d.a.i.	5 d.a.i.	11 d.a.i.
<i>Acanthophora specifera</i>	4,6h*	7,53h*	6,93h	7,66h	6,66f*	5,3f
<i>Bostrychia</i> sp.	6,3h	8h	7,06h	7,73h	5,1f	3,8f
<i>Bryothamnion triquetrum</i>	nd	nd	6,26h	7,79h	5,26f	4,2f
<i>Bryothamnion seaforthii</i>	5,06h*	7,79h	nd	nd	nd	nd
<i>Centroceras clavulatum</i>	7,06f	8,27f	6,73f	7,86f	1,5h	4,29h
<i>Cheilosporum sagittatum</i>	6,53f	8,46f	6,19f	7,13f	3,22h	2,42h
<i>Codium isthmocladum</i>	4,2h*	8,13h	5,96h	7,46h	6,4f*	4,12f
<i>Codium</i> sp.	5,96h	7,3h	6,06h	7,66h	4,25f	3,30f
<i>Enteromorpha</i> sp.	6,86f	8,53f	5,86f*	6,33f	1,52h	2,22h
<i>Enteromorpha lingulata</i>	5h*	6,76h	5,66h	7,19h	4,5f	4,32f
<i>Gracilaria tepocensis</i>	7,39f	8,86f	6,93f	7,99f	7,1h*	5,66h
<i>Hypnea spinella</i>	7f	8,6f	6,33f	7,26f	1,53h	1,54h
<i>Lemna</i> sp.	6,66f	7,13f	5,59f*	6,46f	3,13h	3,27h
<i>Lithophyllum</i> sp.	5,7h	7,96h	6,53f	7,23f	2,05h	3,02h
<i>Petalonia</i> sp.	7f	8,86f	5h	6,86h	5,93f*	2,16f
<i>Sargassum stenophyllum</i>	4,86h*	7,33h	5,86h	6,33h	1,92f	2,9f
<i>Spartina juncea</i>	7,13f	8,86f	7,46f	7,33f	5,06h*	4,26h
<i>Ulva fasciata</i>	6,26f	8,26f	4,86f*	5,79f	2,13h	2,28h
<i>Ulva lactuca</i>	5,85h	8,1h	6,13h	6,79h	4,9f	1f
Testemunha						
Testemunha f	7,46	7,46	6,39	7,13	4,13	3
Testemunha h	6,06	7,33	6,33	7,53	2,14	2,88
Testemunha i					2,83	4,85
coeficiente de variação (%)	8 a 17	7 a 11	14 a 16	15 a 18	25 a 51	61 a 83

² Inoculado 4 horas após tratamento, 1º avaliação a 5 d.a.i. (dias após inoculação) e 2º avaliação a 11 d.a.i..

³ Inoculado 7 dias após tratamento, 1º avaliação a 5 d.a.i. e 2º avaliação a 11 d.a.i..

⁴ Inoculado 7 dias após tratamento, 1º avaliação em trifólio não tratado a 5 d.a.i. e 2º avaliação em trifólio não tratado a 11 d.a.i..

* indica diferença significativa entre o tratamento e a testemunha, segundo análise de variância em teste (Tukey, $P \leq 0,05$).

nd valor não determinado pela insuficiência de alga coletada.

Tabela A3. Coeficiente de correlação e significância ($P \leq 0,05$) entre variáveis experimentais considerando todos tratamentos. Legenda: avaliação do efeito local 5 d.a.i. (L1), avaliação do efeito local 11 d.a.i. (L2), avaliação do efeito residual 5 d.a.i. (R1), avaliação do efeito residual 11 d.a.i. (R2), avaliação do efeito sistêmico 5 d.a.i. (S1), avaliação do efeito sistêmico 11 d.a.i. (S2), e Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), germinação de conídios (GER) e padrão germinativo de conídios (PGR) de *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliadas em todos os tratamentos com extratos etanólicos.

IVCM	GER	PGR	L1	L2	R1	R2	S1	S2
IVCM	-,4015 p=,088	-,2708 p=,262	,2454 p=,311	,1131 p=,645	,4972 p=,030	,3135 p=,191	,3047 p=,205	,3904 p=,098
GER		,4793 p=,038	-,4291 p=,067	,1431 p=,559	-,5205 p=,022	-,3321 p=,165	,0140 p=,955	-,1357 p=,580
		PGR	-,0977 p=,691	,3861 p=,102	,0405 p=,869	,1968 p=,419	,2931 p=,223	,2110 p=,386
			L1	,3932 p=,096	,2853 p=,236	,2925 p=,224	,1925 p=,430	-,1275 p=,603
			L2		,2132 p=,381	,2714 p=,261	,5240 p=,021	,0078 p=,975
					R1	,8108 p=,000	,5199 p=,023	,6320 p=,004
						R2	,5697 p=,011	,6872 p=,001
							S1	,6273 P=,000