

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

REAÇÃO DE CULTIVARES DE ALFACE DO GRUPO AMERICANO A
Meloidogyne incognita, M. javanica e M. enterolobii

ÉRIKA CRISTINA SOUZA DA SILVA CORREIA

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU – SP

Setembro – 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

REAÇÃO DE CULTIVARES DE ALFACE DO GRUPO AMERICANO A
Meloidogyne incognita, M. javanica e M. enterolobii

ÉRIKA CRISTINA SOUZA DA SILVA CORREIA

Orientadora: Profa. Dra. Silvia Renata Siciliano Wilcken

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU – SP

Setembro – 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

C824r Correia, Érika Cristina Souza da Silva, 1987-
Reação de cultivares de alface do grupo americano a
Meloidogyne incognita, M. javanica e M. enterolobii /
Érika Cristina Souza da Silva Correia.- Botucatu: [s.n.],
2013
vi, 55 f. : grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2013
Orientador: Silvia Renata Siciliano Wilcken
Inclui bibliografia

1. Alface. 2. Meloidogyne. 3. Melhoramento genético. I.
Wilcken, Silvia Renata Siciliano. II. Universidade Esta-
dual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botuca-
tu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: “REAÇÃO DE CULTIVARES DE ALFACE DO GRUPO AMERICANO A
Meloidogyne incognita, *M. javanica* e *M. enterolobii*”

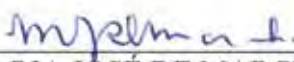
ALUNA: ÉRIKA CRISTINA SOUZA DA SILVA CORREIA

ORIENTADORA: PROFA. DRA. SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN

Aprovado pela Comissão Examinadora


PROFA. DRA. SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN


PROF. DR. ANTONIO CARLOS MARINGONI


PROFA. DRA. MARIA JOSÉ DE MARCHI GARCIA

Data da Realização: 24 de setembro de 2013.

À minha querida mãe, Josefa Souza da Silva, e à minha amável irmã, Elisiane Carla, que sempre acreditaram em mim, que me incentivaram a ir à busca dos meus sonhos e que suportaram a ausência e a saudade.

Dedico.

À minha avó, Eudália de Souza Silva (In memoriam), aos meus tios, Antônio Francisco e Joelson Silva, à minha dinda, Eliza Batista e aos meus primos, Eritan Mathias, Erivan Mathias, Elayne Mathias e Erilane Mathias, por não terem medido esforços para permitir que eu pudesse chegar até aqui.

Ofereço.

AGRADECIMENTOS

A minha imensa gratidão à Deus, real em minha vida e guia das pessoas que amo, por iluminar meus passos, dando-me, sobretudo sabedoria, força e coragem para chegar ao fim dessa jornada;

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, pela oportunidade de execução deste curso;

À Profa. Dra. Silvia Renata Siciliano Wilcken, pela orientação, pelas condições de trabalho oferecidas e por todo o aprendizado durante minha jornada científica;

Ao Prof. Dr. Noberto da Silva, pelo apoio e pelas plantas cedidas para estudo;

À Maria de Fátima Almeida Silva, por todos os ensinamentos, pela amizade, prontidão e dedicação;

Às minhas companheiras do Laboratório de Nematologia Agrícola, Marylia Gabriella, Andressa Brida, Lucivane Gonçalves e Adriana Gabia, pelos bons momentos de descontração e, sobretudo, pela ajuda dispensada;

Aos Professores do Departamento de Proteção Vegetal pelos conhecimentos, experiências e ensinamentos transmitidos;

Aos funcionários, em particular, à Paulo Roberto Rodrigues pela amizade e por estar sempre disponível para ajudar;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa de estudos fornecida;

Aos meus amigos, Júlio César, Laís Rocha, Leonardo Barbosa, Laís Cristina, Maysa Arêas, Lilian Favare, Débora Masiero, Elza Oliveira, Carlos Jorge e Pedro Bento, pelos momentos inesquecíveis e acima de tudo pela amizade construída.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	01
SUMMARY.....	03
1 INTRODUÇÃO.....	04
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	06
2.1 Características gerais da cultura da alface.....	06
2.1.1 Origem e classificação botânica.....	06
2.1.2 Importância econômica.....	07
2.1.3 Problemas nematológicos em alface.....	10
2.2 O gênero <i>Meloidogyne</i>	12
2.2.1 Histórico e classificação taxonômica.....	12
2.2.2 Importância econômica.....	13
2.2.3 Aspectos biológicos de <i>Meloidogyne</i> spp.....	14
2.2.4 Controle e resistência de nematoides em alface.....	17
CAPÍTULO I “Reação de cultivares de alface americana a <i>Meloidogyne incognita</i> raças 1 e 2 e <i>M. javanica</i> ”.....	19
Resumo.....	20
Abstract.....	21
Introdução.....	22
Material e Métodos.....	23
Resultados e Discussão.....	25
Agradecimentos.....	31

Referências Bibliográficas.....	31
CAPÍTULO II “Multiplicação de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em cultivares de alface do grupo americano”.....	34
Resumo.....	35
Abstract.....	36
Introdução.....	36
Material e Métodos.....	38
Resultados e Discussão.....	40
Agradecimentos.....	44
Referências.....	44
3 CONCLUSÕES.....	47
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a reação de vinte e duas cultivares de alface do grupo americano quanto à resistência a *Meloidogyne incognita* raças 1 e 2, *M. javanica* e *M. enterolobii*. Os experimentos foram realizados em condições de casa de vegetação com cinco repetições, sendo cada parcela constituída de uma planta por vaso contendo substrato autoclavado na proporção de 1:2:1 (terra: areia: matéria orgânica). A infestação do substrato foi realizada com 5.000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio para cada espécie de nematoide em teste por vaso. O tomateiro 'Rutgers' foi utilizado como padrão de viabilidade do inóculo. As variáveis índice de galhas e índice de massa de ovos e o fator de reprodução foram determinadas aos 60 dias após a infestação. Os resultados obtidos mostraram a resistência das cultivares Ithaca, RS-1397, Raider Plus, Challenge, L-104, IP-11, Salinas 88, Calona, Desert Queen, Classic e Vanguard 75 a *M. incognita* raça 1, com FR variando de 0,19 a 0,88; e das cultivares Desert Queen, L-104, Salinas 88, Vanguard 75, Robinson, RS-1397, Challenge, Raider Plus, Classic, Calona, Ithaca, Lady, IP-11 e Winterset, a *M. incognita* raça 2, com FR variando de 0,23 a 0,93. Todas as alfaces avaliadas foram resistentes a *M. javanica*, apresentando FR inferior a 1,0. As cultivares Ithaca, Raider Plus,

RS-1397, L-104, Challenge, IP-11, Classic, Salinas 88, Vanguard 75, Calona e Desert Queen, apresentaram resistência a *M. enterolobii* com FR variando de 0,22 a 0,9.

Palavras chave: *Lactuca sativa* L., nematoide das galhas, resistência.

MULTIPLICATION OF *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica* and *Meloidogyne enterolobii* IN CULTIVARS OF LETTUCE (*Lactuca sativa* L.). Botucatu, 2013. 55 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: ÉRIKA CRISTINA SOUZA DA SILVA CORREIA

Adviser: SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN

SUMMARY

This work aimed evaluate the reaction of twenty-two lettuce cultivars for resistance to *M. incognita* races 1 and 2, *M. javanica* and *M. enterolobii*. The experiments were carried under greenhouse conditions with five replicates. Each plot constituted of one plant per pot containing substrate autoclaved in the proportion of 1:2:1 (soil: silt: manure). The soil infestation was made with 5,000 eggs and possible second stage juvenile of each species of nematode in test per pot. ‘Rutgers’ tomato was used as standard for inoculum viability. The variables gall index, egg mass index and reproduction factor were determined 60 days after infestation. The ‘Ithaca’, ‘RS-1397’, ‘Raider Plus’, ‘Challenge’, ‘L-104’, ‘IP-11’, ‘Salinas 88’, ‘Calona’, ‘Desert Queen’, ‘Classic’ and ‘Vanguard 75’ were resistant to *M. incognita* race 1, with RF varying from 0.19 to 0.88, and the ‘Desert Queen’, ‘L-104’, ‘Salinas 88’, ‘Vanguard 75’, ‘Robinson’, ‘RS-1397’, ‘Challenge’, ‘Raider Plus’, ‘Classic’, ‘Calona’, ‘Ithaca’, ‘Lady’, ‘IP-11’ e ‘Winterset’ were resistant to *M. incognita* race 2, with RF varying from 0.23 to 0.93. All lettuces were resistant to *M. javanica*, with FR less than 1.0. The cultivars Ithaca, Raider Plus, RS-1397, L-104, Challenge, IP-11, Classic, Salinas 88, Vanguard 75, Calona and Desert Queen showed resistance to *M. enterolobii* with RF varying from 0.22 to 0.9.

Keywords: *Lactuca sativa* L., root-knot nematodes, resistance.

1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a mais popular das hortaliças folhosas, sendo cultivada e consumida em todo o mundo (FILGUEIRA, 2003). No Brasil, a cultura está presente em todas as regiões, caracterizada pela produção intensiva, pelo cultivo em pequenas áreas e por produtores familiares (COSTA; SALA, 2005). Com as mudanças nos hábitos alimentares e com o aumento das cadeias de "fast-foods", o mercado de alface americana no país aumentou consideravelmente (SALA; COSTA, 2012).

A alface americana se diferencia dos demais grupos por apresentar folhas externas de coloração verde-escura, folhas internas de coloração amarelada ou branca, imbricadas, semelhantes ao repolho e crocantes (YURI et al., 2002). Apresenta também maior durabilidade pós-colheita, possibilitando o transporte a longas distâncias, permitindo assim a produção em regiões mais distantes dos principais mercados consumidores (DECATEAU et al., 1995).

As áreas plantadas com hortaliças são normalmente submetidas à cultivos intensivos durante todo o ano, podendo ser grandes os danos causados por fitonematoides. A planta, quando atacada pelo nematoide das galhas, é facilmente

diagnosticada no campo pela presença de massas de ovos e galhas no sistema radicular (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991; KARSSSEN; MOENS, 2006). As raízes desestruturadas prejudicam a absorção de água e nutrientes do solo, resultando em plantas amareladas, com tamanho e volume foliar reduzidos, tornando-as inadequadas para comercialização (KARSSSEN; MOENS, 2006; ORNAT; SORRIBAS, 2008; MOENS et al., 2009). Nas raízes de alface, os nematoides podem também interagir com outros patógenos como fungos e bactérias do solo, contribuindo significativamente para aumentar a severidade de doenças no campo (ORNAT; SORRIBAS, 2008). Além disso, pode provocar murcha das folhas nos horários mais quentes do dia (KARSSSEN; MOENS, 2006; ORNAT; SORRIBAS, 2008; MOENS et al., 2009).

O controle de *Meloidogyne* spp. em áreas de produção de alface é indispensável para o bom desempenho da cultura, uma vez que, os nematoides das galhas podem causar até 100% de perdas na produção, dependendo da intensidade de infestação da área e da suscetibilidade da cultivar (CHARCHAR, 1995). O controle não tem se mostrado uma tarefa fácil e a rotação de cultura, técnica comumente recomendada para o controle de fitonematoides, é de difícil utilização devido aos cultivos sucessivos nas mesmas áreas. O emprego de nematicidas também não é indicado, devido ao curto ciclo da cultura (WILCKEN et al., 2005).

O presente trabalho teve como objetivo determinar a reação de vinte e duas cultivares de alface do grupo americano quanto à resistência a *Meloidogyne incognita* raças 1 e 2, *M. javanica* e *M. enterolobii*, sendo este estudo redigido em dois capítulos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características gerais da cultura da alface

2.1.1 Origem e classificação botânica

A alface é originária de espécies silvestres, ainda encontradas em regiões de clima temperado, no sul da Europa e na Ásia Ocidental (FILGUEIRA, 2007). Inicialmente, foi utilizada por egípcios, gregos e romanos há 4.500 anos A.C como planta medicinal e desde 2.500 A.C como hortaliça (CAMARGO, 1984). Na forma silvestre, possui características de planta daninha, ou seja, a biomassa reprodutiva é mais importante que a vegetativa, durante o processo de domesticação, foram valorizadas as partes vegetativas, ou seja, comestíveis da planta (WHITAKER, 1974).

No Brasil, a planta foi trazida pelos portugueses no século XVI, tornando-se a hortaliça folhosa de maior importância econômica, sendo consumida *in natura* na forma de salada (FIORINI et al., 2005; 2007). Devido à sua facilidade de cultivo e precocidade de ciclo após o transplântio (aproximadamente 35 dias no campo), a alface é cultivada por vários tipos de horticultores, sendo encontrada desde plantações com finalidade comercial como também plantações de subsistência.

Botanicamente, a planta de alface é uma dicotiledônea anual pertencente à família Asteraceae (Compositae), da subfamília Cichorioideae e do gênero

Lactuca (FILGUEIRA, 2003). É uma espécie cujas plantas possuem grande variabilidade no que diz respeito à forma, cor e textura das folhas, caracterizando diferentes tipos comerciais (CARVALHO FILHO et al., 2009). É constituída de caule curto, não ramificado, ao qual se prendem as folhas que são amplas e crescem em roseta, em volta do caule, podendo ser lisas ou crespas, formando ou não uma cabeça, com coloração em vários tons de verde ou roxo, de acordo com a cultivar e são essas características que determinam a preferência do consumidor (MAROTO, 2002; RODRIGUES, 2002; FILGUEIRA, 2007).

O sistema radicular, é muito ramificado e superficial, explora apenas os primeiros 25 cm do solo, quando a cultura é transplantada em campo (FILGUEIRA, 2003; 2007). Em semeadura direta, a raiz pivotante pode atingir até 60 cm de profundidade. Para que ocorra o florescimento, são necessárias temperaturas altas e fotoperíodo longo (RODRIGUES, 2002). Na fase reprodutiva, a planta emite uma haste com flores amarelas agrupadas em cacho, e produz em maior quantidade uma substância leitosa e amarga denominada lactoaria (FILGUEIRA, 2003; 2007).

2.1.2 Importância econômica

Estima-se que sejam cultivados em torno de 35 mil hectares de alface anualmente no Brasil (LOPES et al., 2010). De acordo com o IBGE (2013), os dados do censo agropecuário 2006 apontam que a produção nacional de alface é de aproximadamente 525.602 t ano⁻¹, merecendo destaque a região Sudeste com uma produção aproximada de 340.376 t ano⁻¹. O Estado de São Paulo com 7.188 estabelecimentos possui uma produção de 164.774 t ano⁻¹, que representa aproximadamente 47% da produção de alface na região Sudeste do país. Montragio et al. (2008), em estudos sobre a distribuição geográfica da produção de hortaliças no estado de São Paulo, concluiu que os principais municípios fornecedores são Mogi das Cruzes (46,7 %), Sorocaba (11,5 %), São Paulo (8,1 %), Campinas (6,6 %) e São João da Boa Vista (0,8 %).

A alface é uma excelente fonte de vitamina A, possuindo quantidade apreciável das vitaminas B₁ e B₂, e ainda certa porção de vitamina C, além dos elementos fósforo, potássio, sódio e ferro. Pelo fato de ser consumida *in natura*, conserva

todas as suas propriedades nutritivas (KERR et al., 2003). De agradável paladar, é aconselhada nas dietas de baixas calorias, devido ao seu pequeno valor energético (MURAYAMA, 1983).

Devido à sua alta perecibilidade, comumente é plantada próximo aos centros consumidores, sendo necessário produzi-la nas mais variadas regiões brasileiras ao longo do ano (FIORINI et al., 2005). De acordo com Lopes et al. (2010), a produção está concentrada em áreas periurbanas ou nos cinturões verdes das grandes cidades. Conforme dados da CEAGESP (2013), cada paulistano consome quase dois quilos por ano e 40% dos seus gastos totais com hortaliças são destinados à compra da alface.

Como ressalva Resende et al. (2007), as cultivares de alface atualmente disponíveis no mercado brasileiro podem ser agrupadas em cinco tipos morfológicos principais, com base na formação de cabeça e tipo de folhas: Repolhuda Lisa, Repolhuda Crespa ou Americana, Solta Lisa, Solta Crespa; Solta Crespa Roxa e Tipo Romana. No Brasil, as alfaces mais conhecidas e consumidas são as crespas e as lisas, algumas das quais foram melhoradas para o cultivo de verão ou adaptadas para regiões tropicais, com temperaturas e pluviosidade elevadas, mas recentemente também aparecerem cultivares roxas e com as folhas frisadas.

A cultura apresenta alto grau tecnológico, sendo comuns no Brasil as práticas de cultivo convencional e o sistema orgânico em campo aberto; o cultivo protegido no sistema hidropônico e no solo (FILGUEIRA, 2005; RESENDE et al., 2007), que permitem obter hortaliças de qualidade durante o ano todo, sendo encontrada desde plantações com finalidade comercial como também plantações de subsistência (CEAGESP, 2013).

Segundo Boaretto (2005), o cultivo protegido no solo e em hidroponia é uma atividade que exige do produtor especialização e domínio das técnicas de manejo. Estes sistemas tecnológicos se diferem muito do efetuado em campo aberto, principalmente quanto aos tratamentos culturais e a infra-estrutura utilizada. Conforme Carvalho Filho et al. (2011a), os sistemas de cultivo protegido propiciam aumento na produção com redução de custo e possibilitando a produção da alface mais próxima aos centros consumidores, aumentando, assim, a qualidade do produto.

As numerosas cultivares disseminadas entre os olericultores surgiram de trabalhos de melhoramento genético conduzidos no Brasil ou no exterior

(FILGUEIRA, 2007). O mesmo autor afirma que em termos de melhoramento genético, os pesquisadores brasileiros têm desenvolvido um notável trabalho. De acordo com Rodrigues (2002), a partir de espécies selvagens (*Lactuca serriola*), sucessivas seleções artificiais conduziram à obtenção de numerosas cultivares mais produtivas, adaptadas a diferentes condições e de melhor qualidade para o consumo.

Segundo Goto; Tivelli (1998), por meio do melhoramento genético foram desenvolvidas cultivares mais tolerantes ao calor, ou seja, adaptadas à nossa condição subtropical e, hoje, é possível seu pleno desenvolvimento no período de temperaturas mais elevadas e fotoperíodos mais longos, sem estimular o pendoamento das alfaces ou com retardamento de pendoamento e sem alterar o sabor.

A alface americana foi desenvolvida para atender o agronegócio norte americano (SALA; COSTA, 2008). No Brasil, o cultivo da alface americana teve início na década de 70. A expansão de redes de restaurantes do tipo “fast-foods” no país teve como consequência, a criação imediata de uma demanda de alface do tipo americana, que tinha como principais características a crocância, o sabor e a resistência ao calor quando introduzida nos lanches quentes (YURI et al., 2002; HENZ; SUINAGA, 2009).

A princípio houve a necessidade de importação deste tipo de alface, porém, estava criado um novo segmento de alface para o mercado brasileiro. Com o decorrer dos anos este tipo de alface passa a ser apreciada por parte da população brasileira, criando um segundo mercado, o consumo de alface americana *in natura* (SALA; COSTA, 2008).

Desta forma, foi introduzido no Brasil um grupo de cultivares de alface repolhuda crespa conhecida como alface americana, que apresenta como características na maioria das cultivares, cabeças firmes, compactas, grandes, folhas externas de coloração verde-escura, folhas internas de coloração creme-amarelada, imbricadas, com nervuras salientes e crocantes (YURI et al., 2002). Pesando cerca de 1 kg com as folhas externas, e cerca de 750 gramas com a remoção das folhas externas, sendo estas geralmente mais largas que compridas (DAVIS et al., 1997). A cultivar típica é a norte-americana ‘Great Lakes’ da qual há várias seleções. Outras cultivares têm sido desenvolvidas no Brasil ou introduzidas como a ‘Tainá’, ‘Iara’, ‘Madona’, ‘Lucy Brown’ e ‘Lorca’ (FILGUEIRA, 2007).

De acordo com Fabri; Sala (2007), o mercado brasileiro tem demanda por dois tipos de alface americana: um tipo com cabeça compacta para processamento e embandejamento, e o outro com formação de cabeça menos compacta para a venda em mercados e feiras livres. No segundo caso, os critérios adotados entre os produtores para a formação da cabeça da alface americana para este tipo de mercado, não implicam em formar uma cabeça compacta, bastando apresentar formação de cabeça para que o produtor realize a colheita, mesmo não tendo atingindo o ponto final de maturidade.

A massa fresca da cabeça comercial sem as folhas externas é a característica mais importante para a indústria e para o mercado de embandejamento, pois é a parte enviada pelo produtor que recebe por peso, diferentemente do sistema de comercialização que é feita nos mercados, onde a alface é comercializada por unidade e com todas as folhas (YURI, 2000).

No entanto, muitos problemas persistem, sendo necessária uma constante busca por materiais mais competitivos. Entre estes problemas encontram-se a ocorrência de nematoides das galhas (CARVALHO FILHO et al., 2007).

2.1.3 Problemas nematológicos em alface

A alface é uma cultura altamente suscetível à infestação por nematoides das galhas, especialmente *Meloidogyne incognita* Chitwood, 1949 e *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 (CAMPOS, 2001; CHARCHAR; MOITA, 2005; SIKORA; FERNANDEZ, 2005; WILCKEN et al., 2005). Outra espécie de ocorrência pouco comum, *Meloidogyne enterolobii* (Syn. *M. mayaguensis*) Yang; Eisenback, 1983, tem ganhado importância, pois, fontes de resistência efetivas contra outros nematoides, tais como em genótipos de tomate e pimenta que possuem o gene *Mi* e *N*, respectivamente, os quais conferem resistência a *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949, são ineficazes no seu controle (CARNEIRO et al., 2006, MOENS et al., 2009).

Cantu et al., (2009), ao avaliar a resistência a *M. enterolobii* de oito porta-enxertos de tomateiro considerados resistentes a *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, observaram que os porta-enxertos mostraram-se suscetíveis a *M. enterolobii*.

Melo et al. (2011), ao estudarem seis genótipos de tomate (TOM-584, TOM-684, PI-126443, PI-127826, PI-134417, e LA-716) a *M. enterolobii*, classificaram todos os acessos de tomate como suscetíveis. Apesar da linhagem TOM-684 ser portadora do gene dominante *Mi*, a resistência não foi efetiva para *M. enterolobii*. O acesso PI-126443, portador do gene *Mi* e do gene *Mi-3*, que confere resistência a *M. incognita* sob altas temperaturas, também mostrou-se bastante suscetível a *M. enterolobii*.

Oliveira (2007) estudando diferentes espécies de *Capsicum* verificou que somente *C. frutescens* foi resistente a *M. enterolobii*. Contudo, ao analisar a compatibilidade para enxertia com cultivares comerciais de pimentão suscetíveis, *C. frutescens* foi o único genótipo que apresentou incompatibilidade.

Danos e perdas de rendimentos causados por nematoides das galhas são maiores nas regiões tropicais do que em regiões temperadas por causa das condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento e reprodução do nematoide. Em regiões tropicais, *Meloidogyne* spp. tem seu ciclo de vida completo em aproximadamente 21 dias e pode, portanto, completar dois ciclos em um único período de cultivo da cultura da alface no campo. Além disso, pelo fato do fitonematoide apresentar elevada taxa de desenvolvimento e reprodução (MOENS et al., 2009), pode ocorrer à inviabilidade de áreas de cultivo de alface após plantios consecutivos da cultura (FIORINI et al., 2005).

As principais formas de disseminação dos nematoides das galhas ocorrem principalmente por meio de água de irrigação e por solos infestados aderidos em máquinas e implementos agrícolas utilizados no preparo da área (EVANS et al., 1993; CHARCHAR; MOITA, 1996). A incorporação ao solo de resíduos vegetais contendo raízes contaminadas pelo nematoide das galhas e a circulação de animais vindos de áreas contaminadas também são fatores que contribuem na disseminação dos nematoides (CHARCHAR; MOITA, 2005).

As galhas formadas nas raízes são os sintomas mais característicos mostrados pelas plantas infectadas por espécies de *Meloidogyne*. No entanto, os sintomas de parte aérea são semelhantes aos produzidos em quaisquer plantas com um sistema radicular danificado. Tais sintomas incluem: redução de crescimento, amarelecimento foliar e

dependendo da intensidade de infecção, murcha das plantas nos períodos mais quentes do dia (KARSSSEN; MOENS, 2006; ORNAT; SORRIBAS, 2008; MOENS et al., 2009).

Os danos causados pelos nematoides das galhas podem ser mais graves quando surgem relações sinérgicas com fungos ou bactérias do solo, o que contribui significativamente para aumentar a severidade da doença no campo (CHARCHAR, 1995; ORNAT; SORRIBAS, 2008; MOENS et al., 2009).

Na literatura, a redução do crescimento da alface causada pelos nematoides das galhas tem sido relatada. A cultivar de alface ‘Babá de Verão’, quando avaliada sob condições de casa de vegetação, apresentou redução da parte aérea em função do ataque pelas raças 1 e 2 de *M. incognita* (KRZYZANOWSKI; FERRAZ, 2000). As cultivares Brisa e Lucy Brown tiveram redução nas massas fresca da parte aérea e de raiz devido ao ataque de *M. incognita* (ASUAJE et al., 2004). Santos et al. (2006) ao avaliarem o sistema de plantio da cultivar Elisa em vasos infestados com *M. javanica*, em casa de vegetação, verificaram que ocorreu redução do crescimento das plantas em cerca de 28,8% nas plantas transplantadas, e de 54,4% naquelas submetidas a semeadura direta.

2.2 O gênero *Meloidogyne*

2.2.1 Histórico e classificação taxonômica

O primeiro relatório ilustrado de uma doença causada por nematoide foi feito na Inglaterra, em meados do século XIX, quando Miles Joseph Berkeley (1855) detectou que existia uma associação entre um pequeno verme de solo com a formação de nódulos em raízes de pepino. Em 1887, Emílio Goeldi descreveu e ilustrou um nematoide das galhas encontrado em plantas de café no Brasil e o nomeou como *M. exigua*. Em 1949, Chitwood revisou o gênero *Meloidogyne*, postulando que todas as espécies formadoras de galhas pertenceriam ao referido gênero, aceitando *M. exigua* como espécie tipo do gênero (KARSSSEN; MOENS, 2006; MOENS et al., 2009).

Ao longo dos anos, novas espécies foram descritas e o gênero *Meloidogyne* tornou-se o de maior importância econômica e de maior interesse no mundo. Até

o final de 2004, 106 espécies do gênero *Meloidogyne* tinham sido descritas, compreendendo 89 espécies nominais, 13 espécies sinonimizadas e quatro espécies *inquirendae*, sendo *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* as que ocasionam as maiores perdas para agricultura mundial (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991; HUSSEY; JANSSEN, 2002; KARSSSEN; MOENS, 2006; ORNAT; SORRIBAS, 2008).

Com relação à sua posição sistemática, *Meloidogyne* spp. pertencem ao Reino Animal, Filo Nematoda Potts, 1932; Classe Chromadorea Inglis, 1983; Subclasse Chromadoria Pearse, 1942; Ordem Rhabditida Chitwood, 1933; Subordem Tylenchina Thorne, 1949 Infraordem Tylenchomorpha De Ley; Blaxter, 2002; Superfamília Tylenchoidea Orley, 1880; Família Meloidogynidae Skarbilovich, 1959; Subfamília Meloidogyninae Skarbilovich, 1959; Gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1892 (DE LEY; BLAXTER, 2002; KARSSSEN; MOENS, 2006).

2.2.2 Importância econômica

Os nematoídes das galhas, *Meloidogyne* spp., constituem um dos grupos de patógenos de plantas mais importantes do ponto de vista econômico, por estarem entre as principais limitações ao aumento da produtividade agrícola no Brasil e no mundo. Sua multiplicação ocorre tanto em plantas de interesse econômico quanto em plantas daninhas (TAYLOR; SASSER, 1983; EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991; HUSSEY; JANSSEN, 2002; CHARCHAR; MOITA, 2005; KARSSSEN; MOENS 2006; MOENS et al., 2009).

A estimativa média de perdas anuais causadas por fitonematoides no mundo é de 14%, as quais podem ser traduzidas em quase 100 bilhões de dólares anualmente (MITKOWSKI; ABAWI, 2011). No Brasil, mais de 70% de todas as pesquisas nematológicas publicadas estão de alguma forma relacionadas à *Meloidogyne*, o que dá uma indicação da grande importância deste gênero para a agricultura do país (FERRAZ, 1985). Conforme Santos (2000), estima-se que no Brasil, as perdas anuais apenas nas culturas da cana-de-açúcar, algodão, feijão, milho e soja sejam de 1,5 bilhões de dólares.

De acordo com Tihohod (2000), o grau dos danos depende da densidade populacional dos nematoides presentes, da suscetibilidade da cultura e das condições ambientais, tais como fertilidade, umidade e presença de outros organismos patogênicos que podem interagir com os nematoides. Limiares de danos foram estabelecidos para várias culturas, onde a média é de aproximadamente 0,5-2 juvenis/ g de solo (MOENS et al., 2009).

Lordello (1984) ressalva que os nematoides são prejudiciais à agricultura não apenas por implicarem na redução da produtividade, isto é, por atribuírem perdas quantitativas, mas também por outros tipos de perdas que nem sempre são devidamente compreendidas. No que se refere a perdas quantitativas tanto o número como o tamanho dos produtos cultivados podem ser reduzidos devido à presença do nematoide podendo resultar no completo fracasso da cultura. Já as perdas qualitativas afetam diretamente a qualidade do produto colhido dificultando a sua colocação no mercado.

2.2.3 Aspectos biológicos de *Meloidogyne* spp.

A sobrevivência e o desenvolvimento dos nematoides das galhas são condicionados pela planta hospedeira e pelas condições ambientais do solo (ORNAT; SORRIBAS, 2008). O ciclo de vida dos nematoides do gênero *Meloidogyne* completa-se geralmente sob temperatura de 27° C entre três a quatro semanas. Entretanto, qualquer espécie reduz ou até mesmo paralisa por completo as suas atividades vitais em temperaturas superiores a 40°C ou inferiores a 5°C (FERRAZ, 2001).

Os ovos dos nematoides das galhas ficam envoltos por uma massa gelatinosa que geralmente é depositada na superfície das raízes ou algumas vezes, dentro das mesmas. Além da proteção relativa que oferece frente a inimigos naturais, tal material atua como sinalizador de eventuais condições externas desfavoráveis, podendo o nematoide sobreviver no solo por longos períodos. O desenvolvimento embrionário resulta no juvenil de primeiro estágio (J₁) que passa por uma ecdise ainda no ovo, dando origem ao juvenil de segundo estágio (J₂). A eclosão dos juvenis de *Meloidogyne* é conduzida pela

temperatura e ocorre sem a necessidade de estímulos das raízes das plantas, embora alguns exsudatos radiculares estimulem a eclosão (KARSSSEN; MOENS, 2006; MOENS et al., 2009).

Quando os J₂ eclodem dos ovos, eles podem penetrar a mesma raiz ou infectar novas raízes. Estes J₂ e os machos são as fases do ciclo de *Meloidogyne* que podem ser encontrados livremente no solo. Em algumas espécies, os J₂ podem sobreviver no solo em estado de quiescência por um longo período de tempo. No entanto, durante esse período há o consumo de reservas nutricionais armazenadas no intestino do J₂. Como a infectividade está relacionada ao conteúdo dessas reservas, ela poderá ser reduzida após longos períodos fora das raízes (KARSSSEN; MOENS, 2006).

Os J₂ são atraídos pelas raízes das plantas e sua localização depende da percepção dos gradientes de atrativos que emanam das raízes. Os J₂ infectantes acumulam-se na região de alongamento celular, logo atrás da coifa, mesmo em plantas resistentes a *Meloidogyne* spp. Eles também são atraídos pelos meristemas apicais, pontos de emergência de raízes laterais e sítios de penetração de outros J₂ (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991; HUSSEY; JANSSEN, 2002). Há pouca diferença na atratividade dos exsudados das raízes das plantas suscetíveis e resistentes, no entanto, quando ambos são presente, os suscetíveis são muito mais atraentes. A natureza dos estímulos produzidos pelas raízes é percebida pelos J₂. Muitos compostos orgânicos e inorgânicos excretados pelas raízes formam gradientes na superfície da raiz no solo e podem influenciar os nematoides. O dióxido de carbono é frequentemente considerado como sendo o fator mais importante para atrair fitonematoides (KARSSSEN; MOENS, 2006).

Quando os nematoides das galhas entram em contato com as raízes das plantas, em geral, eles penetram imediatamente. Os J₂ penetram a rígida parede das células radiculares pela combinação de ação mecânica, através da perfuração com o estilete e da ação enzimática (celulolítica e pectolítica), por meio de certas secreções das glândulas esofagianas. Após a penetração das raízes, os J₂ migram intercelularmente no córtex na região de diferenciação celular. Esta migração através da lamela média causa a separação das células. Para contornar a barreira formada pela endoderme, os J₂ migram em direção à ponta da raiz, contornando-a até encontrar a região meristemática apical. Em seguida, percorrem o cilindro vascular até a zona de diferenciação. Posteriormente, tornam-se sedentários no tecido cortical

na zona de diferenciação. A região anterior do corpo dos J₂ fica embebida na periferia do parênquima vascular e o restante do seu corpo no córtex paralelo ao eixo longitudinal da raiz (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991; KARSSSEN; MOENS, 2006; MOENS et al., 2009).

Os J₂ alimentam-se de células especiais denominadas células nutridoras (células gigantes multinucleadas), as quais fornecem nutrientes essenciais para seu desenvolvimento. Como consequência, o J₂ sofre alterações morfológicas, passando por três ecdises, transformando-se em terceiro e quarto estágio juvenil e finalmente torna-se adulto (MOENS et al., 2009). As células adjacentes às células gigantes sofrem distúrbio hormonal (hiperauxina), levando à hiperplasia e hipertrofia das mesmas, dando origem às galhas que geralmente se desenvolvem de 1 a 2 dias após a penetração do J₂ (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991). O tamanho das galhas é normalmente relacionado com o número de nematoides presentes no tecido, mas também pode depender da espécie de planta parasitada (ORNAT; SORRIBAS, 2008). As galhas induzidas pela maioria das espécies de *Meloidogyne* são semelhantes na sua morfologia. Algumas espécies, contudo, tal como *M. exigua* e *M. hapla*, produzem galhas características que podem ser úteis na identificação das espécies (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991).

A relação íntima entre o nematoide das galhas e o hospedeiro é controlada por sistemas genéticos de ambos os organismos (HUSSEY; JANSSEN, 2002). De acordo com Van Der Plank (1968), há dois tipos de resistência de plantas aos patógenos: vertical e horizontal. A vertical ou específica caracteriza-se quando uma cultivar é resistente a alguma (s) raça (s) do patógeno. Neste caso ocorre interação diferencial entre cultivares do hospedeiro e raças do patógeno. É monogênica ou oligogênica, sendo conferida por um ou poucos genes e de fácil manipulação. A resistência horizontal é comumente denominada resistência de campo ou não específica, sendo controlada por muitos genes (poligênica), que se completam, o que se admite como um fator de maior estabilidade. Não ocorre uma interação diferencial entre cultivares do hospedeiro e raças do patógeno. É usualmente efetiva contra todas as raças, não sendo facilmente “quebrada” por elas. A determinação de seu mecanismo de ação e a sua manipulação são difíceis, pois sua herança equivale a caracteres quantitativos, ou fatores múltiplos, que variam de forma contínua (BUENO, 2001; FERREIRA, 2006).

2.2.4 Controle e resistência de nematoides em alface

O controle dos nematoides das galhas é muito difícil devido a diversos fatores, dentre os quais destacam-se a ampla gama de hospedeiros da maioria das espécies deste gênero, o que facilita a sua perpetuação (FREIRE et al., 2002). De acordo com Taylor; Sasser (1983), o controle dos nematoides visa melhorar a qualidade da produção em áreas comerciais e deste modo, tais medidas implicam em reduzir a população abaixo do nível de dano econômico, já que a eliminação é extremamente difícil.

O princípio de controle mais importante a ser utilizado para o manejo de fitonematoides é a exclusão, pois uma vez introduzido em uma área de cultivo sua eliminação é praticamente impossível, seu controle torna-se difícil e caro (TIHOHOD, 2000; FERRAZ, 2010). Medidas preventivas, como a limpeza de ferramentas e maquinários agrícolas são de extrema importância (FANCELLI, 2005).

O controle químico é uma prática ocasionalmente utilizada no manejo dos nematoides das galhas. Contudo, esses produtos são tóxicos e de longo efeito residual nas folhas (TIHOHOD, 2000; CARVALHO FILHO et al., 2008). Dessa forma, o método mais seguro, econômico e de fácil utilização para controle dos nematoides seria a implantação de cultivares resistentes (CANTO-SAÉNIZ, 1985; JACQUET et al. 2005; HIDALGO-DIAZ; KERRY, 2008; ANWAR; MCKENRY, 2010; CARVALHO FILHO et al., 2011b).

A identificação de fontes de resistência aos nematoides das galhas em alface, preferencialmente entre as cultivares comerciais, bem como a busca pelo desenvolvimento de cultivares resistentes, adaptadas às diversas condições brasileiras, tem sido foco de alguns pesquisadores, especialmente a partir do início da década de 90 (FIORINI et al., 2005). Charchar; Moita (1996) ao avaliarem 45 cultivares de alface de diferentes tipos em solo naturalmente infestado com mistura de *M. incognita* raça 1 e *M. javanica*, verificaram que dentre os materiais avaliados, todas as cultivares de folhas crespas apresentaram maiores níveis de resistência a esses patógenos, onde se destacou a cultivar ‘Grand Rapids’.

Em outros estudos, Stangarling (1997), ao pesquisar a variabilidade do vírus do mosaico da alface e o comportamento de cultivares tolerantes, propôs que a utilização da cultivar ‘Salinas 88’ como fonte de resistência aos nematoides pode ser de grande importância para os programas de melhoramento, dado ao fato de que a mesma apresenta também resistência ao *Lettuce mosaic virus* (LMV), doença que causa perdas significativas na cultura em todo o mundo. Gomes et al., (2002) verificaram que as cultivares Salinas 88, Lorca e Legacy apresentaram resistência a *M. incognita*. Maluf et al. (2003) evidenciaram também a resistência da cultivar ‘Salinas 88’, tanto a *M. incognita* quanto a *M. javanica*. Florentino et al. (2003) ao trabalharem com seis cultivares de alface, em casa de vegetação, em uma área naturalmente infestada por nematoides das galhas, evidenciaram que as cultivares do tipo americana ‘Legacy’, ‘Lorca’ e ‘Madonna’, apresentaram menores índices de infecção radicular.

Gomes (2000), pelo cruzamento entre as cultivares Regina 71 e Grand Rapids, respectivamente suscetível e resistente aos nematoides das galhas *Meloidogyne* spp., verificou que a resistência da cultivar Grand Rapids às raças 1, 2, 3 e 4 de *M. incognita* é controlada por um único loco gênico, com efeito predominantemente aditivo, além de apresentar herdabilidade relativamente alta. Azevedo (2000) realizou as mesmas avaliações para *M. javanica*, observando também ser a herança monogênica. Resultados semelhantes foram obtidos por Carvalho Filho et al. (2008) ao avaliar a resistência à *M. incognita* raça 1, a partir do cruzamento entre ‘Salinas 88’ (resistente) e ‘Regina 71’ (suscetível). Foi verificado que além de um único loco gênico de efeito dominante, os genes modificadores com efeitos menores podem também estar envolvidos no processo de resistência.

CAPÍTULO I

“Reação de cultivares de alface americana a *Meloidogyne incognita* raças 1 e 2 e *M. javanica*”
(artigo redigido conforme normas da revista *Summa Phytopathologica*)

Reação de cultivares de alface americana a *Meloidogyne incognita* raças 1 e 2 e *M. javanica*

Érika Cristina Souza da Silva Correia¹, Noberto da Silva², Marylia Gabriela Silva Costa¹, Silvia Renata Siciliano Wilcken¹

¹Departamento de Proteção Vegetal, UNESP/FCA, 18.610-307, Botucatu, SP; ²Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal, UNESP/FCA, 18.610-307, Botucatu, SP.

Autora para correspondência: Silvia Renata Siciliano Wilcken (srenata@fca.unesp.br)

RESUMO

A alface é a hortaliça folhosa mais consumida no mundo, o que assegura à cultura expressiva importância econômica. Dentre os problemas fitossanitários, comuns na cultura, pode-se citar a incidência de nematoides de galhas, representados pelas espécies do gênero *Meloidogyne*. Este trabalho teve como objetivo avaliar a resistência de *Meloidogyne incognita* raças 1 e 2 e *M. javanica* em cultivares de alface do grupo americano. As plantas foram inoculadas com 5.000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio do nematoide em teste por vaso, dois dias após o transplante das cultivares. O tomateiro ‘Rutgers’ foi utilizado como padrão de viabilidade de *M. incognita* raças 1 e 2 e *M. javanica*. As variáveis avaliadas foram: o índice de galhas, o índice de massa de ovos e o fator de reprodução do nematoide, avaliadas 60 dias após a inoculação. Os resultados obtidos mostraram a resistência das cultivares Ithaca, RS-1397, Raider Plus, Challenge, L-104, IP-11, Salinas 88, Calona, Desert Queen, Classic e Vanguard 75 a *M. incognita* raça 1, com FR variando de 0,19 a 0,88; e das cultivares Desert Queen, L-104, Salinas 88, Vanguard 75, Robinson, RS-1397, Challenge, Raider Plus, Classic, Calona, Ithaca, Lady, IP-11 e Winterset, a *M. incognita* raça 2, com FR variando de 0,23 a 0,93. Todas as cultivares avaliadas foram resistentes a *M. javanica*, apresentando FR inferior a 1,0. As cultivares Lady, Robinson, Sonoma, Winterset, Lucy Brown, Raider, Bnondaga, Summer Time, Sundevil, Tainá e L-109 foram suscetíveis a *M. incognita* raça 1, com FR variando entre 1,1 e 5,6; e as cultivares Sonoma, Bnondaga, Lucy Brown, Tainá, Raider, L-109, Summer Time e Sundevil foram suscetíveis à *M. incognita* raça 2, com FR variando entre 1,39 a 4,64.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L., nematoide das galhas, fator de reprodução.

ABSTRACT

Reaction of cultivars lettuce to *Meloidogyne incognita* races 1 and 2 and *M. javanica*

The lettuce is the vegetable more consumed in the world, which ensures to culture expressive economical importance. Among the phytosanitary problems, common in the culture, can be mentioned the incidence of root-knot nematodes, represented by species of the genus *Meloidogyne*. This work aimed evaluate the resistance of *Meloidogyne incognita* races 1 and 2 and *M. javanica* in lettuce cultivars. The plants were inoculated with 5,000 eggs and possible second stage juvenile of the nematode in test per pot, two days after the sowing. 'Rutgers' tomato was used as standard for inoculum viability of *M. incognita* races 1 and 2 and *M. javanica*. The variables evaluated were: galls index, egg mass index and reproduction factor the nematode, evaluate 60 days after inoculation. The 'Ithaca', 'RS-1397', 'Raider Plus', 'Challenge', 'L-104', 'IP-11', 'Salinas 88', 'Calona', 'Desert Queen', 'Classisc' and 'Vanguard 75' were resistant to *M. incognita* race 1, with RF varying from 0.19 to 0.88, and the 'Desert Queen', 'L-104', 'Salinas 88', 'Vanguard 75', 'Robinson', 'RS-1397', 'Challenge', 'Raider Plus', 'Classic', 'Calona', 'Ithaca', 'Lady', 'IP-11' e 'Winterset' were resistant to *M. incognita* race 2, with RF varying from 0.23 to 0.93. All cultivars were resistant to *M. javanica*, with RF less than 1.0. The cultivars Lady, Robinson, Sonoma, Winterset, Lucy Brown, Raider, Bnondaga, Summer Time, Sundevil, Tainá and L-109 were susceptible to *M. incognita* race 1, with RF ranging from 1.1 to 5.6, and the cultivars Sonoma, Bnondaga, Lucy Brown, Tainá, Raider, L-109, Summer Time and Sundevil were susceptible to *M. incognita* race 2, with RF ranging from 1.39 to 4.64.

Keywords: *Lactuca sativa* L., root-knot nematodes, reproduction factor.

INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais importante no mundo sendo consumida, principalmente, *in natura* na forma de saladas (18). No Brasil, a produção desta cultura localiza-se principalmente nas cidades de médio e grande porte, em áreas conhecidas como cinturões verdes (2). Em algumas centrais de distribuição, o conjunto das espécies de alface representa quase 50% de todas as folhosas que são comercializadas e, dentre essas, a americana corresponde a quase 40% do total (13).

O cultivo consecutivo dessa hortaliça tem aumentado as populações de nematoides parasitas, chegando a causar danos econômicos consideráveis. As espécies *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, 1949 e *M. javanica* (Treub) Chitwood, 1949 se destacam dentre os nematoides de importância para a cultura da alface (21). As plantas de alface, quando atacadas pelos nematoides, apresentam debilidade intensa ocasionada pela densa formação de galhas no sistema radicular, que resultam em restrições à absorção e ao transporte de água e nutrientes a partir do solo, ficando cloróticas, com tamanho reduzido, pequeno volume foliar e sem valor para o consumo *in natura* (4, 5, 16).

O controle dos fitonematoides em áreas infestadas de plantio de alface tem se mostrado problemático e a rotação de cultura, método muitas vezes recomendado no controle de nematoides parasitas de plantas, é de difícil utilização devido ao intenso cultivo nas mesmas áreas (21). A utilização de nematicidas também não é recomendada, pois por ser de ciclo curto, a alface pode apresentar resíduos do produto aplicado (8). O uso de cultivares resistentes é, portanto, o método ideal de controle de nematoides fitoparasitas em alface (8, 12, 21).

A identificação de fontes de resistência entre as cultivares comerciais e a busca pelo desenvolvimento de cultivares resistentes, adaptadas às diversas condições brasileiras, têm sido foco de pesquisas, especialmente a partir do início da década de 90 (9). Embora exista um número relativo de estudos quanto à reação de alfases crespas e lisas às diferentes espécies de *Meloidogyne*, os estudos com cultivares de alface do grupo americano são escassos (4, 8, 17).

Wilcken et al. (21) utilizando como variável o FR do nematoide, verificaram a resistência de 13 cultivares de alface americana a *Meloidogyne incognita* raça 2 dentre 23 testadas. Entre as que se destacaram, 'Salinas 88' se mostrou promissora. Posteriormente, esta

cultivar foi utilizada em cruzamento com as cultivares Colorado e Verônica, visando incorporar esta e outras características de interesse nas linhagens obtidas, que foram avaliadas tendo como variável o índice de galhas (3, 19).

Sendo assim, visando a busca de mais informações quanto a reação de cultivares de alface do tipo americana aos nematoide das galhas, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência de vinte e duas cultivares de alface a *M. incognita* raças 1 e 2 e *M. javanica*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na casa de vegetação do Departamento de Proteção Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista ‘Júlio de Mesquita Filho’ – Campus de Botucatu (FCA/UNESP), separadamente para cada espécie de nematoide, seguindo a mesma metodologia.

As cultivares de alface utilizadas neste estudo foram: ‘Lucy Brown’, ‘Robinson’, ‘Calona’, ‘Classic’, ‘Vanguard 75’, ‘Winterset’, ‘Salinas 88’, ‘Bnondaga’, ‘Ithaca’, ‘Raider Plus’, ‘Desert Queen’, ‘Sonoma’, ‘IP-11’, ‘Sundevil’, ‘Challenge’, ‘Summer Time’, ‘L-104’, ‘L-109’, ‘Tainá’, ‘Raider’, ‘Lady’ e ‘RS-1397’, todas cedidas pelo prof. Dr. Noberto da Silva do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal, da Faculdade de Ciências Agronômicas, Campus de Botucatu - FCA/UNESP.

As sementes foram transferidas para bandejas de isopor composta por 128 células com substrato esterilizado, para germinarem. Ao completarem 25 dias de idade, foram transplantadas em vasos definitivos de 2 L contendo substrato composto por terra, areia e matéria orgânica (1:2:1), previamente autoclavados.

O inóculo de *M. incognita* raça 1 utilizado nesse trabalho foi obtido a partir de amostras de tecidos radiculares de plantas de alface coletadas em 2011, proveniente do município de Pouso Alegre, MG. A população de *M. incognita* raça 2, por sua vez, foi obtida de raízes de cafeeiro oriunda do município de Oswaldo Cruz, SP, enquanto que a população de *M. javanica* foi obtida de raízes de tomateiro ‘Magali’, proveniente do município de Santa Rosa, RS. As espécies foram identificadas pelo padrão perineal das fêmeas e pelo padrão eletroforético de isoenzimas de acordo com Oliveira & Tomazini (14) e têm sido mantidas no

tomateiro 'Rutgers' na casa de vegetação do Departamento de Proteção Vegetal. Para a identificação das raças fisiológicas de *M. incognita* foi realizado teste de reação em hospedeiros diferenciais (20).

As populações puras de *M. incognita* raças 1 e 2 e *M. javanica*, foram multiplicadas em plantas de tomateiro 'Rutgers' em vasos de 1 L contendo substrato autoclavado. Na sequência, as plantas foram mantidas em casa de vegetação, por um período de 60 dias e em seguida, as raízes altamente infectadas do tomateiro 'Rutgers' foram processadas de acordo com Hussey & Baker (10), modificada por Bonetti & Ferraz (1) para a extração dos ovos.

A determinação do número de ovos, e eventuais juvenis recém-eclodidos na suspensão foi efetuada com o auxílio da lâmina de Peters, sob microscópio de luz. Na sequência, as plantas de alface previamente transplantadas para vasos de 2 L contendo substrato esterilizado, foram inoculadas individualmente com 5.000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio (Pi) da população do nematoide em teste, dois dias após o transplante. A inoculação foi efetuada colocando-se 2 mL da suspensão de inóculo em dois orifícios de 3 cm de profundidade na rizosfera de cada planta. O tomateiro 'Rutgers' foi utilizado como padrão de viabilidade do inóculo.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento, sendo cada parcela constituída por uma planta.

As avaliações foram conduzidas aos 60 dias após a inoculação. Para isto, os sistemas radiculares das cultivares foram lavados individualmente sob água corrente, pesados após a retirada do excesso de água com papel toalha e submetidos à coloração com Floxine B, para facilitar a contagem das massas de ovos (20).

Os índices de galhas (IG) e de massas de ovos (IMO) encontrados foram obtidos de acordo com a escala de notas e assim classificados: nota 0 (sem galhas ou sem massas de ovos); nota 1 (1 a 2 galhas ou massas de ovos); nota 2 (3 a 10 galhas ou massas de ovos); nota 3 (11 a 30 galhas ou massas de ovos); nota 4 (31 a 100 galhas ou massas de ovos) e nota 5 (mais de 100 galhas ou massas de ovos por raiz) (20). Ao término das contagens do número de galhas e de massas de ovos, os sistemas radiculares foram processados segundo o método de Coolen & D'Herde (6) usando solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, no lugar da água, para triturar as raízes no liquidificador. A determinação do número final de ovos e eventuais

juvenis recém-eclodidos na suspensão foi efetuada com o auxílio da lâmina de Peters, sob microscópio de luz. Esse número foi empregado para a obtenção do fator reprodutivo (população final do nematoide (Pf)/ população inicial (número de ovos utilizado nas inoculações do nematoide) (Pi)), segundo Oostenbrink (15), ou seja, igual ou maiores que 1,0, suscetíveis (S) e menores que 1,0, resistentes (R).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 1) verifica-se que houve diferenças entre os tratamentos quanto ao fator de reprodução (FR) de *M. incognita* raça 1. Esses resultados indicam a existência de variabilidade genética entre os materiais testados, sendo um indicativo importante para programas de melhoramento genético visando resistência de alface aos nematoides de galhas. Os valores do IG variaram de 3,0 ('Sonoma') a 5,0 ('Lucy Brown') e do IMO variaram de 1,6 ('Ithaca') a 4,6 ('Tainá'). O tomateiro 'Rutgers' utilizado como testemunha apresentou fator de reprodução de 5,18, confirmando a viabilidade do inóculo.

As cultivares Ithaca, RS-1397, Raider Plus, Challenge, L-104, IP-11, Salinas 88, Calona, Desert Queen, Classic e Vanguard 75 apresentaram $FR < 1,0$ e, portanto, se comportaram como resistentes à *M. incognita* raça 1, com FR variando de 0,19 a 0,88. Dentro deste grupo, as alfaces que exibiram FR mais próximo a zero foram: 'Ithaca' (FR= 0,19), 'RS-1397' (FR= 0,3), 'Raider Plus' (FR= 0,41), 'Challenge' (FR= 0,5), 'L-104' (FR= 0,62) e 'IP-11' (FR= 0,64), não diferindo estatisticamente entre si.

Comportaram-se como suscetíveis a *M. incognita* raça 1, as alfaces 'Lady', 'Robinson', 'Sonoma', 'Winterset', 'Lucy Brown', 'Raider', 'Bnondaga', 'Summer Time', 'Sundevil', 'Tainá' e 'L-109', com FR variando entre 1,1 e 5,6. Entre estes materiais, verifica-se que 'Lady' (FR= 1,1), 'Robinson' (FR= 1,12), 'Sonoma' (FR=1,25) e 'Winterset' (FR= 1,35) embora tenham sido favoráveis à multiplicação do nematoide não diferiram estatisticamente das cultivares resistentes 'Salinas 88' (FR= 0,75), 'Calona' (FR= 0,77), 'Desert Queen' (FR= 0,82), 'Classic' (FR= 0,83) e 'Vanguard 75' (FR= 0,88). A alface 'L-109' (FR= 5,6) apresentou o maior fator reprodutivo do nematoide entre todas as alfaces estudadas, seguida da 'Tainá' (FR= 5,1), 'Sundevil' (FR= 4,53) e 'Summer Time' (FR= 4,5).

Os resultados no experimento com *M. incognita* raça 2 (Tabela 2) mostram que houve diferenças significativas quanto ao fator de reprodução (FR) nas cultivares estudadas. Os valores do IG variaram de 1,6 ('Raider') a 4,8 ('Bnondaga' e 'Raider Plus') e do IMO variaram de 1,0 ('Vanguard 75') a 4,8 ('Bnondaga'). O tomateiro 'Rutgers' apresentou FR de 17,41, comprovando a viabilidade do inóculo de *M. incognita* raça 2.

As cultivares Desert Queen, L-104, Salinas 88, Vanguard 75, Robinson, RS-1397, Challenge, Raider Plus, Classic, Calona, Ithaca, Lady, IP-11 e Winterset foram resistentes à multiplicação do nematoide, com $FR < 1,0$, embora, tenha havido diferenças significativas entre as cultivares.

Entre os materiais avaliados, as alfaces 'Sonoma', 'Bnondaga', 'Lucy Brown', 'Tainá', 'Raider', 'L-109', 'Summer Time' e 'Sundevil' foram suscetíveis a *M. incognita* raça 2, com $FR > 1,0$. Esses materiais proporcionaram o aumento da população inicial do nematoide, com FR variando entre 1,39 a 4,64. As cultivares Sonoma (FR= 1,39) e Bnondaga (FR= 1,42) apresentaram os menores valores de FR, diferindo estatisticamente das demais plantas testadas, enquanto que, 'L-109' (FR= 4,0), 'Summer Time' (FR= 4,32) e 'Sundevil' (FR= 4,64), tiveram as maiores médias de FR, também diferindo estatisticamente das demais plantas avaliadas.

Os resultados da Tabela 3 mostram que todas as cultivares de alface testadas apresentaram $FR < 1,0$ e, portanto, consideradas resistentes a *M. javanica*. O tomateiro 'Rutgers' apresentou FR de 7,37, comprovando a viabilidade do inóculo de *M. javanica*.

A resistência da alface 'Classic' foi verificada para população mista de *M. incognita* raça 1 e *M. javanica* (4). Tal resultado concorda com aqueles ora obtidos, embora, no presente trabalho tenha-se utilizado população pura de *M. incognita* raça 1 e *M. javanica*. A resistência das alfaces 'Challenge', 'Salinas 88', 'Classic' e 'Vanguard 75' já haviam sido relatadas para *M. incognita* raça 2 (21). Tais cultivares também se mostraram resistentes a *M. incognita* raças 1 e 2 no presente estudo. A reação da resistência das cultivares Tainá e Lucy Brown a *M. javanica* já havia sido verificada em campo e em casa de vegetação (7, 11). A reação de suscetibilidade encontrada nas cultivares Lucy Brown, Sonoma, Sundevil, Summer Time e Raider corroboram os resultados obtidos por Wilcken et al. (21).

Os IG e IMO de *M. incognita* raças 1 e 2 atribuídos às cultivares de alface avaliadas apresentaram relação com os FR dos nematoides, exceto para a alface 'L-104' a *M. incognita* raça 1 e 'Raider Plus' a *M. incognita* raça 2, que apresentaram IG e IMO elevados e FR baixos; isso pode ser justificado devido ao provável baixo número de ovos em cada massa gelatinosa. Os IG e IMO no experimento com *M. javanica* se apresentaram baixos assim como o FR do nematoide em todas as cultivares avaliadas, isso indica uma maior resistência desses materiais a essa espécie, pois os IG baixos demonstram a dificuldade dos nematoides estabelecer o parasitismo nas raízes destas cultivares de alface.

Tabela 1 – Valores médios do índice de galhas (IG), índice de massas de ovos (IMO) e fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne incognita* raça 1 em vinte e duas cultivares de alface do grupo americano.

Cultivar	IG	IMO	FR ¹	Reação ²
Ithaca	3,6	1,6	0,19 a	R
RS-1397	3,4	1,8	0,30 a	R
Raider Plus	3,2	1,8	0,41 a	R
Challenge	3,6	2,8	0,50 a	R
L-104	4,6	4,2	0,62 a	R
IP-11	3,2	2,0	0,64 a	R
Salinas 88	3,6	2,6	0,75 b	R
Calona	4,6	3,4	0,77 b	R
Desert Queen	3,6	2,4	0,82 b	R
Classic	4,8	3,0	0,83 b	R
Vanguard 75	3,6	2,6	0,88 b	R
Lady	3,6	3,0	1,10 b	S
Robinson	4,0	3,0	1,12 b	S
Sonoma	3,0	2,4	1,25 b	S
Winterset	3,8	2,4	1,35 b	S
Lucy Brown	5,0	3,8	3,01 c	S
Raider	3,6	3,4	3,19 c	S
Bnondaga	4,8	4,2	3,48 c	S
Summer Time	4,6	4,4	4,50 d	S
Sundevil	4,4	4,0	4,53 d	S
Tainá	4,6	4,6	5,10 d	S
L-109	4,4	4,2	5,60 d	S
CV (%)			15,80	

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-knott a 5% de probabilidade. Análise realizada a partir de dados transformados em $\sqrt{x+0,5}$. ²R= resistente (FR < 1,0) e S= suscetível (FR > 1,0), segundo Oostenbrink (1966).

Tabela 2 – Valores médios do índice de galhas (IG), índice de massas de ovos (IMO) e fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne incognita* raça 2 em vinte e duas cultivares de alface do grupo americano.

Cultivar	IG	IMO	FR ¹	Reação ²
Desert Queen	2,8	2,2	0,23 a	R
L-104	3,0	1,8	0,23 a	R
Salinas 88	1,8	1,4	0,24 a	R
Vanguard 75	2,0	1,0	0,27 a	R
Robinson	3,2	2,2	0,28 a	R
RS-1397	3,4	2,4	0,28 a	R
Challenge	2,4	1,4	0,33 a	R
Raider Plus	4,8	4,2	0,41 a	R
Classic	3,6	2,4	0,43 a	R
Calona	3,0	2,4	0,52 a	R
Ithaca	3,4	3,0	0,70 b	R
Lady	3,4	2,4	0,81 b	R
IP-11	2,8	1,6	0,88 b	R
Winterset	2,6	1,6	0,93 b	R
Sonoma	2,8	1,4	1,39 c	S
Bnondaga	4,8	4,8	1,42 c	S
Lucy Brown	4,2	3,2	2,10 d	S
Tainá	2,4	2,0	2,37 d	S
Raider	1,6	1,4	2,78 e	S
L-109	3,2	2,2	4,0 f	S
Summer Time	2,8	2,0	4,32 f	S
Sundevil	3,6	2,4	4,64 f	S
CV (%)			9,08	

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-knott a 5% de probabilidade. Análise realizada a partir de dados transformados em $\sqrt{x+0,5}$. ²R= resistente (FR < 1,0) e S= suscetível (FR > 1,0), segundo Oostenbrink (1966).

Tabela 3 – Valores médios do índice de galhas (IG), índice de massas de ovos (IMO) e fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne javanica* em vinte e duas cultivares de alface do grupo americano.

Cultivar	IG	IMO	FR	Reação ¹
Bnondaga	0	0	0	R
Raider Plus	0	0	0	R
Desert Queen	0	0	0	R
IP-11	0	0	0	R
Challenge	0	0	0	R
Ithaca	0,8	0,4	0,01	R
Lucy Brown	2,0	1,0	0,02	R
Calona	1,6	1,0	0,02	R
Classic	1,2	1,0	0,02	R
Vanguard 75	1,0	1,0	0,02	R
Winterset	1,6	1,2	0,02	R
Salinas 88	1,6	1,0	0,02	R
Sonoma	1,0	1,0	0,02	R
Sundevil	1,4	1,0	0,02	R
Summer Time	1,0	1,0	0,02	R
L-109	2,0	1,2	0,02	R
Tainá	1,2	1,0	0,02	R
Raider	1,6	1,0	0,02	R
Lady	1,4	1,0	0,02	R
RS-1397	1,6	1,4	0,03	R
Robinson	2,0	1,0	0,05	R
L-104	2,4	1,6	0,06	R
CV (%)			0,75	

¹R= resistente (FR < 1,0) e S suscetível (FR > 1,0), segundo Oostenbrink (1966).

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado da primeira autora; à Universidade Estadual Paulista ‘Júlio de Mesquita Filho’ (UNESP – Botucatu), pela disponibilização das estruturas para realização do trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bonetti, J.I.S.; Ferraz, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, n.3, p. 553, 1981.
2. Camargo Filho, W.P.; Camargo, F.P. Planejamento da produção sustentável de hortaliças folhosas: organização das informações decisórias ao cultivo. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.38, n. 3, p. 27-36, 2008.
3. Carvalho Filho, J.L.S.; Gomes, L.A.A.; Silva, R.R.; Ferreira, S.; Carvalho, R.R.C. Incidência de galhas de *Meloidogyne incognita* raça 1 em progênies de F_{2:3} (‘Salinas 88’ x ‘Colorado’) de alface. **Scientia Plena**, Aracajú, v.8, n.2, p. 1-7, 2012.
4. Charchar, J.M.; Moita, A.W. Reação de cultivares de alface a infecção por mistura populacionais de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em condições de campo. **Horticultura brasileira**, Brasília, v.14, n.2, p. 185-189, 1996.
5. Charchar, J.M.; Moita, A.W. **Metodologia para seleção de hortaliças com resistência a nematoides: Alface/*Meloidogyne* spp.** Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005, 8p.
6. Coolen, W.A.; D’Herde, C.J. **A method for quantitative extraction of nematodes from plant tissue.** State Nematology and Entomology Research Station, Ghent. 1972, 77p.
7. 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, n.2, p. 322-326, 2012.

8. Ferreira, S.; Vieira, V.L.F.; Gomes, L.A.A.; Maluf, W.R.; Carvalho Filho, J.L.S. Identificação de linhagens avançadas de alface quanto à resistência a *Meloidogyne javanica*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n. 2, p. 270-277, 2011.
9. Fiorini, C.V.A.; Gomes, L.A.A.; Maluf, W.R.; Fiorini, I.V.A.; Duarte, R.P.F.; Licurse, V. Avaliação de populações F₂ de alface quanto a resistência aos nematoides das galhas e tolerância ao florescimento precoce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p. 299-302, 2005.
10. Hussey, R.S.; Baker, K.R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* sp, including a new technique. **Plant Disease Report**, Saint Paul, v.57, n.12, p. 1025-1028, 1973.
11. Lédo, F.J.S.; Sousa, J.A.S.; Silva, M.R. Desempenho de cultivares de alface no Estado do Acre. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.18, n.3, p. 225-228, 2000.
12. Moens, M.; Perry, N.R.; Starr, F.L. *Meloidogyne* species - a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY RN; MOENS M; STARR JL. **Root-knot nematodes**. Wallingford: CAB International, 2009. p. 1-17.
13. Moretti, C.L.; Mattos, L.M. **Processamento mínimo de alface crespa**. Brasília: Comunicado técnico 36/ Embrapa Hortaliças. 2006. p. 1-7.
14. Oliveira, C.M.G.; Tomazini, M.D.O. Procedimentos para eletroforese de isoenzimas. In: **Curso de identificação de espécies de Meloidogyne através da técnica de eletroforese de isoenzimas**. Botucatu. 2008. 34p.
15. Oostenbrink, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Mededeelingen der Landbouw-Hoogeschool**, Wageningen, v.66, n.4, p. 3-46, 1966.
16. Orenat, C.; Sorribas, F.J. Integrated management of root-knot nematodes in mediterranean horticultural crops. In: Ciancio, A.; Mukerji, K.G. **Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes**. Dordrecht: Springer, 2008, p. 259-312.
17. Rosa, J.M.O.; Westerich, J.N.; Wilcken, S.R.S. Reprodução de *Meloidogyne javanica* em olerícolas e em plantas utilizadas na adubação verde. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.38, n.2, p.133-141, 2013.

18. Sala, F.C.; Costa, C.P. Retrospectiva e tendência da alfacultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.30, n.2, p. 187-194. 2012.
19. Silva, R.R.; Gomes, L.A.A.; Monteiro, A.B.; Maluf, W.R.; Carvalho Filho, J.L.S.; Massaroto, J.A. Linhagens de alface-crespa para o verão resistentes ao *Meloidogyne javanica* e ao vírus mosaico-da-alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.10, p. 1349-1356, 2008.
20. Taylor, A.L.; Sasser, J.N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. Raleigh, North Carolina State University. 1978. 111p.
21. Wilcken, S.R.S.; Garcia, M.J.D.M.; Silva, N. Resistência de alface do tipo americana a *Meloidogyne incognita* raça 2. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.29, n.2, p. 267-271, 2005.

CAPÍTULO II

“Multiplicação de *Meloidogyne enterolobii* em cultivares de alface do grupo americano”

(artigo redigido conforme normas da revista Horticultura Brasileira)

Multiplicação de *Meloidogyne enterolobii* em cultivares de alface do grupo americano

Érika Cristina S da S Correia¹, Noberto da Silva², Marylia Gabriela S Costa¹, Silvia Renata S Wilcken¹

¹UNESP-FCA-Depto de Proteção Vegetal, C. Postal 23, 18.610-307, Botucatu-SP; erikacorreia@fca.unesp.br; maryliagabriella@fca.unesp.br; srenata@fca.unesp.br; ²UNESP-FCA-Depto de Produção e Melhoramento Vegetal, C. Postal 23, 18.610-307, Botucatu-SP; nobertosv@fca.unesp.br

RESUMO

A alface é a principal hortaliça folhosa cultivada no Brasil, tanto em volume como em valor comercializado, apresentando ótima aceitação pelo consumidor. Em áreas de cultivo, a alface tem a sua produtividade comprometida por diversas enfermidades, incluindo as causadas pelos nematoides das galhas, *Meloidogyne* spp. Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial reprodutivo de *Meloidogyne enterolobii* em vinte e duas cultivares de alface do tipo americana. As plantas foram inoculadas com 5.000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio do nematoide em teste por vaso, dois dias após o transplante das cultivares. O tomateiro 'Rutgers' foi utilizado como padrão de viabilidade do inóculo de *M. enterolobii*. As variáveis avaliadas foram: o índice de galhas, o índice de massas de ovos e o fator de reprodução do nematoide, avaliadas 60 dias após a inoculação. Os resultados obtidos mostraram que as cultivares Ithaca, Raider Plus, RS-1397, L-104, Challenge, IP-11, Classic, Salinas 88, Vanguard 75, Calona e Desert Queen apresentaram resistência a *M. enterolobii*, com FR variando de 0,22 a 0,9, e as cultivares Lady, Winterset, Robinson, Sonoma, Raider, Lucy Brown, Bnondaga, Summer Time, Tainá, Sundevil e L-109 foram suscetíveis a esse nematoide, com FR variando de 1,06 a 5,73.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L., nematoide das galhas, melhoramento genético.

ABSTRACT

Multiplication of *Meloidogyne enterolobii* in lettuce cultivars of the american group

The lettuce is the main vegetable cultivated in Brazil, in volume and in marketed value, presenting great acceptance for the consumer. In cultivation areas, the lettuce has productivity compromised per various diseases, including them caused by root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. This work aimed evaluate the reproductive potential of *Meloidogyne enterolobii* in twenty-two lettuce cultivars. The plants were inoculated with 5,000 eggs and possible second stage juvenile of the nematode in test per pot, two days after the sowing of the cultivars. 'Rutgers' tomato was used as standard for inoculum viability of *M. enterolobii*. The variables evaluated were: gall index, egg mass index and reproduction factor the nematode, evaluate 60 days after inoculation. The 'Ithaca', 'Raider Plus', 'RS-1397', 'L-104', 'Challenge', 'IP-11', 'Classic', 'Salinas 88', 'Vanguard 75', 'Calona' and 'Desert Queen' were resistant to *M. enterolobii* with RF varying from 0.22 to 0.9, and the cultivars Lady Winterset, Robinson, Sonoma, Raider, Lucy Brown, Bnondaga, Summer Time, Taina, Sundevil and L-109 were susceptible this nematode, with RF ranging from 1.06 to 5.73.

Keywords: *Lactuca sativa* L, root-knot nematodes, plant breening.

INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a mais importante hortaliça folhosa cultivada no mundo (Sala; Costa, 2012). Originalmente de clima temperado, a sua adaptação a regiões de temperaturas elevadas, tem gerado obstáculos ao seu crescimento e desenvolvimento, impedindo que a cultura expresse todo o seu potencial genético. Nestas condições, ocorre redução do ciclo da cultura, comprometendo sua produção, devido à aceleração do seu metabolismo e, conseqüentemente, a antecipação da fase reprodutiva (Grangeiro *et al.*, 2006). Entretanto, ao longo dos anos, através de programas de melhoramento genético da

alface, houve o desenvolvimento de cultivares adaptadas a diferentes condições climáticas, com isso tornou-se possível plantar e colher alface de boa qualidade durante todo o ano em países tropicais e subtropicais, como o Brasil (Filgueira, 2003).

Apesar dos grandes avanços conseguidos por meio dos trabalhos de melhoramento genético, com a geração de cultivares de alface mais adaptadas às condições tropicais, muitos problemas persistem e é necessária uma constante busca por genótipos mais competitivos (Carvalho Filho *et al.*, 2011). Entre estes problemas, encontra-se o parasitismo de nematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, especialmente as espécies *M. incognita* e *M. javanica* (Charchar & Moita, 2005; Sikora & Fernandez, 2005; Wilcken *et al.*, 2005).

Atualmente, *M. enterolobii* tem causado grande preocupação devido sua alta agressividade em diversas espécies vegetais, incluindo hortaliças, frutíferas e ornamentais (Guimarães *et al.*, 2003; Brito *et al.*, 2007; Kaur *et al.*, 2007). Em geral, plantas que apresentam resistência às espécies *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, como por exemplo, genótipos de tomate e pimentão que carregam o gene *Mi-1* e *N*, são suscetíveis a *M. enterolobii* (Moens *et al.*, 2009; Bitencourt & Silva, 2010).

Isolados de *M. enterolobii* provenientes da Florida foram capazes de contornar a resistência de tomateiro e pimentão que apresentavam os genes de resistência *Mi-1* e *N*, respectivamente, por meio da sua capacidade de multiplicação (Brito *et al.*, 2007). O mesmo foi verificado em estudos desenvolvidos na Suíça com outras cultivares de tomateiro e pimentão que apresentavam estes genes de resistência (Kiewnick *et al.*, 2009). No Brasil, esta capacidade de *M. enterolobii* em se desenvolver em tomateiros portadores do gene *Mi-1* foi verificada em oito porta-enxertos (Cantu *et al.*, 2009). Estudos biológicos e histopatológicos conduzidos em tomateiro resistente a *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* ('Magnet') e suscetível ('Rutgers') demonstraram a capacidade de *M. enterolobii* de desenvolver células nutridoras e se multiplicar em ambos os tomateiros, enquanto *M. javanica* só produziu células nutridoras e se reproduziu em tomateiro sem o gene *Mi* (Westerich *et al.*, 2011, 2012).

Estudos desenvolvidos em Cuba verificando a reação de diferentes espécies vegetais a *M. enterolobii* baseando-se no FR do mesmo, demonstraram a resistência da alface 'Black Seed Simpson' a esse nematoide (Rodriguez *et al.*, 2003). No Brasil, as cultivares de alface do tipo americana, 'Grande Lagos 659', e do tipo crespa, 'Mônica', também foram consideradas resistentes a este nematoide apesar de proporcionarem um fator de reprodução maior que 1,0, pois, este não diferiu significativamente dos fatores de reprodução abaixo de 1,0 das demais cultivares estudadas (Bitencourt & Silva, 2010).

Baseando-se no índice de infecção, as alfaces 'Elisa', 'Luisa', 'Mirella', 'Vera' e 'Salinas 88' foram consideradas moderadamente resistentes, enquanto que 'Júlia', 'Hortência', 'Verônica', 'Grand Rapids' e 'Babá de Verão' foram consideradas altamente resistentes a *M. enterolobii* (Melo *et al.*, 2011). Sendo assim, até então, não foi verificada suscetibilidade de cultivares de alface a *M. enterolobii*.

O objetivo deste trabalho foi determinar o fator de reprodução de *M. enterolobii* em diferentes cultivares de alface do grupo americano, visando identificar fontes de resistência promissoras para serem utilizadas em programas de melhoramento genético e opções de cultivares a serem utilizadas em áreas infestadas por este nematoide.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Proteção Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual 'Júlio de Mesquita Filho' – Campus de Botucatu (FCA/UNESP).

As vinte e duas cultivares de alface do grupo americano utilizadas neste estudo foram: 'Lucy Brown', 'Robinson', 'Calona', 'Classic', 'Vanguard 75', 'Winterset', 'Salinas 88', 'Bnondaga', 'Ithaca', 'Raider Plus', 'Desert Queen', 'Sonoma', 'IP-11', 'Sundevil', 'Challenge', 'Summer Time', 'L-104', 'L-109', 'Tainá', 'Raider', 'Lady' e RS-1397', todas cedidas pelo Programa de Melhoramento Vegetal do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal, da Faculdade de Ciências Agronômicas, Campus de Botucatu - FCA/UNESP.

As sementes foram transferidas para bandejas de poliestireno expandido contendo 128 células com substrato esterilizado. Aos 25 dias após a semeadura, as mudas foram transplantadas em vasos definitivos de 2 L contendo terra, areia e matéria orgânica (1:2:1), previamente autoclavados.

A população de *M. enterolobii* utilizada nesse trabalho foi obtida a partir de isolamento de pimentão 'Silver' em Campos Novos Paulista, SP, e identificada pelo padrão perineal das fêmeas e pelo padrão eletroforético de isoenzimas, de acordo com Oliveira & Tomazini (2008).

A população pura de *M. enterolobii* foi multiplicada em plantas de tomateiro cultivar Rutgers em vasos de 1 L contendo solo previamente autoclavado. As plantas foram mantidas em casa de vegetação e após 60 dias suas raízes altamente infectadas do tomateiro 'Rutgers' foram processadas de acordo com Hussey & Barker (1973), modificada por Bonetti & Ferraz (1981), para a extração dos ovos.

A determinação do número de ovos, e eventuais juvenis recém-eclodidos na suspensão foi efetuada com o auxílio da lâmina de Peters, sob microscópio de luz. Em seguida, as plantas de alface foram inoculadas individualmente com 5.000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio (Pi) da população do nematoide em teste, dois dias após o transplante. A inoculação foi efetuada colocando-se 2 mL da suspensão de inóculo em dois orifícios de 3 cm de profundidade na rizosfera de cada planta. Utilizou-se como padrão de viabilidade do inóculo o tomateiro 'Rutgers'.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com cinco repetições, sendo cada parcela constituída por uma planta.

As avaliações foram conduzidas aos 60 dias após a inoculação. Para isto, os sistemas radiculares das cultivares foram lavados individualmente sob água corrente, pesados após a retirada do excesso de água com papel toalha e submetidos à coloração com Floxine B, para facilitar a contagem das massas de ovos (Taylor & Sasser, 1978).

Os índices de galhas (IG) e de massas de ovos (IMO) encontrados foram relacionados de acordo com a escala de notas e assim classificados: nota 0 (sem galhas ou sem massas de ovos); nota 1 (1 a 2 galhas ou massas de ovos); nota 2 (3 a 10 galhas ou massas de ovos); nota

3 (11 a 30 galhas ou massas de ovos); nota 4 (31 a 100 galhas ou massas de ovos) e nota 5 (mais de 100 galhas ou massas de ovos por raiz) (Taylor & Sasser, 1978). Em seguida, os sistemas radiculares foram processados segundo o método de Coolen & D'Herde (1972) usando solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, ao invés de água, para triturar as raízes no liquidificador. A determinação do número final de ovos e eventuais juvenis recém-eclodidos na suspensão final foi efetuada com o auxílio da lâmina de Peters, sob microscópio de luz. Esse número foi empregado para a obtenção do fator reprodutivo (população final do nematoide (Pf)/ população inicial (número de ovos utilizado nas inoculações do nematoide (Pi)), segundo Oostenbrink (1966), ou seja, igual ou maiores que 1,0, suscetíveis (S) e menores que 1,0, resistentes (R).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados obtidos (Tabela 1), houve diferença na reação entre as cultivares de alface do grupo americano frente a *M. enterolobii*, adotando-se por base o fator reprodutivo do nematoide. O tomateiro 'Rutgers', utilizado como padrão de suscetibilidade, apresentou FR de 13,95, comprovando a viabilidade do inóculo.

As cultivares Ithaca, Raider Plus, RS-1397, L-104, Challenge, IP-11, Classic, Salinas 88, Vanguard 75, Calona e Desert Queen foram desfavoráveis à multiplicação de *M. enterolobii* com fatores de reprodução variando entre 0,22 a 0,9, e, portanto, mostrando-se resistentes ao nematoide. Os fatores de reprodução de *M. enterolobii* nas cultivares Ithaca, Raider Plus e RS-1397 foram os que mais se aproximaram a zero e não diferiram estatisticamente entre si, com FR de 0,22, 0,31 e 0,34, respectivamente.

Mostraram reação de suscetibilidade a *M. enterolobii*, as alfaces 'Lady', 'Winterset', 'Robinson', 'Sonoma', 'Raider', 'Lucy Brown', 'Bnondaga', 'Summer Time', 'Tainá', 'Sundevil' e 'L-109'. Essas cultivares proporcionaram o aumento da população inicial do nematoide, com FR variando entre 1,06 a 5,73. Entre estas, 'Lady' (FR= 1,06), 'Winterset' (FR= 1,22) e 'Robinson' (FR= 1,28), apesar de apresentarem FR maior que 1,0, não diferiram estatisticamente das cultivares resistentes 'Vanguard 75' (FR= 0,88), 'Calona' (FR= 0,9), e

'Desert Queen' (FR= 0,9). A alface 'L-109' (FR= 5,73) apresentou o maior fator reprodutivo de *M. enterolobii* entre todas as cultivares estudadas, seguida da 'Sundevil' (FR= 4,91), 'Tainá' (FR= 4,75) e 'Summer Time' (FR= 4,47).

A resistência das cultivares Classic, Vanguard 75, Salinas 88 e Challenge foi verificada para *M. incognita* raça 2 (Wilcken *et al.*, 2005). Tais cultivares também se mostraram resistentes a *M. enterolobii* no presente estudo. A resistência de 'Salinas 88' a este nematoide já havia sido relatada por Melo *et al.*, (2011).

Até então, estudos de reação de cultivares de alface a *M. enterolobii* só haviam detectado resistência ao nematoide. A cultivar 'Black Seed Simpson', de alface crespa, por exemplo, foi considerada resistente com FR de 0,3 e as cultivares Grande Lagos 659, de alface americana, e Mônica, de alface crespa, como muito resistentes a este nematoide (Rodriguez *et al.*, 2003; Bitencourt & Silva, 2010). Em outro estudo, as alfaves 'Elisa', 'Luisa', 'Mirella', 'Vera' e 'Salinas 88' foram consideradas moderadamente resistentes quando utilizado como variável o índice de infecção, enquanto que 'Júlia', 'Hortência', 'Verônica', 'Grand Rapids' e 'Babá de Verão' foram consideradas altamente resistentes a *M. enterolobii* (Melo *et al.*, 2011).

Embora o IG, determinado pela escala de infecção (notas de 1 a 5), ter sido utilizado apenas como um parâmetro auxiliar para indicar a reação dos sintomas nas plantas, foi possível observar que a maioria dos materiais testados apresentaram IG relativamente elevados, variando de 2,6 a 4,0, mesmo aqueles desfavoráveis à multiplicação do nematoide, como exemplo da cultivar Calona que apresentou a maior média de IG (4,0), no entanto, considerada resistente por não permitir a multiplicação do nematoide (FR= 0,9). Isto demonstra que parte da população de *M. enterolobii* presente no substrato penetrou e induziu o parasitismo, embora não tenha conseguido completar seu ciclo biológico, o mesmo foi observado em estudo com *M. incognita* raça 2 em alface (Wilcken *et al.*, 2005). Tal fato demonstra que o IG não deve ser utilizado como parâmetro para avaliação de resistência nessa cultura.

Também o IMO deve ser utilizado com cuidado, pois, todas as cultivares estudadas como suscetíveis tomando como padrão o FR, apresentaram o IMO relativamente baixo

como foi o caso principalmente das cultivares Summer Time, Tainá e Sundevil que apresentaram IMO de 2,6, 2,8 e 2,4 e o FR de 4,47, 4,75 e 4,91, respectivamente. Isso em decorrência de massas de ovos internas não contabilizadas no momento das avaliações do IMO.

Apesar de na literatura constar apenas informações de cultivares de alface com resistência a *M. enterolobii*, no presente trabalho pode-se observar que existe variações de comportamento entre alface do grupo americano, sendo importantes os estudos de reação de diferentes cultivares para que sejam indicadas com segurança para o uso em campos infestados com este nematoide ou para serem utilizadas em programas de melhoramento genético.

Tabela 1 – Valores médios do índice de galhas (IG), índice de massas de ovos (IMO) e do fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne enterolobii* em vinte e duas cultivares de alface do grupo americano (Average values of the gall index (IG), egg mass index (IMO) and reproduction factor (FR) of *Meloidogyne enterolobii* in twenty-two lettuce cultivars). Botucatu (SP), UNESP, 2012.

Cultivar	IG	IMO	FR ¹	Reação ²
Ithaca	3,2	2,2	0,22 a	R
Raider Plus	3,2	2,6	0,31 a	R
RS-1397	3,8	3,6	0,34 a	R
L-104	3,4	3,0	0,62 b	R
Challenge	2,6	2,2	0,71 b	R
IP-11	3,6	3,4	0,75 b	R
Classic	3,4	2,6	0,79 b	R
Salinas 88	3,0	2,0	0,79 b	R
Vanguard 75	3,2	2,0	0,88 c	R
Calona	4,0	3,0	0,9 c	R
Desert Queen	3,0	2,2	0,9 c	R
Lady	3,8	3,6	1,06 c	S
Winterset	3,4	1,6	1,22 c	S
Robinson	3,8	2,8	1,28 c	S
Sonoma	3,0	2,0	1,99 d	S
Raider	3,2	3,2	3,14 e	S
Lucy Brown	3,6	2,6	3,16 e	S
Bnondaga	4,0	3,2	3,53 e	S
Summer Time	3,2	2,6	4,47 f	S
Tainá	3,4	2,8	4,75 f	S
Sundevil	3,4	2,4	4,91 f	S
L-109	3,8	3,8	5,73 g	S
CV (%)			10,19	

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-knott a 5% de probabilidade. Análise realizada a partir de dados transformados em $\sqrt{x+0,5}$. ²R= resistente (FR < 1,0) e S= suscetível (FR > 1,0), segundo Oostenbrink (1966) (¹Means Means followed by the same letter do not differ among themselves according to the Scott-Knott test at 5% probability. Analysis from data transformed into $\sqrt{x+0,5}$. ²R= resistant (RF < 1.0) and S = susceptible (RF > 1.0), according Oostenbrink (1966).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior (CAPES), pelo financiamento da pesquisa, e à Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' (UNESP – Botucatu), pelo apoio na realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- BITENCOURT NV; SILVA GS. 2010. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em olerícolas. *Nematologia Brasileira* 34: 181-183.
- BONETTI JIS; FERRAZ S. 1981. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira* 6: 553.
- BRITO JA; STANLEY JD; MENDES ML; CETINTAS R; DICKSON DW. 2007. Host status of selected cultivated plants to *Meloidogyne mayaguensis* in Florida. *Journal of Nematology* 37: 65-71.
- CANTU RR; WILCKEN SRS; ROSA JMO; GOTO R. 2009. Reação de porta-enxertos comerciais de tomateiro a *Meloidogyne mayaguensis*. *Summa Phytopathologica* 35: 216-218.
- CARVALHO FILHO JLS; GOMES LAA; SILVA RR; FERREIRA S; CARVALHO RRC; MALUF WR. 2011. Parâmetros populacionais e correlação entre características da resistência a nematoides das galhas em alface. *Ciências Agrárias* 6: 46-51.
- CHARCHAR JM; MOITA AW. 2005. *Metodologia para seleção de hortaliças com resistência a nematoides: Alface/Meloidogyne spp.* Brasília: Embrapa Hortaliças. 8p.
- COOLEN WA; D'HERDE CJ. 1972. *A method for quantitative extration of nematodes from plant tissue.* State Nematology end Entomology Research Station, Ghent. 77p.
- FILGUEIRA FAR. 2003. *Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças.* Viçosa: UFV. 402p.

- GRANGEIRO LC; COSTA KR; MEDEIROS MA; SALVIANO AM; NEGREIROS MZ; BEZERRA NETO F; OLIVEIRA SL. 2006. Acúmulo de nutrientes por três cultivares de alface cultivadas em condições do Semi-Árido. *Horticultura Brasileira* 24: 190-194.
- GUIMARÃES LMP; MOURA RM; PEDROSA EMR. 2003. Parasitismo de *Meloidogyne mayaguensis* em diferentes espécies botânicas. *Nematologia Brasileira* 27: 139-145.
- HUSSEY RS; BARKER KR. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* sp., including a new technique. *Plant Disease Report* 57: 1025-1028.
- KAUR R; BRITO JA; RICH JR. 2007. Host suitability of selected weed species to five *Meloidogyne* species. *Nematropica* 37: 107-120.
- KIEWNICK S; DESSIMOZ M; FRANCK L. 2009. Effects of the *Mi-1* and the N root-knot nematode-resistance gene on infection and reproduction of *Meloidogyne enterolobii* on tomato and pepper cultivars. *Journal of Nematology* 41: 134-139.
- MELO OD; MALUF WR; GONÇALVES JS; GONÇALVES NETO AC; GOMES LAA; CARVALHO RC. 2011. Triagem de genótipos de hortaliças para resistência à *Meloidogyne enterolobii*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 46: 829-835.
- MOENS M; PERRY NR; STARR FL. 2009. *Meloidogyne* species - a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY RN; MOENS M; STARR JL. *Root-knot nematodes*. Wallingford: CAB International. p. 1-17.
- OLIVEIRA CMG; TOMAZINI MDO. 2008. Procedimentos para eletroforese de isoenzimas. In: *Curso de identificação de espécies de Meloidogyne através da técnica de eletroforese de isoenzimas*. Botucatu. 34p.
- OOSTENBRINK M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Mededlingen voor Landb Hoogeschool Wageningen* 66: 3-46.
- RODRIGUEZ MG; SANCHEZ L; ROWE J. 2003. Host status of agriculturally important plant families to the root-knot nematode *Meloidogyne mayaguensis* in Cuba. *Nematropica* 33: 125-130.
- SALA FC; COSTA CP. 2012. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. *Horticultura Brasileira* 30: 187-194.

- SIKORA A; FERNANDEZ E. 2005. Nematode parasites of vegetables. In: LUC M; SIKORA RA; BRIDGE J. (eds). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Wallingford, UK: CAB International. p. 319-392.
- TAYLOR AL; SASSER JN. 1978. *Biology, identification and control of root-knot nematodes (Meloidogyne species)*. Raleigh, North Carolina State University. 111p.
- WESTERICH JN; ROSA JMO; WILCKEN SRS. 2011. Estudo comparativo da biologia de *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*) e *Meloidogyne javanica* em tomateiros com gene *Mi*. *Summa Phytopathologica* 37: 35-41.
- WESTERICH JN; RODELLA RA; ROSA JMO; WILCKEN SRS. 2012. Alterações anatômicas induzidas por *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*) e *Meloidogyne javanica* em tomateiros resistentes a meloidoginose. *Summa Phytopathologica* 38: 192-197.
- WILCKEN SRS; GARCIA MJDM; SILVA N. 2005. Resistência de alface do tipo americana a *Meloidogyne incognita* raça 2. *Nematologia Agrícola* 29: 267-271.

3 CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos no presente estudo conclui-se que:

As cultivares de alface do grupo americano ‘Ithaca’, ‘RS-1397’, ‘Raider Plus’, ‘Challenge’, ‘L-104’, ‘IP-11’, ‘Salinas 88’, ‘Calona’, ‘Desert Queen’, ‘Classic’ e ‘Vanguard 75’ foram resistentes a *M. incognita* raças 1 e 2 e a *M. enterolobii*.

As cultivares Robinson, Lady e Winterset foram resistentes a *M. incognita* raça 2.

As cultivares Sonoma, Lucy Brown, Raider, Bnondaga, Summer Time, Sundevil, Tainá e L-109 foram suscetíveis a *M. incognita* raças 1 e 2 e a *M. enterolobii*

As cultivares Lady, Robinson e Winterset foram suscetíveis a *M. incognita* raça 1.

Todas as cultivares foram resistentes a *M. javanica*.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANWAR, S.A.; MCKENRY, M.V. Incidence and reproduction of *Meloidogyne incognita* on vegetable crop genotypes. **Pakistan Journal Zoology**, Pakistan, v. 42, n. 2, p. 135-141. 2010.

ASUAJE, L. et al. Efecto del nematodo agallador, *Meloidogyne incognita*, sobre el creciahento de tres cultivares de lechuga. **Fitopatologia Venezolana**, Venezuela, v. 17, n. 1, p. 2-5, 2004.

AZEVEDO, S. M. et al. Herança da resistência ao nematoide de galha em alface. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 40, 2000, São Pedro. **Resumos...** São Pedro: SOB, 2000. p. 629-630.

BITENCOURT, N. V.; SILVA, G. S. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em olerícolas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, p. 181-183. 2010.

BOARETTO, L. C. **Viabilidade econômica da produção de alface, em quatro sistemas tecnológicos: campo aberto, túnel baixo, estufa e hidropônico.** 93 p. (Tese Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, 2005.

- BUENO, L. C. S. et al. **Melhoramento de plantas**. Lavras: UFLA, 2001. p. 182-201.
- CAMARGO, L. S. **As hortaliças e seu cultivo**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1984. 448 p.
- CAMPOS, V. P. et al. Manejo de nematoides em hortaliças. In: SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; NOJOSA, G. B. A. **Manejo integrado: doenças e pragas em hortaliças**. Lavras: UFLA, 2001. p. 125-158.
- CANTO-SAÉNZ, M. The nature of resistance to *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (Eds.). **An advanced treatise on *Meloidogyne*: biology and control**. Raleigh: North Carolina State University graphics. 1985, p. 225-231.
- CANTU, R. R. et al. Reação de porta-enxertos comerciais de tomateiro a *Meloidogyne mayaguensis*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, p. 216-218. 2009.
- CARNEIRO, R. M. D. G. et al. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes a meloidoginose no estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n. 1, p. 81-86. 2006.
- CARVALHO FILHO, J. L. S. et al. Caracterização de famílias F4 de alface de folhas lisas quanto à homozigose para resistência à *Meloidogyne incognita*. **Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 3, p. 331-336. 2007.
- CARVALHO FILHO, J. L. S. et al. Inheritance of resistance of 'salinas 88' lettuce to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. **Brasileira Agrociência**, Pelotas, v.14, n.2, p.279-289. 2008.
- CARVALHO FILHO et al. Tolerância ao florescimento precoce e características comerciais de progênies F₄ de alface do cruzamento Regina 71 x Salinas 88. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 37-42. 2009.

CARVALHO FILHO, J. L. S. et al. Parâmetros populacionais e correlação entre características da resistência a nematoides de galhas em alface. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n. 1, p. 46-51. 2011a.

CARVALHO FILHO, J. L. S. et al. Resistance to *Meloidogyne incognita* raça 1 in the lettuce cultivars Grand Rapids and Salinas-88. **Euphytica**, Wageningen, v. 182, p. 199-208. 2011b.

CEAGESP – **Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo**. Disponível em: <http://www.ceagesp.gov.br/produtos/produtos/alface>. Acesso em: 20 de fevereiro de 2013.

CHARCHAR, J. M. *Meloidogyne* em hortaliças. In: Congresso Internacional de Nematologia Tropical, 19, 1995, Rio Quente. **Resumos...** Rio Quente: SBN, 1995, p.149- 153.

CHARCHAR, J.M.; MOITA, A.W. 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.

CHARCHAR, J. M. MOITA, A. W. **Metodologia para seleção de hortaliças com resistência a nematoides: Alface/*Meloidogyne* spp.** Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005. 8 p.

COSTA, C. P.; SALA, F. C. A evolução da alficultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 158-159. 2005.

DAVIS, R. M. et al. **Compendium of lettuce diseases**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1997. 79 p.

DECATEAU D. R. et al. **The lettuce growing handbook: botany, field procedures, growing problems, and postharvest handling**. Illinois: Oak Brook. 1995. 60 p.

DE LEY, P.; BLAXTER, M. L. Systematic position and phylogeny. In: LEE, D. L. (Ed.). **The biology of nematodes**. London: Taylor; Francis, p. 1-30. 2002.

EISENBACK, J. D.; TRIANTAPHYLLOU, H. H. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races. In: NICKLE, W. R (Eds). **Manual of agricultural nematology**. New York: USA, 1991. p. 191-274.

- EVANS, J. et al. **Plant parasitic nematodes in temperature agriculture**. Wallingford: CAB International. 1993. 647 p.
- FABRI, E. G.; SALA, F. C. Alface americana: Aponta mercado crescente. **Revista Campo & Negócios HF**, Uberlândia, MG, n. 27, p. 27-28. 2007.
- FANCELLI, M. Doenças das cenouras. In: KIMATI, H. (Eds.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 232-237.
- FERRAZ, S. Summary report on the current status, progress and needs for *Meloidogyne* research in brazil (Region III). In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (Eds.). **An advanced treatise on Meloidogyne: biology and control**. Raleigh: North Carolina State University graphics. 1985, p. 351-352.
- FERRAZ, L. C. C. B. As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, J. F. V. (Org.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. p. 15-38.
- FERRAZ, S. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa: UFV, 2010. 304 p.
- FERRERREIRA, P. V. Melhoramento de plantas. In: FERRERREIRA, P. V. (ed.). **Resistência às doenças e aos insetos-praga**. Maceió: EDUFAL, 2006. P. 482-483.
- FERRERREIRA, S. et al. Identificação de linhagens avançadas de alface quanto à resistência a *Meloidogyne javanica*. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, MG, v. 35, n. 2, p. 270-277. 2011.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2 ed. Viçosa: UFV, 2003. 418 p.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2 ed. Viçosa: UFV, 2005. 412 p.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 421 p.

FIORINI, C. V. A. et al. Avaliação de populações F2 de alface quanto a resistência aos nematoides das galhas e tolerância ao florescimento precoce. **Horticultura brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 299-302. 2005.

FIORINI, C. V. A. et al. Identificação de famílias F2:3 de alface homozigotas resistentes aos nematoides das galhas. **Horticulturua Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 4, p. 509-513. 2007.

FLORENTINO, C. E. T. et al. Influência dos nematoides das galhas *Meloidogyne* spp., na produção da alface em ambiente protegido. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 43, 2003, Recife. **Resumos...** Recife: SOB, 2003. p. 306,

FREIRE, C. R. et al. Cromossomos de três espécies brasileiras de *Meloidogyne*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v. 26, n. 5, p. 900-903. 2002.

GOMES, L. A. A. et al. 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.

GOMES, L. A. A. et al. Reação de cultivares de alface a infecção por *Meloidogyne javanica*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.14, n.1, p.99, 2002.

GOTO, R.; TIVELLI, S. W. **Produção de hortaliças em ambiente protegido: Condições Subtropicais**. São Paulo: Fundação Editora da UNESP, 1998. 319 p.

HENZ, G. P.; SUINAGA, F. **Tipos de alface cultivados no Brasil**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. 7 p.

HIDALGO-DIAZ, L.; KERRY, B. R. Integration of biological control with other methods of nematode management. In: CIANCIO, A.; MUKERJI, K.G. **Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes**. Dordrecht: Springer, 2008. p. 29-44.

HUSSEY, R. S.; JANSSEN, G. J. W. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species. In: STARR, J.L; COOK, R.; BRIDGE, J. **Plant resistance to parasitic nematodes**. Wallingford: CAB International, 2002. p 43-70.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201009. Acesso: 20 de fevereiro de 2013.

JACQUET, M. et al. Variation in resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in tomato genotypes bearing the Mi gene. **Plant Pathology**, Leicestershire, UK, v. 54, p. 93–99, 2005.

KARSSSEN, G.; MOENS, M. Root-knot nematodes. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Eds.). *Plant nematology*. Wallingford, UK: CAB International, 2006. p. 59-90.

KERR, J.P. et al. **Horticulture facts and figures**. The horticulture and food research institute of New Zealand Ltd. Palmerston North, New Zealand, 2003. 32 p.

KRZYZANOWSKI, A. A.; FERRAZ, L. C. C. B. Effect of inoculation type and inoculum level of *Meloidogyne incognita* races 1 and 2 on the growth of lettuce cv. Baba under greenhouse conditions. **Summa Phytopathology**, Botucatu. v. 26, n. 2, p. 286-288, 2000.

LOPES, C. A. et al. **Doenças da alface**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2010. 68 p.

LORDELLO, L. G. E. **Nematoides de plantas cultivadas**. 8. ed. São Paulo: Nobel, 1984. 314 p.

MALUF, L. E. J. et al. Reação de cultivares de alface a *Meloidogyne incognita*. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 43., 2003, Recife. **Resumos...** Recife: UFRPE, 2003. CD-ROM.

MAROTO, J. V. **Horticultura herbácea especial**. 5 ed. Madrid. Mundi-Prensa, 2002. 702 p.

MELO, O. D. et al. Triagem de genótipos de hortaliças para resistência à *Meloidogyne enterolobii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v.46, p. 829-835. 2011.

MITKOWSKI, N. A.; ABAWI, G. S.. 2011. Root-knot nematodes. *The Plant Health Instructor*. <http://www.apsnet.org/Nematodes/RootknotNematode.aspx>.

MOENS et al. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. **Root-knot nematodes**. Wallingford: CAB International, 2009. P. 1-17.

MONTRAGIO, A. M. et al. **Geográfica da produção de hortaliças no Estado de São Paulo**: participação no País, concentração regional e evolução no período 1996-2006. São Paulo: Informações Econômicas, 2008. 34 p. v. 38, n. 1.

MURAYAMA, S. **Horticultura**. Campinas. Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. 2. ed. 1983. 318p.

OLIVEIRA, D. C. **Enxertia de plantas de pimentão em *Capsicum* spp. no manejo de nematoides de galhas**. 2007. 155 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas)-Faculdade de Ciências Agrárias e veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2007.

ORNAT, C.; SORRIBAS, F. J. Integrated management of root-knot nematodes in mediterranean horticultural crops. In: CIANCIO, A.; MUKERJI, K.G. **Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes**. Dordrecht: Springer, 2008. p. 259-312.

RESENDE, F. V. et al. **Cultivo de alface em sistema orgânico de produção**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2007. 16 p.

RODIGUES, L.R.F. **Técnicas de cultivo hidropônico e de controle ambiental no manejo de pragas, doenças e nutrição vegetal em ambiente protegido**. Jaboticabal: Funep, 2002. 762 p.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. ‘Gloriosa’: Cultivar de alface americana tropicalizada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 409-410. 2008.

SALA, F. C.; Costa, C. P. Retrospectiva e tendência da alficultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.30, n.2, p. 187-194. 2012.

SANTOS, J. M. Fatos e feitos relevantes na história da nematologia no Brasil e principais desafios para o início do novo século. In: **Congresso Brasileiro de Nematologia**, 22, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia, 2000. p. 9-13.

SANTOS, H. S. et al. Patogenicidade de *Meloidogyne javanica* em alface em função do tamanho de células de bandeja e idade de transplante das mudas. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, PR, v. 28, n. 2, p. 253-259. 2006.

SIKORA, A.; FERNANDEZ, E. Nematode parasites of vegetables. In: LUC M; SIKORA RA; BRIDGE J. (eds). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford, UK: CAB International, 2005. p.319-392.

STANGARLIN, O. S. **Variabilidade de vírus do mosaico da alface e comportamento de cultivares tolerantes de alface (*Lactuca sativa* L.)**. 1997. 72 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas)- Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 1997.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biología, indentificación y control de los nematodes del nódulo de la raíz**. Raleigh: North Carolina State University, 1983. 109 p.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP. 2000. 473p.

WHITAKER, T. W. Lettuce: evolution of weedy cinderella. **HortScience**, Alexandria, v. 9, p. 512-514. 1974.

WILCKEN et al. Resistência de alface do tipo americana a *Meloidogyne incognita* raça 2. **Nematologia Agrícola**, Piracicaba, SP, v. 29, n. 2, p. 267-271, 2005.

YURI, J. E. **Avaliação de cultivares de alface americana em duas épocas de plantio e dois locais do sul de Minas Gerais**. 51 p. (Tese Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

YURI, J. E. et al. **Alface americana: cultivo comercial**. Lavras: UFLA, 2002. 51 p.

VAN DER PLANK, J. E. **Disease resistance in plants**. New York: Academic Press, 1968. 206 p.