

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DIFERENCIADORAS DO
MÍLDIO DA ALFACE A NEMATÓIDES DE GALHA**

**Roberta Luiza Vidal
Engenheira Agrônoma**

2018

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DIFERENCIADORAS DO
MÍLDIO DA ALFACE A NEMATÓIDES DE GALHA**

Roberta Luiza Vidal

Orientadora: Profa. Dra. Leila Trevisan Braz

Coorientador: Prof. Dr. Pedro Luiz Martins Soares

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

2018

V649r Vidal, Roberta Luiza
Resistência de cultivares diferenciadoras do míldio da alface a
nematoides de galha / Roberta Luiza Vidal. -- Jaboticabal, 2018
iii, 41 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018
Orientadora: Leila Trevisan Braz
Coorientador: Pedro Luiz Martins Soares
Banca examinadora: Vanessa dos Santos Paes-Takahashi, Walter
Maldonado Junior
Bibliografia

1. *Bremia lactuca*. 2. Genes de resistência. 3. *Lactuca sativa*. 4.
Melhoramento. 5. *Meloidogyne* spp. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade
de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.52:635.52

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DIFERENCIADORAS DO MÍLDIO DA ALFACE A NEMATOIDES DE GALHA

AUTORA: ROBERTA LUIZA VIDAL

ORIENTADORA: LEILA TREVISAN BRAZ

COORIENTADOR: PEDRO LUIZ MARTINS SOARES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. LEILA TREVISAN BRAZ

Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Pesquisadora Dra VANESSA DOS SANTOS PAES-TAKAHASHI

Engenheira Agrônoma / Consultora Independente em Nematologia Agrícola / Ribeirão Preto-SP

Pós-doutorando WALTER MALDONADO JUNIOR

Departamento de Ciências Exatas / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 16 de janeiro de 2018

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

ROBERTA LUIZA VIDAL - nascida em 25 de julho de 1991, na cidade de Foz do Iguaçu - Paraná. Filha de José Bento Vidal Filho e Elza Cecília Holler Ferreira, formou-se em agronomia pela Universidade Estadual de Maringá em fevereiro de 2015. Durante a graduação participou de atividades de pesquisa envolvendo a cultura do milho, junto ao grupo de pesquisa coordenado pelo Prof. Dr. Carlos Alberto Scapim. Em 2015, realizou estágio curricular na Embrapa Uva e Vinho, onde participou de atividades ligadas ao melhoramento genético da uva, sob orientação da pesquisadora Dra. Patrícia Silva Ritschel. Ingressou no curso de mestrado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista, Câmpus Jaboticabal-SP, em 2016. Foi bolsista CAPES, atuando principalmente na área de melhoramento genético para resistência a doenças na cultura da alface.

“– Mas de que serve uma vela que não ilumina? – É uma lição – Armen explicou –, a última lição que temos que aprender antes de colocar nossa corrente de mestre. A vela de vidro representa a verdade e a aprendizagem, coisas raras, belas e frágeis. Tem a forma de uma vela para nos lembrar que o mestre deve iluminar o lugar onde presta serviço, e é afiada para nos lembrar que o conhecimento pode ser perigoso. Os sábios podem se tornar arrogantes com sua sabedoria, mas um mestre deve permanecer humilde. A vela de vidro também nos lembra disso. Mesmo depois de ter proferido os votos, colocado a corrente e partido para servir, um mestre recordará a escuridão de sua vigília e se lembrará de que nada do que tentou conseguiu fazer com que a vela acendesse... pois, mesmo com o conhecimento, algumas coisas não são possíveis.”

(George R. R. Martin, 2004)

DEDICO

Aos meus pais, Elza Cecília Holler Ferreira e José Bento Vidal Filho, por todo amor e incentivo que recebi durante toda a vida.

Aos doutores, Leila Trevisan Braz e Pedro Luiz Martins Soares, por toda orientação e ensinamentos que permitiram a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Elza Cecília Holler Ferreira e José Bento Vidal Filho, por serem minha maior certeza nesta vida.

Aos meus irmãos, José Bento Vidal Neto, Pedro Vinícius Ferreira Vidal e João Victor Helbling Vidal, pelas pessoas maravilhosas que são, cada um a sua maneira, sendo meus exemplos em muitas situações.

A toda minha família, por todo amor e carinho. Em especial a minha avó, Elza Holler Ferreira, por ser o maior exemplo de união que conheço.

A família que ganhei em Jaboticabal, Henriette Moranza e Carla Constanza Manganelli, por todo apoio e carinho compartilhados ao longo desses dois anos de convívio diário.

Ao meu namorado, Renato Silva Soares, por toda paciência, companheirismo e amor recebidos, por ser um exemplo de dedicação e por ter dividido comigo esta caminhada.

As amigas feitas em Jaboticabal, Bruna Kobayashi e Mariana Rodrigues, por todo apoio e bons momentos compartilhados e por serem presentes em minha vida.

Ao programa de pós-graduação em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) da UNESP/FCAV, pela oportunidade de realização do curso.

A CAPES, pela concessão da bolsa.

A minha orientadora, Profa. Dra. Leila Trevisan Braz, por toda orientação e ensinamentos transmitidos e, também, pelo exemplo de pessoa a ser seguido.

Ao Núcleo de Estudos em Olericultura e Melhoramento, Carol, Renato, Lucas, Bruna, Edicleide, Carlos, Renan, Larissa, Aline, Heloíse e Natália, pela ajuda e companheirismo.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Pedro Luiz Martins Soares, por todo conhecimento transmitido e oportunidades fornecidas.

A toda equipe do LabNema, Rivanildo, André, Valmir, Suelen e Erick, por toda ajuda e ensinamentos transmitidos. Em especial, Lúcio e Gabi, pelos bons momentos de trabalho e convívio e pelas boas pessoas que são.

Aos funcionários do Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais, Cláudio, Sílvio, Inauro e Reinaldo. Em especial, Inauro, por nunca medir esforços em ajudar a todos.

Aos membros do Exame Geral de Qualificação, Dr. Bruno Flávio Figueiredo Barbosa e Profa. Dra. Rita de Cássia Panizzi, por contribuírem para a melhoria do artigo.

Aos membros da banca examinadora: Profa. Dra. Leila Trevisan Braz, Prof. Dr. Walter Maldonado Júnior e Dra. Vanessa dos Santos Paes-Takahashi, pela disponibilidade em participar da banca e pela contribuição na melhoria do presente trabalho.

A todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ii
ABSTRACT	iii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 A cultura da alface.....	3
2.2 O míldio da alface	4
2.3 Nematoides de galha (<i>Meloidogyne</i> spp.).....	6
2.3.1 Biologia.....	7
2.3.2 Controle de <i>Meloidogyne</i> spp. na cultura da alface	9
2.3.2.1 Controle preventivo	9
2.3.2.2 Controle cultural	10
2.3.2.3 Controle químico	11
2.3.2.4 Controle biológico.....	11
2.3.2.5 Controle genético.....	11
2.3.2.6 Mecanismos e fontes de resistência a <i>Meloidogyne</i> spp na cultura da alface.....	13
3 MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 Local de condução do experimento.....	14
3.2 Genótipos avaliados.....	14
3.3 Delineamento experimental.....	14
3.4 Obtenção, identificação e multiplicação de <i>Meloidogyne</i> spp.	15
3.5 Produção de mudas, preparação do inóculo, transplante e inoculação	15
3.6 Extração dos nematoides e avaliação da resposta das plantas aos mesmos	16
3.7 Análises estatísticas.....	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5 CONCLUSÃO	23
6 REFERÊNCIAS	24

RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DIFERENCIADORAS DO MÍLDIO DA ALFACE A NEMATOIDES DE GALHA

RESUMO – Devido ao potencial danoso e existência de inúmeras raças de míldio da alface (*Bremia lactucae* Regel), vários países realizam a identificação e monitoramento destas raças através do uso de cultivares diferenciadoras de alface. A identificação de resistência a outras doenças importantes nestas cultivares seria de grande valia para o melhoramento da alface, permitindo a seleção simultânea para doenças. Dentre os patógenos de solo, destacam-se os nematoides de galha (*Meloidogyne* spp.) por seus danos e dificuldade de controle. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a resposta das cultivares diferenciadoras de míldio (C-Set) à *M. javanica* e *M. incognita*. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições e população inicial de 1.000 ovos e juvenis. As avaliações foram realizadas pelos critérios fator de reprodução e índice de reprodução, 75 dias após a inoculação. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Todos as cultivares são suscetíveis a *M. incognita*. As cultivares Argelès, Kibrille, Balesta, Colorado, Design, Bartoli e NunDm15 são classificados como resistentes a *M. javanica* pelo fator de reprodução e podem ser explorados para seleção simultânea ao míldio e a esta espécie de nematoide.

PALAVRAS-CHAVE: *Bremia lactuca*, genes de resistência, *Lactuca sativa*, melhoramento, *Meloidogyne* spp.

RESISTANCE OF LETTUCE DOWNY MILDEW'S DIFFERENTIAL CULTIVARS TO ROOT-KNOT NEMATODES

ABSTRACT – Due to the harmful potential and existence of numerous races of lettuce downy mildew (*Bremia lactucae* Regel), several countries perform the identification and monitoring of these races through the use of differential lettuce cultivars. The identification of resistance to other important diseases in these cultivars would be of great value for the lettuce's breeding, allowing the simultaneous selection for diseases. Among the soil pathogens, the most important are the root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) due to their damage and difficulty of control. In the present work it was evaluated the response of these differential cultivars (C-Set) to *M. javanica* and *M. incognita*. The experiment was conducted in a completely randomized design, with eight replications and initial population of 1.000 eggs and juveniles. The evaluations were performed by the criteria of reproduction factor and reproduction index, 75 days after inoculation. Data were submitted to analysis of variance and the means were compared by Scott-Knott test at 5% probability. All cultivars are susceptible to *M. incognita*. The cultivars Argelès, Kibrille, Balesta, Colorado, Design, Bartoli and NunDm15 are classified as resistant to *M. javanica* by the reproduction factor and can be exploited for simultaneous selection to mildew and this species of nematode.

KEYWORDS: *Bremia lactuca*, resistance genes, *Lactuca sativa*, breeding, *Meloidogyne* spp.

1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é considerada uma das hortaliças mais populares mundialmente. Entre os patógenos que possuem potencial para afetar sua produção destacam-se o míldio da alface, causado pelo oomiceto *Bremia lactucae* Regel, e os nematoides de galha (*Meloidogyne* spp.).

O míldio da alface é considerado a principal doença que acomete a cultura a nível mundial (MICHELMORE; WONG, 2008; PARRA et al., 2016). Devido à sua alta variabilidade genética, *B. lactucae* apresenta várias raças fisiológicas distintas com diferentes níveis de patogenicidade, o que dificulta seu controle via resistência genética. A identificação das diferentes raças é feita através da inoculação em cultivares de alface diferenciadoras que possuem diferentes genes/fatores de resistência ao míldio. A utilização destas cultivares no sistema de códigos denominado Códigos Sextet's é feito em diversos países com intuito de identificar e monitorar as raças existentes em cada região produtora, indicando os genes/fatores de resistência que deverão ser incorporados nas cultivares comerciais de acordo com a raça ocorrente na região. Por serem materiais utilizados em programas de melhoramento de diversos países produtores de alface, a identificação de resistência nestas cultivares a outros patógenos importantes para a cultura mostra-se promissora, enriquecendo os programas de melhoramento para resistência a doenças.

Dentre os patógenos de solo, os nematoides de galha merecem destaque por seu alto potencial danoso e pela dificuldade de controle. De acordo com Ferreira et al. (2010), a utilização de práticas culturais ou nematicidas não são sempre eficientes, devido à alta intensidade populacional e ampla gama de hospedeiros que dificultam o controle desse fitoparasita. Também é importante destacar que devido ao ciclo relativamente curto da alface e seu tipo de consumo *in natura*, a utilização de produtos fitossanitários se torna ainda mais problemática nesta cultura. Desta forma, a identificação e utilização de materiais geneticamente resistentes se tornam de grande valia, possibilitando melhor qualidade do produto, sem acarretar incrementos no custo de produção causados pela aplicação de produtos fitossanitários.

As espécies de *Meloidogyne* são citados por Jones et al. (2013) como as de maior importância econômica em âmbito mundial. Segundo os autores a denominação popular desta espécie vem da formação de “galhas” no sistema radicular da planta hospedeira, que correspondem a células gigantes com função de nutrição.

Plantas de alface parasitadas por *Meloidogyne* spp. apresentam-se menos desenvolvidas, devido à densa formação das galhas no sistema radicular. As galhas obstruem a absorção e transporte de água e nutrientes, resultando em plantas amareladas, com cabeça de tamanho reduzido, pequeno volume foliar e sem valor para o consumo *in natura* (CHARCHAR; MOITA, 1996).

Devido à importância da resistência genética para o controle de nematoides de galha em alface, a procura por fontes de resistência aos mesmos em materiais já utilizados como progenitores com genes de resistência ao míldio, é de fato de grande valia para o melhoramento da cultura. Neste sentido, objetivou-se avaliar a resposta das cultivares diferenciadoras de míldio do código vigente a partir de 2016, C-set (IBEB, 2016), à infecção por *M. incognita* raça 3 e *M. javanica*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura da alface

A alface (*L. sativa* L.) é uma hortaliça folhosa amplamente consumida, sua preferência deve-se, principalmente, por suas propriedades refrescantes, alto conteúdo de vitaminas e baixo valor calórico (MOU, 2009). De acordo com Menezes, Santos e Schmidt (2001), esta apresenta-se como boa fonte de vitaminas (A1, B1, B2, B5 e C) e sais minerais (Ca, Fe, Mg, P, K e Na).

O gênero *Lactuca* L. pertence à família Asteraceae (Compositae) (KILIAN et al., 2009) e, segundo Lebeda et al. (2007), têm a região do mediterrâneo e do Oriente Médio como centro de biodiversidade, sendo esta região também o provável centro de domesticação da alface cultivada. Existem evidências de que a domesticação se deu a partir da espécie selvagem *L. serriola* (VRIES, 1997).

Trata-se de uma planta herbácea, com raiz pivotante, folhas simples, podendo ser lisas ou crespas, com vários tons de verde ou roxo, e flores amareladas. Comercialmente as cultivares são divididas nas seguintes categorias: repolhuda crespa (americana), repolhuda manteiga, solta lisa, solta crespa, mimosa e romana (FILGUEIRA, 2008). Apresenta ciclo curto, alta produtividade e adaptabilidade a diferentes condições edafoclimáticas, sendo cultivada em todos os continentes (Lebeda et al., 2007).

De acordo com Beharav, Ochoa e Michelmore (2014), o processo de domesticação de *L. sativa* resultou em variação genética limitada, o que contribuiu para a suscetibilidade da cultura a doenças e pragas. Esta suscetibilidade pode, muitas vezes, limitar a produção. De acordo com Filgueira (2008) são conhecidos aproximadamente 75 diferentes tipos de doenças que afetam a alface, devendo-se sempre que possível evitar a aplicação de produtos fitossanitários.

A aplicação de químicos tende a ser problemática na cultura, principalmente quando a alta incidência da doença leva a necessidade de várias aplicações, o que pode resultar em desrespeito ao período de carência dos produtos. Também, pelo consumo *in natura*, o excesso de químicos representa risco aos consumidores, além

da possibilidade de selecionar patógenos resistentes aos mesmos (XU, 2011; PETRŽELOVÁ et al., 2013).

Segundo Pavan et al. (2005) as principais doenças de ocorrência no Brasil são: viroses (mosaico – LMV e vira-cabeça), bacterioses, nematoses (*Meloidogyne* spp.) e doenças fúngicas (mancha de *Alternaria* e míldio).

2.2 O míldio da alface

Causado pelo oomiceto *Bremia lactucae* Regel, o míldio da alface é considerado a doença mais devastadora da cultura mundialmente, tanto em cultivo de campo como em cultivo protegido (MICHELMORE; WONG, 2008; PARRA et al., 2016). Trata-se de um patógeno biotrófico obrigatório que coloniza as células da planta hospedeira (MICHELMORE & INGRAM, 1982).

Os sintomas da doença iniciam-se com a formação de pequenas manchas angulares de coloração clara na fase superior das folhas, que evoluem para necrose com o passar do tempo e, sob condição de alta umidade, há a formação de frutificações brancas na face inferior das folhas (BEDENDO et al., 2011). Segundo Lopes et al. (2010) a severidade da doença varia de acordo com a época de plantio, o manejo da cultura e as cultivares utilizadas.

Condições ambientais de alta umidade relativa (> 90% UR) e temperaturas em torno de 15 °C favorecem a esporulação (SU et al., 2004). Tais condições são comuns no inverno, onde o patógeno torna-se grande problema para os produtores, visto que é nesta época que os preços são menores devido à maior oferta do produto.

O controle do míldio é feito geralmente com a utilização de cultivares resistentes e/ou aplicação de fungicidas (MICHELMORE; WONG, 2008). No entanto, o uso de fungicidas traz uma série de desvantagens em si, como a elevação do custo de produção, baixa eficiência, persistência de resíduos no produto e seleção de populações do patógeno resistentes aos fungicidas (PETRŽELOVÁ et al., 2013). Por outro lado, devido à grande variabilidade genética de *B. lactucae* e a existência de inúmeras raças fisiológicas, o controle genético se torna complexo.

De acordo com Farrara, Ilot e Michelmore (1987), a genética de resistência a doenças em culturas é estudada levando em consideração tanto o genótipo do hospedeiro como do patógeno. Os autores atribuem a resistência e suscetibilidade a interação entre os genes de ambos os organismos. Vários estudos confirmaram que a especificidade de relação entre cultivares de alface e *B. lactucae* pode ser compreendida pela interação gene-a-gene (MICHELMORE; INGRAM, 1982; NORWOOD et al. 1983; MICHELMORE et al. 1984).

A resistência de cultivares de alface ao míldio é baseada nesta interação, com genes Dm (Downy mildew) e/ou fatores de resistência de um lado e seus correspondentes fatores de avirulência do outro (JONES; DANGL, 2006). Desta forma, há uma ação de dominância dos genes/fatores de resistência sobre genes de avirulência correspondentes do patógeno, o que resulta em uma interação incompatível e ausência da doença. Segundo Lebeda, Pink e Mieslerova (2001), a resistência conferida pelos genes Dm geralmente é expressa por reação de hipersensibilidade.

Dada à importância da doença em diversos países e a confusão criada pelas diferentes raças fisiológicas existentes, em 1988 foi criado o “International Bremia Evaluation Board” – IBEB, que estabeleceu e padronizou um teste de diferenciação de raças para *B. lactucae* através da utilização de cultivares diferenciadoras (XU, 2011). Foram estabelecidos códigos denominados “Sextet” onde cada raça do patógeno corresponderia a uma codificação, dependendo de suas características de virulência e comportamento sobre as diferentes diferenciadoras (VAN ETTEKOVEN; VAN DER AREND, 1999; VAN TREUREN; VAN DER AREND; SCHUT, 2011).

Desde então, diversos países tem realizado trabalhos para identificar quais são as raças que ocorrem em seu território e quais os gene/fatores que conferem resistência a estas raças, entre eles Alemanha (LEBEDA; ZINKERNAGEL, 2003), Austrália (TRIMBOLI; NIEUWENHUIS, 2011), Bélgica, (VAN HESE et al., 2016), Brasil (MARIN, 2016), Estados Unidos da América (ILLOTT; DURGAN; MICHELMORE, 1987), França (MAISONNEUVE et al., 2011), Israel (SHARAF et al., 2007), México (MARTÍNEZ, 2008), Noruega (NORDSKOG et al., 2014) e República Tcheca (PETRŽELOVÁ et al., 2013). Segundo Grimault et al. (2015), apenas na Europa já foram relatadas 32 raças.

Os genes Dm e fatores de resistência conferem alto nível de resistência ao míldio, no entanto, eles são eficazes apenas temporariamente, até que novos fatores de virulência ocorram dentro da população do patógeno (PETRŽELOVÁ et al., 2013). Isto ocorre porque a alta pressão de seleção criada pela utilização de cultivares resistentes leva ao aparecimento de novas raças que possuem novos fatores de virulência, superando a resistência das cultivares. Lebeda et al. (2007) afirmam que o controle permanente do míldio da alface requer busca contínua por novos genes de resistência. Já Petrželová et al. (2013) recomendam que, a fim de diminuir a pressão de seleção causada pelo uso das cultivares resistentes e a consequente quebra de resistência, sejam utilizadas com frequência cultivares com diferentes genes Dm/fatores de resistência.

Apesar de toda a complexidade no controle do míldio via resistência genética, esta forma de controle continua a ser a melhor alternativa para o manejo deste patógeno. Principalmente quando se leva em consideração que qualquer dano às folhas acarreta em perda de valor do produto.

O crescimento da conscientização da população e o estreitamento da regularização governamental acerca da utilização de fungicidas fazem com que o melhoramento da alface para resistência ao míldio seja um dos principais objetivos dos programas atuais (VAN TREUREN et al., 2011; BARRIÈRE et al., 2014). Lebeda et al. (2014) relatam ainda que o melhoramento da alface para resistência ao míldio tem sido contínuo desde 1930.

2.3 Nematoides de galha (*Meloidogyne* spp.)

Em cultivos de hortaliças são diversos os problemas fitossanitários que podem afetar diferentes partes das plantas. Dentre os patógenos de solo, os nematoides são os mais observados (SANTOS; WILCKEN; GOTO, 2002). Segundo Anwar e Mckenry (2012), perdas causadas por fitonematoides em olerícolas são estimadas em 12,3% nos países desenvolvidos e 14,6% nos países em desenvolvimento. Inúmeras são as espécies associadas às olerícolas, sendo estas no geral muito suscetíveis à doença.

Os nematoides de galha, pertencentes ao gênero *Meloidogyne* (Goeldi, 1887), são considerados os maiores causadores de danos às culturas em nível mundial (JONES et al., 2013; SAUCET, 2016), levando a perdas estimadas em 10 bilhões de euros por ano (JONES et al., 2013).

São endoparasitas sedentários, amplamente distribuídos mundialmente e com ampla gama de hospedeiros, incluindo a grande maioria das hortaliças cultivadas (PINHEIRO et al., 2013). A denominação popular deste gênero vem da formação de “galhas” no sistema radicular da planta infectada, que correspondem a células gigantes com função de nutrição (JONES et al., 2013).

São relatadas cerca de 90 espécies pertencentes a este gênero (PERRY; MOENS; STARR, 2009), dentre as quais *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* (Neal) Chitwood e *M. hapla* Chitwood apresentam maior importância econômica no cultivo de hortaliças. No Brasil, os problemas em alface geralmente ocorrem devido à *M. incognita* e *M. javanica*, que são as espécies com maior distribuição nas regiões produtoras. Sua alta incidência é atribuída à capacidade de reprodução em regiões onde os solos apresentam temperaturas mais elevadas (PINHEIRO et al., 2013).

Raízes de alface infectadas se tornam mais curtas e com menor número de radículas, os sintomas na parte aérea incluem nanismo da planta, amarelecimento, cabeças menores e mais leves, com folhas mais soltas e murchas (PINHEIRO et al., 2013). Grande parte das cultivares de alface apresentam suscetibilidade aos nematoides. Nestas cultivares, estes organismos são capazes de se multiplicar sucessivamente por vários ciclos, atingindo níveis populacionais elevados, capazes de comprometer a produção de cultivos sucessivos. Além dos danos diretos causados pelos nematoides de galha, as raízes danificadas por esses fitoparasitas podem ser invadidas por fungos e bactérias, potencializando os danos à cultura (PINHEIRO et al., 2012; MOTA et al., 2013).

2.3.1 Biologia

O ciclo de vida dos nematoides de galha inicia-se pelos ovos, passando por quatro estádios juvenis até atingir a fase adulta. De ovo a ovo, leva-se entre três e quatro semanas no verão, podendo, no inverno, ser prolongado até sete semanas.

As fêmeas encontram-se parcial ou completamente imersas nas raízes e podem produzir de 100 até mais de 1.000 ovos cada (PINHEIRO et al., 2013). A Figura 1 apresenta as etapas do ciclo de vida de *Meloidogyne* spp.

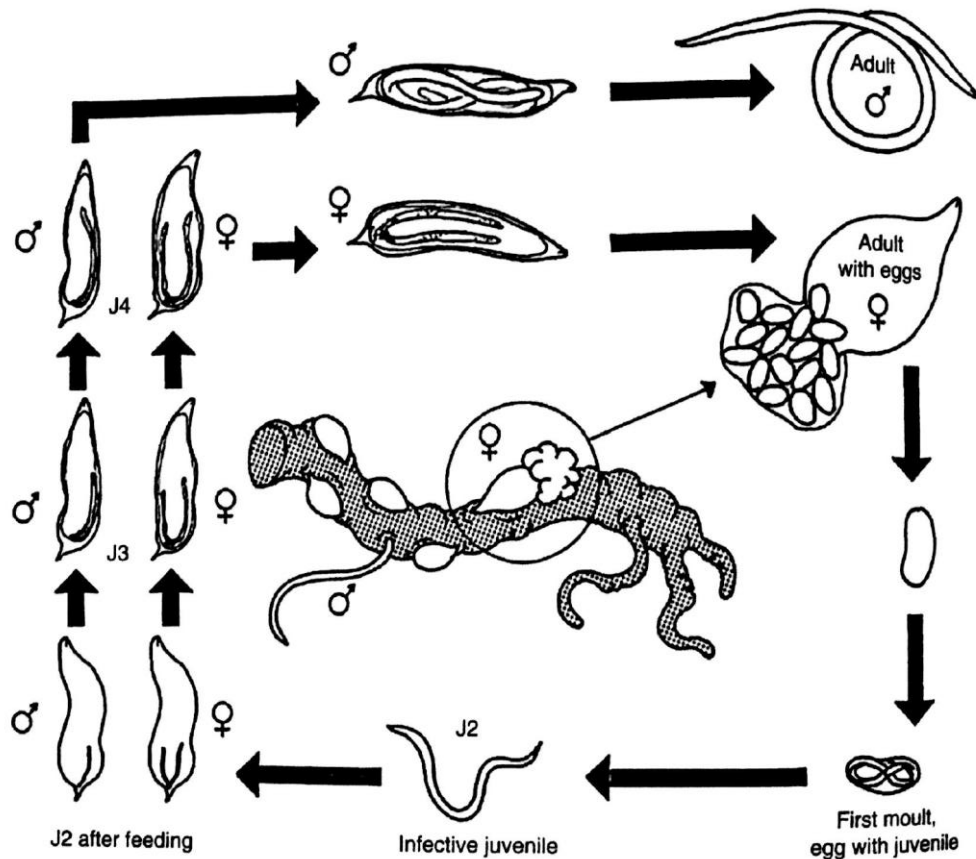


Figura 1 - Diagrama do ciclo de vida dos nematoides de galha. J2: Juvenil de segundo estágio; J3: Juvenil de terceiro estágio; J4: Juvenil de quarto estágio. Fonte: Karssen e Moens, 2006.

A fêmea coloca os ovos em uma massa gelatinosa, composta de matriz glicoproteica, que ela mesma produz. Esta matriz tem as funções de proteger e manter os ovos unidos, ficando aderida à fêmea. Dentro do ovo, forma-se o juvenil de primeiro estágio (J1), que evolui para juvenil de segundo estágio (J2), a fase infectiva do nematoide de galha, ainda antes de eclodir. A eclosão do ovo se dá apenas em condições ambientais favoráveis, como temperatura e umidade adequadas e presença de raízes em desenvolvimento. Uma vez no solo, os J2 são atraídos até as raízes pelos exsudados liberados por estas, começando a alimentar-se assim que a invadem, e migram até o local onde iniciarão seu sítio de alimentação permanente, nas células do protoxilema ou protofloema. Estas células sofrem um processo de diferenciação, sendo denominadas então de células

gigantes, e o nematoide passa a ser sedentário e assume formato de salsicha. Em condições ambientais favoráveis, os J2 continuam seu desenvolvimento para os estádios subsequentes, J3 e J4, quando passam a não possuir estilete funcional e tem sua alimentação suspensa até a forma adulta. No final do estágio J4, ocorre a diferenciação entre machos e fêmeas e, atingindo a forma adulta, o ciclo se reinicia (PERRY; MOENS; STARR, 2010).

M. incognita e *M. javanica* reproduzem-se obrigatoriamente por partenogênese mitótica, sendo os machos formados apenas em condições ambientais desfavoráveis, como quando a densidade populacional é demasiado elevada e há restrição de alimentos (CHITWOOD; PERRY, 2009).

De acordo com Pinheiro et al. (2012), as galhas correspondem a um aumento no número e tamanho das células próximas ao sítio infectado pelo nematoide, esta multiplicação ocorre como resposta da planta à infecção do patógeno.

2.3.2 Controle de *Meloidogyne* spp. na cultura da alface

Dada às dificuldades no controle de *Meloidogyne* spp., causadas principalmente por sua alta taxa reprodutiva e ampla gama de hospedeiros, o sucesso em seu controle deve ser buscado utilizando diferentes técnicas de maneira integrada (SOARES et al, 2017). Entre as medidas utilizadas, destacam-se o controle preventivo, cultural, químico, biológico e genético (PINHEIRO; PEREIRA, 2012).

2.3.2.1 Controle preventivo

A prevenção consiste em evitar a entrada e/ou disseminação de nematoides na área de produção, e é sempre a melhor forma de controle destes organismos. Como os nematoides se movem lentamente no solo, via água ou crescimento radicular, sua principal forma de entrada é através do homem, pela utilização de mudas, implementos agrícolas ou água, contaminados. Desta forma, cuidados como a lavagem dos equipamentos agrícolas para remoção de solo aderido, limpeza de botas e calçados antes de adentrar ambientes protegidos, utilização de mudas de

boa sanidade e água de irrigação de qualidade são medidas eficientes para evitar a disseminação do patógeno (PINHEIRO et al., 2013; SOARES et al., 2017).

2.3.2.2 Controle cultural

Incluem-se neste tipo de controle métodos como a rotação de cultura utilizando espécies não hospedeiras, o alqueive, adubação orgânica e a adubação verde com espécies antagônicas. Estes métodos apresentam como principal vantagem serem ambientalmente corretos e potencialmente bem sucedidos em limitar os danos causados por nematoides de galha (PINHEIRO; PEREIRA, 2012; MOREIRA et al., 2015).

De acordo com Pinheiro et al. (2013), o alqueiva consiste basicamente em manter o terreno limpo, sem a presença de culturas ou plantas invasoras que possam hospedar os nematoides, por período aproximado de três meses. Apresenta como principal desvantagem a interrupção da produção naquela área que, no caso de produtores de alface, geralmente é explorada de maneira intensiva ao longo do ano. Além disto, nos casos em que se utilizam gradagens e arações, há promoção da desestruturação e erosão do solo.

A rotação de culturas é prática bastante limitada quando consideramos o gênero *Meloidogyne*, por este apresentar ampla gama de hospedeiro e existência de raças fisiológicas, o que restringe as espécies que podem ser empregadas neste esquema. Quanto ao uso de plantas antagonistas, crotalárias (*Crotalaria spectabilis*), cravo-de-defunto (*Tagetes* spp.) e mucunas (*Mucuna* spp.) são indicadas, podendo ser utilizadas tanto como cobertura de solo quanto incorporadas na forma de adubo verde, melhorando também as características físico-químicas do solo. Já a matéria orgânica, além de também atuar como condicionadora, estimula o aumento da população de microrganismos do solo, incluindo inimigos naturais, e libera substâncias tóxicas aos nematoides durante sua decomposição (PINHEIRO et al., 2013).

2.3.2.3 Controle químico

Embora o controle químico seja geralmente eficiente na redução da população de nematoides em curto prazo, o mesmo não deve ser incentivado na cultura da alface devido ao ciclo curto e tipo de consumo *in natura*. Ademais, não existem nematicidas químicos registrados para esta cultura no Brasil (AGROFIT, 2017).

2.3.2.4 Controle biológico

O controle biológico vem destacando-se nos últimos anos como alternativa viável para o controle de nematoides e consiste na utilização de organismos vivos que possuam efeito antagônico sobre nematoides, reduzindo sua população (SOARES et al., 2017). De acordo com Bettiol & Morandi (2009), os mecanismos envolvidos podem ser: antibiose, predação, indução de resistência da planta hospedeira, produção de enzimas e toxinas, colonização sistêmica da planta hospedeira e competição por nutrientes e sítios de colonização.

Mais de 200 microrganismos são considerados inimigos naturais dos nematoides, tais como fungos, bactérias, nematoides predadores e ácaros (POINAR; JAHNSSON, 1988; KERRY, 1990). De acordo com Soares et al. (2017), destacam-se fungos e bactérias com maiores potenciais de exploração no controle biológico.

Atualmente no país, o nematicida biológico 'Nemat' é registrado para o controle de *M. incognita* na cultura da alface, sendo formulado a base do fungo *Paecilomyces lilacinus* (AGROFIT, 2017).

2.3.2.5 Controle genético

A resistência genética constitui-se em um dos pilares mais fortes no manejo integrado de nematoides. Vários autores mencionam o manejo genético como o método mais efetivo e ambientalmente correto no manejo desta doença, além de não ocasionar custos adicionais aos produtores (CASTAGNONE-SERENO, 2002;

PINHEIRO; PEREIRA, 2012; HUSSAIN; MUKHTAR; KAYANI, 2014; LIU et al., 2015).

Trudgill (1991) define como resistência a habilidade da planta hospedeira em reduzir ou impedir a reprodução dos nematoides. Muitos genes já foram identificados em diversas culturas conferindo resistência à *Meloidogyne* spp, sendo que grande parte deles está associado a reação de hipersensibilidade do hospedeiro (WILLIAMSON & HUSSEY, 1996).

A durabilidade dos genes de resistência a nematoides sedentários é, geralmente, muito alta em condições agrônomicas, devido às características biológicas destes patógenos (CASTAGNONE-SERENO, 2002).

Na cultura do tomateiro, o gene dominante denominado *Mi* é responsável pela resistência à *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. javanica*, expressando fenótipo de hipersensibilidade (WILLIAMSON, 1998). Por mais de 40 anos, este gene foi usado como fonte de resistência em cultivares comerciais de tomateiro em vários países e pode ser considerado um gene de resistência estável em termos de durabilidade (CASTAGNONE-SERENO, 2002). No entanto, populações de *M. incognita* capazes de sobrepor esta resistência foram relatadas (EDDAOUDI et al., 1997; KALOSHIAN et al., 1996).

As características biológicas dos nematoides de galha como reprodução assexuada, que reduz a variabilidade genética, e relativa baixa mobilidade, que contribui para a que a variabilidade existente não seja rapidamente distribuída, contribuem para que as fontes de resistência sejam duráveis (CASTAGNONE-SERENO, 2002). No entanto, não se recomenda que o uso de materiais resistentes seja o único método de controle empregado, pois poderia favorecer o aparecimento de populações capazes de sobrepor esta resistência, inutilizando o uso daquela cultivar no local. Ademais, o processo para introgressão de genes de resistência em cultivares comerciais é lento e oneroso, assim, medidas que visem garantir sua durabilidade são sempre recomendadas.

2.3.2.6 Mecanismos e fontes de resistência a *Meloidogyne* spp na cultura da alface

Vários mecanismos de resistência aos nematoides de galha já foram descritos, envolvendo barreiras mecânicas, fisiológicas e/ou bioquímicas da planta que impedem a invasão e/ou resultam em alterações morfológicas e fisiológicas em resposta à infecção (SILVA; FERRAZ; SANTOS, 1989).

Gomes et al. (2000) determinaram que a resistência expressa pela cultivar de alface Grand Rapids a *M. incognita* era determinada por um gene de ação aditiva, alta penetrância e expressividade variável. Os autores propuseram a denominação *Me* para este alelo.

Maluf et al. (2002), estudando a resistência de 'Grand Rapids' à *M. javanica* também constataram que esta resistência é atribuída a um único gene de ação aditiva, no entanto, ainda não se sabe se trata-se do alelo *Me* ou outro.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de condução do experimento

Os experimentos de avaliação da resistência dos genótipos foram conduzidos em casa de vegetação, no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP-FCAV), Câmpus de Jaboticabal, localizado a 21°14'37.5" sul e a 48°17'10.0" oeste, com altitude de 614 metros e com clima, segundo classificação de Koppen, do tipo Aw. A obtenção dos inóculos de *Meloidogyne* spp. e sua identificação foram feitas no Laboratório de Nematologia da mesma Universidade. A formação das mudas de alface foi realizada na Empresa Agrimonte, localizada na cidade de Monte Alto – SP.

3.2 Genótipos avaliados

Foram avaliados as 17 cultivares de *Lactuca* spp. pertencentes ao código diferenciador de raças de mildio vigente deste 2016, C-Set (IBEB, 2017), sendo os seguintes materiais: Green Towers, Odra, Dandie, R4T57 D, UC Dm 14, NunDm 15, CG Dm16, Colorado, FrRsal-1, Argelès, RYZ 2164, RYZ 910457, Bedford, Balesta, Bartoli, Design e Kibrille. Também foram avaliados o padrão de resistência 'Grand Rapids', o padrão de suscetibilidade 'Ariel' e o tomateiro 'Santa Cruz Kada' como testemunha de viabilidade do inóculo.

3.3 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições, parcelas compostas por um vaso de um litro contendo uma planta e disposto em esquema fatorial 2 x 20, sendo duas espécies de nematoide de galha e vinte cultivares.

3.4 Obtenção, identificação e multiplicação de *Meloidogyne* spp.

As subpopulações de *M. javanica* e *M. incognita* raça 3 foram obtidas, respectivamente, de raízes de tomateiro e algodoeiro da coleção de nematoides do Laboratório de Nematologia, Departamento de Fitossanidade, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP-FCAV) de Jaboticabal.

A identificação das espécies foi feita com base nos caracteres morfológicos do padrão perineal (TAYLOR; NETSCHER, 1974) e na morfologia da região labial dos machos (EISENBACH, 1981), utilizando microscópio fotônico, e também com base no fenótipo isoenzimático para esterase (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990), por meio do sistema de eletroforese vertical Mini Protean II da BIO-RAD.

Confirmada a identidade e pureza das subpopulações de cada espécie, elas foram inoculadas separadamente em plantas de tomateiro 'Santa Cruz Kada' e mantidas em vasos plásticos de 10 L, sob casa de vegetação, para multiplicação e manutenção do inóculo. Os vasos foram preenchidos por mistura de terra, areia e esterco, na proporção de 2:3:1, previamente autoclavada (120°C, 1 atm, 1 hora) para isentar a mistura de contaminações. Decorridos 90 dias da data da inoculação, os inóculos foram extraídos conforme metodologia proposta por Hussey e Barker (1973).

3.5 Produção de mudas, preparação do inóculo, transplântio e inoculação

As mudas de alface foram produzidas em parceria com a Empresa Agrimonte, localizada na cidade de Monte Alto – SP. Para tal, os genótipos foram semeados em bandejas de polietileno com 200 células, preenchidas com substrato Bioflora®, a base de fibra de coco e casca de arroz, e cobertas posteriormente com vermiculita. As mudas de tomateiro foram produzidas no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais, utilizando bandejas de poliestireno expandido de 128 células contendo substrato comercial Bioplant®, a base de fibra da casca de coco, e mantidas em casa de vegetação equipada com sistema de irrigação por aspersão.

Para preparação da suspensão de inoculação, o inóculo foi primeiramente extraído conforme a metodologia já mencionada no item 3.4, a população foi então

estimada com auxílio da câmara de Peters ao microscópio fotônico e, por fim, a suspensão foi diluída até se obter a concentração de 200 ovos e J2 por mL.

A inoculação foi realizada no ato do transplântio, quando cinco mL da suspensão contendo 200 ovos e J2/mL foram distribuídas no sistema radicular da muda, totalizando uma população inicial (P_i) de 1000 ovos e J2 por parcela. As mudas foram transplântadas para vasos plástico de 1L preenchidos com uma mistura de terra, areia e esterco na proporção 2:3:1, previamente autoclavada (120°C, 1 atm, 1 hora). O transplântio e inoculação ocorreram no dia 26-04-2017 para *M. incognita* e no dia 27-04-2017 para *M. javanica*.

3.6 Extração dos nematoides e avaliação da resposta das plantas aos mesmos

As avaliações dos experimentos ocorreram no dia 10-07-2017 para *M. incognita* e 11-07-2017 para *M. javanica*, 75 dias após o transplântio/inoculação. Nesta ocasião, as raízes foram separadas e acondicionadas em sacos plásticos identificados, sendo então cuidadosamente lavadas em bandejas com água para retirada do excesso da mistura, de modo a não remover as massas de ovos aderidas.

A resposta dos genótipos à infecção por nematoides de galha foi avaliada mediante dois critérios, o fator de reprodução (FR) e o índice de reprodução (IR), e considerou também o agrupamento estatístico de NTOJ. Desta forma, dentro de cada agrupamento estatístico, o tratamento com maior valor de NTOJ foi utilizado para definição das classes de FR e IR de todos os tratamento pertencentes a aquele agrupamento.

As raízes foram processadas de acordo com a técnica proposta por Hussey e Barker (1973) e as populações foram estimadas com auxílio de câmara de Peters ao microscópio fotônico para obtenção do número total de ovos e juvenis de segundo estágio (NTOJ), o que consistiu também na população final (P_f).

A partir da relação entre a população final (P_f) e a população inicial (P_i), determinou-se o fator de reprodução (FR) conforme a seguinte fórmula:

$$\text{Fator de reprodução (FR)} = \frac{\text{População final (Pf)}}{\text{População inicial (Pi)}}$$

Segundo o fator de reprodução, os genótipos foram classificados de acordo com Oostenbrink (1966) em plantas resistentes aos nematoides, com $FR < 1$, ou em plantas suscetíveis, com $FR \geq 1$.

O valor do índice de reprodução (IR) é calculado levando em consideração a testemunha suscetível, 'Ariel', como 100% em relação à reprodução dos nematoides obtidos nos genótipos de alfaca. Assim, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de reprodução (IR\%)} = \frac{\text{População final do genótipo avaliado}}{\text{População final da testemunha suscetível}} * 100$$

Com base no índice de reprodução (IR%) e de acordo com o critério estabelecido por Taylor (1967), o grau de resistência foi classificado como suscetível (S) quando - IR foi maior do que 50% do valor obtido para a testemunha suscetível; ligeiramente resistente (LR) – IR com 26-50%; moderadamente resistente (MoR) - IR com 11-25%; muito resistente (MR) - IR com 1 a 10%; altamente resistente (AR) - IR com menos de 1%, e imune (I) - IR igual a 0.

3.7 Análises estatísticas

Os dados obtidos da variável NTOJ foram transformados para $\log(x+5)$ e submetidos à análise de variância, e quando identificadas diferenças significativas pelo teste F, foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. A fim de facilitar a interpretação, nas tabelas foram apresentados os dados originais das médias transformadas. Para a análise estatística, utilizou-se o software AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO JÚNIOR, 2015).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As condições ambientais mostraram-se favoráveis ao desenvolvimento do experimento, uma vez que permitiram a reprodução do inóculo, o que pode ser constatado observando-se o alto valor do número total de ovos e juvenis de segundo estágio (NTOJ) da testemunha de viabilidade de inóculo, o tomateiro 'Santa Cruz Kada' (Tabela 1). Também se pode observar na Tabela 2, o alto valor do fator de reprodução para ambas as espécies de nematoides no tomateiro. A testemunha comercial suscetível, 'Ariel', também se mostrou com altos valores de NTOJ e FR.

Tabela 1. Análise de variância e teste de comparação de médias do número total de ovos e juvenis de segundo estágio (NTOJ) de espécies de nematoides de galha, de 17 cultivares diferenciadoras do míldio da alface (CD) e das testemunhas de resistência (Tr), suscetibilidade (Ts) e viabilidade do inóculo (Tv)⁽¹⁾.

CD e Testemunhas	NTOJ
Argelès	3.750 c
CG Dm16	5.250 c
Kibrille	5.375 c
Balesta	9.000 c
UC Dm14	9.375 b
Bedford	4.000 c
Odra	6.250 b
Colorado	6.375 c
RYZ 2164	6.750 b
Design	2.750 c
RYZ 910457	10.375 b
Dandie	5.500 b
R4T57 D	7.875 b
Bartoli	10.375 c
FrRSal-1	14.000 a
NunDm15	4.625 c
Green Towers	5.875 c
Ariel – Ts	20.375 a
Grand Rapids – Tr	1.375 c
Tomateiro 'Santa Cruz Kada' - Tv	60.750 a
Test F	10,48**
Nematoides (N)	
<i>Meloidogyne incognita</i> raça 3	14437,50 a
<i>Meloidogyne javanica</i>	5562,50 b
Teste F	201,36**
Interação (G x N)	6,77**
CV (%)	29,94

⁽¹⁾Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade. **Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 2. Desdobramento da interação entre as cultivares diferenciadoras de míldio da alface (C-Set), testemunha de resistência (Tr), testemunha de suscetibilidade (Ts) e testemunha de viabilidade do inóculo (Tv), e duas espécies de nematoides de galha (*Meloidogyne* spp.) para número total de ovos e juvenis de segundo estágio (NTOJ)⁽¹⁾, fator de reprodução (FR), índice de reprodução (IR) e resposta dos materiais (R).

Genótipos	<i>M. incognita</i> raça 3					<i>M. javanica</i>					Teste F
	NTOJ	FR	R ⁽²⁾⁽⁴⁾	IR	R ⁽³⁾⁽⁴⁾	NTOJ	FR	R ⁽²⁾⁽⁴⁾	IR	R ⁽³⁾⁽⁴⁾	
Argelès	6.750 bA	6,75	S	27,55	LR	750 cB	0,75	R	4,61	MR	9,54**
CG Dm16	8.250 aA	8,25	S	33,67	S	2.250 bB	2,25	S	13,84	LR	5,15*
Kibrille	10.250 aA	10,25	S	41,83	S	500 cB	0,50	R	3,07	MR	40,64**
Balesta	18.000 aA	18,00	S	73,47	S	0 cB	0,00	R	0,00	MR	57,15**
UC Dm14	14.750 aA	14,75	S	60,20	S	4.000 bB	4,00	S	24,61	LR	9,86**
Bedford	2.500 bA	2,50	S	10,20	LR	5.500 bA	5,50	S	33,84	LR	3,08 ^{ns}
Odra	9.000 aA	9,00	S	36,73	S	3.500 bB	3,50	S	21,54	LR	5,05*
Colorado	12.750 aA	12,75	S	52,04	S	0 cB	0,00	R	0,00	MR	53,60**
RYZ 2164	8.250 aA	8,25	S	33,67	S	5.250 bA	5,25	S	32,31	LR	1,64 ^{ns}
Design	4.750 bA	4,75	S	19,38	LR	750 cB	0,75	R	4,61	MR	17,12**
RYZ 910457	16.250 aA	16,25	S	66,32	S	4.500 bB	4,50	S	27,69	LR	6,90**
Dandie	7.750 aA	7,75	S	31,63	S	3.250 bA	3,25	S	20,00	LR	3,98*
R4T57 D	13.000 aA	13,00	S	53,06	S	2.750 bA	2,75	S	16,92	LR	1,92 ^{ns}
Bartoli	20.750 aA	20,75	S	84,69	S	0 cB	0,00	R	0,00	MR	60,77**
FrRSal-1	22.000 aA	22,00	S	89,79	S	6.000 aA	6,00	S	36,92	S	1,59 ^{ns}
NunDm15	8.750 aA	8,75	S	35,71	S	500 cB	0,50	R	3,07	MR	23,21**
Green Towers	10.500 aA	10,50	S	42,85	S	1.250 cB	1,25	S	7,69	MR	22,86**
Ariel – Ts	24.500 aA	24,50	S	100,00	S	16.250 aA	16,25	S	100,00	S	0,24 ^{ns}
Grand Rapids – Tr	2.250 bA	2,25	S	9,18	LR	500 cB	0,50	R	3,07	MR	5,67*
Santa Cruz Kada – Tv	67.750 aA	67,75	S	276,53	S	53.750 aA	53,75	S	330,77	S	0,07 ^{ns}
Teste F	3,39**					13,86**					

⁽¹⁾ Letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). ^{ns} Não Significativo. ** Significativo a 1% de probabilidade. * Significativo a 5% de probabilidade. ⁽²⁾ R = resistente, $FR < 1$; S = suscetível, $FR > 1$. ⁽³⁾ S = suscetível, $IR > 51\%$; LR = levemente resistente, $26\% < IR < 50\%$; MoR = moderadamente resistente, $11\% < IR < 25\%$; MR = muito resistente, $1\% < IR < 10\%$; AR = altamente resistente, $0 < IR < 1\%$; I = imune, $IR = 0$. ⁽⁴⁾ As classificações dos genótipos foram corrigidas baseando-se nos agrupamentos estatísticos de NTOJ, considerou-se o tratamento com maior valor de NTOJ para definição de classes dentro de cada agrupamento.

Houve interação significativa para a variável NTOJ pelo teste F a 1% de probabilidade (Tabela 1). Assim, procederam-se os desdobramentos da interação para as duas espécies de nematoides (Tabela 2).

De acordo com o fator de reprodução (FR), todas as cultivares foram consideradas suscetíveis à *M. incognita* raça 3, com $FR > 1$ (Tabela 2). Porém, quando se considera apenas o NTOJ, as cultivares Grand Rapids, Design, Bedford e Argelès foram capazes de reduzir a população do nematoide significativamente, mesmo que isto não seja reproduzido pelo FR. A cultivar de alface crespa Grand Rapids foi avaliada como resistente à *M. incognita* (CHARCHAR; MOITA, 1996; GOMES et al., 2000), tais divergências podem dever-se a diferenças na metodologia empregada. Os autores anteriormente citados avaliaram esta cultivar em condições bem diferentes da do presente trabalho, avaliando-as em campo ou bandejas de poliestireno expandido, além de diferentes populações iniciais e diferentes critérios de avaliação.

Quando avaliados pelo índice de reprodução (IR) e considerando o maior valor de NOTJ dentro de cada agrupamento estatístico para a definição da classe daquele agrupamento, 'Grand Rapids', 'Bedford', 'Design' e 'Argèles' foram consideradas como ligeiramente resistentes e o restante dos materiais foi avaliado como suscetíveis, por se encontrarem no mesmo agrupamento do tomateiro 'Santa Cruz Kada'.

Para *M. javanica*, segundo o FR (Tabela 2), as cultivares Argelès, Kibrille, Balesta, Colorado, Design, Bartoli, NunDm15 e Grand Rapids foram classificadas como resistentes. Levando em consideração que Green Towers não diferiu das anteriores, a mesma pode também ser considerada como resistente a esta espécie.

Considerando o IR (Tabela 2), as cultivares Balesta, Colorado, Bartoli, Argelès, Kibrille, Design, NunDm15, Green Towers e Grand Rapids foram classificados como muito resistentes a *M. javanica*; CG Dm16, UC Dm14, Bedford, RYZ 2164, RYZ 910457, Odra, Dandie e R4T57 D como ligeiramente resistente e FrRsal-1 e o tomateiro 'Santa Cruz Kada' como suscetíveis, utilizando o mesmo critério mencionado anteriormente.

Em trabalhos realizados por Wilcken et al. (2005) e Dias-Arieira et al. (2012), grande parte dos materiais foi classificada pelo FR como resistentes à *M. incognita*.

Tais divergências, como também constatadas por Dias-Arieira et al. (2012), podem ser resultantes de diferenças nas populações de nematoides utilizadas no trabalho ou em diferenças na metodologia de avaliação. Em ambos os trabalhos os materiais foram avaliados com população inicial maior, de 5.000 ovos e J2, e menor tempo de avaliação, 55-60 dias.

Khan e Ashraf (2006) avaliaram a patogenicidade de *M. incognita* em alface utilizando diferentes populações iniciais, entre 250 e 8.000 ovos e J2, e chegaram ao resultado de que com o aumento da população inicial diminui-se o FR. De fato, uma população inicial maior do que a que a raiz é capaz de absorver no início de seu desenvolvimento pode levar a um FR subestimado. Não há na literatura estudos que indiquem qual seria o melhor número para compor a população inicial em estudos com alface.

Com relação aos critérios de avaliação para resistência dos genótipos, o FR proposto por Oostenbrink (1966), por basear-se apenas na quantidade inicial e final de cada material, torna-se mais restritivo na classificação quanto à resistência, sendo que ou o material permitiu a reprodução do nematoide, sendo considerado suscetível, ou não houve reprodução da espécie de nematoides, classificando o genótipo com resistente. Desta forma, para seleção de materiais a serem introduzidos em programas de melhoramento, o FR torna-se mais apropriado, por ser mais específico.

O IR proposto por Taylor (1967), por basear-se em comparação com material suscetível, permite maior amplitude de classes (I, AR, MR, MoR, LR e S). Andrade-Júnior et al. (2016), utilizando o IR para avaliar clones de batata-doce, chegaram a conclusão que o mesmo não diferiu bem os materiais. No entanto, o material utilizado como testemunha suscetível foi o tomateiro 'Santa Clara', espécie muito mais suscetível ao nematoide, o que facilmente superestima a resistência das cultivares de batata-doce. Desta forma, o IR torna-se um índice mais confiável quando usado com testemunha suscetível da mesma espécie e, também, para avaliar materiais comerciais, que já estão disponíveis aos produtores.

Com relação aos genes de resistência ao míldio que cada material possui (Tabela 3) e a sua recomendação, as cultivares NunDm15 e Colorado podem vir a ser explorados por programas de melhoramento da alface na República Tcheca, que

tem recomendados os genes Dm 15 e Dm 18 para conferir resistência as raças que ocorrem neste país (PETRŽELOVÁ et al., 2013), para seleção simultânea à *M. javanica*. O gene Dm 18 também é um dos recomendados para conferir resistência as raças de míldio alemãs (LEBEDA; ZINKERNAGEL, 2003). Já para a Bélgica, a cultivar NunDm15 também poderá ser explorada (VAN HESE et al., 2016).

No Brasil, em trabalho realizado por Marin (2016), recomenda-se a utilização do FR-38, conferido por 'Argelès'. O autor recomenda também a utilização das cultivares Balesta e Bartoli, visto que estas não apresentaram suscetibilidade aos isolados avaliados, embora não possuam gene/fator ainda definido.

As cultivares Argelès, Kibrille, Balesta, Colorado, Design, Bartoli e NunDm15 podem vir a ser exploradas em programas de melhoramento da alface para conferir resistência à *M. javanica* e ao míldio da alface. Entretanto, estudos de herança da resistência à *M. javanica* destes materiais devem ser realizados, a fim de orientar a seleção nos programas de melhoramento. Também, as cultivares Argelès, Design e Bedford podem ser utilizadas como progenitores para conferir certa resistência à *M. incognita* raça 3, por serem consideradas como ligeiramente resistentes pelo índice de reprodução.

Não se excluindo a importância da resistência genética como um dos principais pilares no manejo integrado de nematoides, é importante frisar que a utilização de materiais resistentes por si só não é garantia de sucesso no controle deste fitopatógeno, uma vez que novas raças podem surgir suprimindo a resistência. Assim sendo, o controle dos fitonematoides deve ser feito sempre de maneira integrada, utilizando várias medidas que visem reduzir a população a níveis não prejudiciais.

Tabela 3. Conjunto de diferenciadoras ‘C-Set’ e seus genes/fatores de resistência ao míldio da alface⁽¹⁾.

Cultivares diferenciadoras	Gene/fator de resistência
Green Towers ⁽²⁾	-
Odra ⁽²⁾	-
Dandie	Dm 3
R4T57 D	Dm 4
UC Dm14	Dm 14
NunDm15	Dm 15
CG Dm16	Dm 16
Colorado	Dm 18
FrRSal-1	R 36 + R 37
Argelès	R 38
RYZ 2164	“Silvinas”
RYZ 910457	“Murai”
Bedford	Monogênico
Balesta	Monogênico
Bartoli	Monogênico
Design ⁽³⁾	-
Kibrille ⁽³⁾	-

⁽¹⁾Adaptado de IBEB (2016). ⁽²⁾Não possuem genes/fatores de resistência. ⁽³⁾Mecanismo de resistência ainda não estudado.

5 CONCLUSÕES

As cultivares Argelès, Kibrille, Balesta, Colorado, Design, Bartoli e NunDm15 são classificadas como resistentes e muito resistentes à *M. javanica*, pelo fator de reprodução e índice de reprodução, respectivamente, e podem ser exploradas na seleção simultânea para míldio e o referido nematoide.

As cultivares Bedford, Design e Argèles são ligeiramente resistentes à *M. incognita* raça 3, pelo índice de reprodução, e podem ser exploradas na seleção simultânea.

As cultivares Argelès, Bartoli e Balesta, indicadas para programas de melhoramento genético para resistência ao míldio da alface brasileiros, podem ser utilizadas para conferir resistência à *M. javanica* no país, e a cultivar Argelès para conferir resistência à *M. incognita* raça 3.

6 REFERÊNCIAS

- AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, 2017.
- ANDRADE JÚNIOR, V. C.; GOMES, J. A. A.; OLIVEIRA, C. M.; AZEVEDO, A. M.; FERNANDES, J. S. C.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R. Resistência de clones de batata-doce a *Meloidogyne javanica*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.34, p.130-136, 2016.
- ANWAR, S. A.; MCKENRY, M. V. Incidence and Population Density of Plant-Parasitic Nematodes Infecting Vegetable Crops and Associated Yield Losses in Punjab, Pakistan. **Pakistan Journal of Zoology**, Faisalabad, v. 44, p.327-333. 2012.
- BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR, W. **Experimentação Agronômica & AgroEstat**: Sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos. Jaboticabal: UNESP, 2015. 396 p.
- BARRIÈRE, V.; LECOMPTE, F.; NICOT, P. H. C.; MAISONNEUVE, B.; TCHAMITCHIAN, M.; LESCOURRET, F. Lettuce cropping with less pesticides. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 34, n. 1, p. 175-198, 2013.
- BEDENDO, I. P. Míldios. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. cap. 26, p. 467-472.
- BEHARAV, A.; OCHOA, O.; MICHELMORE, R. Resistance in natural populations of three wild *Lactuca* species from Israel to highly virulent Californian isolates of *Bremia lactucae*. **Genetic Resources Crop Evolution**, Dordrecht, v. 61, p. 603-609, 2014.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M.A. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariuna: Embrapa Meio Ambiente. 341p. 2009.
- CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes?. **Euphytica**, Netherlands, v. 124, p. 193-199, 2002.
- CHARCHAR, J. M.; MOITA, A. W. 1996. Reação de cultivares de alface à infecção por misturas populacionais de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *Meloidogyne javanica* em condições de campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 185-189, 1996.
- CHITWOOD, D.; PERRY, R. N. Reproduction, Physiology and Biochemistry. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. **Root-Knot nematodes**. Wallingford: CABI, 2009. 475 p.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; CUNHA T. P. L.; CHIAMOLERA, F. M.; PUERARI, H. H.; BIELA, F.; SANTANA, S. M. Reaction of vegetables and aromatic plants to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.30, p.322-326, 2012.

EDDAOUDI, M.; AMMATI, M.; RAMMAH, M. Identification of the resistance breaking of populations of *Meloidogyne* on tomatoes in Morocco and their effect on new sources of resistance. **Fundamental & Applied Nematology**, Leiden, v. 20, n. 3, p. 285-289, 1997.

EISENBACK, J. D. Diagnostic characters useful in the identification of the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. **An advanced treatise on Meloidogyne: biology and control**. Raleigh: North Carolina State University, 1981. p. 95-112.

ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, College Park, v. 22, n. 1, p. 10-15, 1990.

FARRARA, B. F.; ILOTT, T. W.; MICHELMORE, R. W. Genetic Analysis of factors for resistance to downy mildew (*Bremia lactucae*) in species of lettuce (*Lactuca sativa* and *L. serriola*). **Plant Pathology**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 499-514, 1987.

FERREIRA, S.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; CAMPOS, V. P.; DE CARVALHO FILHO, J. L. S.; SANTOS, D. C. Resistance of dry bean and snap bean cultivars to Root-knot nematodes. **HortScience**, Amsterdam, v. 45, n. 2, p. 320-322, 2010.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na producao e comercializacao de hortalias**. 2 ed. Vicosa: UFV. 2008. 421p.

GOMES, L. A. A.; MAFUF, W. R.; CAMPOS, V. P. Inheritance of the resistance reaction of the lettuce cultivar „Grand Rapids” to the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid;White) Chitwood. **Euphytica**, Wageningen, v. 114, n. 1, p. 34-46, 2000.

GRIMAULT, V.; SMILDE, D.; LUDLAGE, R.; VAN DIJK, A. **A new race of *Bremia lactucae*, BI:32 identified and nominated in Europe**. Rotterdam: Plantum, 2015. 2p.

HUSSAIN, M. A.; MUKHTAR, T.; KAYANI, M. Z. Characterization of susceptibility and resistance responses to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) infection in okra germplasm. **Pakistan Journal of Agricultural Science**, Faisalabad v. 51, n. 2, p. 309-314, 2014.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 57, n. 12, p. 1.025-1.028, 1973.

IBEB - INTERNATIONAL BREMIA EVALUATION BOARD. Differential set defined by IBEB. Suíça: International Seed Federation, 2016. 1p. Disponível em: <http://www.worldseed.org/our-work/plant-health/other-initiatives/ibeb/>. Acesso em: 19/11/2017

ILOTT, T. W.; DURGAN, M. E.; MICHELMORE, R. W. Genetics of virulence in California populations of *Bremia lactucae* (Lettuce Downy Mildew). **Phytopathology**, Saint Paul, v. 77, n. 10, p. 1381-1386, 1987.

JONES, J. D.; DANGL, J. L. The plant immune system. **Nature**, v. 444, n. 7117, p. 323–9, 2006.

JONES, J.T.; HARGEMAN, A.; DANCHIN, E.J.; GAUR, H.S.; HELDER, J.; JONES, M.G.K.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J.E.; WESEMAEL, W.M.L.; PERRY, R.N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v.14, n. 9, p. 946-961, 2013.

KALOSHIAN, I.; WILLIAMSON, V. M.; MIYAO, G.; LAWN, D. A.; WESTERDAHL, B. B. Resistance-breaking nematodes identified in California tomatoes. **California Agriculture**, California, v. 50, p. 18–19, 1996.

KARSSSEN, G.; MOENS, M. Root-knot nematodes. In: PERRY, R.N.; MOENS, M. **Plant Nematology**. Wallingford: CABI, 2006. p. 59-90.

KHAN, T. A.; ASHRAF, M. S. Pathogenicity and life cycle of *Meloidogyne incognita* and *M. Javanica* on lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Pakistan Journal of Nematology*, Pakistan, v.

KERRY, B.R. An assessment of progress toward microbial control of plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, Lakeland, v.22, p.621-631, 1990.

KILIAN, N.; GEMEINHOLZER, B.; LACK, H. W. Cichorieae Chapter 24. In: FUNK, V. A.; SUSANNA, A.; STUESSY, T.F.; BAYER, R. J. **Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae**. Vienna: International Association for Plant Taxonomy, 2009. p. 343-383.

LEBEDA, A.; KRÍSTKOVA, E.; KITNER, M., MIESLEROVÁ, B.; JEMELKOVÁ, M.; PINK, D. A. C. Wild *Lactuca* species, their genetic diversity, resistance to diseases and pests, and exploitation in lettuce breeding. *European Journal of Plant Pathology*, Dordrecht, v. 138, n. 2, p. 597-640, 2014.

LEBEDA, A.; PINK, D. A. C.; MIESLEROVA, B. Host-parasite specificity and defense variability in the *Lactucas* pp. – *Bremia lactucae* pathosystem. **Journal of Plant Pathology**, Ontario, v. 83, p. 25-35, 2001.

LEBEDA, A.; RYDER, E. J.; GRUBE, R.; DOLEZALOVA, I.; KRISTKOVA, E. Lettuce (Asteraceae; *Lactuca* spp.). In: SINGH, R.; BOCA RATON, F. L. Ed. 39. **Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement series, vegetable crops**. EUA: CRC Press, 2007, p.377–472.

LEBEDA, A.; ZINKERNAGEL, V. Evolution and distribution of virulence in the German population of *Bremia lactucae*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 52, n. 1, p. 41-51, 2003.

LIU, B.; REN, J.; ZHANG, Y.; AN, J.; CHEN, M.; CHEN, H.; XU, C.; REN, H. A new grafted rootstock against root-knot nematode for cucumber, melon, and watermelon. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 35, p.251-259, 2015.

LOPES, C. A.; QUEZADO-DUVAL, A. M.; REIS, A. **Doenças da alface**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2010. 68p.

MAISONNEUVE, B.; JEUNIAUX, S.; JUILLARD, E.; LOVERA, M. Virulence of *Bremia lactucae* populations in Southern France between 2006 and 2011. In: _____. (Ed.). **Eucarpia Leafy Vegetables 2011**. Villeneuve d'Ascq: Universit_e Lille Nord de France, 2011. p 32.

MALUF, W. R.; AZEVEDO, S. M.; GOMES, L. A. A.; OLIVEIRA, A. C. B. Inheritance of resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in lettuce. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 1, n. 1, p. 64-71, 2002.

MARIN, M. V. **Monitoramento de raças e distribuição dos fatores de virulência de *bremia lactucae*, em alface, no estado de são paulo em 2014 e 2015**. 2016. 49 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.

MARTÍNEZ, M. S. **Variabilidad genética del mildiu (*Bremia lactucae* Regel) en Salamanca y San Miguel de Allende, Guanajuato, mediante RAPD e ISSR**. 2008. 87 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Colegio de Postgraduados, Montecillo, 2008.

MENEZES, N. L.; SANTOS, O. S.; SCHMIDT, D. Lettuce seed production in hydroponic system. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 4, p. 705-706, 2001.

MICHELMORE, R.; WONG, J. Classical and molecular genetics of *Bremia lactucae*, cause of lettuce downy mildew. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.122, n. 122, p. 19-30, 2008.

MICHELMORE, R. W.; INGRAM, D. S. Secondary homothallism in *Bremia lactucae*. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 8, n. 1, p. 1-9, 1982.

MICHELMORE, R. W.; NORWOOD, J. M.; INGRAM, D. S.; CRUTE, I. R. The inheritance of virulence in *Bremia lactucae* to match resistance factors 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 and 11 in lettuce (*Lactuca sativa*). **Plant Pathology**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 301-315, 1984.

MOREIRA, F.J.C.; SANTOS, C.D.G.; INNECCO, R.; SILVA, G.S. Controle alternativo de nematoide das galhas (*Meloidogyne incognita*) raça 2, com óleos essenciais em solo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 41, n. 3, p. 207-213, 2015.

- MOTA, F. C.; ALVES, G. C. S.; GIBAND, M.; GOMES, A. C. M. M.; SOUSA, F. R.; MATTOS, V. S.; BARBOSA, V. H. S.; BARROSO, P. A. V.; NICOLE, M.; PEIXOTO, J. R.; ROCHA, M. R.; CARNEIRO, R. M. D. G. New sources of resistance to *Meloidogyne incognita* race 3 in wild cotton accessions and histological characterization of the defense mechanisms. **Plant Pathology**, London, n. 6, v. 62, p.1.173-1.183, 2013.
- MOU, B. Nutrient content of lettuce and its improvement. **Current Nutrition & Food Science**, Washington, v.5, n.4, p. 242–248, 2009.
- NORDSKOG, B.; ELAMEEN, A.; GADOURY, D. M.; HERMANSEN, A. Virulence characteristics of *Bremia lactucae* populations in Norway. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 139, p. 679-686, 2014.
- NORWOOD, JUDITH M.; MICHELMORE, R. W.; CRUTE, I. R.; INGRAM, D. S. The inheritance of specific virulence in *Bremia lactucae* (downy mildew) to match resistance factors 1, 2, 4, 6 and 11 in *Lactuca sativa* (lettuce). **Plant Pathology**, v. 32, n. 2, p. 177-186, 1983.
- OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Mededelingen van de Landbouwhogeschool te Wageningen**, Wageningen, v. 66, n. 4, p. 1-46, 1966.
- PARRA, L.; MAISONNEUVE, B.; LEBEDA, A.; SCHUT, J.; CHRISTOPOULOU, M.; JEUKEN, M.; MCHALE, L.; TRUCO, J.; CRUTE, I.; MICHELMORE, R. Rationalization of genes for resistance to *Bremia lactucae* in lettuce. **Euphytica**, Netherlands, v. 210, p. 309-326, 2016.
- PAVAN, M.A.; KRAUSE-SAKATE, R.; KUROZAWA, C. Doenças da Alface. IN: KIMATI, H., et al. **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005. p. 27-35.
- PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. Meloidogyne species - A Diverse Group of Novel and Important Plant Parasites. In:_____, J. **Root-Knot nematodes**. Wallingford: CABI, 2009. 475 p.
- PETRŽELOVÁ, I.; LEBEDA, A.; KOSMAN, E. Distribution, disease level and virulence variation of *Bremia lactucae* on *Lactuca sativa* in the Czech Republic in the period 1999–2011. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 161, n. 7-8, p. 503-514, 2013.
- PINHEIRO, J.B.; PEREIRA, R.B. Nematoides. In: CLEMENTE, F.M.V.T.; BOITEUX, L.S. **Produção de Tomate para Processamento Industrial**. Brasília, Embrapa Hortaliças, 2012, 344p.
- PINHEIRO, J.P.; PEREIRA, R.B.; CARVALHO, A.D.F.; RODRIGUES, C.S.; SUINAGA, F.A. **Manejo de nematoides na cultura da alface**. Circular Técnica, Embrapa Hortaliças, Brasília, n. 124, 2013.

PINHEIRO, J. B.; RODRIGUES, C.S.; CARVALHO, A.D.F.; PEREIRA, R.B. **Nematoides na cultura da batata-doce**. Circular Técnica, Embrapa Hortaliças, Brasília, n.105, 2012.

POINAR JR, G.O.; JANSSON, H. **Diseases of nematodes**. v.1. Boca Raton: CRC Press, 1988. 149p.

SANTOS, H. S.; WILCKEN, S. R. S.; GOTO, R. Reprodução de *Meloidogyne incognita* Raça 2 em Diferentes Porta-enxertos de Pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 26, n. 2, p. 209-211, 2002.

SAUCET, S.B.; GHELDER, C.V.; ABAD, P., DUCAL, H.; ESMENJAUD, D. Resistance to root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. in woody plants. **New Phytologist**, v.211, p. 41-56, 2016.

SHARAF, K.; LEWINSOHN, D.; NEVO, E.; BEHARAV, A. Virulence patterns of *Bremia lactucae* in Israel. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 35, n. 1, p. 100-108, 2007.

SILVA, G. .; FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Atração, penetração e desenvolvimento de larvas de *Meloidogyne javanica* em raízes de *Crotalaria* spp. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.13. p. 151-163, 1989.

SOARES, P. L. M.; NASCIMENTO, D. D.; VIDAL, R. L.; VIZENTINI, L. R. Controle biológico de nematoides. In: BALDIN, E. L. L.; KRONKA, A. Z.; SILVA, I. F. Inovações em manejo fitossanitário. Botucatu: FEPAF, 2017. p. 167-232.

SU, H.; VAN BRUGGEN, A. H. C.; SUBARAO, K. V.; SCHERM, H. Sporulation of *Bremia lactucae* affected by temperature, relative humidity and wind in controlled conditions. **Phytopatology**, Saint Paul, v. 94, p. 396-401, 2004.

TAYLOR, A. L. **Introduction to research on plant nematology**: an FAO guide to the study and control of the plant-parasitic nematodes. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations, 1967. 133p.

TAYLOR, A. L.; NETSCHER, C. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. **Nematologica**, Leiden, v.20, p.268-269. 1974.

TRIMBOLI, D. S.; NIEUWENHUIS, J. New races of *Bremia lactucae* on lettuce in Australia. **Australasian Plant Disease Notes**, Dordrecht, v. 6, n. 1, p. 62-63, 2011.

Trudgill, D.L. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 29, p. 167–192, 1991.

VAN ETTEKOVEN, K.; VAN DER AREND, A. Identification and denomination of “new” races of *Bremia lactucae*. In: EUCARPIA MEETING ON LEAFY VEGETABLES GENETICS AND BREEDING, Olomuc: Czech Republic, **Proceedings** 1999, p. 105 – 107.

VAN HESE, N.; HUANG, C. J.; de VLEESSCHAUWER, D.; DELAERE, I.; PAUWELYN, E.; BLEYAERT, P.; HÖFTE, M. Evolution and distribution of virulence characteristics of Belgian *Bremia lactucae* populations between 2008 and 2013. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 144, n. 2, p. 431-441, 2016.

VAN TREUREN, R.; VAN DER AREND, A. J. M.; SCHUT, J. W. Distribution of downy mildew (*Bremia lactucae* Regel) resistances in a genebank collection of lettuce and its wild relatives. **Plant Genetic Resources**, v. 11, n. 1, p. 15–25, 2011.

VRIES, I.M. Origin and domestication of *Lactuca sativa* L. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 44, p. 165-174, 1997.

WILCKEN, S. R. S.; GARCIA, M. J. D. M.; SILVA, N. Resistência de alface do tipo americana a *Meloidogyne incognita* raça 2. **Nematologia Agrícola**, Piracicaba, v. 29, n. 2, p. 267-271, 2005.

WILLIAMSON, V.M. Root-knot nematode resistance genes in tomato and their potential for future use. **Annual Review Phytopathology**, v. 36, p. 277–293, 1998.

WILLIAMSON, V.M.; HUSSEY, R. S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. **Plant Cell**, Waterbury, v. 8, p. 1735–1745, 1996.

XU, L. **Development of molecular approaches in the study of lettuce downy mildew (*Bremia lactucae*) population biology**. 2011. 262 f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais e Vegetais) - University of Warwick, Coventry, 2011.