

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU

**CONTROLE DE VIROSES EM ALFACE POR MEIO DE MÉTODOS  
INTEGRADOS DE MANEJO DA CULTURA**

**LUCIANA MAESTRO BORGES**

Engenheira Agrônoma

Tese apresentada à Faculdade de Ciências  
Agronômicas da UNESP - Campus de  
Botucatu, para obtenção do título de Doutor em  
Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU - SP

Fevereiro – 2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU

**CONTROLE DE VIROSES EM ALFACE POR MEIO DE MÉTODOS  
INTEGRADOS DE MANEJO DA CULTURA**

**LUCIANA MAESTRO BORGES**

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Agenor Pavan

Tese apresentada à Faculdade de Ciências  
Agronômicas da UNESP - Campus de  
Botucatu, para obtenção do título de Doutor em  
Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU - SP

Fevereiro – 2006

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

B732c Borges, Luciana Maestro, 1972-  
Controle de viroses em alface por meio de métodos  
integrados de manejo da cultura / Luciana Maestro Borges.  
- Botucatu : [s.n.], 2006.  
ix, 118 f. : il. color., gráfs., tabs.

Tese (Doutorado) -Universidade Estadual Paulista, Fa-  
culdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2006  
Orientador: Marcelo Agenor Pavan  
Inclui bibliografia

1. Alface. 2. Alface - Doenças e pragas - Controle. 3. Vi-  
roses das plantas. I. Pavan, Marcelo Agenor. II. Universi-  
dade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus  
de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. III. Ti-  
tulo.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO: “CONTROLE DE VIROSES EM ALFACE POR MEIO DE  
MÉTODOS INTEGRADOS DE MANEJO DA CULTURA”**

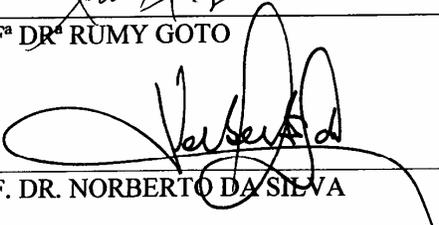
ALUNA: LUCIANA MAESTRO BORGES

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCELO AGENOR PAVAN

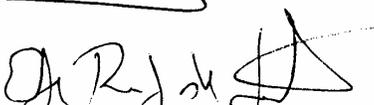
Aprovada pela Comissão Organizadora:

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. MARCELO AGENOR PAVAN

  
\_\_\_\_\_  
PROF.ª DR.ª RUMY GOTO

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. NORBERTO DA SILVA

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. ALEXANDRE DE MOURA GUIMARAES

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. ELIEZER RODRIGUES DE SOUTO

Data de Realização: 06 de fevereiro de 2006

Aos meus pais, **Homero Miranda Borges e Leila Maestro Borges**, pelo exemplo.

Á minha filha **Ana Carolina**, pelo carinho.

E ao meu esposo **Fernando** que sempre esteve ao meu lado, tornando meus dias mais brandos para suplantar os obstáculos da vida, pelo amor, compreensão e incentivo.

**OFEREÇO**

**E**

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Meu mais profundo agradecimento e reconhecimento a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, possibilitaram a execução deste trabalho.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- FCA, pela oportunidade oferecida para o meu aperfeiçoamento e aprimoramento profissional.

Ao Professor Dr. *Marcelo Agenor Pavan*, pela amizade, confiança e orientação durante esses anos.

Ao Professor Dr. *Norberto da Silva*, pelo apoio, sugestões em diferentes etapas do desenvolvimento deste trabalho e pela valiosa colaboração.

A Dra. *Renate Krause Sakate* pelo incentivo, pela valiosa amizade, dedicação e atenção dispensada.

A professora Dr. *Júlia Maria Pavan Soler*, do Instituto de Matemática e Estatística da USP, pelo grande auxílio na análise estatística dos dados.

Aos demais professores do Curso de Pós-Graduação, pelos inúmeros ensinamentos transmitidos.

À *Mariana Zatarin*, grande amiga, sincera e solícita, a quem agradeço pela força e estímulo oferecidos no decorrer do curso.

À *Marcia Maria Echer*, pela incondicional disponibilidade, pelo constante apoio no decorrer do trabalho e principalmente pela valiosa amizade.

À *Márcia Aparecida Cezar*, pelo carinho, pela amizade e pelo companheirismo.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de São Manoel, pela amizade e exaustiva ajuda na instalação e condução dos ensaios de campo.

À coordenação e aos estagiários do laboratório de fitopatologia, pelo empréstimo de materiais e pela colaboração nos trabalhos de laboratório.

Aos Colegas do Curso de Pós-Graduação, pelo companheirismo e amizade demonstrada.

Enfim, a todos que, de alguma maneira, contribuíram para o êxito deste trabalho.

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

LUCIANA MAESTRO BORGES, nascida em 21 de julho de 1972, em Maringá, PR, é Engenheira Agrônoma, formada em 1999 pela Universidade Estadual de Maringá - UEM, onde também obteve o título de Mestre em Agronomia na área de Produção Vegetal, em 2001 com a dissertação intitulada “Período de permanência de mudas em telado anti-afídeo e distância da fonte de inóculo na ocorrência de viroses e na produção de alface (*Lactuca sativa* L.)”. Em 2002 ingressou no curso de Doutorado da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA-UNESP), Campus de Botucatu, Área de Concentração em Horticultura.

SEGUE O TEU DESTINO,  
REGA AS TUAS PLANTAS,  
AMA AS TUAS ROSAS.  
O RESTO É A SOMBRA  
DE ÁRVORES ALHEIAS.

Fernando Pessoa

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO .....	1
SUMMARY .....	3
1. INTRODUÇÃO .....	5
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	7
2.1. Aspectos gerais da cultura da alface .....	7
2.2. Principais viroses em alface .....	8
2.2.1. Mosqueado da alface ( <i>Lettuce Mottle Virus - LeMoV</i> ) .....	9
2.2.2. Mosaico da alface ( <i>Lettuce Mosaic Virus - LMV</i> ) .....	11
2.2.3. Complexo do vira-cabeça ( <i>Tospovirus</i> ) .....	14
2.3. Avaliação e diagnose de fitovírus .....	16
2.4. Aspectos gerais dos insetos vetores de vírus na cultura da alface .....	19
2.4.1. Pulgões .....	19
2.4.1.1. Modo de transmissão do LeMoV e LMV .....	21
2.4.2. Tripes .....	22
2.4.2.1. Modo de transmissão de <i>Tospovirus</i> .....	25
2.5. Estratégias de controle de fitoviroses .....	25
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	31
3.1. Localização e caracterização da área experimental .....	31
3.2. Características das progênies e cultivares .....	31
3.3. Delineamento experimental e tratamentos .....	32
3.4. Instalação e condução dos experimentos .....	35
3.5. Avaliação dos experimentos .....	36
3.5.1. Avaliação dos aspectos agronômicos das progênies .....	36
3.5.1.1. Área de projeção da saia .....	36
3.5.1.2. Massa da matéria fresca .....	36
3.5.1.3. Produtividade .....	37
3.5.1.4. Tempo de início do pendoamento .....	37

3.5.1.5. Fechamento de "cabeça" .....	37
3.5.2. Avaliação visual de fitoviroses .....	38
3.5.3. Diagnose de fitovírus .....	38
3.5.3.1. Extração de RNA-Total .....	39
3.5.3.2. Análise de transcrição reversa e PCR .....	39
3.5.3.3. Inoculação em pantas indicadoras e microscopia eletrônica.....	41
3.5.4. Monitoramento de insetos vetores .....	42
3.5.5. Análise estatística .....	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	44
4.1. Avaliação dos aspectos agrônômicos das progênies .....	44
4.1.1. Área de projeção da saia - Outono/Inverno .....	44
4.1.2. Área de projeção da saia - Primavera/Verão .....	47
4.1.3. Massa da matéria fresca - Outono/Inverno .....	50
4.1.4. Massa da matéria fresca - Primavera/Verão .....	52
4.1.5. Produtividade - Outono/Inverno .....	55
4.1.6. Produtividade - Primavera/Verão .....	58
4.1.7. Tempo de início do pendoamento - Outono/Inverno.....	60
4.1.8. Tempo de início do pendoamento - Primavera/Verão.....	62
4.1.9. Fechamento de "cabeça" - Outono/Inverno.....	65
4.1.9.1. Análise descritiva .....	65
4.1.9.2. Análise inferencial .....	67
4.1.10. Fechamento de "cabeça" - Primavera/Verão .....	69
4.1.10.1. Análise descritiva .....	69
4.1.10.2. Análise inferencial .....	71
4.2. Fitoviroses .....	72
4.3. Considerações Gerais .....	83
5. CONCLUSÕES .....	87
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	88
7. APÊNDICE .....	112

## RESUMO

O trabalho teve como objetivos avaliar diversas progênies de alface da geração [(Brasil 303 x Tinto) Elisa] F<sub>5</sub> RC<sub>1</sub>, previamente selecionadas para tolerância a “*Lettuce mosaic virus*” - (LMV-II), “*Lettuce mottle virus*” (LeMoV) e Tospovirus e o efeito de diferentes práticas culturais no controle de fitovírus na cultura da alface, em duas épocas do ano (outono/inverno e primavera/verão). Os fatores avaliados foram: cobertura do solo (palha de arroz e sem cobertura), cultivo protegido (túnel coberto com filme PEBD aditivado anti-vírus de 150 µm e túnel coberto com tela anti-afídeo) e 18 progênies, avaliando os seguintes aspectos agronômicos: área de projeção da copa, massa fresca da parte aérea da planta, produtividade, fechamento de “cabeça”, tempo de início do pendoamento e incidência de fitovirose. A avaliação da incidência de fitovírus na cultura foi realizada através de observação visual dos sintomas, sendo que amostras de plantas que apresentavam sintomas foram coletadas e examinadas através de testes moleculares de diagnose específicos para LMV-II, LMV-IV, LeMoV e Tospovirus. Para algumas amostras sintomáticas negativas ainda foram realizados testes de RT-PCR para possível detecção de “*Cucumber mosaic virus*”- (CMV), testes de inoculação mecânica em hospedeiras diferenciadoras e análises de microscopia eletrônica. Quanto aos aspectos agronômicos das progênies, observou-se que o tratamento “palha de arroz” apresentou resultado superior aos demais tratamentos para as características massa fresca e produtividade e igual desempenho ao tratamento “solo nu” para as características fechamento de “cabeça” e tempo de início de pendoamento. Dentre as

progênies testadas, se destacaram as de número 6 e 7 por apresentarem maior tolerância a viroses e características agronômicas equivalentes a cultivar comercial utilizada como controle. Na avaliação visual de fitoviroses, constatou-se que 3,65% das plantas avaliadas no experimento de outono/inverno estavam com sintomas, enquanto que no experimento de primavera/verão o número de plantas com sintomas aumentou para 8,89%. Nas amostras analisadas através de testes de RT-PCR, constatou-se a presença de LeMoV (3,84%), Tospovirus (16,16%), LMV-II (60,82%) e 19,17% das amostras apresentaram resultado negativo para os vírus testados, no experimento de outono/inverno. Na primavera/verão foram encontrados os vírus LMV-II (16,78%), Tospovirus (20,47%) e 62,65% amostras negativas. A microscopia eletrônica revelou partículas filamentosas e flexuosas, presumivelmente de um potyvírus, nas amostras negativas nos ensaios de RT-PCR. O padrão de distribuição do número de plantas sintomáticas para todas as progênies, sugere que os tratamentos não tiveram efeito na incidência das viroses. Observou-se que no tratamento “túnel plástico” houve uma maior porcentagem de plantas com sintomas de fitoviroses para algumas progênies, nas duas épocas de avaliação.

---

Palavras-chave: (*Lactuca sativa* L.), alface, controle cultural, fitoviroses, tolerância a doenças.

**VIRUSES CONTROL IN LETTUCE BY CROP MANAGEMENT INTEGRATED METHODS.** Botucatu, 2006. 118p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: LUCIANA MAESTRO BORGES

Advisor: PROF. Dr. MARCELO AGENOR PAVAN

## **SUMMARY**

The research aimed to evaluate various progenies, obtained from the crossing of [(Brasil 303 x Tinto) Elisa] F<sub>5</sub> RC<sub>1</sub>, previously selected for tolerance to "*Lettuce mosaic virus*" - (LMV-II), "*Lettuce mottle virus*" (LeMoV) and tospovirus and the effect of different phytovirus control practices in lettuce, in two periods of the year (autumn/winter and spring/summer). The factors evaluated were: soil covering (straw of rice and bare soil); protected development with a tunnel covered with an anti-virus PEBD treated film of 150 µm and a tunnel covered with anti-aphid screen; and 18 progenies, evaluating the following agronomic aspects: area of top projection, fresh mass of the aerial part of the plant, productivity, closing of "head" and time at the beginning of tasselling and incidence of phytovirosis. The evaluation of phytovirus incidence in the crop was accomplished through visual observation of symptoms. Samples of plants showing symptoms were collected and taken to the laboratory for molecular tests to specifically detect LMV-II, LMV-IV, LeMoV and tospovirus. For some negative symptomatic samples, tests of RT-PCR were accomplished to detect possible infection by "*Cucumber mosaic virus*"- (CMV), and mechanical inoculation tests in differential plant, and electronic microscopic analysis. As for the agronomic aspects of the progenies, it was observed that the "rice straw" treatment presented better results than other the treatments for the fresh mass and productivity parameters, and equal performance on the "bare soil" treatment for the parameters closing of "head" and time at the beginning of tasseling. Among the tested progenies, number 6 and 7 were distinguished for presenting better tolerance to phytovirosis and agronomic characteristics equivalent to the commercial cultivar used as control. In the visual evaluation of phytovirosis, it was verified that 3,65% of

the plants in the autumn/winter experiment presented symptoms, while in the spring/summer experiment the number of plants with symptoms increased to 8,89%. In the samples analyzed through RT-PCR tests it was verified the presence of LeMoV (3,84%), Tospovirus (16,16%), LMV-II (60,82%) and 19,17% of the plants tested negative for viruses, in the autumn/winter evaluation. In the spring/summer experiment was verified the presence of LMV-II (16,78%), Tospovirus (20,47%) and 62,65% were negative. The electronic microscopic analysis revealed flexuous filamentous particles, presumably of potyviruses, in the samples tested negative in the RT-PCR. The distribution pattern of the symptomatic plant number, for all progenies, suggest the treatments did not effect in virus disease incidence. It was observed that in the "plastic tunnel" treatment, there were a higher percentage of plants with phytovirosis symptoms for some progenies in both periods of evaluation.

---

Keywords: (*Lactuca sativa* L. ), lettuce, crop control, phytovirosis, tolerance to diseases.

## 1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais cultivada e consumida no Brasil, o que determina a sua grande importância econômica e social. A cultura de alface pode ser caracterizada pelo processo produtivo intensivo, pela acirrada concorrência comercial e pela perecibilidade do produto, o que impõe aos produtores, rígidas exigências quanto à produção e comercialização, principalmente quanto há necessidade de se manter a quantidade, a qualidade e a regularidade de oferta do produto. Entretanto, a ocorrência de fitoviroses, em várias regiões produtoras tem sido apontada como a principal responsável por frustrações de safra, prejuízos financeiros, infidelidade da clientela e desabastecimento.

Dependendo das condições ambientais e dos cuidados dispensados à cultura, as fitoviroses podem ser responsáveis por grandes perdas de produção, devido, principalmente, à inexistência de substâncias capazes de impedir a infecção da planta pelos vírus e por consequência impedir a ocorrência de danos ao hospedeiro.

A alface pode ser infectada por diversos vírus, dentre os mais importantes destacam-se o *Lettuce mosaic virus* (LMV) causador da doença conhecida como mosaico da alface, o *Lettuce mottle virus* (LeMoV) e o complexo de vírus do gênero *Tospovirus* causando a doença conhecida como vira-cabeça da alface. Durante o inverno

destaca-se ainda a doença do engrossamento das nervuras ou “big-vein” causada por dois vírus, o *Lettuce big-vein virus* e *Mirafiori lettuce virus*. Na ausência de resistência genética, o controle das fitoviroses somente é possível quando efetuado preventivamente. Após a manifestação inicial dos sintomas, a planta infectada dificilmente se recupera. Quando se formam populações grandes, geneticamente uniformes, como ocorrem nas culturas de valor econômico, existe sempre o risco de haver uma rápida disseminação de um vírus, com graves prejuízos.

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivos avaliar diversas progênies de alface e a eficácia de diferentes práticas culturais na incidência de fitovírus na cultura da alface, buscando deste modo, a proteção de variedades tolerantes e suscetíveis, diminuindo assim a vulnerabilidade das plantas aos diferentes fitovírus.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Aspectos gerais da cultura da alface

A alface (*Lactuca sativa* L.) é originária da região do Mediterrâneo, onde sua utilização é relatada desde 4.500 a.C. como planta medicinal. Como hortaliça, é registrada desde 2.500 a.C. e, após percorrer diversos países europeus, foi trazida ao Brasil pelos portugueses (GOTO, 1998).

A alface pertence à ordem Asterales, representada apenas pela família Asteraceae, mais conhecida pelo antigo nome Compositae (HEYWOOD e HARBONE, 1977). É uma planta herbácea, anual, de paladar agradável, consumida em dietas de baixas calorias devido ao seu pequeno valor energético, além de ser excelente fonte de vitamina A, possuindo ainda as vitaminas B1, B2 e C, além de cálcio e ferro. Pelo fato de ser consumida crua, conserva todas as suas propriedades nutritivas (LISBÃO et al., 1990; CAMARGO, 1992; MURAYAMA, 1999), sendo que estes teores variam de acordo com a cultivar (WATT e MERRIL, 1975; FILGUEIRA, 1982).

As diferentes cultivares de alface hoje disponíveis para comercialização originaram-se de sucessivas seleções artificiais, principalmente das espécies *Lactuca serriola* L., *L. saligna* L. e *L. virosa* L. (DAVIS et al., 1997). Podem ser agrupados considerando-se o aspecto das folhas (lisas ou crespas) e a formação ou não das “cabeças”. Atualmente, estes

cultivares se agrupam em seis grupos ou tipos, classificados de acordo com suas características morfológicas, como: repolhuda-manteiga, repolhuda-crespa (americana), solta-lisa, solta-crespa, mimosa e romana (FILGUEIRA, 2000).

O cultivo da alface, bem como a sua produção, vem crescendo rapidamente devido, principalmente, ao seu grande consumo (BOLETIM MENSAL-CEAGESP, 1995). No grupo das hortaliças herbáceas é o produto mais consumido durante todo o ano (UENO et al., 1992). No Brasil o cultivo da alface ocupa uma área plantada de aproximadamente 35. 000 ha (COSTA e SALA, 2005), sendo o Estado de São Paulo um dos principais produtores.

Em 2004, o Estado de São Paulo apresentou uma área cultivada com 7.538 ha, um volume de produção de 159.480 toneladas e produtividade em torno de 21.000 kg/ha de alface. (CAMARGO et al., 2005).

## **2. 2 Principais viroses em alface**

O número elevado de doenças de etiologia viral em plantas ocorre devido ao fato dos vírus serem parasitas obrigatórios e dependerem das células do hospedeiro e de insetos vetores para sua transmissão e multiplicação, o que inviabiliza o seu controle pelos métodos convencionais utilizados para outros patógenos (BEDENDO, 1995).

Algumas culturas apresentam maior ou menor problema com as doenças viróticas, mas a grande maioria das plantas cultivadas está sujeita a infecções por vírus que podem causar diminuição significativa na qualidade e na quantidade da produção (FIGUEIRA, 2000). Em geral, plantas silvestres e invasoras das culturas podem atuar tanto como reservatórios de vírus, quanto de vetores dentro da cultura ou em áreas adjacentes (NORONHA, 1992). Seguindo esta linha de pensamento, Brunt et al. (1990) citam que muitas plantas invasoras, ornamentais e cultivadas, pertencentes à família Asteraceae, são hospedeiras naturais dos vírus que infectam a cultura da alface, sendo possivelmente, reservatórios de vírus no campo.

No Brasil, vírus infectando a cultura da alface foram relatados desde a década de 1940, causando quebra de produção. Tais ocorrências foram primeiramente

descritas nos arredores da capital de São Paulo, em áreas intensamente exploradas. As viroses descritas eram transmitidas principalmente por sementes e afídeos (KRAMER et al., 1945).

Kitajima (1986, 1993) compilou os vírus e enfermidades de plantas registradas no Brasil a partir de 1911. Os vírus que ocorrem em alface, tendo por base este levantamento, são: “Lettuce mottle sequivirus” – (LeMoV), “*Lettuce mosaic potyvirus*” – (LMV), “*Bidens mottle potyvirus*” – (BiMoV), “*Bidens mosaic potyvirus*” – (BiMV), “*Cucumber mosaic cucumovirus*” – (CMV), “*Lettuce necrotic yellow cytorhabdovirus*” – (LNYV) e o “*Tomato spotted wilt tospovirus*” - (TSWV).

No Brasil, o vírus que causa maior dano econômico à cultura de alface e que justifica a adoção de medidas de controle é o LMV (ZERBINI, 1995), sendo que no Estado de São Paulo a ocorrência de tospovirose também é limitante para a cultura (GUIMARÃES, 1999). No caso do LMV, se a semente utilizada para plantio estiver infectada e as condições climáticas forem favoráveis à presença de afídeos, as perdas podem chegar a 100%. (ZERBINI, 1995).

### **2. 2. 1 Mosqueado da alface (Lettuce mottle virus - LeMoV)**

O LeMoV é um membro da família *Sequiviridae*, gênero *Sequivirus* e é comum no Estado de São Paulo (STANGARLIN, 2000; JADÃO, 2004). Foi encontrado no Brasil pela primeira vez na década de 1980 no cinturão verde do Distrito Federal, infectando cultivares de alface imunes ou resistentes ao LMV. Com base nos sintomas de mosaico, associados à necrose em alguns cultivares, este vírus foi primeiramente denominado de mosaico necrótico da alface (KITAJIMA et al., 1980).

Através da técnica de “leaf dip”, em microscopia eletrônica, partículas isométricas com aproximadamente 30nm de diâmetro foram observadas. Em testes de dupla difusão em ágar, este vírus não apresentou nenhuma relação sorológica com outros vírus de morfologia isométrica, caracterizando a ocorrência de um novo vírus em alface (KITAJIMA et al., 1980).

Em função do estudo de suas propriedades, este vírus foi redesignado como vírus do mosqueado da alface (Lettuce mottle sequivirus - LeMoV), que apesar de ocorrer em concentrações baixas no extrato foliar, tem sua transmissão feita facilmente por

inoculação mecânica (CHAVES, 1999) e seu círculo de hospedeiras está restrito às espécies vegetais: *Lactuca sativa* (mosaico e mosqueado sistêmicos), *C. murale* e *Gomphrena globosa* (lesões locais), *Zinnia elegans* (latente) (MARINHO et al., 1982, apud, CHAVES, 1999) e *Chenopodium quinoa* e *C. amaranticolor* (lesões locais e posteriormente sistêmicas) (JADÃO, 2001).

Este vírus não é transmitido através da semente (MARINHO et al., 1982; CHAVES, 1999; JADÃO, 2002) e tem como vetor possivelmente o afídeo *Hyperornyzus lactucae*, que o transmite de maneira não circulativa (MARINHO et al., 1982)

Marinho e Kitajima (1986b), por meio de exame de secções ultrafinas de tecido foliar de alface observaram presumíveis partículas do LeMoV na luz dos vasos crivados e em algumas células parenquimatosas associadas aos plasmodesmas, além de zonas ricas em vesículas, em diversas células. Constataram, também, que o LeMoV é inativado em extrato bruto, à temperatura ambiente; a 4<sup>o</sup>C, em menos de 24 horas, perdendo a infectividade, quando diluído a 10<sup>-3</sup>, mas não a 10<sup>-2</sup>; e quando submetido à temperatura de 60<sup>o</sup>C, mas não à 55<sup>o</sup>C, por 10 minutos.

As informações disponíveis a respeito das propriedades biológicas e sorológicas do LeMoV são limitadas e os primeiros dados moleculares do LeMoV só foram obtidos recentemente por Jadão (2004). As preparações purificadas de Marinho e Kitajima (1986a) de LeMoV apresentaram baixa concentração de partículas virais e, conseqüentemente, os antissoros obtidos apresentaram títulos baixos. Com o protocolo desenvolvido para purificação por Jadão (2004), pôde-se obter um rendimento de aproximadamente de 1 mg de vírus por 100g de folhas frescas e os oligonucleotídeos (JADÃO, 2004) desenvolvidos para o LeMoV (Lmo3s/Lmo4aS) foram altamente específicos em teste de detecção por RT-PCR, sendo uma importante ferramenta na diagnose do LeMoV.

Os sintomas ocasionados pelo LeMoV em alface incluem o mosqueado e o mosaico, sendo muito difícil distinguí-lo do LMV, tendo por base somente a sintomatologia (MARINHO e KITAJIMA, 1986b; ZERBINI, 1995). Porém através de um estudo feito por Echer et al. (2003a), pôde-se observar que, o LeMoV é capaz de se multiplicar e causar sintomas em *Amaranthus hybridus*, não ocorrendo o mesmo com o LMV. Assim, *A. hybridus* pode ser utilizado como hospedeira diferenciadora, possibilitando separar LeMoV do

LMV, quando presentes em infecções mistas, além de facilitar a identificação das amostras de campo que possam conter somente o LMV como vírus causador de mosaico.

Testes preliminares indicam uma possível fonte de resistência ao LeMoV nas cultivares B.S.Simpson/IAC 2391, Guape/IAC 1149 e Monte Alegre IAC (MARINHO e KITAJIMA, 1986b). Entre as cultivares de alface do grupo americana estudados por Echer (2003b), destacaram-se como tolerantes ‘Lucy Brown’, ‘Classic’, ‘Annie’, ‘Jackal’, ‘Niner’, ‘Onondaga’ e ‘Summertime’, que apesar de terem desenvolvido sintomas, estes foram leves e desapareceram no decorrer do ciclo da cultura.

### 2. 2. 2 Mosaico da alface (*Lettuce mosaic virus* - LMV)

O LMV é considerado o agente causal de mosaico de maior importância na cultura de alface (PAVAN e KUROZAWA, 1997). Encontra-se disseminado por todo o mundo, devido, principalmente, ao intercâmbio de sementes estimulado pelo comércio internacional (DINANT e LOT, 1992).

Foi primeiramente descrito na Flórida, EUA, por Jagger (1921). No Brasil, o mosaico da alface foi relatado pela primeira vez por Kramer et al. (1945).

O LMV pertence ao gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae* (MURPHY et al., 1995) possuindo partículas filamentosas e flexuosas, com dimensões aproximadas de 730 x 13nm. Suas propriedades físicas “in vitro”, utilizando-se alface como hospedeira, são: ponto de inativação térmica entre 55 e 60<sup>0</sup>C; ponto final de diluição entre 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-2</sup> e longevidade “in vitro” a 20<sup>0</sup>C de 1 a 2 dias. Variações em torno desses valores foram observadas por outros autores e citados por Edwardson e Christie (1991).

A ocorrência dessa doença no Brasil e em todas as regiões produtoras do mundo é generalizada, sendo que os sintomas provocados pela infecção do LMV, variam muito de acordo com o isolado presente, sendo caracterizados normalmente pela presença de mosaico, nanismo, distorção e redução da área foliar, chegando a provocar necrose e morte de plantas quando a infecção é provocada por isolados mais agressivos (GROGAN, 1980; KRAUSE-SAKATE, et al., 1999).

Em todos os tipos de alface, o efeito do LMV é perfeitamente visível durante o pendoamento. As brácteas das inflorescências mostram mosaico e áreas necróticas e as plantas produzem menor quantidade de sementes (ZINK et al., 1973).

A gama de hospedeiras é bem ampla e, além da alface, o LMV também infecta ervilha, espinafre, chicória, endívia, escarola, e várias espécies selvagens pertencentes a família Asteracea (DINANT e LOT, 1992).

Experimentalmente, o vírus infecta algumas espécies das famílias Chenopodiaceae e Solanaceae, incluindo *C. quinoa* e *Nicotiana benthamiana* (KRAUSE-SAKATE, 2001). Algumas dessas espécies são mais comumente utilizadas como diferenciadoras para diagnose do LMV, mediante os sintomas macroscópicos, causados pela presença do vírus na planta (HORVÁTH, 1980).

O LMV pode ser transmitido pela semente (NEWHALL, 1923) e por afídeos, de maneira não circulativa (não-persistente) (EDWARDSON e CHRISTIE, 1991). No caso da transmissão pela semente, a mesma pode ser infectada tanto pelo pólen como pelo óvulo (RYDER, 1964), apresentando uma taxa de transmissão que pode variar de 1,33 a 16,5%, de acordo com o isolado e a cultivar utilizada (JADÃO et al., 2002). No caso da transmissão por afídeos, a mesma pode ser feita por várias espécies, sendo *Mysus persicae* a mais eficiente (EDWARDSON e CHRISTIE, 1991). Todos os instares do inseto transmitem o vírus (SYLVESTER, 1955).

Com base na capacidade de um determinado isolado de LMV infectar cultivares contendo diferentes genes de resistência, os isolados de LMV podem ser classificados em patótipos. Isolados pertencentes ao patótipo I infectam apenas cultivares que não possuem genes de resistência. Isolados pertencentes ao patótipo II (incluindo a estirpe típica) são capazes de infectar cultivares que possuem o gene *Mo2*, mas não aquelas com genes *mo1*<sup>1</sup> e *mo1*<sup>2</sup>. Isolados pertencentes ao patótipo II contornam a resistência proporcionada pelos genes *Mo2* e *mo1*<sup>1</sup>. Os isolados pertencentes ao patótipo IV contornam a resistência proporcionada pelos três genes. A maioria dos isolados de LMV se enquadram no patótipo II. Porém, os novos isolados recentemente relatados na Europa, Oriente Médio e Brasil enquadram-se no patótipo IV, causando sintomas de mosaico em plantas contendo os genes *mo1*<sup>1</sup> e *mo1*<sup>2</sup> (REVERS et al., 1997; KRAUSE-SAKATE et al., 2002).

Estudos sobre os efeitos do LMV em cultivares comerciais de alface tolerantes foram feitos por Walkey et al. (1985), verificando que os sintomas e a quantidade de vírus presentes variaram em função da época de inoculação e da constituição genética da cultivar. Segundo Ryder (1964) plantas infectadas, cultivadas sob altas temperaturas, transmitem o vírus através da semente em porcentagem menor do que quando comparado às plantas cultivadas em baixas temperaturas.

Uma das medidas de controle do mosaico é baseada na utilização de sementes certificadas (KRAUSE-SAKATE, 2001). Tomlinson (1992) observou que a porcentagem de plantas com sintoma de mosaico no campo está diretamente relacionada com a porcentagem de sementes infectadas com o LMV. Com os resultados obtidos, concluiu que sementes apresentando porcentagens de infecção superiores a 0,1% não devem ser consideradas aptas para a certificação, pois sementes com taxas de infecção entre 2,2 e 3,3% propiciaram no campo 25 a 96% de plantas com sintoma de mosaico.

No entanto, para as condições brasileiras, em que fatores climáticos, a ocorrência de plantas daninhas hospedeiras e a alta pressão dos vetores do gênero *Aphis* favorecem a ocorrência do LMV, sendo demonstrado que a utilização de sementes indexadas é ineficiente. (SALA e COSTA, 2005).

Outra medida de controle para o LMV seria a obtenção e o emprego de plantas resistentes (RYDER, 1968). De acordo com Pavan e Kurozawa (1997), as cultivares ‘Gallega de Inverno’ e ‘PI-251245’ apresentam tolerância ao mosaico causado por LMV-II, regida por genes recessivos. Assim, tanto na Europa como no Brasil, o controle do LMV vem sendo feito através da utilização de cultivares resistentes (ZERBINI, 1997), ou seja, plantio de cultivares portadoras dos genes de resistência recessivos *mol*<sup>1</sup> e *mol*<sup>2</sup> (KRAUSE-SAKATE, 2001). No Brasil, se utiliza basicamente cultivares com o gene *mol*<sup>1</sup>, enquanto que nos Estados Unidos e Europa adota-se a certificação de sementes juntamente com cultivares de alface portadoras do gene *mol*<sup>2</sup>. O gene *mol*<sup>1</sup> foi inicialmente incorporado nas cultivares de série Brasil lançada pelo Instituto Agrônomo de Campinas-IAC, e posteriormente em outras cultivares como Elisa (lisa), Gisele e Wanda (crespa) (PAVAN, et al., 2005).

Porém, no início da década de 1990, isolados de LMV capazes de contornar a resistência conferida pelos genes *mol*<sup>1</sup> e *mol*<sup>2</sup> foram detectados, inicialmente na

Europa e no Oriente Médio (PINK et al., 1992) e mais recentemente no Brasil (STANGARLIN et al., 2000).

Recentemente foi proposta uma nova classificação dos isolados de LMV dividindo-os em dois grandes sub-grupos: LMV-Common compreendendo os isolados que não são capazes de contornar a resistência dos genes *mo1*<sup>1</sup> e *mo1*<sup>2</sup> presentes em alface e o sub-grupo LMV-Most (*mo*-breaking, *seed-transmitted*) que engloba os isolados que contornam a resistência dos genes *mo1*<sup>1</sup> e *mo1*<sup>2</sup> e que podem ser transmitidos via semente e por afídeos em cultivares portadoras destes genes. Estes isolados encontram-se disseminados em diversos países da Europa e América do Sul, incluindo o Brasil, e por serem capazes de transmissão via semente mesmo em cultivares portadoras de genes de resistência, constituem um sério entrave à produção de alface, uma vez que não existe até o momento cultivares de alface resistentes (KRAUSE-SAKATE et al., 2002).

### 2. 2. 3 Complexo do vira-cabeça (Tospovirus)

Dos vírus que causam a doença vira-cabeça em alface a principal espécie é o *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) pertencente à família *Bunyaviridae*, gênero *Tospovirus*, que apresenta partículas esféricas ou pleomórficas com diâmetro entre 80 e 110 nm. Seu genoma é constituído por três segmentos de RNA denominados S ("small"), M ("medium") e L ("large"). O S RNA apresenta duas fases abertas de leitura - ORFs (*ambisense*) que codificam uma proteína não estrutural (gene *NSs*) e a proteína do nucleocapsídeo (gene *N*). O M RNA também possui duas ORFs (*ambisense*) que codificam a proteína de movimento (*NSm*) e um precursor das glicoproteínas (*G1/G2*), e o L RNA apresenta uma única ORF (senso negativo) que codifica a polimerase viral (gene *L*) (VAN REGENMORTEL et al., 2000).

Baseados em comparações das propriedades sorológicas e da composição da proteína do nucleocapsídeo, Ávila (1993a) e Ávila et al. (1993) propuseram novas espécies para o gênero *Tospovirus*, "*Tomato chlorotic spot tospovirus*" - (TCSV), "*Groundnut ringspot tospovirus*" - (GRSV) e "*Impatiens necrotic spot tospovirus*" - (INSV).

No entanto, a espécie INSV ainda não foi relatada no Brasil. Levantamentos realizados por Nagata et al. (1995) indicam que no Estado de São Paulo há predominância da espécie TCSV.

As espécies de Tospovírus são transmitidas através de insetos pertencentes à ordem Thysanoptera, comumente conhecidos como tripes, de maneira persistente (MATTHEUS, 1991). No caso das alfaces as espécies transmissoras mais importantes pertencem ao gênero *Frankliniella* (GERMAN et al., 1992). Evidências indicam que os tospovírus não são transmitidos por sementes, embora existam relatos de transmissão por esta via (IE, 1970), que necessitam de confirmação.

As diferenças de magnitude da doença, encontradas em diferentes regiões do globo, são atribuídas às diferentes espécies de tospovírus e sua transmissão por diferentes espécies de tripes (WIJKAMP et al., 1995). Devido à ampla gama de hospedeiras, mais de 1.050 espécies pertencentes a 92 famílias botânicas, incluindo monocotiledôneas e dicotiledôneas (PETERS, 1998) e pela diversidade de tripes vetores, torna-se difícil o controle da doença (PRINS e GOLDBACH, 1998).

As tospoviroses encontram-se entre as doenças que devastam diversas culturas, tais como do tomateiro, alface, abobrinha e ornamentais em várias partes do mundo (MURPHY et al., 1995). Nas últimas décadas, tospoviroses têm sido responsáveis por extensivas perdas em cultivos de alface em vários países. Relatos de epidemia na cultura são encontrados no Haváí (CHO et al., 1987; YUDIN et al., 1990), no Brasil (MORAES et al., 1986) na Austrália (LATHAM e JONES, 1997), em Portugal (PEREIRA et al., 1998), entre outros países. No Brasil a doença é problemática em cultivos de primavera e verão, ocasionado principalmente pelo aumento da população do vetor (YUKI e COSTA, 1988; NAVAS et al., 1991; PAVAN e KUROZAWA, 1997).

Embora não haja dados quantitativos das perdas provocadas pelos tospovírus em nível de campo, estes são, no presente, os vírus que mais causam danos econômicos em hortaliças no Brasil (ÁVILA, 1993b). Segundo levantamento realizado por Moraes et al. (1986), plantas de alface infectada pela espécie TSWV podem sofrer perdas de até 100%.

As grandes perdas econômicas são devidas, em parte, a uma lista extremamente ampla de hospedeiras, envolvendo mais de quinhentas espécies de plantas em

mais de cinquenta famílias (GUIMARAES, 1995), o que permite a sobrevivência do patógeno em plantas daninhas em crescimento e na entressafra das culturas (LEWIS, 1973).

Em alface, plantas infectadas por tospovírus apresentam manchas necróticas e bronzeamento nas folhas, geralmente em um lado da folha. A infecção sistêmica é caracterizada por murcha marginal, amarelecimento e bronzeamento de folhas internas e da nervura (COLARICCIO et al, 2001). Infecções logo no início do desenvolvimento da planta freqüentemente levam a morte (DAVIS et al., 1997).

A variação dos sintomas apresentados pelas plantas é determinada em função da espécie hospedeira, idade e estado nutricional da planta, época do ano e das condições ambientais (IE, 1970; FRANCKI e HATTA, 1981).

Plantas de alface afetadas por tospovírus apresentam cores de tonalidades claras (amarelo e verde claro) tornando-se mais atrativas aos tripes do que plantas saudáveis com tons de verde escuro (YUDIN et al., 1987). Esta maior atratividade por cores claras pode também ser responsável pela maior preferência para alimentação e oviposição em plantas com sintomas de doença (BAUTISTA e MAU, 1994).

O controle deste vírus pelo combate ao vetor torna-se difícil, porque uma vez infectados na fase larval, adultos de tripes podem migrar longas distâncias e, rapidamente, transmitir a doença (ULLMAN et al., 1997), além do mais a pulverização contra os tripes vetores é um recurso de resultados discutíveis e que pode deixar resíduos tóxicos no produto (FIGUEIRA, 2000).

Segundo Pavan e Kurozawa (1997), a resistência ao TSWV foi observada nas cultivares Tinto e PI 342517 ('Ancora') e esta resistência é de dominância parcial. Trabalhos de transferência de resistência e seleção de plantas próprias para nosso mercado vêm sendo realizados.

### **2.3 Avaliação e diagnose de fitovírus**

A determinação das perdas provocadas por vírus em plantas podem apresentar uma série de dificuldades e nem sempre pode ser considerada absolutamente precisa. Quando o vírus é transmitido através de um inseto vetor, nas avaliações de campo podem sofrer interferência de diversos fatores, pois a interação vírus-vetor-hospedeiro, pode

ser afetada por condições edafoclimáticas variadas, conduzindo a resultados divergentes em locais e condições climáticas diversificadas. Em adição, as infecções de campo são graduais, de modo que as plantas poderão ser infectadas em diferentes fases do ciclo. Isso dificulta a avaliação de perdas em plantas estabelecidas no campo, pois a atuação do vetor pode prejudicar as avaliações quantitativas (FIGUEIRA, 2000).

Quando se pretende fazer uma avaliação de perdas, provocadas por um determinado vírus na planta hospedeira cultivada, não se pode deixar de considerar a variabilidade biológica e molecular do vírus. Um mesmo vírus pode ter estirpes que induzem sintomas com diferentes severidades e estirpes que são capazes de infectar certas variedades ou espécies, como é o caso das diferentes estirpes do vírus do mosaico da alface (LMV) (PINK et al., 1992).

Apesar dos vírus poderem causar uma série de diferentes sintomas na planta hospedeira suscetível, os sintomas observados externamente nessa planta são os que servem como indícios da presença da doença no campo. Alguns dos sintomas morfológicos ou externos provocados por vírus são bastante característicos, de modo que podem permitir a sua diagnose imediata. No entanto, nem todos os vírus induzem sintomas característicos que permitem a sua diagnose pela inspeção visual das plantas (FIGUEIRA, 2000).

Uma das técnicas mais simples para identificação de fitoviroses é a utilização de plantas indicadoras, por reagirem com sintomas característicos a vírus específicos (Tabela 01). Ela consiste na inoculação do vírus, por métodos mecânicos, enxertia ou através do vetor nessas plantas hospedeiras experimentais. Entretanto, apesar de ser simples, é uma técnica demorada e nem sempre apresenta absoluta precisão nos resultados (FIGUEIRA, 2000).

Através de análise de microscopia eletrônica pode-se observar a morfologia viral, medir o seu tamanho e avaliar a qual dos gêneros ele pertence. Pode-se também observar, a estrutura dos tecidos infectados para procurar alguma alteração específica que contribua para a diagnose dos vírus. Entretanto a simples estrutura dos vírus não tem valor diagnóstico definitivo. Para isso outras informações devem ser consideradas como a gama de hospedeiras, sintomas e mesmo a sua transmissibilidade (KITAJIMA e NOME 1999).

Tabela 01. Reações de espécies vegetais utilizadas na identificação dos vírus que causam mosaico e mosqueado em alface (PAVAN e KUROZAWA, 1997).

Hospedeiros	Vírus				
	LMV	LeMoV	BMV	CMV	TuMV
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	lc	lc/s	lc	lc/ln	lc
<i>Chenopodium quinoa</i> Wild	lc/s	lc/s	lc	lc	lc
<i>Cucurbita pepo</i> cv. <i>Caserta</i>	-	-	*	m	ma/c
<i>Datura stramonium</i>	-	-	-	s	m
<i>Gomphrena globosa</i> .	lc	lc	-	lc/s	m
<i>Helianthus annuus</i>	-	-	ma/c	m	m
<i>Lactuca sativa</i>	m	mq	m	m/mq	m
<i>Nicotiana clevelandii</i>	lc	-	*	m	lc
<i>Nicotiana glutinosa</i>	-	-	ma/s	lc/s	m
<i>Petúnia hybrida</i>	-	*	ma/s	m	m
<i>Pisum sativum</i>	m	-	m	m	m
<i>Zinnia elegans</i>	m	lat	m	ln	m

lc: lesão clorótica; ln: lesão necrótica; s: sistêmico; m: mosaico; mq: mosqueado; ma: mancha; c: clorótico; lat: latente; -: não hospedeira. \*: não testada.

A técnica de ELISA, é amplamente utilizada na diagnose de fitoviroses, porém, não é suficientemente sensível na diagnose de determinadas viroses podendo levar a conclusões equivocadas a respeito da identidade de um vírus desconhecido. Embora a sorologia seja amplamente utilizada, as técnicas moleculares vem se tornando cada vez mais comum, e a tendência é de que seu uso seja crescente (ZERBINI et al., 2001).

A reação em cadeia da polimerase (Polymerase Chain Reaction, PCR), é uma técnica bastante simples versátil e de ampla aplicação, desenvolvida por Kary Mullis em 1980, que revolucionou a genética molecular através da possibilidade de produzir muitas cópias de uma seqüência específica do DNA, facilitando o estudo da análise de genes (HENSON e FRENCH, 1993). A técnica baseia-se na amplificação enzimática de um fragmento do ácido nucléico, específico para o patógeno que se quer determinar, por muitas de

vezes. A detecção é feita eletroforéticamente ou por outros meios. Teoricamente, pequenas concentrações do patógeno são suficientes para o início da reação, conferindo ao teste uma sensibilidade muito grande, que chega a atingir índices de 10<sup>9</sup> vezes superiores aos do teste de ELISA (DANIELS, 1999). Embora os reagentes para PCR tenham um custo relativamente alto, o que pode inviabilizar o seu uso com grande número de amostras, a técnica de PCR tem diversas vantagens sobre outros métodos como hibridação ou ELISA, por utilizar uma pequena quantidade de amostras de tecidos, permitir a detecção mesmo em baixas concentrações e em amostras guardadas por longo período, e por permitir, além da detecção, uma caracterização suplementar do vírus e a clonagem completa do genoma viral para estudos de infectabilidade (ZERBINI et al., 2001; REDONDO et al., 2001; PEYPELUT et al., 2004).

## **2. 4 Aspectos gerais dos insetos vetores de vírus na cultura da alface**

### **2. 4. 1 Pulgões**

Dentre as diversas espécies de insetos que podem ocasionar prejuízos econômicos à cultura de alface no Brasil encontram-se os afídeos. Plantas infestadas por esses homópteros apresentam folhas enroladas, encarquilhadas e raquíticas, sendo que a secreção açucarada excretada pelos mesmos reduz consideravelmente o valor comercial do produto. Os afídeos também podem transmitir vírus, que causam severas deformações nas folhas (ATKINSON e DENNIS 1984).

Os afídeos ou pulgões constituem um amplo grupo de pequenos insetos de corpo mole freqüentemente encontrados em grande número, pertencentes à Ordem Hemiptera e a Subordem Sternorrhyncha (BARBAGALLO et al., 1997), à superfamília Aphidoidea, da qual a família mais importante é a Aphididae, que é a família dos pulgões propriamente ditos, onde pertencem a maioria das espécies de importância econômica (GALLO et al., 2002).

Os pulgões possuem no máximo 5 mm de comprimento, são pouco esclerotizados, ovalados e de coloração variável. Reproduzem-se por partenogênese telítica, isto é, sem o concurso de machos, originando ninfas que se transformaram em fêmeas. A reprodução é ainda por viviparidade, ou seja, a fêmea coloca ninfas e não ovos. Esse tipo de

reprodução ocorre em locais de clima quente. Em locais onde há frio intenso, ocorre partenogênese cíclica, porque somente próximo ao inverno é que aparecem os machos, e a reprodução é sexuada. No restante do ano as espécies se reproduzem por partenogênese. Existem dois tipos de fêmeas: as ápteras, encarregadas da reprodução dentro de uma mesma colônia, e as aladas, que disseminam as espécies para outros locais. A capacidade de proliferação é enorme, daí sua grande importância econômica, pois em pouco tempo podem tomar conta de qualquer cultura, causando com isso vários danos, quer pela sucção contínua da seiva e deformações, quer pela transmissão de doenças (BORROR e DeLONG, 1988).

Na cultura de alface, os pulgões atacam as folhas sugando a seiva e, em consequência, produzem o enrolamento das folhas (GALLO et al., 2002). Além de danos diretos, são vetores importantes de vírus, tais como LMV, LeMoV, CMV, BiMV e TuMV (*Turnip mosaic potyvirus*) (PAVAN e KUROSZAWA, 1997).

Foram registradas, associadas à cultura da alface, as espécies de afídeos *Myzus persicae* (Sulz.) (SANTOS et al., 1992) e *M. euphorbiae* (SOUSA-SILVA e ILHARCO, 1995) no Brasil. Das espécies vetoradas conhecidas, o afídeo *M. persicae* é o mais importante, pois individualmente é capaz de transmitir mais de 80 vírus diferentes (KENNEDY et al., 1962).

Foram identificadas por Auad et al. (2002) as espécies *M. persicae*, *M. euphorbiae* e *U. ambrosiae*, em alface cultivada hidroponicamente. A maior ocorrência desses afídeos, no local do experimento, se limitou ao período em que a temperatura média permaneceu abaixo de 19,2°C para *U. ambrosiae* e de 21,5°C para as demais espécies. Esse resultado reforça o obtido por Koldet et al. (1982), que concluíram que a temperatura é o fator climático mais significativo no desenvolvimento dos afídeos, sendo que as mudanças nas taxas de desenvolvimento, fecundidade, longevidade e tempo de geração ninfal prevalecem sob condições de baixas temperaturas.

Após a decolagem, os afídeos fazem um vôo no sentido vertical, tentando atingir a região das correntes aéreas. A seguir, entram em vôo propriamente dito carregados por essas correntes de vento. Sabe-se que podem voar regularmente até 30 km de distância (TRIPLEHORN e JOHNSON, 2005). Depois de algum tempo de vôo, carregados pela corrente aérea, os afídeos começam a ser atraídos por outros comprimentos de onda de luz, em torno de 580 nm, que corresponde à faixa do amarelo. Eles descem, sem distinção

alguma sobre superfícies que reflitam este comprimento de onda de luz, seja sobre um carro, uma planta hospedeira ou não. Ao pousarem, provam a superfície com uma picada de curta duração, conhecida como picada de prova. Essa picada dura apenas poucos segundos, em geral, em torno de 20 segundos, tempo este suficiente para furar a epiderme e transmitir vírus de relação estiletar. Após a picada de prova, caso não tenha encontrado a sua hospedeira, retornam ao vôo, mas desta vez curto, repetindo-as até que a encontre. Alguns dias após o início do vôo, os músculos alares se degeneram, impossibilitando o vôo (LEWIS, 1973).

Furiatti e Almeida (1993), em estudos populacionais de afídeos em campos de batata-semente no Paraná, registraram alta população de *M. persicae* na faixa de temperatura de 18°C a 20°C; confirmando as observações de Eastop (1977), que diz que a temperatura é um fator que condiciona o tamanho das populações de afídeos, bem como seu comportamento individual.

A flutuação populacional de *M. persicae* em Campinas, SP, é conhecida, sendo que as maiores revoadas ocorrem no período de abril a setembro, com o pico no mês de maio (COSTA e COSTA, 1972).

Segundo Kitajima et al. (1980), tem-se notado que no período de março a setembro, a incidência de mosaico em alface é maior, podendo atingir índices da ordem de 70-80%. Isto indica que o período de maiores revoadas dessa espécie coincide com o de maior incidência dos vírus causadores de mosaico e mosqueado em alface.

#### **2. 4. 1. 1 Modo de Transmissão do LeMoV e LMV**

O LeMoV não é transmitido através de semente e tem como vetor o afídeo *Hyperornyzus lactucae*, que o transmite de maneira não circulativa (MARINHO et al., 1982). Já a disseminação do LMV pode ocorrer por meio de sementes obtidas de plantas infectadas ou por afídeos, de maneira não circulativa, e pode ser feita por várias espécies, sendo *M. persicae* a mais eficiente (EDWARDSON e CHRISTIE, 1991).

A passagem dos vírus ocorre através da contaminação do aparelho bucal. As características deste tipo de transmissão são a aquisição do vírus em uma planta infectada e a inoculação bastante rápida em planta sadia, geralmente realizada em segundos durante a picada de prova. O inseto torna-se infectivo imediatamente após sua alimentação

em plantas portadoras de vírus, não havendo período de incubação ou latência no vetor, porém, o agente transmissor perde rapidamente a capacidade infectiva e deixa de ser infectivo quando sofre ecdise (BEDENDO, 1995).

#### **2. 4. 2 Tripes**

Os tripes são insetos pertencentes à ordem Thysanoptera, que é dividida em duas subordens, Terebrantia e Tubulifera: as fêmeas dos Terebrantia apresentam um ovipositor em forma de serra e externo ao abdome e geralmente inserem seus ovos no tecido das plantas, enquanto que nos Tubulifera o ovipositor é ausente e os ovos são depositados em fissuras ou sob a casca das plantas (BORROR e DeLONG, 1988).

A subordem Terebrantia é constituída por sete famílias: Aeolothripidae, Merothripidae, Heterothripidae, Uzelothripidae, Fauriellidae, Thripidae e Adiheterothripidae, enquanto que a subordem Tubulifera é constituída apenas pela família Phlaeothripidae (PALMER, 1990).

A maioria das espécies de tripes consideradas pragas pertence à família Thripidae, que possui cerca de 1500 espécies e 250 gêneros conhecidos. Seus representantes vivem, geralmente, em flores e folhas, sendo que muitos estão associados a gramíneas (MOUND et al., 1993, apud MONTEIRO, 1994).

A metamorfose dos tripes é intermediária entre a simples e a completa, sendo que o ciclo de vida geralmente inclui fase de ovo, duas fases de ninfa (ativas do ponto de vista alimentar), seguidas por duas fases inativas do ponto de vista alimentar (pré-pupa e uma ou duas fases de pupa) e a fase adulta. Na maioria dos tripes fitófagos a postura é endofítica e a fase de pupa ocorre no solo (PALMER et al., 1989; MOUND e KIBBY, 1998). Machos e fêmeas têm aspecto semelhante, mas os machos são geralmente menores. Em muitas espécies ocorre a partenogênese e em algumas, os machos são raros ou desconhecidos (BORROR e DeLONG, 1988).

Segundo Lewis (1973), o ciclo de vida dos tripes varia enormemente de uma espécie para outra, sendo que em algumas o tempo mínimo requerido para atingir a fase adulta é de aproximadamente 10 dias, enquanto que em outras pode chegar a 12 meses. O

autor menciona ainda o ciclo de vida (ovo a adulto) de algumas espécies do gênero *Frankliniella*: 15,9 dias para *F. fusca*; 11 dias para *F. tritici* e 13,7 dias para *F. tenuicornis*.

Os tripses podem medir de 0,5 a 14 mm de comprimento, sendo que as maiores espécies são tropicais. As espécies mais comuns em regiões temperadas não medem mais do que 1 ou 2 mm de comprimento (LEWIS, 1973).

Os thysanopteros geralmente apresentam dois pares de asas delgadas e com largas franjas marginais, sendo que o comprimento das asas em relação ao corpo freqüentemente difere entre os vários grupos, espécies e sexo; ambos os sexos podem apresentar asas longas (macropteros) ou asas curtas (brachypteros) e em algumas espécies machos e fêmeas possuem asas de tamanhos diferentes. Algumas vezes um ou ambos os sexos podem não apresentar asas, mas a dispersão aérea não depende da presença das asas, sendo que muitas espécies ápteras se dispersam pelo ar de forma mais eficiente do que algumas espécies aladas (LEWIS, 1973; PALMER et al., 1989).

O aparato bucal dos tripses é único entre os insetos, consistindo, essencialmente, de uma única mandíbula (esquerda), labro e maxilas reduzidas a um par de estiletes assimétricos, que são co-adaptados para formar um canal através do qual o alimento é absorvido (HEMING, 1978).

No processo de alimentação em tecidos foliares, os tripses perfuram a epiderme, utilizando a mandíbula, que rapidamente é retirada dos tecidos e substituída pelos estiletes maxilares, que formam um tubo com uma abertura terminal por onde o alimento é succionado. Ao término do processo de alimentação muitas células do mesófilo ficam totalmente destruídas, provocando o colapso de células da epiderme (CHISHOLM e LEWIS, 1984).

Os tripses podem também favorecer a penetração de fungos através de lesões causadas nas folhas de alface após o processo de alimentação, o que contribui para redução mais acentuada da produtividade (CORTEZ e TEIXEIRA, 2005). Além dos danos diretos provocados decorrentes da alimentação, os tripses podem afetar as plantas pela introdução de outros agentes fitopatogênicos, principalmente partículas virais, tais como dos tospovírus (PALMER et al., 1989; WIJKAMP et al., 1993b)

Os principais gêneros de tripses envolvidos na transmissão do TSWV são *Frankliniella* e *Thrips* (GERMAN et al., 1992), pertencentes à Família Thripidae, sendo

insetos minúsculos, ubíquos e encontrados numa variedade de habitats ao redor do mundo (LEWIS, 1973).

O relacionamento TSWV/tripes é muito específico (GUIMARÃES, 1995). Pelo menos nove espécies de tripes (Thysanoptera-Thripidae) já foram descritas como transmissoras de tospovírus, tendo um papel preponderante na disseminação das diferentes espécies de tospovírus, entre as quais: *Thrips tabaci* Lindeman, *T. setosus* Moulton, *T. palmi* Karny, *Frankliniella schultze* Trybom, *F. occidentalis* Pergande, *F. fusca* Hinds, *F. tenuicornis*, *F. intonsa* Trybom., *Scirtothrips dorsalis* Hood (WIJKAMP et al., 1995).

Muitas espécies de tripes consideradas praga possuem uma ampla gama de hospedeiros, que incluem tanto plantas cultivadas quanto silvestres, sendo que na maioria das vezes, sobrevivem em plantas daninhas em crescimento na entressafra das culturas (LEWIS, 1973).

Estudando a colonização de alface e de cinco plantas daninhas por tripes, Yudin et al. (1988) identificaram espécies de tripes associadas à cultura e às plantas daninhas, sendo que *F.occidentalis* foi a espécie mais abundante (82,4% de todos os espécimes coletados), seguido por *F. schultzei* (8%).

Algumas espécies de tripes são atraídas por superfícies coloridas, sendo que diferentes cores atraem diferentes espécies (LEWIS, 1959).

Moffitt (1964), Beavers et al. (1971) e Yudin et al. (1987) constataram que armadilhas adesivas brancas capturaram maior número de indivíduos da espécie *F. occidentalis* do que armadilhas de outras cores, enquanto que Brodsgaard (1989) verificou que armadilhas adesivas azuis colocadas em estufas de violetas capturaram mais indivíduos desta espécie do que armadilhas adesivas amarelas ou brancas.

Temperaturas baixas podem provocar a morte, principalmente, das fases imaturas do inseto. Em geral, o aumento populacional de tripes está relacionado a condições de alta temperatura e clima seco (BAYLEY, 1933; GAINES, 1934; HARDING, 1961), e embora os tripes ocorram nas lavouras durante o ano todo, sua incidência é maior no período de novembro a março, nas principais regiões produtoras de alfaces dos estados de São Paulo e Minas Gerais.

#### **2. 4. 2. 1 Modo de transmissão de tospovirus**

Estudos recentes avançaram de maneira significativa no entendimento de relação tripses/TSWV, que é do tipo circulativa/propagativa. A aquisição de TSWV pelo vetor é bastante variável (4 a 45 min), ocorrendo somente no primeiro instar da fase ninfal, e após um período de latência, o vírus começa a ser transmitido a partir do final do segundo instar larval (ÁVILA, 1993a; WIJKAMP, 1995). Segundo Ávila, (1993a) o tripses adulto transmite o vírus por toda a vida. Notavelmente, as ninfas dos tripses não possuem asas e não são facilmente dispersadas pelo vento, ao passo que adultos são alados e se dispersam facilmente (YUDIN et al., 1988). Assim, o início do ciclo de infecção pode ocorrer somente quando fêmeas adultas depositam seus ovos em folhas infectadas que sejam hospedeiras apropriadas para desenvolvimento do ovo e da ninfa. Após a aquisição da partícula viral essa se multiplica no vetor (WIJKAMP et al., 1993a) com um período de incubação variando de quatro a dezoito dias em *T. tabaci* e de quatro a doze dias em *F. fusca* (SAKIMURA, 1963).

O inseto não transmite o vírus através de seus ovos (IE, 1970; TRESH, 1974). Tanto macho como fêmea são igualmente eficientes na transmissão e a transmissibilidade do vírus pelo vetor diminui consideravelmente quando ele é propagado sucessivamente através de inoculações mecânicas (PALIWAL, 1976). Este fato pode estar relacionado com a formação de mutantes de RNA interferentes defectivos (VERKLEIJ e PETERS, 1983) que podem também levar a atenuação dos sintomas (RESENDE et al., 1991).

#### **2. 5 Estratégias de Controle de Fitoviroses**

A maioria das medidas de controle para a proteção das plantas contra os vírus não se parece com as empregadas para os outros patógenos (HULL e DAVIES, 1992). Isso ocorre porque ainda não se encontrou uma substância capaz de impedir a infecção da planta pelo vírus, quando este é transmitido pelo vetor (SATAPATHY e ANJANEYULU, 1992). Desse modo, as medidas preventivas são direcionadas ao controle do vetor, ao uso de cultivares resistentes ou tolerantes e ao emprego de pré-imunização. Apesar do grande número de trabalhos com substâncias antivirais, para vírus de plantas ainda não existe uma que seja comprovadamente eficiente (FIGUEIRA, 2000).

Muitas vezes, o uso de uma ou mais medidas isoladamente, pode não ser suficiente para promover o controle de doença com valor prático. Daí ser o manejo integrado de doenças de plantas uma ação multidisciplinar, envolvendo, de forma integrada, todos os métodos que podem influenciar direta ou indiretamente a predisposição do hospedeiro ao ataque de patógenos, as formas de sua sobrevivência e disseminação e os mecanismos de mudança do ambiente. Deste modo, o manejo integrado consiste na utilização de todas as técnicas disponíveis ao agricultor. Dentro dessa ótica, o uso do manejo integrado objetiva manter as doenças das plantas abaixo do limiar de dano econômico, sem ou com menor prejuízo para o agroecossistema (GUIMARÃES, 1999).

Muitas culturas são afetadas por importantes viroses, e somente a aplicação de medidas de controle adequadas tem tornado possível a manutenção das perdas num patamar aceitável. Entretanto, muito ainda necessita ser feito no sentido de evitar as perdas, e nem sempre são avaliadas em países como o Brasil, em que o agricultor está acostumado com produtividade baixa, de modo que nem sempre questionam as suas causas ou mesmo não estão preparados para reconhecê-las. Isso ocorre freqüentemente com pequenos produtores, principalmente na produção de hortaliças em geral (FIGUEIRA, 2000).

Para um controle eficiente das fitoviroses, pressupõe-se que o vírus tenha sido identificado corretamente e que haja melhor conhecimento do complexo ecologia e epidemiologia do vírus, isto é, como se comporta o vírus em relação aos seus hospedeiros, presença de vetores e fontes de infecção em determinados ambientes e como se dá a incidência da doença (WARTERWORTH e HADIDI, 1998). As únicas soluções práticas, até o momento, consistem em controlar as viroses indiretamente, interferindo com sua ecologia natural e protegendo as culturas da infecção ou, pelo menos, reduzindo seus efeitos. (NORONHA, 1992). Sendo assim, devido ao seu modo de interação com a planta, os vírus compõem um grupo especial de patógenos, cujos métodos de controle devem ser, na sua grande maioria, de caráter preventivo (SIGVALD, 1998).

No caso de vetores alados, o isolamento geográfico, o controle químico e/ou biológico podem reduzir significativamente a incidência das viroses (PAIVA e KITAJIMA, 1985) e medidas preventivas como o uso de barreiras físicas, oferecem obstáculo à migração de insetos vetores, assegurando atraso no desenvolvimento de doenças (GUIMARÃES et al., 1997).

As barreiras para o vento, como, por exemplo, árvores e irregularidades no nível do terreno e da cultura, criam zonas de proteção em que muitos insetos se acumulam e zonas onde ventos mais rápidos os levam para longe (LEWIS e STEPHENSON, 1966; LEWIS e DIBLEY, 1970).

Enquanto a colonização de indivíduos é difícil de se observar no campo, o resultado coletivo de colonização ou “deposição” durante um período de tempo produz modelos distintos de infestação em algumas culturas. Estes modelos são amplamente determinados pelas correntes de ar locais formadas quando o vento livre encontra obstáculos, como, por exemplo, as margens das culturas ou barreiras de proteção e árvores (LEWIS, 1973; SLEUTJES, 2003).

Segundo Vida et al. (2004) o uso de telado e eliminação de plantas invasoras hospedeiras são medidas comumente utilizadas para o controle de vírus, cujos principais agentes disseminadores são insetos, podendo ter as plantas daninhas como fonte de inóculo. O telado, em cultivo protegido, consiste em instalar telas protetoras, mais comumente de náilon, junto às laterais da estufa, cuja malha impede a passagem de insetos para a cultura no interior da estufa. O uso de telado anti-afídeo proporciona boa proteção das plantas aos insetos. Costa et al. (1972), estudando os efeitos de coberturas de tela para a proteção de mudas de tomate contra a invasão de vetores, concluíram que mudas de tomate produzidas sob proteção tiveram uma produção mais elevada do que as não protegidas. Ribeiro et al. (1981), avaliando as possibilidades de controlar doenças viróticas transmitidas por afídeos através da proteção das plantas até à fase de estaqueamento do tomateiro, com telados de náilon, constataram que o tratamento é eficaz e pode ser economicamente viável no controle de viroses, particularmente sob condições que favoreçam sua incidência.

Yudin et al. (1991) obtiveram redução de 10% no número de tripes capturados através de armadilhas adesivas amarelas em campos de produção de alface, quando estes se apresentavam com barreiras formadas por redes de polivinil aluminizada, em comparação com campos sem a presença da barreira.

O controle físico, por sua vez, tem apresentado uma importância relativa crescente no controle de pragas, em função de que, na grande maioria dos casos, há poucas opções além do controle químico (NAKANO, 1999).

O controle químico dos vetores alados é útil, tanto para impedir a disseminação dentro do campo (DIFONZO et al., 1995), como para impedir a disseminação de fora para dentro do campo (WATSON e FALK, 1994). Entretanto, para impedir a transmissão de vírus de fora para dentro da cultura, o tratamento tem que ser feito na fonte de inóculo, pois se o vetor chegar à cultura trazendo o vírus, o inseticida terá pouco valor, uma vez que, antes de morrer, ele tem uma grande chance de transmitir o vírus (BACON et al., 1976).

Tradicionalmente o uso de inseticidas é recomendado para o controle de afídeos vetores. Entretanto, de maneira geral, é reconhecido que para os vírus transmitidos de forma não circulativa, o uso somente de inseticida não têm tido efeito na redução da incidência desses fitovírus, pois o inseto vetor pode transmitir o vírus rapidamente através da picada de prova (BROSDBENT, 1957 e RACCHAH, 1986). Neste caso, os inseticidas recomendados não são suficientemente rápidos para matar os vetores antes da inoculação dos vírus. Em certos casos ainda podem até aumentar a incidência dos vírus por eles transmitidos, em consequência da excitação causada pelos inseticidas durante as picadas de prova (SLEUTJES, 2003). Para os vírus circulativos, o controle do vetor pode resultar em controle efetivo ou parcial da virose, como é o caso do vira-cabeça do tomateiro causado por TSWV e GRSV transmitidos por tripes (*F. Schultzei* e *T. tabaci*). Para alguns vírus como CMV e o PRSV-W, a pulverização das plantas com certos tipos de óleos pode ajudar no controle. O óleo interfere na transmissão do vírus pelo pulgão, pois atua de modo a provocar a morte dos insetos por asfixia, em função da obstrução dos opérculos (KUROZAWA e PAVAN, 1997a;1997b)

Apesar de vários trabalhos terem focado o uso de inseticidas para reduzir a população de tripes (LEWIS, 1973; COSTA et al., 1977; CHO et al., 1989), o nível de controle obtido não foi suficiente para reduzir o número de insetos ou de plantas com sintomas da doença. Além disso, o uso intensivo de inseticidas pode ocasionar resistência por parte do vetor, bem como levar à contaminação ambiental (YUDIN et al., 1991).

O uso de variedades resistentes, imunes ou tolerantes é o método ideal para controlar doenças de plantas, pois não onera diretamente o custo de produção e não apresenta riscos (HAMMOND, 1998; BERGAMIM FILHO e AMORIM, 1996). Sendo assim, o desenvolvimento de cultivares resistentes para controle de doenças é uma solução econômica e eficiente, requerendo o mínimo ou nenhuma experiência por parte dos extensionistas ou produtores rurais (REDDY e WIGHTMAN, 1988). Quando o seu nível não

apresenta valores práticos, pode ser complementada por outras medidas de controle. O problema é a disponibilidade de variedades resistentes para a maioria das raças e das espécies de patógenos (BERGAMIM FILHO e AMORIM, 1996). Considerável esforço, tempo e recursos financeiros têm sido gastos para selecionar e melhorar cultivares resistentes a vírus, pois é importante que a cultivar melhorada tenha as características agrônômicas desejadas e que não seja suscetível a outras doenças (KHETARPAL et al., 1998).

Como a disseminação de determinados vírus pode ocorrer via semente, é de suma importância que as sementes usadas na plantação tenham boa sanidade, sejam de boa procedência ou sejam material certificado (MAURY et al., 1998). Se as sementes ou mudas plantadas estiveram livres de vírus e não houver nas redondezas nenhuma fonte de inóculo, ou seja, hospedeiras vivas para o vírus e para o vetor, a chance de se evitar uma epidemia são bem grandes (SIGVALD, 1998). Somente uma revoada de insetos vetores trazidos por correntes aéreas poderiam introduzir o vírus na lavoura, e haveria uma grande chance de se não for possível evitar, pelo menos retardar bastante essa introdução (SATAPATHY, 1998). Contudo, o objetivo maior deve ser de impedir ou retardar o máximo possível a entrada do vírus na lavoura. Resultados com tendências semelhantes foram obtidos por Doodson e Saunders (1970) e Borges (2001).

Baseado na resposta sensitiva dos tripses aos diversos comprimentos de onda (LEWIS, 1959; MOFFITT, 1964; WALKER, 1974; YUDIN et al., 1987), o uso de superfícies reflexivas têm sido muito utilizada no combate aos vetores transmissores de viroses. Em grande parte o uso é de substâncias sintéticas (SCOTT et al., 1989; GREENOUGH et al., 1990; BROWN e BROWN, 1992; CSIZINSZKY et al., 1995). O uso de superfície aluminizada reduziu a porcentagem de plantas da família das solanáceas afetadas por tospoviroses em 60% na Flórida. Os tratamentos comparativos foram o plástico preto e solo sem cobertura (GREENOUGH et al., 1990).

Csizinszky et al (1995) obtiveram uma redução nos danos causados por tripses em função da utilização de materiais de diversas cores como cobertura do solo. Outros materiais de origem natural também foram testados para verificar sua ação repelente sobre os insetos (COSTA e COSTA, 1971; LITSINGER e RUHENDI, 1984; YUKI, 1990; VOS et al., 1995, GUIMARÃES e PAVAN, 1998). A casca de arroz é um material que se apresenta como alternativa viável de custo (GUIMARÃES e PAVAN, 1998). O uso de repelentes

reflexivos tais como casca de arroz e superfície de alumínio, reduz sensivelmente a incidência de vírus transmitidos por afídeos. Esses produtos repelem os insetos alados em vôo, evitando que desçam nas culturas que estão com essas proteções (LEWIS, 1973).

Litsinger e Ruhendi (1984) obtiveram a redução do número de tripes coletados em plantas de caupi quando estas se apresentavam com cobertura de palha de arroz. Guimarães e Pavan (1998) também obtiveram diferenças nas respostas de canteiros com e sem a presença de casca como cobertura de solo, na incidência de tospovirose na cultura da alface.

De acordo com Wyman et al. (1979) o objetivo principal das superfícies colocadas no solo seria de evitar a infecção precoce das plantas. A maioria dos trabalhos mostra que após certo tempo do plantio há uma perda gradativa da repelência, aumentando bastante a incidência do vírus, chegando a ser comparável às testemunhas (MOORE et al., 1965; WOLFENBARGER e MOORE, 1967; ADLERZ e EVERETT, 1968; GEORGE e KRING, 1971 e WYMAN et al., 1979).

Para controle de viroses em alface, as áreas das plantações em qualquer das suas fases (sementeiras, canteiros, viveiros ou plantações definitivas), bem como aquelas que a circunda, devem ser tão livres quanto possível de vegetação espontânea ou de outras culturas que possam servir como fontes de vírus ou do vetor (FIGUEIRA, 2000). Além de manter a cultura no limpo, sem ervas daninhas hospedeiras dos insetos vetores e viroses, a eliminação das plantas atacadas também se faz importante (PAVAN e KUROZAWA, 1997).

Medidas para a redução do inóculo inicial ou da taxa de progresso de doença aplicadas isoladamente são, geralmente, insuficientes em nível prático para o controle de uma ou de todas as doenças incidentes numa determinada cultura (BERGAMIM FILHO e AMORIM, 2001).

Segundo Vida et al. (2001), as medidas para controle de doenças devem ser integradas num sistema flexível, que seja compatível com o controle de insetos e com os sistemas de produção utilizados, além de econômico.

Dentro desse contexto existe a necessidade de se adotar um conjunto de medidas, com diferentes abordagens simultâneas, para que o controle das fitovirose seja satisfatoriamente eficiente.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Localização e caracterização da área experimental**

O presente trabalho foi realizado em 2003, na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção São Manuel (FEPP), pertencente à Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Botucatu, localizado no Município de São Manuel, Estado de São Paulo. O local apresenta altitude de 740 m acima do nível do mar e as seguintes coordenadas geográficas: latitude de 22°46' Sul, longitude 48°34' oeste do meridiano de Greenwich.

De acordo com Espíndola et al. (1974) o clima local é do tipo mesotérmico, Cwa, ou seja, subtropical úmido, com estiagens no período de inverno. A precipitação média anual é de 1.534 mm, sendo a temperatura média de 21°C. Os valores diários de temperatura mínima, máxima, média do ar e precipitação pluviométrica, referentes ao período de condução dos experimentos, foram obtidos junto à Estação Meteorológica da Fazenda Experimental de São Manuel.

Os experimentos foram conduzidos em solo classificado como Argissolo Vermelho Amarelo Distrófico (Utissol), corrigido de acordo com a análise química (em anexo) coletada antes da instalação dos experimentos.

#### **3.2 Características das progênies e cultivares**

As dezoito progênies de alface (*Lactuca sativa* L.) utilizadas nos ensaios são da geração [(Brasil 303 x Tinto) Elisa] F<sub>5</sub> RC<sub>1</sub> pertencentes ao programa de melhoramento do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Campus de Botucatu, previamente selecionadas para tolerância ao LMV-II, LeMoV e tospovírus, além de apresentarem boas características agrônômicas, tais como: tipo lisa, pé plano, folhas de coloração verde clara, cabeça grande e bem folhuda e pendoamento lento.

A cultivar comercial Elisa é constituída de plantas de porte grande, tipo lisa, cabeça compacta e folhas de coloração verde claro, alta uniformidade de campo e alto rendimento no embalamento. Apresenta também alta resistência ao pendoamento e tolerância ao LMV-II e LeMoV. Já a cultivar Tinto, utilizado como parental das progênies testadas, é uma alface holandesa, de pequeno porte, de bordas arroxeadas, tolerante a tospovírus e normalmente cultivada em ambiente protegido (CHO et al., 1987; NAGAI, 1992).

### **3. 3 Delineamento experimental e tratamentos**

Dois experimentos foram conduzidos em épocas distintas do ano, um no outono-inverno e o outro na primavera-verão, onde avaliou-se diversas progênies F<sub>5</sub> e a influência da adoção de práticas culturais na incidência de viroses. O experimento 1 (Figura 1) foi conduzido de 28 de março a 06 de julho e o experimento 2 (Figura 2) de 06 de outubro a 24 de dezembro do mesmo ano. Os fatores estudados foram: cobertura do solo (palha de arroz e solo sem cobertura), cultivo protegido (túnel plástico e túnel tela) e 18 progênies F<sub>5</sub>, avaliando os seguintes aspectos agrônômicos: área de projeção da saia, massa fresca da parte aérea da planta, produtividade, fechamento de “cabeça”, tempo de início de pendoamento e incidência de viroses.

A estrutura de blocos foi casualizada em esquema fatorial 4 x (18+1) para aspectos agrônômicos das progênies e 4 x (18+2) para a avaliação da incidência de viroses, com três repetições. Cada bloco continha oito canteiros de 22,0 m x 0,9 m, sendo que cada tratamento ocupou dois canteiros. As parcelas experimentais constituíram-se de 12 plantas, distribuídas em três linhas de 1,0 m de comprimento, espaçadas de 0,30 x 0,25 m. Na extremidade de cada canteiro foi utilizada uma parcela como bordadura.



Foto: Borges, L. M. (2003)

Figura 1. Vista parcial do experimento 1 (outono-inverno). São Manuel, SP, mai/2003.



Foto: Borges, L. M. (2003)

Figura 2. Vista parcial do experimento 2 (primavera-verão). São Manuel, SP, nov/2003.

Os tratamentos em cultivo protegido foram instalados sob arcos metálicos espaçados 2,6 m entre si, utilizando-se filme plástico ou tela como cobertura, formando túneis de 2 m de altura e 4 m de base. Durante a condução dos experimentos, o túnel coberto com plástico permaneceu aberto nas laterais até uma altura de 0,30 cm do solo, e o túnel coberto com tela permaneceu totalmente fechado.

Os tratamentos testados foram:

- T1 - Solo coberto com palha de arroz (Figura 3)
- T2 - Solo nu (Figura 4)
- T3 - Túnel coberto com filme PEBD (poliestireno de baixa densidade) aditivado anti-vírus de 150  $\mu\text{m}$  (Figuras 5 e 6)
- T4 - Túnel coberto com tela anti-afídeo (Figuras 7 e 8)



Foto: Borges, L. M. (2003)



Foto: Borges, L. M. (2003)

Figura 3. Tratamento 1 - Solo coberto com palha de arroz

Figura 4. Tratamento 2 - Solo nu



Foto: Borges, L. M. (2003)



Foto: Borges, L. M. (2003)

Figuras 5 e 6. Tratamento 3 - Túnel coberto com filme PEBD aditivado anti-vírus de 150 µm



Foto: Borges, L. M. (2003)



Foto: Borges, L. M. (2003)

Figuras 7 e 8. Tratamento 4 - Túnel coberto com tela anti-afídeo

### 3.4 Instalação e condução dos experimentos

Para produção de mudas utilizou-se bandejas de poliestireno expandido de 128 células, modelo BP 128/47, com 4,7 cm de altura, 1,6 cm<sup>2</sup> de área e 27,3 cm<sup>3</sup> de volume. O substrato utilizado foi constituído de terra de barranco, esterco bovino peneirado e substrato comercial (Plantmax). Para cada metro cúbico da mistura, foram adicionados 2,5 kg do adubo formulado 04-14-08.

A semeadura foi realizada, para o primeiro e segundo experimento, respectivamente em 31/03 e para o 08/10, colocando-se 3 a 4 sementes pré-germinadas por célula. Após a semeadura, as bandejas foram cobertas com palha de arroz carbonizado, irrigadas, levadas para viveiro e acomodadas em suporte, onde permaneceram até o transplante para o local definitivo. Aproximadamente dez dias após a emergência das plântulas, foi realizado um ajuste no estande, desbastando-se o excesso de plântulas, deixando-se uma muda por célula. O suprimento de água no período de viveiro foi efetuado três vezes ao dia, com um regador de crivo fino. Nesta fase foi feita adubação foliar com 1 g de nitrocálcio. Foram realizadas também duas aplicações de fungicida a base de Iprodione como tratamento preventivo para o controle de “damping-off”.

O preparo do solo consistiu em aração, gradagem e levantamento de canteiros com rotoencanteirador. A adubação de plantio foi realizada levando-se em consideração a análise de solo, de acordo com a recomendação sugeridas por Trani et al. (1996). As mudas foram transplantadas quando atingiram 4-5 folhas definitivas. No experimento 1 o transplante foi realizado em 29 do mês de abril, e o experimento 2, no dia 5 do mês de novembro.

Após o transplante as mudas foram irrigadas por sistema de aspersão convencional e após o pegamento a irrigação passou a ser feita por gotejamento. Em seguida foi adicionada palha de arroz ao tratamento 1 e instalados os túneis com plástico e telado nos tratamento 3 e 4, respectivamente.

A adubação de cobertura foi realizada aos dez e vinte dias após o transplante seguindo as recomendações de Trani et al. (1996) e o manejo de plantas daninhas nos canteiros feita manualmente, sempre que necessário.

As operações de colheita foram realizadas em 09/06 e 10/12 de 2003, respectivamente para o primeiro e segundo experimento, ou seja, aos 70 e 63 dias após a sementeira.

### **3. 5 Avaliação dos experimentos**

#### **3. 5. 1 Aspectos agronômicos das progênies**

##### **3. 5. 1. 1 Área de projeção da saia**

A área de projeção da saia foi determinada no dia anterior à colheita, medindo-se ao acaso, três plantas de cada parcela, tomando-se a distância entre as margens opostas do disco foliar, com o auxílio de uma régua. Os dados foram expressos em centímetros e a área foliar calculada pela equação:

$$A = \pi r^2$$

A = área

$\pi = 3,1416$

$r = d/2$

d = diâmetro  $(d_1+d_2)/2$

d1 = comprimento entre as folhas basais opostas mais longas

d2 = comprimento entre as folhas basais opostas mais curtas

##### **3. 5. 1. 2 Massa da matéria fresca**

Para determinação da massa da matéria fresca foram amostradas na data da colheita, três plantas centrais de cada parcela, cortando-se o caule rente ao solo. As folhas mortas e senescentes foram descartadas e a massa determinada com o auxílio de uma balança com sensibilidade de 1g. Posteriormente, foi calculado o valor médio da massa da matéria fresca coletada, e o valor expresso em gramas.

### 3. 5. 1. 3 Produtividade

A produtividade foi avaliada pelo peso médio da massa da matéria fresca de cada unidade experimental, descontando-se a porcentagem de incidência de viroses, utilizando-se a seguinte fórmula,

$$PT = \frac{PC \times MF}{1.000} - \%IV$$

PT = produtividade em toneladas/ha<sup>-1</sup>

PC = produtividade corrigida, correspondente ao número de plantas por hectare, descontada a área entre os canteiros, Borges, L. M. (2003), resultando, no caso do espaçamento de 0,30 x 0,25 m, 98.952 plantas/ha<sup>-1</sup>

MF = valor médio da massa da matéria fresca da unidade experimental, em quilograma/planta

%IV = porcentagem de incidência de viroses

### 3. 5. 1. 4 Tempo de início do pendoamento

Para avaliação do tempo de início do pendoamento, as nove plantas que não foram colhidas para avaliação de massa fresca permaneceram no campo e foram avaliadas após a colheita, semanalmente, calculando-se o número de dias transcorridos entre a colheita e o início da emissão do pendão floral das plantas de cada parcela. As avaliações estenderam-se, após a colheita, por quatro semanas para o primeiro experimento (outono/inverno) e três semanas para o segundo experimento (primavera/verão).

### 3. 5. 1. 5 Fechamento de “cabeça”

Todas as plantas das parcelas foram avaliadas visualmente, no dia anterior à colheita, de acordo com os níveis de fechamento da “cabeça”, atribuindo-se notas 1,

2 ou 3 , sendo que as parcelas que apresentaram maioria de plantas com cabeça aberta recebeu nota 1, cabeça parcialmente fechada, nota 2 e cabeça fechada, nota 3.

### **3. 5. 2 Avaliação visual de fitoviroses**

Os sintomas considerados na avaliação visual de fitoviroses foram: presença de mosqueado, distorção, amarelecimento foliar, clareamento de nervuras, mosaico, redução do crescimento, má formação ou distorção das cabeças, necrose, mancha necrótica e bronzeamento nas folhas.

As inspeções foram realizadas semanalmente, e se estenderam até próximo da colheita. Foram avaliadas todas as plantas presentes em cada parcela. Foram realizadas cinco avaliações para o primeiro experimento e quatro para o segundo experimento, sendo que as características avaliadas nos experimentos foram expressas em porcentagem de plantas com sintomas de viroses.

Para avaliação da eficiência dos tratamentos, considerou-se o número de plantas com sintomas de vírus na fase de pré-colheita e subtraiu-se o número de plantas com sintomas na fase de transplante.

### **3. 5. 3 Diagnose de Fitovírus**

Com o objetivo de confirmar, através de testes de diagnose, a presença dos fitovírus causadores dos sintomas observados nas plantas, foram feitas coletas de folhas com sintomas de vírus aos treze dias após o transplante e nos dias que antecederam a colheita.

As amostras coletadas em cada parcela foram individualizadas de acordo com os sintomas apresentados, acondicionadas em sacos plásticos e mantidas sob refrigeração, no Laboratório de Virologia da FCA-UNESP. Posteriormente, essas amostras foram submetidas a testes de diagnose, que tiveram por finalidade detectar os vírus LMV-II, LMV-IV, LeMoV e Tospovírus.

Algumas amostras sintomáticas mas que foram negativas para detecção dos vírus e estirpes acima citados, foram posteriormente submetidas à análise de RT-PCR,

utilizando oligonucleotídeos específicos para o CMV, testes de inoculação em plantas indicadoras e análises de microscopia eletrônica (técnica “leaf dip”) para observação das partículas virais.

### **3. 5. 3. 1 Extração de RNA Total**

O RNA total foi extraído de acordo com o método de Bertheau et al. (1998). As folhas armazenadas foram trituradas (1:5 p/v) em tampão PBS-Tween contendo PVP K25 a 2% (p/v) e Na-DIECA 20 mM, e centrifugadas em tubos de microcentrífuga a 4°C por 10 minutos a 13.000 rpm. Duzentos microlitros do sobrenadante foram transferidos para um novo tubo, acrescentando-se SDS a 1%. Após incubação a 55°C por 15 minutos, adicionaram-se 100 µL de solução de acetato de potássio a 3 M e agitou-se bem a solução. Seguiu-se incubação em gelo por 5 minutos e centrifugação a 4°C por 5 minutos a 13.000 rpm. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo, adicionando-se 700 µL de NaI 6 M e 5 µL de uma solução contendo silício, previamente agitada para que silício não fosse ressuspenso. Agitou-se bem e manteve-se a solução por 10 minutos à temperatura ambiente. Em seguida a solução foi centrifugada por um minuto a 5.000 rpm, o sobrenadante foi descartado e o ‘pellet’ lavado duas vezes com 500 µL de solução de lavagem (Tris-HCl 20 mM pH 7,5, EDTA 1 mM, NaCl 100 mM e igual volume de etanol absoluto). Após centrifugação por 1 minuto a 5.000 rpm, o ‘pellet’ foi secado a vácuo por 15 a 20 minutos e o RNA ressuspenso em 400 µl de água Milli-Q tratada com DEPC, seguido de incubação por 5 minutos a 55 °C e centrifugação por 5 minutos a 13.000 rpm. O sobrenadante (300 µL) foi transferido para um novo tubo e armazenado a -20°C. Foi utilizada uma alíquota de 5 µL para o RT-PCR.

### **3. 5. 3. 2 Análises de transcrição reversa e PCR**

As análises de RT-PCR foram realizadas para detecção de LMV-Universal, LMV-Most, Tospovírus, LeMoV e CMV.

Todas as amostras foram submetidas a RT-PCR específicas para LMV-Universal e LeMoV. Somente as amostras positivas para o teste de RT-PCR LMV- Common

foram submetidas à análise de RT-PCR para detecção de isolados de LMV Most, sendo que as amostras negativas para LMV-Most, porém positivas para o primer universal para LMV foram classificadas como LMV-Common. Para a análise de RT-PCR (tospovírus) foram submetidas somente as amostras suspeitas de infecção por este vírus. Para a análise de RT-PCR (CMV) foram selecionadas ao acaso 33 amostras contendo sintomas de mosaico, e que não foram identificadas por nenhum dos oligonucleotídeos utilizados (Tabela 02) nas análises de RT-PCR realizadas.

As análises de RT-PCR foram realizadas em volume de 50  $\mu$ L contendo Tris-HCL 10 mM pH 8,8, Triton X-100 a 0,2% (v/v),  $MgCl_2$  0,75 mM, 250  $\mu$ M da mistura de nucleotídeos, 1  $\mu$ M de cada oligonucleotídeo, 0,02 unidades da enzima transcriptase reserva do *Avian myeloblastosis virus* (AMV, AmershamPharmacia) e 0,3 unidades de *Taq* DNA Polimerase. Para detecção dos diferentes isolados utilizou-se oligonucleotídeos específicos; 9171 e 8894 para LMV Commom, BR1016M e BR535P para LMV Most, pLmo e pLmo ant para LeMoV, BR 60 e BR 65 para Tospovírus e 00. 35-3 e 00. 38-8 para CMV.

A reação para detecção de LMV-Universal constituiu-se de 15 minutos a 42°C para a etapa de transcrição reversa, seguidos de 5 minutos a 95°C para inativação da transcriptase reversa e 40 ciclos de desnaturação por 200 segundos a 95°C, anelamento por 20 segundos a 54°C e extensão por 40 segundos a 72°C.

A reação para detecção de LMV-Most constituiu-se de 30 minutos a 42°C para a etapa de transcrição reversa, seguidos de 5 minutos a 95°C para inativação da transcriptase reversa e 40 ciclos de desnaturação por 30 segundos a 92°C, anelamento por 50 segundos a 56°C e extensão por 60 segundos a 72°C.

A reação para detecção de LeMoV constituiu-se de 30 minutos a 42°C para a etapa de transcrição reversa, seguidos de 3 minutos a 95°C para inativação da transcriptase reversa e 35 ciclos de desnaturação por 30 segundos a 95°C, anelamento por 40 segundos a 54°C e extensão por 20 segundos a 72°C.

A reação para detecção de tospovírus constituiu-se de 30 minutos a 42°C para a etapa de transcrição reversa, seguidos de 5 minutos a 95°C para desnaturação inicial e 40 ciclos de desnaturação por 1,30 minutos a 95°C, anelamento por 2 minutos a 48°C.

A reação para detecção de CMV constituiu-se de 30 minutos a 42°C para a etapa de transcrição reversa, seguidos de 5 minutos a 95°C para inativação da

transcriptase reversa e 30 ciclos de desnaturação por 60 segundos a 94°C, anelamento por 2 minutos a 55°C e extensão por 2 minutos a 72°C.

Foram utilizadas alíquotas de 5 µL para análise em gel de agarose (0,9%).

Tabela 02. Oligonucleotídeos utilizados para amplificação dos vírus nas análises de RT-PCR.

VÍRUS	OLIGONU CLEOTÍ DEO	SEQUÊNCIA	PARES DE BASES	REFERÊNCIA
LMV Universal	9171	5'GCGTTGATGTTCGTCATCYTT 3'	278	Peypelut et al., 2004
	8894	5'CCGTACATAGCIGARTGTGCT 3'		
LMV Most	BR 1016 M	5'CTTGATCTATAAGAGCTGC 3'	482	Peypelut et al., 2004
	BR 535 P	5'GTTTCGGTACCAGAACCC 3'		
Tospovirus	BR 60	5'AGAGCAATCGTGTCA 3'	871	Eiras et al., 2001
	BR 65	5' ATCAAGCCTTCTGAAAGTCAT 3'	453	
LeMoV	pLmo3	5' ACATGAGCA CTAGTGAGG 3'	300	Jadão, 2004
	pLmo4	5' AGATAGAGC CGTCTGGCG 3'		
CMV	3'cp 5'cp	5'TATGATAAGAA(A/G)CTTGTTTC3' 5'GCCGTAAGCTGGATGGACAA 3'	488	Boari, 1998

### 3. 5. 3. 3 Transmissão mecânica em plantas indicadoras e microscopia eletrônica

As amostras de plantas que apresentaram sintomas de mosaico, mas resultado negativo também para o teste RT-PCR específico para o CMV, foram submetidas ao teste de transmissão mecânica em plantas de *Chenopodium quinoa* e *Helianthus annuus* L. com o objetivo de investigar a possível infecção viral.

O inóculo foi preparado a partir de amostras de folhas de alface já armazenadas sob refrigeração, maceradas em almofariz, na presença de tampão fosfato de sódio 0,05 M pH 7,0 + sulfito de sódio 0,01 M, segundo técnica de Yarwood (1969), com almofariz e o tampão mantidos a baixa temperatura. Utilizou-se 1 g de folha fresca infectada

para 5ml de solução. A inoculação das plantas indicadoras foi efetuada por fricção das folhas previamente polvilhadas com carvão vegetal moído e peneirado. Em seguida, as folhas inoculadas foram lavadas com água corrente para a retirada do excesso de inóculo e abrasivo e mantidas em casa de vegetação.

Amostras das plantas indicadoras que apresentaram sintomas de viroses foram posteriormente analisadas em microscópio eletrônico de transmissão, modelo CM 100 (Philips), disponível no Departamento de Produção Vegetal da FCA/UNESP. Para tal, foi utilizada a técnica de “leaf dip” colocando-se sobre uma tela de cobre coberta por uma película de formvar, uma gota de extrato foliar macerado em solução tampão fosfato 0,05M pH 7,2 durante 5 minutos. O material foi lavado com água destilada, seco em papel filtro e depois contrastado com acetato de uranila a 3%. Após 3 minutos, retirou-se o excesso de acetato, utilizando-se papel de filtro e realizaram-se as observações.

#### **3. 5. 4 Monitoramento de insetos vetores**

Para o monitoramento populacional de pulgões e tripses foram instaladas armadilhas adesivas amarelas e azuis a 1,50 m de altura, na área experimental. As armadilhas foram substituídas a cada 10 dias e permanecendo no campo por apenas sete dias.

Alguns espécimes de pulgões e tripses coletados nas armadilhas foram armazenados em frascos com álcool 70% e posteriormente identificados.

#### **3. 5. 5 Análise estatística**

A análise foi dividida por variável e época. A análise descritiva dos dados foi realizada construindo gráficos “boxplot” e de perfis de médias para as variáveis quantitativas (área de projeção da saia, massa da matéria fresca, produtividade e tempo de início do pendoamento) e tabelas de contingência para a variável categorizada (fechamento de “cabeça”).

Na análise inferencial das variáveis quantitativas, foram ajustados modelos de análise de variância considerando os fatores progênie e tratamento. Os efeitos de interação entre estes fatores foram testados e, na ausência de efeito significativo de interação,

modelos aditivos foram ajustados levando-se em conta somente os efeitos principais de tratamento e progênie separadamente.

Análises de resíduos foram feitas para verificar a adequação dos modelos ajustados. No teste de diagnóstico de resíduo dos modelos reduzidos, observou-se que os erros se distanciaram levemente da suposição de normalidade e homocedasticidade. Entretanto, devido ao pequeno número de réplicas para cada nível de combinação entre os fatores (3) esse desvio foi considerado tolerável. Procedeu-se, então, à construção dos intervalos de confiança sob o modelo normal homocedástico (anexos).

Os efeitos identificados como significativos foram estudados por meio de teste de Tukey considerando um nível de significância global de 5%. Maiores detalhes sobre os procedimentos de análise envolvidos podem ser encontrados em Neter et al. (1996).

Para realizar a comparação inferencial do comportamento da nota da variável fechamento de “cabeça” de acordo com as progênies e os tratamentos, utilizou-se o teste da mediana (Conover, 1999). Devido ao pequeno tamanho amostral e baixa variabilidade dos dados, optou-se por realizar análises dos efeitos principais de tratamento e progênie, separadamente, nos casos de inexistência de efeito significativo de interação entre estes fatores na mediana da resposta. Deste modo, primeiro realizou-se um teste global para verificar se a nota global diferencia entre os tratamentos e as progênies. Para verificar quais são essas diferenças realizou-se os contrastes dois a dois, dentro de tratamento e progênie.

Devido ao grande número de contagens nulas ou próximas de zero, a aplicação da maioria dos procedimentos inferenciais para os dados de “porcentagem de plantas com sintomas de viroses” ficou dificultada. Como alternativa aos métodos usuais, realizou-se comparações entre as proporções de plantas afetadas, independentemente, pareando as progênies dentro de cada tratamento. Em particular, escolheu-se contrastes entre a progênie 1, suscetível, e as demais progênies, pois para outros tipos de combinações era muito comum ocorrer incidência zero de sintomas de fitovirose para as duas progênies, ficando, desta forma, impossível fazer qualquer tipo de teste. Maiores detalhes sobre tais testes podem ser encontrados em Conover (1999).

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Avaliação das características agronômicas das progênies**

#### **4.1.1 Área de projeção da saia – outono/inverno**

Os resultados referentes à análise inferencial da variável área de projeção da saia, no experimento de outono/inverno, estão descritos nas Tabelas 3, 4, 5 e 6.

Na Tabela 3 tem-se a análise de variância (Neter et al., 1996) para o modelo ajustado com dois fatores fixos (progênie e tratamento) e efeito de interação (progênie x tratamento). Como o efeito de interação não foi significativo ( $P=0,999$ ), confirma-se a suspeita da análise descritiva de que o comportamento da área de projeção da saia, de acordo com as diferentes tratamentos, se mantém para cada uma das 18 progênies e também para a cultivar Elisa. Considerou-se assim o modelo reduzido, indicado na Tabela 4.

Tabela 3. Resultados da ANOVA para a variável área de projeção da saia considerando os fatores progênie e tratamento e interação (modelo saturado) no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
Tratamento	3	666788	222263	35,1669	< 0,001
Progênie	18	251107	13950	2,2073	0.005088
tratamento*progênie	54	156870	2905	0,4596	0,999308
Resíduo	152	960675	6320		

Tabela 4. Resultados da ANOVA para a variável área de projeção da saia considerando os fatores progênie e tratamento (modelo reduzido) no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
Tratamento	3	666788	222263	40,9703	< 2.2 <sup>-16</sup>
Progênie	18	251107	13950	2,5715	7,172 <sup>-4</sup>
Resíduo	206	1117545	5425		

Analisando-se o efeito das diferentes práticas culturais sobre a área de projeção da saia (Tabela 5), observa-se que os tratamentos diferiram entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade e que o tratamento “palha de arroz” apresentou a maior área de projeção da saia, seguido, em ordem decrescente, pelos tratamentos “solo nu”, “túnel tela” e “túnel plástico”. Verificou-se, portanto, que os tratamentos em cultivo protegido apresentaram as menores médias, quando comparados com os tratamentos a céu aberto. Este fato deve estar relacionado com a menor exposição das plantas à radiação solar nos tratamentos em cultivo protegido o que, segundo Rocha (2000), provoca alterações morfológicas nas plantas de alface, fazendo com que as mesmas produzam folhas com formato oval, ou seja, curtas e largas do ápice para a base. Por outro lado, plantas expostas diretamente à radiação solar formam folhas mais alongadas e estreitas, o que resulta numa maior área de projeção da saia. Analisando-se a área média de projeção da saia das diferentes progênies (Tabela 6), observa-se que apenas as progênies 4 e 10 diferiram estatisticamente da cultivar comercial Elisa, apresentando área de projeção da saia menor.

Tabela 5. Efeito das práticas culturais sobre a área de projeção da saia de plantas de alface no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Tratamentos	Área média de projeção da saia (cm <sup>2</sup> )
Palha de arroz	793,30 a
Solo nu	757,32 b
Túnel tela	704,49 c
Túnel plástico	650,33 d

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Área média da projeção da saia, das progênes de alface, no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Progênes	Área média de projeção da saia (cm <sup>2</sup> )
Cv. Elisa	796,81 a
11	772,21 ab
6	769,10 ab
14	753,13 abc
12	745,27 abc
16	740,18 abc
13	739,26 abc
17	737,62 abc
15	731,01 abc
3	730,29 abc
7	717,82 abc
5	716,63 abc
18	715,96 abc
2	711,59 abc
8	702,86 abc
9	694,22 abc
1	691,59 abc
10	678,62 bc
4	656,59 c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

#### 4.1.2 Área de projeção da saia – primavera/verão

Os resultados referentes à análise inferencial da variável área de projeção da saia, no experimento de primavera/verão, estão descritos nas Tabelas 7, 8, 9 e 9.

Na Tabela 7 tem-se a análise de variância para o modelo ajustado com dois fatores fixos (progênie e tratamento) e efeito de interação (progênie x tratamento). Conclui-se, novamente, que o efeito de interação não foi significativo ( $P=0,999$ ), obtendo o modelo reduzido, com análise de variância indicada na Tabela 8.

Tabela 7. Resultados da ANOVA para a variável área de projeção da saia considerando os fatores progênie e tratamento e interação (modelo saturado) no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
Tratamento	3	787158	262386	37,4552	$< 2,2^{-16}$
Progênie	18	368633	20480	2,9234	1,797 <sup>-4</sup>
tratamento*progênie	54	131728	2439	0,3482	0,99998
Resíduo	152	1064811	7005		

Tabela 8. Resultados da ANOVA para a variável área de projeção da saia considerando os fatores progênie e tratamento (modelo reduzido) no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
Tratamento	3	787158	262386	45,1732	$< 2,2^{-16}$
Progênie	18	368633	20480	3,5258	5,331 <sup>-06</sup>
Resíduo	206	1196539	5808		

Analisando-se o efeito das diferentes práticas culturais sobre a área de projeção da saia, no experimento de primavera/verão (Tabela 9), observa-se que o tratamento “túnel plástico” diferiu estatisticamente dos demais tratamentos e apresentou a maior média de área de projeção da saia. Os tratamentos “palha de arroz” e “solo nu” não diferiram entre si, assim como os tratamentos “solo nu” e “túnel tela”. Constatou-se, portanto, que o

comportamento dos tratamentos no experimento de primavera/verão foi diferente do comportamento no experimento de outono/inverno.

O fato dos tratamentos terem apresentado resultados diferentes nas duas épocas de condução da cultura (outono/inverno e primavera/verão) pode estar relacionado com as diferentes condições de temperatura, umidade e luminosidade a que foram as plantas submetidas. Bezerra Neto et al. (2005) afirmam que a alface é uma planta que se adapta às condições de menor fluxo de energia radiante, pelo fato da intensidade de luz afetar diretamente o crescimento e desenvolvimento das plantas. Quando se conduz uma cultura dentro de uma variação ótima de luminosidade com outros fatores favoráveis, a fotossíntese é elevada, a respiração é normal e a quantidade de matéria seca acumulada é alta.

Segundo Panduro (1986), em plantas de alface, a largura e o comprimento foliar respondem de diferentes maneiras às variáveis ambientais, sendo que a largura foliar responde positivamente tanto ao comprimento crescente do dia como a intensidade crescente de luz. O comprimento foliar aumenta a níveis baixos de intensidade de luz e durante dias longos. A luminosidade exagerada pode provocar não só aumento do volume da transpiração como uma redução perigosa no conteúdo hídrico das folhas. Em determinadas épocas do ano, como no verão, poderá haver vantagens em promover-se uma redução da intensidade de luz sobre algumas espécies cultivadas, especialmente aquelas chamadas de ciclo 3, onde entra também a alface, sendo que esta redução da intensidade da luz pode ser conseguida por meio de cultivo sob cobertura de plásticos fotoseletivos. No interior da estufa as folhas se expandiram mais, o que pode ser atribuído, principalmente, aos teores mais elevados da umidade relativa do ar existentes no interior da estufa, mas segundo Tibbits e Bottemberg (1976) essa característica favorece a aparência visual do produto, mas é negativa do ponto de vista da resistência ao transporte e da conservação pós-colheita. Isto explica os resultados obtidos no experimento conduzido no experimento de primavera/verão (primavera/verão), onde as plantas de alface cultivadas sob “túnel plástico” apresentaram maior área de projeção da saia em relação aos demais tratamentos, porém a massa da matéria fresca e produtividade avaliadas foram inferiores. Observações semelhantes foram feitas por Kleemann (2004), estudando a qualidade da alface em cultivo protegido.

Tabela 9. Efeito das práticas culturais sobre a área de projeção da saia de plantas de alface, no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Tratamentos	Área média de projeção da saia (cm <sup>2</sup> )
Túnel plástico	858,37 a
Palha de arroz	764,82 b
Solo nu	734,70 bc
Túnel tela	700,39 c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 10. Área média de projeção da saia, das progênes de alface, no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Progênes	Área média de projeção da saia (cm <sup>2</sup> )
Cv. Elisa	834,50 a
6	824,57 a
2	815,92 ab
5	812,33 ab
17	788,69 abc
3	783,87 abc
12	776,23 abc
7	774,87 abc
14	769,19 abc
13	765,69 abc
1	758,08 abc
10	757,78 abc
4	756,63 abc
18	754,93 abc
15	736,67 abc
9	716,74 bc
16	713,40 bc
8	697,35 c
11	689,44 c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

Analisando-se a área de projeção da saia das diferentes progênies (Tabela 10), observa-se que apenas as progênies 8, 9, 11 e 16 diferiram estatisticamente da cultivar comercial Elisa, apresentando área de projeção da saia menor. Verificou-se, portanto, uma mudança de comportamento dessas progênies em relação ao experimento de outono/inverno, quando as mesmas não diferiram estatisticamente da cultivar Elisa. Já as progênies 4 e 10, que no experimento de outono/inverno haviam diferido estatisticamente da cultivar Elisa, no experimento de primavera/verão apresentaram área de projeção da saia estatisticamente semelhante a da cultivar Elisa.

#### 4.1.3 Massa da matéria fresca – outono/inverno

Os resultados da análise inferencial da variável massa da matéria fresca, no experimento de outono/inverno, estão descritos nas Tabelas 11, 12, 13 e 14.

Novamente, ajustou-se inicialmente um modelo saturado, com os dois efeitos principais e efeito de interação (Tabela 11), mas em acordo com a análise descritiva, decidiu-se pela retirada do termo de interação do modelo, ficando com o modelo cuja tabela de ANOVA se encontra na Tabela 12.

Tabela 11. Resultados da ANOVA para a variável massa da matéria fresca considerando os fatores progênie e tratamento e interação (modelo saturado), no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
Tratamento	3	93670	31223	25.7149	1.644 <sup>-13</sup>
Progênie	18	101482	5638	4.6432	4.623 <sup>-08</sup>
tratamento*progênie	54	17363	322	0.2648	1
Resíduo	152	184560	1214		

Tabela 12. Resultados da ANOVA para a variável massa da matéria fresca considerando os fatores progênie e tratamento (modelo reduzido), na época 1. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q. M.	F	P
Tratamento	3	93670	31223	31.8537	< 2.2 <sup>-16</sup>
Progênie	18	101482	5638	5.7517	4.968 <sup>-11</sup>
Resíduo	206	201924	980		

Analisando-se o efeito das diferentes práticas culturais sobre a massa da matéria fresca (Tabela 13), observa-se que os tratamentos diferiram entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade e que o tratamento “palha de arroz” proporcionou a maior massa da matéria fresca, seguido, em ordem decrescente, pelos tratamentos “túnel tela”, “solo nu” e “túnel plástico”. O melhor desempenho do tratamento “palha de arroz” no experimento de outono/inverno talvez possa ser justificado, através de uma afirmação feita por Filgueira (1981), que se tem provado experimentalmente que o aumento na intensidade luminosa promove o aumento na atividade fotossintética, o que resulta em maior produção de hidratos de carbono, elevando o teor de matéria seca, nos vegetais. Os dados obtidos também comprovaram que, o tratamento “túnel plástico” em relação a massa da matéria fresca, foi o que obteve menor desempenho, evidenciando o resultado negativo do efeito estufa proporcionado pela uso do plástico, contrariando assim outros resultados que demonstraram a superioridade das condições do cultivo em ambiente protegido em relação ao sistema de cultivo a campo (DANTAS, 1997; SANTOS et al, 2003).

Goto (1998) comenta que, em função da produção de alface ser normal e regular durante o período de abril a dezembro, não se justifica o uso de cultivo protegido na região Sudeste neste período, visto que a relação custo/benefício se torna negativa.

Analisando-se a massa da matéria fresca das diferentes progênes (Tabela 14), observa-se que as progênes 1, 2, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 17 e 18 diferiram estatisticamente da cultivar comercial Elisa, apresentando menor massa da matéria fresca.

Tabela 13. Efeito das práticas culturais sobre a massa da matéria fresca em plantas de alface, no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Tratamentos	Massa média da matéria fresca (g)
Palha de arroz	297,92 a
Túnel tela	278,96 b
Solo nu	262,44 c
Túnel plástico	243,03 d

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 14. Massa média da matéria fresca das progênes de alface, no experimento de outono/inverno. São Manoel, SP, 2003.

Progênes	Massa média da matéria fresca (g)
Cv. Elisa	315,90 a
6	310,67 ab
13	288,83 abc
3	285,54 abc
14	283,64 abc
11	283,58 abc
15	272,00 abc
7	271,47 abc
16	270,64 abc
2	266,82 bc
12	264,62 c
9	263,13 cd
17	262,02 cd
5	260,45 cd
8	259,83 cd
18	259,39 cd
1	252,47 cd
4	251,34 cd
10	218,84 d

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

#### 4.1.4 Massa da matéria fresca – primavera/verão

Os resultados referentes à análise inferencial da variável massa da matéria fresca, no experimento de primavera/verão, estão descritos nas Tabelas 15 a 18.

A Tabela 15 indica o ajuste do modelo saturado. Concluiu-se que o efeito de interação é não significativo. Considerou-se o modelo reduzido indicado na Tabela 15.

Tabela 15. Resultados da ANOVA para a variável massa da matéria fresca considerando os fatores progênie e tratamento e interação (modelo saturado), no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
Tratamento	3	604605	201535	182,1218	$< 2,2^{-16}$
Progênie	18	117241	6513	5,8860	$1,446^{-10}$
tratamento*progênio	54	66891	1239	1,1194	0,2939
Resíduo	152	168202	1107		

Tabela 16. Resultados da ANOVA para a variável massa da matéria fresca considerando os fatores progênie e tratamento (modelo reduzido), no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
Tratamento	3	604605	201535	176,5948	$< 2,2^{-16}$
Progênio	18	117241	6513	5,7073	$6,227^{-11}$
Resíduo	206	235093	1141		

Analisando-se o efeito das diferentes práticas culturais sobre a massa da matéria fresca, no experimento de primavera/verão (Tabela 17), observa-se que os tratamentos diferiram entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade e que o tratamento “palha de arroz” apresentou a maior massa da matéria fresca, seguido, em ordem decrescente, pelos tratamentos “túnel plástico”, “solo nu” e “túnel tela”. Constatou-se, portanto, que o comportamento dos tratamentos “túnel tela” e “túnel plástico” se inverteram em relação ao experimento de outono/inverno, onde os menores valores médios de massa da matéria fresca tinham sido obtidos sob o tratamento “túnel plástico”.

Tabela 17. Efeito das práticas culturais sobre a massa da matéria fresca, no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Tratamentos	Massa média da matéria fresca (g)
Palha de arroz	391,93 a
Túnel plástico	319,07 b
Solo nu	354,35 c
Túnel tela	252,15 d

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 18. Massa média da matéria fresca da parte aérea das progênes de alface, no experimento de primavera/verão. São Manoel, SP, 2003.

Progênes	Massa média da matéria fresca (g)
Cv. Elisa	377,35 a
6	367,66 ab
2	355,21 abc
17	343,95 abcd
5	340,69 abcde
7	338,24 abcdef
14	337,49 abcdef
3	336,81 abcdef
12	333,52 abcdefg
18	330,05 abcdefg
1	328,89 abcdefg
4	326,45 abcdefg
13	323,05 bcdefg
10	322,66 bcdefg
15	306,79 cdefg
9	302,95 defg
11	298,24 defg
16	296,30 defg
8	291,80 fg

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

No experimento de primavera/verão, houve estiolamento das plantas do tratamento conduzido sob túnel plástico. Filgueira (1981) salienta que a deficiência luminosa provoca um maior alongamento celular, o que resulta no estiolamento (um aumento em altura e extensão da parte aérea), porém sem elevação no teor de matéria seca.

O fato dos tratamentos terem apresentado comportamentos diferentes nas duas épocas de condução da cultura (outono/inverno e primavera/verão) deve estar relacionado com as diferentes condições de temperatura, umidade e luminosidade a que foram as plantas submetidas.

Analisando-se a massa da matéria fresca da parte aérea das diferentes progênies (Tabela 18), observa-se que as progênies 8, 9, 10, 11, 13, 15 e 16 diferiram estatisticamente da cultivar comercial Elisa, apresentando menor massa da matéria fresca. Verificou-se, portanto, que as progênies 8, 9 e 10 diferiram estatisticamente da cultivar Elisa, tanto no experimento de outono/inverno quanto no experimento de primavera/verão.

#### 4.1.5 Produtividade – outono/inverno

Os resultados referentes à análise inferencial da variável produtividade no experimento de outono/inverno, estão descritos nas Tabelas 19, 20, 21 e 22.

Na Tabela 19 tem-se a análise de variância para o modelo ajustado com dois fatores fixos e efeito de interação. Como o efeito de interação não foi significativo ( $P=1$ ), confirma-se a suspeita da análise descritiva de que o comportamento da produtividade, de acordo com as diferentes práticas culturais, se mantém para cada uma das 18 progênies e também para a cultivar Elisa. Considerou-se assim o modelo reduzido, indicado na Tabela 20.

Tabela 19. Resultados da ANOVA para a variável produtividade considerando os fatores progênie e tratamento e interação (modelo saturado), no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
Tratamento	3	1061.16	353.72	31.54	<0.000
Progênie	18	1519.14	84.40	7.52	<0.000
tratamento*progênie	54	255.85	4.74	0.42	1.000
Resíduo	152	1704.86	11.22		

Tabela 20. Resultados da ANOVA para a variável produtividade considerando os fatores progênie e tratamento (modelo reduzido), no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
Tratamento	3	1061.16	353.72	37.16	0.000
Progênie	18	1519.14	84.40	8.87	0.000
Resíduo	206	1960.71	9.52		

Analisando-se o efeito das diferentes práticas culturais sobre a produtividade no experimento de outono/inverno (Tabela 21), observa-se que os tratamentos diferiram entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade e que o tratamento “palha de arroz” apresentou a maior produtividade, seguido, em ordem decrescente, pelos tratamentos “túnel tela”, “solo nu” e “túnel plástico”.

O tratamento com palha de arroz novamente se destacou dos demais tratamentos, observando-se um incremento de produção da ordem de 6,38%, 11,90% e 18,42% em relação aos demais tratamentos. Lin (1982); Sharma et al. (1987), utilizando palha de arroz como cobertura do solo na cultura da soja, observaram incrementos na produção da ordem de 12,50% o que poderia ser creditado provavelmente a maior conservação da umidade do solo.

Analisando-se a produtividade das diferentes progênies (Tabela 22), observa-se que as progênies 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 16, 17 e 18 diferiram estatisticamente da cultivar comercial Elisa, apresentando menor produtividade.

Tabela 21. Efeito das práticas culturais sobre a produtividade da alface, no experimento de outono/inverno. São Manoel, SP, 2003.

Tratamentos	Produtividade (t/ha)
Palha de arroz	28,62 a
Túnel tela	26,83 b
Solo nu	24,88 c
Túnel plástico	22,05 d

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 22. Produtividade média das progênes de alface, no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Progênes	Produtividade (t/ha)
Cv. Elisa	31,26 a
6	30,74 ab
3	28,26 abc
13	27,43 abc
14	27,32 abc
7	26,86 abc
15	26,73 bc
11	26,13 bc
5	25,77 bc
8	25,55 cd
2	25,36 cd
9	25,30 cd
16	24,64 cd
4	24,37 cd
12	24,19 cd
17	24,19 cd
18	23,76 cd
1	22,30 cd
10	19,99 d

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

#### 4.1.6 Produtividade – primavera/verão

Os resultados referentes à análise inferencial da variável produtividade no experimento de primavera/verão estão descritos nas Tabelas 23, 24, 25 e 26. O modelo saturado encontra-se na Tabela 23 e o modelo reduzido na Tabela 24.

Tabela 23. Resultados da ANOVA para a variável produtividade considerando os fatores progênie e tratamento e interação (modelo saturado) no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
tratamento	3	5920.87	1973.62	182.16	<0.000
progênie	18	1148.15	63.79	5.89	<0.000
tratamento*progênie	54	655.23	12.13	1.12	0.293
Resíduo	152	1646.83	10.83		

Tabela 24. Resultados da ANOVA para a variável produtividade considerando os fatores progênie e tratamento (modelo reduzido) no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
tratamento	3	5920.87	4973.62	176.61	0.000
progênie	18	1148.15	63.79	5.71	0.000
Resíduo	206	2302.06	11.18		

Analisando-se o efeito das diferentes práticas culturais sobre a produtividade no experimento de primavera/verão (Tabela 25), observa-se que os tratamentos diferiram entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade e que o tratamento “palha de arroz” apresentou a maior produtividade, seguido, em ordem decrescente, pelos tratamentos “túnel plástico”, “solo nu” e “túnel tela”.

Observando-se um incremento de produção do tratamento com palha de arroz em relação aos demais tratamentos da ordem de 9,59%, 18,59% e 35,66% em relação aos demais tratamentos.

Tabela 25. Efeito das práticas culturais sobre a produtividade da alface no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Tratamentos	Produtividade (t/ha)
Palha de arroz	35,37 a
Túnel plástico	30,95 b
Solo nu	28,04 c
Túnel tela	23,60 d

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 26. Produtividade média das diferentes progênes de alface, no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Progênes	Produtividade (t/ha)
6	35,54 a
Cv. Elisa	35,53 ab
2	33,07 abc
7	32,30 abcd
5	32,02 abcde
14	31,30 abcde
4	30,12 abcde
17	29,46 abcde
3	29,41 abcde
18	29,20 abcde
1	29,13 bcde
10	28,77 bcde
8	28,49 bcde
9	28,25 bcde
15	26,56 cde
11	26,25 cde
16	26,22 de
13	25,22 de
12	24,28 e

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

Analisando-se a produtividade das diferentes progênies (Tabela 26), observa-se que as progênies 1, 4, 8, 9, 10, 11, 13, 15 e 16 diferiram estatisticamente da cultivar comercial Elisa, apresentando menor produtividade. Verificou-se que as progênies 1, 4, 8, 9, 10, 15 e 16 também haviam diferido estatisticamente da cultivar Elisa, no experimento de outono/inverno.

#### 4.1.7 Tempo de início do pendoamento – outono/inverno

Os resultados da análise inferencial da variável tempo de início de pendoamento, no experimento de outono/inverno, estão descritos nas Tabelas 27, 28, 29 e 30.

Na Tabela 27 encontra-se a análise de variância para o modelo ajustado com dois efeitos principais e efeito de interação, mas, em acordo com a análise descritiva, optou-se pela retirada do termo de interação do modelo, ficando com o modelo cuja tabela de ANOVA se encontra na Tabela 28.

Tabela 27. Resultados da ANOVA para a variável tempo de início do pendoamento considerando os fatores progênie e tratamento e interação (modelo saturado), no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
tratamento	3	3293,1	1097,7	41,8661	< 0,001
progênie	18	8402,2	466,8	17,8033	< 0,001
tratamento*progênie	54	990,3	18,3	0,6995	0,343
Resíduo	152	3985,3	26,2		

Tabela 28. Resultados da ANOVA para a variável tempo de início do pendoamento progênie e tratamento (modelo reduzido), no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
tratamento	3	3293,1	1097,7	45,447	< 0,001
progênie	18	8402,2	466,8	19,326	< 0,001
Resíduo	206	4975,6	24,2		

Analisando-se o efeito das diferentes práticas culturais sobre a variável tempo de início do pendoamento (Tabela 29), observa-se que os tratamentos “palha de arroz” e “solo nu” não diferiram estatisticamente entre si, mas diferiram dos tratamentos “túnel plástico” e “túnel tela”. A menor média foi observada no tratamento “túnel tela”, que diferiu estatisticamente dos demais tratamentos.

Constatou-se que os tratamentos em cultivo protegido apresentaram as menores médias, quando comparados com os tratamentos a céu aberto. Este fato deve estar relacionado com a ocorrência de temperaturas mais elevadas nos tratamentos com cultivo protegido, e em especial no tratamento “túnel tela”. Esta observação está de acordo com as afirmações de Silva (1997), segundo o qual temperaturas acima de 20<sup>0</sup>C estimulam o pendoamento da alface, o qual é acentuado na medida em que se eleva a temperatura.

Analisando-se a variável tempo de início do pendoamento das diferentes progênies (Tabela 30), observa-se que apenas as progênies 4, 5, 8, 9, 10, 11 e 18 diferiram estatisticamente da cultivar comercial Elisa, apresentando menor tempo para o início do pendoamento.

Tabela 29. Efeito das diferentes práticas culturais sobre a variável tempo de início do pendoamento, no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Tratamentos	Tempo de início do pendoamento (dias)
Palha de arroz	29,35 a
Solo nu	28,74 a
Túnel plástico	23,94 b
Túnel tela	20,02 c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 30. Tempo médio de início do pendoamento das diferentes progênies, no no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Progênies	Tempo de início do pendoamento (dias)
1	33,83 a
7	32,08 ab
13	32,08 ab
3	31,50 ab
16	30,33 ab
15	29,17 abc
06	29,17 abc
12	28,58 abc
Cv. Elisa	28,58 abc
17	28,00 abcd
14	26,83 abcde
2	25,67 bcde
11	22,17 def
8	21,00 efg
18	20,42 efg
5	19,83 efg
10	18,67 fgh
4	14,58 gh
9	12,25 h

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

#### 4.1.8 Tempo de início do pendoamento – primavera/verão

Os resultados da análise inferencial da variável tempo de início do pendoamento no experimento de primavera/verão, estão descritos nas Tabelas 31, 32, 33 e 34

Na Tabela 31 está a análise de variância para o modelo ajustado com dois efeitos principais e efeito de interação, mas, em acordo com a análise descritiva, optou-se pela retirada do termo de interação do modelo, ficando com o modelo cuja tabela de ANOVA se encontra na Tabela 32.

Tabela 31. Resultados da ANOVA para a variável tempo de início do pendoamento considerando os fatores progênie e tratamento e interação (modelo saturado), no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
tratamento	3	149,56	49,85	7,4536	< 0,001
progênie	18	1222,37	67,91	10,1530	< 0,001
tratamento*progênie	54	133,77	2,48	0,3704	0,9999700
Resíduo	152	1016,67	6,69		

Tabela 32. Resultados da ANOVA para a variável tempo de início do pendoamento progênie e tratamento (modelo reduzido), no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
tratamento	3	149,56	49,85	8,9269	< 0,001
progênie	18	1222,37	67,91	12,1600	< 0,001 6
Resíduo	206	1150,44	5,58		

Analisando-se o efeito das diferentes práticas culturais sobre a variável tempo de início do pendoamento, no experimento de primavera/verão (Tabela 33), observa-se que os tratamentos “solo nu” e “palha de arroz” não diferiram entre si, assim como os tratamentos “túnel plástico” e “túnel tela” ou os tratamentos “palha de arroz” e “túnel plástico”. Verificou-se, ainda, que a diferença entre a maior e a menor média (“solo nu” - “túnel plástico”) foi de apenas 2,19 dias, ou seja, uma diferença pequena quando comparada com a diferença observada entre a maior e a menor média, no experimento de outono/inverno, que foi de 9,33 dias. Este fato indica que a influência dos tratamentos sobre a variável tempo de início de pendoamento foi menos pronunciada no experimento de primavera/verão (primavera-verão), quando as condições climáticas são mais adversas para a cultura da alface. O fotoperíodo também pode afetar o processo de pendoamento, sendo que, dias longos podem acelerá-lo. Waycott (1995), trabalhando com genótipos de alface, condições fotoperiódicas e temperaturas, mostrou que a temperatura isoladamente não foi suficiente para induzir o pendoamento, ao contrário do fotoperíodo. Setubal e Silva (1992) ressaltam que a alface, procedente de regiões de clima temperado, quando cultivada em condições de temperatura e

luminosidade elevadas, deixa de manifestar todo seu potencial genético, havendo redução do ciclo e antecipação da fase reprodutiva.

Analisando-se a variável tempo médio de início do pendoamento das diferentes progênies, no experimento de primavera/verão (Tabela 34), observa-se que apenas as progênies 9, 10 e 11 diferiram estatisticamente da cultivar comercial Elisa, apresentando menor tempo para o início do pendoamento. Estas mesmas progênies também diferiram estatisticamente da cultivar Elisa, no experimento de outono/inverno.

Analisando-se a diferença entre a maior e a menor média observada entre as progênies (progênie 1 - progênie 10), Verificou-se que esta foi de apenas 7,92 dias, ou seja, bem menor que a diferença observada entre a maior e a menor média, no experimento de outono/inverno, que foi de 21,58 dias.

Tabela 33. Efeito das práticas culturais sobre o tempo de início do pendoamento, no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Tratamentos	Tempo médio de início do pendoamento (dias)
Solo nu	12,63 a
Palha de arroz	11,67 ab
Túnel plástico	11,05 bc
Túnel tela	10,44 c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 34. Tempo médio de início do pendoamento das progênes, na (primavera/verão). São Manoel, SP, 2003.

Progênes	Tempo médio de início de pendoamento (dias)
1	13,75 a
7	13,75 a
2	13,33 ab
6	13,33 ab
12	13,33 ab
Cv. Elisa	12,92 ab
15	12,92 ab
3	12,91 ab
17	12,50 ab
16	12,08 ab
5	11,67 ab
14	11,67 ab
8	11,25 ab
18	11,25 ab
13	10,83 abc
4	10,00 bcd
11	7,00 cde
9	6,67 de
10	5,83 e

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey a 5% de probabilidade.

#### 4.1.9 Fechamento de “cabeça” – outono/inverno

##### 4.1.9.1 Análise descritiva

Os resultados da análise descritiva da variável fechamento de “cabeça”, no experimento de outono/inverno, estão descritos na Tabela 35 e 36.

Os resultados indicam que a maioria das observações de fechamento de “cabeça” foram nos níveis 2 e 3 (intermediária e fechada), havendo somente 3 observações no nível 1 (aberta). Observou-se também que parece haver um efeito das diferentes práticas culturais no fechamento de “cabeça”. Em particular, para o tratamento “palha de arroz”, a

maioria das observações apresentou o nível 3 (fechada) (81%), contra 19% de observações com fechamento intermediário. Para os tratamentos “túnel plástico” e “túnel tela”, temos a tendência oposta, com a maioria das observações no nível 2 (intermediária). Provavelmente, por haver maior expansão da área, para captação de luz.

Tabela 35. Classificação das parcelas de acordo com os níveis de fechamento de “cabeça” das plantas de alface, conduzidas sob diferentes práticas culturais, no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Tratamento	Fechamento de “cabeça”		
	Número de parcelas e porcentagem relativa		
	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Palha de arroz	0 (0%)	11 (19%)	46 (81%)
Solo nu	0 (0%)	23 (40%)	34 (60%)
Túnel plástico	2 (4%)	44 (77%)	11 (19%)
Túnel tela	1 (2%)	37 (65%)	19 (33%)

Tabela 36. Classificação das progênes de acordo com os níveis de fechamento de “cabeça”, no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Progênie	Fechamento de “cabeça”		
	Número de parcelas e porcentagem relativa		
	Nível 1	Nível 2	Nível 3
1	2 (17%)	6 (50%)	4 (33%)
2	0 (0%)	5 (42%)	7 (58%)
3	0 (0%)	4 (33%)	8 (67%)
4	0 (0%)	10 (83%)	2 (17%)
5	0 (0%)	5 (42%)	7 (58%)
6	0 (0%)	2 (17%)	10 (83%)
7	0 (0%)	5 (42%)	7 (58%)
8	0 (0%)	10 (83%)	2 (17%)
9	0 (0%)	9 (75%)	3 (25%)
10	1 (8%)	8 (67%)	3 (25%)
11	0 (0%)	6 (50%)	6 (50%)
12	0 (0%)	6 (50%)	6 (50%)
13	0 (0%)	6 (50%)	6 (50%)
14	0 (0%)	6 (50%)	6 (50%)
15	0 (0%)	6 (50%)	6 (50%)
16	0 (0%)	7 (58%)	5 (42%)
17	0 (0%)	5 (42%)	7 (58%)
18	0 (0%)	7 (58%)	5 (42%)
Cv. Elisa	0 (0%)	2 (17%)	10 (83%)

A análise dos resultados da Tabela 36 deve ser considerada com cautela, devido ao baixo número de observações por progênie. Nota-se o possível efeito das progênies 4, 8 e 9, na proporção observada de fechamento de “cabeça” nos níveis 2 e 3. Essas três progênies apresentaram proporção majoritária de fechamento intermediário (83%). Em sentido oposto, apresentando proporção majoritária de fechamento nível 3, a progênie 6 e a cultivar Elisa.

#### **4.1.9.2 Análise inferencial**

Os resultados da análise inferencial da variável fechamento de “cabeça”, no experimento de outono/inverno, estão descritos nas Tabelas 37 e 38.

Pode-se concluir através do teste da mediana que, pelo menos dois tipos dos tratamentos diferem entre si com relação à mediana da nota de fechamento de “cabeça”, e que pelo menos duas progênies diferem entre si com relação a essa mediana da nota de fechamento de “cabeça”. As diferenças foram obtidas através dos contrastes dois a dois, dentro de tratamento e progênie.

Analisando-se o efeito das diferentes práticas culturais sobre os níveis de “fechamento de cabeça”, no experimento de outono/inverno (Tabela 37), observa-se que os tratamentos “palha de arroz” e “solo nu” não diferiram entre si, assim como os tratamentos “túnel plástico” e “túnel tela”, sendo que os tratamentos “palha de arroz” e “solo nu” apresentaram maiores níveis de fechamento de “cabeça”.

O fato dos tratamentos de cultivo a campo e cultivo protegido terem apresentado comportamentos diferentes deve estar relacionado com as diferentes condições de temperatura, umidade e luminosidade a que foram submetidas as plantas.

Analisando-se a variável fechamento de “cabeça” das diferentes progênies, no experimento de outono/inverno (Tabela 38), observa-se que as progênies 1, 4, 8, 9, 10 e 16 não diferiram entre si, mas diferiram das demais progênies e da cultivar comercial Elisa, apresentando menores níveis.

Tabela 37. Comparação das medianas de fechamento de “cabeça” nas diferentes práticas culturais, no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Tratamentos	Mediana dos níveis de fechamento de “cabeça”
Palha de arroz	3,00 a
Solo nu	3,00 a
Túnel plástico	2,00 b
Túnel tela	2,00 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste da mediana.

Tabela 38. Comparação das medianas de fechamento de “cabeça” das progênies, no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

Tratamentos	Mediana dos níveis de fechamento de “cabeça”
Cv. Elisa	3,00 a
6	3,00 a
3	3,00 a
2	2,50 b
5	2,50 b
7	2,50 b
17	2,50 b
11	2,50 b
12	2,50 b
13	2,50 b
14	2,50 b
15	2,50 b
18	2,50 b
16	2,00 c
1	2,00 c
9	2,00 c
4	2,00 c
8	2,00 c
10	2,00c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste da mediana.

#### **4.1.10 Fechamento de “cabeça” – primavera/verão**

##### **4.1.10.1 Análise descritiva**

Os resultados da análise descritiva dos níveis de fechamento de “cabeça”, no experimento de primavera/verão, estão descritos nas Tabelas 39 e 40.

Observando-se a Tabela 39, nota-se inicialmente uma mudança no padrão geral de distribuição dos níveis observados de fechamento de “cabeça” em relação ao experimento de outono/inverno. Enquanto no experimento de outono/inverno só haviam três observações no nível 1, no experimento de primavera/verão temos 32.

Observou-se também que se reforça a suspeita de efeito das diferentes práticas culturais na distribuição dos níveis de fechamento de “cabeça”. Enquanto para os tratamentos “palha de arroz”, “solo nu” e “túnel plástico” só há quatro observações no nível 1, para o tratamento com “túnel tela” há 27 observações. Ao mesmo tempo, não há nenhuma observação no nível 3 para esse tratamento, enquanto a maioria das observações para os outros tratamentos se concentram nesse nível.

De forma resumida, para os três primeiros tratamentos (“palha de arroz”, “solo nu” e “túnel plástico”), as observações se concentram nos níveis de fechamento 2 e 3, com tendência para maioria no nível 3. Para o tratamento “túnel tela”, aparenta-se uma distribuição uniforme entre os níveis de fechamento 1 e 2.

Na Tabela 40 observa-se a classificação das progênies de acordo com os níveis de fechamento de “cabeça”, no experimento de primavera/verão. Em parte devido ao maior número de observações no nível 1, não se identificou progênies com diferenças tão marcantes de distribuição entre os níveis de fechamento de “cabeça” como no experimento de outono/inverno. Vale notar o comportamento da progênie 6 e da cultivar Elisa, que tiveram 75% de fechamento de “cabeça” nível 3.

Tabela 39. Classificação das parcelas de acordo com os níveis de fechamento de “cabeça” das plantas de alface, conduzidas sob diferentes práticas culturais, no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Tratamento	Fechamento de “cabeça”		
	Número de parcelas e porcentagem relativa		
	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Palha de arroz	0 (0%)	7 (12%)	50 (88%)
Solo nu	0 (0%)	14 (25%)	43 (75%)
Túnel plástico	4 (7%)	23 (40%)	30 (53%)
Túnel tela	27 (47%)	30 (53%)	0 (0%)

Tabela 40. Classificação das progêneses de acordo com os níveis de fechamento de “cabeça”, no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Progênie	Fechamento de “cabeça”		
	Número de parcelas e porcentagem relativa		
	Nível 1	Nível 2	Nível 3
1	2 (17%)	5 (42%)	5 (42%)
2	1 (8%)	4 (33%)	7 (58%)
3	2 (17%)	3 (25%)	7 (58%)
4	4 (33%)	3 (25%)	5 (42%)
5	3 (25%)	1 (8%)	8 (67%)
6	0 (0%)	3 (25%)	9 (75%)
7	0 (0%)	5 (42%)	7 (58%)
8	3 (25%)	7 (58%)	2 (17%)
9	1 (8%)	6 (50%)	5 (42%)
10	1 (8%)	6 (50%)	5 (42%)
11	1 (8%)	6 (50%)	5 (42%)
12	0 (0%)	6 (50%)	6 (50%)
13	3 (25%)	2 (17%)	7 (58%)
14	2 (17%)	4 (33%)	6 (50%)
15	2 (17%)	3 (25%)	7 (58%)
16	1 (8%)	4 (33%)	7 (58%)
17	4 (33%)	0 (0%)	8 (67%)
18	1 (8%)	3 (25%)	8 (67%)
Cv. Elisa	0 (0%)	3 (25%)	9 (75%)

#### 4.1.10.2 Análise inferencial

Procedeu-se à mesma análise feita para o experimento de outono/inverno, obtendo-se os contrastes dois a dois (Tabela 41). Observou-se que o tratamento “túnel tela” diferiu estatisticamente dos demais, sendo que os tratamentos “palha de arroz”, “solo nu” e “túnel plástico” não diferiram entre si e apresentaram níveis de fechamento de “cabeça” superiores ao tratamento “túnel tela”.

O fato do tratamento “túnel tela” ter apresentado resultado diferente dos demais deve estar relacionado com as diferentes condições de temperatura, umidade e luminosidade a que as plantas foram submetidas. A deficiência luminosa provavelmente resultou em aumento da altura da planta, assim como da extensão da parte aérea, dificultando o fechamento das folhas em relação ao centro da planta.

Tabela 41. Efeito das práticas culturais sobre os níveis de fechamento da “cabeça” de plantas de alface, no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Tratamentos	Mediana dos níveis de fechamento de “cabeça”
Palha de arroz	3,00 a
Solo nu	3,00 a
Túnel plástico	3,00 a
Túnel tela	2,00 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste da Mediana.

Analisando-se os níveis de “fechamento de cabeça” das diferentes progênies, no experimento de primavera/verão (Tabela 42), observou-se que as progênies 1, 4, 8, 9, 10 e 11 diferiram estatisticamente da cultivar comercial Elisa, apresentando menores níveis.

Tabela 42. Comparação das medianas de fechamento de “cabeça” das diferentes progênies, no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Tratamentos	Mediana dos níveis de fechamento de “cabeça”
Cv. Elisa	3,00 a
6	3,00 a
18	3,00 a
7	3,00 a
2	3,00 a
16	3,00 a
3	3,00 a
5	3,00 a
13	3,00 a
17	3,00 a
15	3,00 a
12	2,50 b
14	2,50 b
9	2,00 c
10	2,00 c
11	2,00 c
1	2,00 c
4	2,00 c
8	2,00 c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste da mediana.

## 4.2 Fitoviroses

Do total de 2.880 plantas avaliadas no experimento de outono/inverno, 105 apresentaram sintomas de viroses, ou seja, 3,65% do total de plantas.

As diferentes práticas culturais não afetaram a ocorrência de viroses nos tratamentos. A progênie 1 aparentemente apresentou maior porcentagem de plantas doentes.

Segundo a Figura 01 pode-se observar uma taxa de incidência (não acumulada) relativamente baixa neste experimento, com tendência de queda ao longo do tempo. Apenas no tratamento “túnel tela” foi observado um aumento na incidência de viroses na avaliação realizada em 6 de junho.

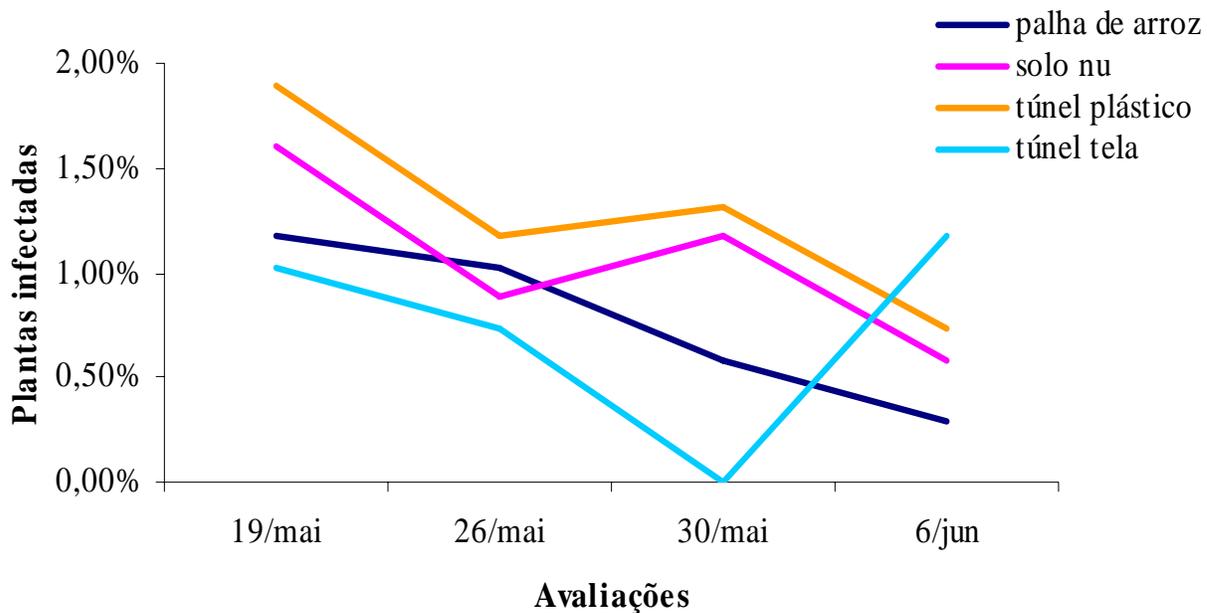


Figura 09. Avaliação visual semanal de plantas de alface com sintomas de vírus, do experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

De maneira geral, observando os contrastes (Tabela 43), observa-se um resultado destoante dos demais para o tratamento “túnel plástico” para algumas progênies.

Constatou-se que para os tratamentos “palha de arroz”, “solo nu” e “túnel tela” não ocorreram diferenças significativas entre as proporções de plantas com sintomas entre as progênies em estudo e a progênie 1, suscetível (Tabela 43). Já para o tratamento “túnel plástico”, foi verificada diferença significativa apenas entre a progênie suscetível e as progênies 3, 4, 5, 6, 7, 8, 15, 18 e cultivares Elisa e Tinto.

Tabela 43. Porcentagem total de plantas com sintomas de vírus nos diferentes tratamentos e progênies, no experimento de outono/inverno. São Manuel, SP, 2003.

<b>Progênies</b>	<b>Palha de arroz</b>	<b>Solo nu</b>	<b>Túnel plástico</b>	<b>Túnel tela</b>	<b>Média</b>
<b>1*</b>	<b>8,34%</b>	<b>8,34%</b>	<b>19,45% a</b>	<b>8,34%</b>	<b>11,12%</b>
2	0,00%	8,34%	8,34% a	0,00%	<b>4,17%</b>
3	0,00%	0,00%	0,00% b	0,00%	<b>0,00%</b>
4	0,00%	5,56%	2,78% b	0,00%	<b>2,09%</b>
5	0,00%	0,00%	0,00% b	0,00%	<b>0,00%</b>
6	0,00%	0,00%	0,00% b	0,00%	<b>0,00%</b>
7	0,00%	0,00%	0,00% b	0,00%	<b>0,00%</b>
8	0,00%	0,00%	2,78% b	0,00%	<b>0,70%</b>
9	5,56%	0,00%	5,56% a	0,00%	<b>2,78%</b>
10	8,33%	2,78%	8,34% a	11,12%	<b>7,64%</b>
11	5,56%	8,34%	8,34% a	5,56%	<b>6,95%</b>
12	5,56%	13,89%	5,56% a	5,56%	<b>7,64%</b>
13	0,00%	5,56%	5,56% a	5,56%	<b>4,17%</b>
14	0,00%	5,56%	5,56% a	0,00%	<b>2,78%</b>
15	0,00%	2,78%	0,00% b	0,00%	<b>0,70%</b>
16	5,56%	16,67%	8,34% a	2,78%	<b>8,34%</b>
17	5,56%	2,78%	13,89% a	5,56%	<b>6,95%</b>
18	13,89%	0,00%	2,78% b	11,12%	<b>6,95%</b>
Elisa	0,00%	0,00%	0,00% b	0,00%	<b>0,00%</b>
Tinto	0,00%	0,00%	0,00% b	0,00%	<b>0,00%</b>
<b>Média</b>	<b>2,92%</b>	<b>4,03%</b>	<b>4,86%</b>	<b>2,78%</b>	<b>3,65%</b>

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 10% de probabilidade.

(\*) Progênie testemunha para os contrastes entre progênies.

Referente ao experimento de primavera/verão, constatou-se maior número de plantas com sintomas de fitoviroses, comparado com o experimento realizado no outono/inverno. Do total de 2.880 plantas avaliadas, 256 apresentaram-se sintomáticas, ou seja, 8,89%.

As diferentes práticas culturais não influenciaram na incidência de vírus nas progênies, possivelmente ainda devido ao baixo índice de doença. Guimarães e Pavan (1998) em ensaios com alface, onde os índices de incidência de vírus foram superiores aos verificados no presente trabalho, demonstraram que tratamentos envolvendo a cobertura do solo com casca de arroz foram eficientes na redução da incidência de tospovirose em cultivares de alface suscetíveis e resistentes. Porém, segundo Pavan (2005)<sup>1</sup> na época da condução desses ensaios havia áreas próximas com plantio de tomate e plantas hospedeiras, proporcionando assim maior fonte de inóculo.

Analisando-se as contagens semanais de incidência de vírus na fase pós-plantio, no experimento de primavera/verão, verificou-se que as taxas de incidência (não acumuladas) nos diferentes tratamentos foram pouco maiores do que no experimento de outono/inverno. Pode-se observar (Figura 02) uma ligeira tendência de queda nas taxas de incidência de viroses comparando-se a primeira e segunda avaliação e um aumento de incidência comparando-se a segunda e terceira avaliação, sendo que o aumento verificado em todos os tratamentos, na terceira avaliação, deve estar relacionado com a ocorrência de um vírus não identificado, possivelmente um potyvírus.

<sup>1</sup> MARCELO AGENOR PAVAN. Departamento de Fitossanitária – FCA – Câmpus de Botucatu/UNESP. C.P. 237, CEP 18603 -630, Botucatu –SP, Comunicação Pessoal, 1990.

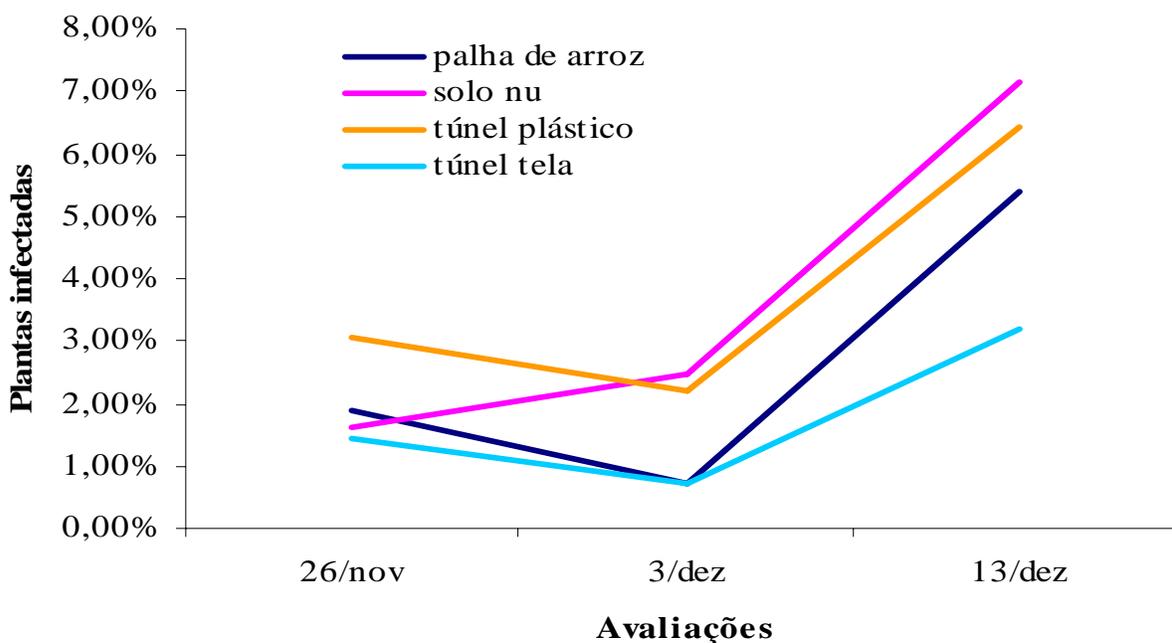


Figura 10. Avaliação visual semanal de plantas de alface com sintomas de viroses, no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

Para o experimento de primavera/verão, valem as mesmas ressalvas e observações feitas para a análise inferencial dos dados do experimento de outono/inverno, tendo sido realizadas comparações de proporções para cada pareamento de progênie com a progênie suscetível 1, dentro de cada tratamento .

Para o tratamento “solo nu”, observou-se diferença significativa entre a progênie suscetível 1 e as progênies 3, 12, 13, 15 e 17, enquanto que para o tratamento “túnel plástico”, observou-se diferença significativa entre a progênie suscetível 1 e as progênies 2, 6, 8 e cultivares Tinto e Elisa. Para o tratamento “túnel tela” observou-se diferença significativa entre a progênie suscetível 1 e as progênies 12 e 17.

Constatou-se, através de testes de RT-PCR, que a taxa média de infecção (1,68%) encontrada nas amostras de plantas com sintomas de vírus coletadas na primeira semana após o transplante (fase de muda), no experimento de outono/inverno, foi ligeiramente superior a taxa média encontrada no experimento de primavera/verão (1,21%), sendo que a maioria das amostras testadas foram positivas para isolados de LMV do sub-grupo Common.

Tabela 44. Porcentagem total de plantas com sintomas de viroses nos diferentes tratamentos e progênies, no experimento de primavera/verão. São Manuel, SP, 2003.

<b>Progênies</b>	<b>Palha de arroz</b>	<b>Solo nu</b>	<b>Túnel plástico</b>	<b>Túnel tela</b>	<b>Média</b>
<b>1*</b>	<b>13,89% a</b>	<b>2,78% b</b>	<b>19,45% a</b>	<b>2,78% b</b>	<b>9,73%</b>
2	5,56% a	5,56% b	2,78% b	11,12% b	<b>6,26%</b>
3	13,89% a	19,44% a	11,11% a	0,00% b	<b>11,11%</b>
4	8,34% a	8,33% b	8,34% a	0,00% b	<b>6,25%</b>
5	2,78% a	2,78% b	11,12% a	2,78% b	<b>4,87%</b>
6	5,56% a	2,78% b	0,00% b	0,00% b	<b>2,09%</b>
7	2,78% a	2,78% b	5,56% a	2,78% b	<b>3,47%</b>
8	2,78% a	0,00% b	0,00% b	2,78% b	<b>1,39%</b>
9	8,33% a	2,78% b	8,34% a	2,78% b	<b>5,56%</b>
10	11,11% a	13,89% b	13,90% a	11,11% b	<b>12,50%</b>
11	19,45% a	8,34% b	8,34% a	2,78% b	<b>9,73%</b>
12	13,89% a	38,89% a	33,33% a	19,45% a	<b>26,39%</b>
13	8,34% a	36,11% a	27,78% a	13,89% b	<b>21,53%</b>
14	2,78% a	8,34% b	11,11% a	2,78% b	<b>6,25%</b>
15	8,34% a	19,44% a	16,67% a	2,78% b	<b>11,81%</b>
16	16,67% a	8,34% b	11,11% a	2,78% b	<b>9,73%</b>
17	13,89% a	19,45% a	5,56% a	16,67% a	<b>13,89%</b>
18	5,56% a	5,56% b	25,00% a	2,78% b	<b>9,73%</b>
Elisa	5,56% a	8,34% b	2,78% b	2,78% b	<b>4,87%</b>
Tinto	0,00% b	2,78% b	0,00% b	0,00% b	<b>0,70%</b>
<b>Média</b>	<b>8,48%</b>	<b>10,84%</b>	<b>11,11%</b>	<b>5,14%</b>	<b>8,89%</b>

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 10% de probabilidade.

(\*) Progênie testemunha para os contrastes entre progênies.

Confirmou-se a presença dos fitovírus LeMoV (3,84%), tospovirus (16,16%) e LMV-Common (60,82%), sendo que 19,17% das amostras (20) apresentaram resultado negativo para os vírus testados, no experimento de outono/inverno (Tabela 45).

Pode-se observar que não foi diagnosticada a presença de LMV-Most em qualquer das amostras analisadas do experimento de outono/inverno. Este resultado está de acordo com levantamentos realizados no estado de São Paulo (FIRMINO et al, 2005) em que se verificou prevalência dos isolados LMV-Common em relação ao LMV-Most. Apesar deste últimos terem adquirido a capacidade de contornar a resistência dos genes recessivos *mol<sup>1</sup>* e *mol<sup>2</sup>*, não parecem estar tão adaptados quanto ao LMV-Common, de modo que em nossas condições onde ainda predomina o cultivo de alfaces suscetíveis e existe baixa pressão de seleção para contornar estes genes de resistência, faz com que os LMV-Common ocorram com maior incidência no campo.

Tabela 45. Resultado dos testes de RT-PCR para amostras de plantas com sintomas de fitoviroses, do experimento de outono/inverno. Botucatu, SP. 2003.

Amostras positivas				Amostras negativas
LeMoV	LMV-Common	LMV-Most	Tospovirus	
3,84%	60,82%	0%	16,16%	19,17%

Confirmou-se a presença dos fitovírus LMV-Common (16,87%) e Tospovirus (20,47%), sendo que 62,65% das amostras (160) apresentaram resultado negativo para os vírus testados. Das 160 amostras negativas, 33 foram submetidas a teste de RT-PCR (CMV), teste com plantas indicadoras e análise de microscopia eletrônica, no experimento de primavera/verão (Tabela 46).

Pode-se observar que não foi diagnosticada a presença de LMV- Most e LeMoV em qualquer das amostras analisadas, de primavera/verão.

Tabela 46. Resultado dos testes de RT-PCR para amostras de plantas com sintomas de fitoviroses, do experimento de primavera/verão. Botucatu, SP. 2003.

Amostras positivas				Amostras negativas
LeMoV	LMV-Common	LMV-Most	Tospovirus	
0%	16,87%	0%	20,47%	62,65%

Analisando-se o resultado dos testes de RT-PCR realizados nas amostras de plantas com sintomas de fitoviroses, para as diferentes progênes, no experimento de outono/inverno e 2 (Tabela 47), observa-se que apenas as progênes 6 e 7 não apresentaram incidência de LeMoV, LMV ou tospovirus, mas apresentaram sintomas de mosaico, que podem estar relacionados com a presença do vírus não identificado, detectado apenas na análise de microscopia eletrônica. Constatou-se-se ainda, que apenas a cultivar Tinto não apresentou incidência deste vírus.

Das 160 amostras negativas encontradas no experimento de primavera/verão, 33 foram submetidas a teste de RT-PCR (CMV), sendo que apenas duas amostras foram positivas

Das 31 amostras negativas para CMV, posteriormente inoculado em plantas de *Chenopodium quinoa* e *Helianthus annuus*, apenas 12 indicaram sintomas em plantas de *C. quinoa* e nenhum indicou sintomas em *H. annuus*, o que descartou a possibilidade das amostras estarem infectadas com o “*Bidens mosaic virus*” – BiMV.

Constatou-se-se que todas as 12 amostras que apresentaram sintomas em plantas de *C. quinoa* apresentaram presença de partículas alongadas flexuosas, típicas de um potyvírus, quando analisadas através da análise de microscopia eletrônica.

Tabela 47. Porcentagem de plantas com sintomas de viroses (PSV), confirmados através de testes de RT-PCR específicos para LeMoV, LMV-Common e Tospovirus, e amostras negativas, nos experimentos 1 e 2. Botucatu, SP, 2003.

P R O G Ê N I E	Porcentagem de Plantas Infectadas										
	EXPERIMENTO 1 (outono/inverno)					EXPERIMENTO 2 (primavera/verão)					Média 2 Exp.
	L e M o V	L M V H	T O S P O V	O U T R O S	PSV	L e M o V	L M V H	T O S P O V	O U T R O S	PSV	
<b>1</b>	0,7	8,3	2,1	0	<b>11,1</b>	0	0	0,7	9,0	<b>9,7</b>	<b>10,4</b>
<b>2</b>	0	4,2	0	0	<b>4,2</b>	0	1,4	0,7	4,2	<b>6,3</b>	<b>5,2</b>
<b>3</b>	0	0	0	0	<b>0,0</b>	0	4,9	0	6,3	<b>11,2</b>	<b>5,6</b>
<b>4</b>	0	0,7	0,7	0,7	<b>2,1</b>	0	0	2,1	4,2	<b>6,3</b>	<b>4,2</b>
<b>5</b>	0	0	0	0	<b>0</b>	0	0	2,8	2,1	<b>4,9</b>	<b>2,5</b>
<b>6</b>	0	0	0	0	<b>0</b>	0	0	0	2,1	<b>2,1</b>	<b>1,1</b>
<b>7</b>	0	0	0	0	<b>0</b>	0	0	0	3,5	<b>3,5</b>	<b>1,8</b>
<b>8</b>	0	0	0	0,7	<b>0,7</b>	0	0,7	0	0,7	<b>1,4</b>	<b>1,1</b>
<b>9</b>	0	1,4	1,4	0	<b>2,8</b>	0	0	2,8	2,8	<b>5,6</b>	<b>4,2</b>
<b>10</b>	0	6,3	0	1,4	<b>7,7</b>	0	0	3,5	9,0	<b>12,5</b>	<b>10,1</b>
<b>11</b>	1,4	4,9	0	0,7	<b>7,0</b>	0	0	4,2	5,6	<b>9,8</b>	<b>8,4</b>
<b>12</b>	0,7	4,9	0,7	1,4	<b>7,7</b>	0	0	9,0	17,4	<b>26,4</b>	<b>17,1</b>
<b>13</b>	0	2,8	0	1,4	<b>4,2</b>	0	9,0	2,1	10,4	<b>21,5</b>	<b>12,9</b>
<b>14</b>	0	2,8	0	0	<b>2,8</b>	0	0,7	0	5,6	<b>6,3</b>	<b>4,6</b>
<b>15</b>	0	0,7	0	0	<b>0,7</b>	0	0	1,4	10,4	<b>11,8</b>	<b>6,3</b>
<b>16</b>	0	4,2	2,1	2,1	<b>8,4</b>	0	0	2,8	6,9	<b>9,7</b>	<b>9,1</b>
<b>17</b>	0	2,1	2,8	2,1	<b>7,0</b>	0	6,2	2,1	5,6	<b>13,9</b>	<b>10,5</b>
<b>18</b>	0	1,4	2,1	3,5	<b>7,0</b>	0	6,3	0	3,5	<b>9,8</b>	<b>8,4</b>
<b>Elisa</b>	0	0	0	0	<b>0</b>	0	0	2,1	2,1	<b>4,2</b>	<b>2,1</b>
<b>Tinto</b>	0	0	0	0	<b>0</b>	0	0,7	0	0	<b>0,7</b>	<b>0,4</b>
<b>Média</b>	<b>0,14</b>	<b>2,22</b>	<b>0,59</b>	<b>0,70</b>	<b>3,65</b>	<b>0,00</b>	<b>1,50</b>	<b>1,82</b>	<b>5,57</b>	<b>8,89</b>	<b>6,3</b>

A presença de LMV nos testes de RT-PCR não significa que os sintomas presentes nas amostras coletadas sejam devido ao LMV. Como a maioria das amostras apresentaram um vírus não identificado, os sintomas podem terem sido originados por ele.

A maioria dos insetos coletados nas etiquetas adesivas não pôde ser identificada ao nível de espécie, pois os mesmos estavam danificados em decorrência da cola presente nas armadilhas. Somente a presença de alguns espécimes de *Myzus persicae* e *Frankliniella schultzei* pôde ser confirmada. Constatou-se que em todas as avaliações realizadas nas épocas 1 e 2 (Tabelas 48 e 49) o número de tripes capturados foi superior ao número de pulgões. Isto já era esperado para o experimento de primavera/verão, pois a mesma normalmente apresenta condições climáticas favoráveis para o crescimento populacional dos tripes, mas esperava-se que no experimento de outono/inverno ocorresse uma maior captura de pulgões, já que sua população normalmente aumenta no período de outono/inverno.

Tabela 48. Número de insetos vetores capturados em armadilhas adesivas amarelas durante o experimento de outono/inverno. São Manuel, SP. 2003.

<b>Experimento 1 - Outono/Inverno</b>						
<b>Tratamento</b>	<b>Tripes</b>			<b>Pulgões</b>		
	<b>A<sup>1</sup></b>	<b>B<sup>1</sup></b>	<b>C<sup>1</sup></b>	<b>A<sup>1</sup></b>	<b>B<sup>1</sup></b>	<b>C<sup>1</sup></b>
<b>Palha de arroz</b>	47,33	50,17	44,17	8,17	27,67	6,83
<b>Solo nu</b>	43,17	48,00	40,67	7,33	26,83	6,50
<b>Túnel plástico</b>	7,33	10,67	28,83	1,17	4,67	5,17
<b>Túnel tela</b>	1,00	1,33	4,33	0,00	1,00	4,33

<sup>1</sup> Períodos de coleta: A (09/05 a 16/05), B (19/05 a 26/05), C (29/05 a 05/06)

O número de insetos capturados nas etiquetas adesivas instaladas nos diferentes tratamentos, indicam que no tratamento “túnel tela” foram verificadas as menores taxas de captura de tripes e pulgões, tanto no experimento de outono/inverno, quanto no experimento de primavera/verão. Estes dados confirmam o efeito exercido pelo túnel de tela anti-afídeo na proteção das plantas, muito embora a ocorrência de fitoviroses tenha sido baixa em todos os tratamentos e não tenha sido possível avaliar com maior precisão este efeito protetor.

Tabela 49. Número de insetos vetores capturados em armadilhas adesivas amarelas e azuis durante o experimento de primavera/verão. São Manuel, SP. 2003.

<b>Experimento 2 - Primavera/Verão</b>						
<b>Tratamento</b>	<b>Tripes<sup>1 e 2</sup></b>			<b>Pulgões<sup>2</sup></b>		
	<b>A<sup>3</sup></b>	<b>B<sup>3</sup></b>	<b>C<sup>3</sup></b>	<b>A<sup>3</sup></b>	<b>B<sup>3</sup></b>	<b>C<sup>3</sup></b>
<b>Palha de arroz</b>	42,50	73,67	88,67	4,00	5,67	8,34
<b>Solo nu</b>	22,00	68,17	81,00	3,50	5,20	7,00
<b>Túnel plástico</b>	13,50	58,34	183,33	1,83	7,67	7,84
<b>Túnel tela</b>	5,00	6,71	24,00	0,00	0,33	1,17

<sup>1</sup> Insetos monitorados com o uso de armadilhas azuis;

<sup>2</sup> Insetos monitorados com o uso de armadilhas amarelas;

<sup>3</sup> Períodos de coleta: A (11/11 a 20/11), B (23/11 a 30/12), C (03/12 a 10/12)

Outro ponto que merece ser destacado é o aumento na captura de tripes no último período de coleta, nas armadilhas instaladas no tratamento “túnel plástico”. Ao que tudo indica a cobertura com túnel plástico exerceu, inicialmente, um efeito protetor para as plantas de alface, mas após a colonização das parcelas pelo tripes, foram criadas condições de umidade e temperatura favoráveis para a multiplicação do inseto.

### 4.3 Considerações gerais

A busca de técnicas eficazes para o controle de doenças e de cultivares comerciais mais produtivas e resistentes a fim de aumentar a produtividade e diminuir perdas na produção é importante e fundamental para aumentar a competitividade dos produtos, principalmente os consumidos “in natura” e os mais perecíveis, como é o caso das hortaliças.

As principais perdas na cultura da alface são provocadas por ataque de vírus, especialmente os dos gêneros *Potyvirus* e *Tospovirus*. O controle destas viroses é difícil por várias razões; apresentam ampla gama de hospedeiras, os vetores são eficientes e a eliminação do inseto vetor através do uso de inseticidas não é eficaz. Aliado a isto há uma grande variabilidade de espécies dentro dos gêneros, que circunstancialmente provocam quebra de resistência.

Muitas vezes, o uso de uma ou mais medidas isoladamente, pode não ser suficiente para promover o controle de doença com valor prático. Daí ser o manejo integrado de doenças de plantas uma ação multidisciplinar, envolvendo, de forma integrada, todos os métodos que podem influenciar direta ou indiretamente a predisposição do hospedeiro ao ataque de patógenos, as formas de sua sobrevivência e disseminação e os mecanismos de mudança do ambiente. Deste modo, o manejo integrado consiste na utilização de todas as técnicas disponíveis ao agricultor. Dentro dessa ótica, o uso do manejo integrado objetiva manter as doenças das plantas abaixo do limiar de dano econômico, sem ou com menor prejuízo para o agroecossistema (GUIMARÃES, 1999).

Para um controle eficiente das fitoviroses, pressupõe-se que o vírus tenha sido identificado corretamente e que haja um bom conhecimento do complexo ecologia e epidemiologia do vírus, isto é, como se comporta o vírus em relação aos seus hospedeiros, presença de vetores e fontes de infecção em determinados ambientes e como se dá a incidência da doença (WARTERWORTH e HADIDI, 1998). As únicas soluções práticas, até o momento, consistem em controlar as viroses indiretamente, interferindo com sua ecologia natural e protegendo as culturas da infecção ou, pelo menos, reduzindo seus efeitos. (NORONHA, 1992). Sendo assim, devido ao seu modo de interação com a planta, os vírus compõem um grupo especial de patógenos, cujos métodos de controle devem ser, na sua grande maioria, de caráter preventivo (SIVALD, 1998).

Nos ensaios realizados nos períodos de outono/inverno e primavera/verão, onde foram empregadas técnicas culturais e materiais resistentes com a finalidade de se encontrar alternativas de controle, a baixa incidência de vírus, possivelmente pela falta de fontes de inóculo, não permitiu concluir sobre a eficácia das diferentes práticas culturais na incidência de fitovírus na cultura da alface.

Muito embora a utilização de cobertura do solo com casca de arroz já tenha sido relatada em experimentos realizados em São Paulo, mostrando-se eficiente no controle de vírus (COSTA e COSTA, 1971; YUKI, 1990; LITSINGER e RUHENDI, 1984), o mesmo não pode ser comprovado no presente trabalho. A cobertura com palha de arroz, no entanto, se destacou dos demais tratamentos, mostrando um efeito positivo sobre as características agronômicas avaliadas.

Csizinszky et al. (1995) obtiveram redução nos danos causados por tripses em função da utilização de materiais de diversas cores como cobertura do solo. Outros materiais de origem natural, também foram testados para verificar sua ação repelente sobre os insetos (LITSINGER e RUHENDI, 1984; VOS et al., 1995, GUIMARÃES e PAVAN, 1998). A casca de arroz é um material que se apresenta como alternativa viável (GUIMARÃES e PAVAN, 1998). O uso de repelentes reflexivos tais como casca de arroz e superfície alumínizada, reduz sensivelmente a incidência de vírus transmitidos por afídeos. Esses produtos repelem os insetos alados em voo, evitando que desçam nas culturas que estão com essas proteções (LEWIS, 1973; YUKI et al., 1998).

Litsinger e Ruhendi (1984) obtiveram a redução do número de tripses coletados em plantas de caupi quando estas se apresentavam com cobertura de palha de arroz. Guimarães e Pavan (1998) também obtiveram diferenças nas respostas de canteiros com e sem a presença de casca como cobertura de solo, na incidência de tospoviroses na cultura da alface.

De acordo com Wyman et al. (1979) o objetivo principal das superfícies colocadas no solo seria de evitar a infecção precoce das plantas. A maioria dos trabalhos mostra que após certo tempo do plantio há uma perda gradativa da repelência, aumentando bastante a incidência do vírus, chegando a ser comparável às testemunhas (MOORE et al., 1965; WOLFENBARGER e MOORE, 1967; ADLERZ e EVERETT, 1968; GEORGE e KRING, 1971 e WYMAN et al., 1979).

Contudo, foi observado nos ensaios, que com o tempo houve uma alta incidência de afídeos e tripses no tratamento palha de arroz e solo nu, mas a incidência de viroses foi baixa. Isto leva a crer que houve uma perda gradativa da repelência da palha de arroz ou perda de autonomia de vôo pela frequência e intensidade do vento na região ou ainda não houve disponibilidade de fonte de inóculo no local da pesquisa.

Segundo Lewis (1973) e Yuki (1978) embora maior coleta de afídeos corresponda a maior incidência de moléstia, as proporções são variáveis, ou seja, não existe uma correlação fixa entre o número de *Myzus persicae* coletado na armadilha amarela de água e a incidência do vírus. Isto se deve provavelmente a disponibilidade de fontes de vírus em determinadas épocas do ano, isto é, períodos em que há boas hospedeiras do vírus, e em quantidades elevadas a proporção número de vetor/incidência de vírus, deve ser mais baixa.

Com relação aos sistemas protegidos de condução da alface, túnel plástico e túnel tela houve menor incidência de afídeos e tripses e baixa incidência de viroses, com exceção do tratamento com túnel plástico que em função do ambiente proporcionar melhores condições de adaptação dos insetos após a suas entradas nos túneis, necessitando assim, de um manejo mais adequado.

Costa et al. (1972), estudando os efeitos de coberturas de tela para a proteção de mudas de tomate contra a invasão de vetores, concluíram que mudas de tomate produzidas sob proteção tiveram uma produção mais elevada do que as não protegidas. Em relação a cultura de alface, a tela teve efeito positivo resultando na baixa incidência das viroses, contudo não nos dados de produção, já que os melhores desempenho das progênes e cultivares foram observados em solo coberto por palha de arroz.

Ribeiro et al. (1981), avaliando as possibilidades de controlar doenças viróticas transmitidas por afídeos através da proteção das plantas até à fase de estaqueamento do tomateiro, com telados de nylon, constataram que o tratamento é eficaz e pode ser economicamente viável no controle de viroses, particularmente sob condições que favoreçam sua incidência.

Na análise individual da área de projeção da saia, massa da matéria fresca, produtividade, época de pendoamento e fechamento da cabeça, em todas as épocas e condições, diferenças significativas foram observadas com relação as progênes 6 e 7, que apresentaram bom desempenho em todos os aspectos analisados e só comparada a cultivar

Elisa, referência pelo seu desempenho produtivo. Contudo, destacaram-se desta, se levarmos em consideração que não apresentou nenhuma incidência de LMV, sendo resistente a LMV-II, LeMoV e *Tospovirus*. Comprovando que a maneira ideal de controlar fitoviroses é a obtenção de cultivares resistentes, mesmo que parcial ou completamente imunes, conforme observou Hammond, 1998.

O desenvolvimento de cultivares resistentes para controle de doenças apresenta-se como uma solução econômica e eficiente, requerendo o mínimo ou nenhuma experiência por parte dos extensionistas ou produtores rurais (REDDY e WIGHTMAN, 1988). Considerável esforço, tempo e recursos financeiros têm sido gastos para selecionar e melhorar cultivares resistentes a vírus, pois é importante que a cultivar melhorada tenha as características agronômicas desejadas e que não seja suscetível a outras doenças (KHETARPAL et al., 1998). Entretanto, técnicas culturais quando implementadas adequadamente e visando o controle de viroses, podem ser as responsáveis por melhor eficiência no controle, bem como proteger da incidência de novos vírus ou de estirpes, as cultivares consideradas resistentes.

Resta, ainda ser analisado e identificado o vírus encontrado nas amostras analisadas pelos testes de diagnoses, contudo, não foi alvo de análise neste experimento.

## 5 CONCLUSÕES

- O tratamento “cobertura com palha de arroz” resultou em plantas com maior massa fresca, maior produtividade, melhor fechamento de cabeça e maior tempo para o início do pendoamento;
- A baixa incidência de vírus, possivelmente pela falta de fonte de inóculo dos respectivos vírus, não permitiram concluir sobre a eficácia das diferentes práticas culturais na incidência de vírus.
- Para futuros programas de melhoramento as progênies 3, 6, 7 e 14, apresentaram excelentes características agrônômicas, equivalentes à cultivar Elisa, em relação a todas as características avaliados;
- As progênies 6 e 7 não apresentaram incidência de LeMoV, LMV-II ou tospovirus;
- Um vírus não identificado, possivelmente um potyvírus é responsável pela ocorrência de sintomas de mosaico em plantas de alface na região de São Manuel, SP;
- Apenas a cultivar Tinto não apresentou incidência do vírus não identificado.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLERZ, W. C.; EVERETT, P. H. Aluminum foil and white polyethylene mulches to repel aphids and control watermelon mosaic. **Journal of Economic Entomology**, Washington, n. 61, p.1276-1279, 1968.

ATKISON, K. M.; DENNIS, E. B. **Lettuce aphids**. UK Leaf. Minist. Agric., n. 392, 1984. 8p.

AUAD, A. M.; FREITAS S.; BARBOSA, L. R. Ocorrência de afídeos em alface (*Lactuca sativa* L.) em cultivo hidropônico. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 2., Londrina, Apr./June, 2002.

ÁVILA, A. C. Classification of tospoviruses based on phylogeny of nucleoprotein gene sequences. **Journal of General Virology**, Grã - Bretanha. v. 74, p.153-159, 1993a.

ÁVILA, A. C. Vírus do vira-cabeça do tomateiro (TSWV): organização do genoma, taxonomia, diagnose e controle. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 11, p.179-183, 1993b.

ÁVILA, A. C. et al. Distinct levels of relationships between tospovirus isolates. **Archives of Virology**, New York, v. 128, p.211-227, 1993.

BACON, O. G. et al. Control of the green peach aphid and its effect on the incidence of potato leafroll virus. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 69, p.410-414, 1976.

BAILEY, S. F. A contribution to the knowledge of the western flower thrips. **Journal of Economic Entomology**, College Park, MD, v. 26, p.836-840, 1933.

BARGAGALLO, S. et al. **Aphis of the principal fruit-bearing crops**. Milan: Bayer S.P.A., 1997. 123 p.

BAUTISTA, R. C.; MAU, R. F. L. Preferences and development of western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) on plant hosts of tomato spotted wilt Tospovirus in Hawaii. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 23, p.1501-1507, 1994.

BEAVERS, J. B.; SHAW, A. G.; HAMPTON, R. B. Color and height preference of the citrus thrips in a navel orange grove. **Journal of Economic Entomology**, College Park, MD, v. 64, p.1112-1113, 1971.

BEDENDO, P. I. Virus. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de fitopatologia : princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, p.132-159, 1995.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Análise crítica dos programas de manejo integrado sob cultivo protegido, pivô central e plantio direto. In: Zambolim, L. (Ed.) **Manejo integrado, fitossanidade, cultivo protegido, pivô central e plantio direto**. Viçosa. Suprema Gráfica e Editora. p.313-346. 2001.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças tropicais** epidemiologia e controle econômico. São Paulo: Ceres, 1996.

BERTHEAU, Y. et al. DNA amplification by polymerase chain reaction (PCR). In: PEROMBELON, M. C. M.; Van Der WOLFF, J. M. (Ed.). **Methods for the detection and quantification of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on Potatoes**. Scottish Crop Research Institute Occasional Publication, n. 10, 1998.

**BOLETIM MENSAL-CEAGESP.** Cia Entrepasto e Armazéns Gerais de São Paulo,. SET/1995, 56 p.

BORGES, L. M. **Período de permanência de mudas em telado anti-afídeo e distância da fonte de inóculo na ocorrência de viroses e na produção de alface (*Lactuca sativa* L).** 2001. 47 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2001.

BORROR, D. J.; DeLONG, D. M. **Introdução ao estudo dos insetos.** São Paulo: Edgard Blücher, 1988. 653 p.

BRODSGAARD, H. F. Coloured sticky traps for *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera, Thripidae) in glasshouses. **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v. 107, p.136-140, 1989.

BROSDBENT, L. Insecticidal control of the spread of plant viruses. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, n. 2, p.339-407, 1957.

BROWN, S. L.; BROWN, J. E. Effect of plastic mulch color and inseticides on thrips populations and damage to tomato. **HortThecnology**, v. 2, p.208-211, 1992.

BRUNT, A.; GRABTREE, K.; GIBBS, A. **Viruses of tropical plants.** Redwood Press Ltd., 1990. 707 p.

CAMARGO, A. M. M. M. P.; CAMARGO, F. P.; CAMARGO FILHO, W. P. Área e produção de hortaliças no Estado de São Paulo, 2004. Congresso Brasileiro de Olericultura, Resumo expendido (45°CBO). **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n. 2, ago., 2005. (Suplemento 2. CD-ROM)

CAMARGO, L. S. **As hortaliças e seu cultivo.** Campinas: Fundação Cargill, 1992. 252 p.

CHAVES, A. L. R. **Caracterização de um vírus isométrico causador de mosqueado em alface (*Lactuca sativa* L).** 1999. 120 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

CHAVES, A. L. R. et al. Propriedades biológicas, físico-químicas e imunológicas dos vírus do mosqueado da alface, um possível Sequiviridae. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 2, p.155-162, abr/jun., 2004.

CHISHOLM, I. F.; LEWIS, T. A new look at trips (Thysanoptera) mouthparts, their action and effects of feeding on plant tissue. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 74, n. 4, p.549-724, 1984.

CHO, J. J. et al. A multidisciplinary approach to management of tomato spotted wilt virus in Hawaii. **Plant Disease**, v. 73, p.375-383, 1989.

CHO, J. J. et al. Epidemiology of tomato spotted wilt virus disease on crisphead lettuce in Hawaii. **Plant Disease**, v. 71, n. 6, p.505-508, 1987.

COLARICCIO, A.; EIRAS, M.; CHAVES, A. L. R.; ROGGERO, P.; CHAGAS, C. M. Diversidade de tospovírus em olerícolas no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v. 27, pág. 177-182, 2001.

CONOVER, W. J. **Practical Nonparametric Statistics**, 3.ed, John Wiley & Sons, Inc. 1999. 584 p.

CORTEZ, J. W.; TEIXEIRA, A. N. S. Alface: Hospedeiro incômodo. **Revista Cultivar Hortaliças e Frutas**. Ano V, n. 30, p.21-22, 2005.

COSTA, C. L.; COSTA, A. S. Espécies de afídeos mais freqüentemente coletadas em Campinas, numa armadilha amarela de água, nos anos de 1967 a 1971. **Anais da Reunião de Entomologia Agrícola**, Itabuna, n. 1, p.21-25, 1972. (Resumo)

COSTA, C. L.; COSTA, A. S. Redução da disseminação de mosaico em abóbora de moita (*Cucumis pepo* var. *Melopepo*) com superfícies reflectivas repelentes aos afídeos vetores. **Revista de Olericultura**, v. 11, p.24-25, 1971. (Resumo)

COSTA, C. L.; COSTA, A. S.; NAGAI, H. Cobertura de tela para proteção da muda de tomate contra a invasão de afídeos vetores. **Revista de Olericultura**, v. 12, p.122-124, 1972.

COSTA, C. L.; COSTA, A. S.; NAGAI, H. Controle de vira-cabeça do tomateiro pela destruição do vetor. III - efeito de inseticida sistêmico granulado combinado com pulverizações. **Fitopatologia Brasileira**, v. 2, p.23- 24, 1977.

COSTA, C. P; SALA F. A evolução da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**. v. 23, n. 1, 2005.

CSIZINSZKY, A. A.; SCHUSTER, D. J.; KRING, J. B. Color mulches influence yield and insect pest populations in tomatoes. **Journal of American Society of Horticulture Science**, v. 120, p.778-784, 1995.

DANIELS, J. Quando o vírus está na semente. **Cultivar hortaliças e frutas**. Pelotas/RS. Ano I, n. 5, p.34-35, jun./1999.

DANTAS, R. T. **Parâmetros agrometeorológicos e análise de crescimento da alface (*Lactuca sativa* L.) em ambientes natural e protegido**. 1997. 109 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

DAVIS, R. M. et al. **Compendium of lettuce diseases**. Saint Paul: APS Press, p.49-50, 1997.

DIFONZO, C. D.; RAGSDALE, D. W.; RADCLIFFE, E. B. Potato leafroll virus spread in differentially resistant potato cultivars under varying aphid densities. **Annual Potato Journal**, v. 72, p.119-132, 1995.

DINANT, S.; LOT, H. Lettuce Mosaic Virus. **Plant Pathology**, v. 41, p.528-542, 1992.

DOODSON, J. K.; SAUNDERS, P. J. W. Some effects of barley yellow dwarf virus on spring and winter cereals in field trial. **Annals of Applied Biology**, v. 66, p.361-374, 1970.

EASTOP, V. F. World wide importance of aphid as virus vector, p.4-47. In: Harris K. F.; K. Maramorosch (eds.), **Aphid as virus vectors**. New York: Academic, 1977. 537 p.

ECHER, M. M.; PAVAN, M. A.; SILVA, N. Identificação de fontes de resistência ao *Lettuce mottle virus* (LeMoV) em alface (*Lactuca sativa* L.) **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 2, julho – Suplemento CD, 2003b.

ECHER, M. M. et al. *Amaranthus hybridus* L.: Hospedeira diferencial para lettuce mottle virus (LeMoV) e *lettuce mosaic virus* (LMV). **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 2, julho – Suplemento CD, 2003a.

EDWARDSON, J. R.; CHRISTIE, S. R. Lettuce Mosaic Virus. In: **The potyvirus group**. Gainesville: University of Florida. v. 2, p.572-588, 1991.

EIRAS et al. RT-PCR and dot blot hybridization methods for a universal detection of tospoviruses. **Fitopatologia Brasileira**. v. 26, p. 170-175. 2001

ESPÍNDOLA, C. R. et al. Levantamento pedológico da Fazenda Experimental São Manoel. In: **Congresso Brasileiro de Ciências do Solo**, 14, 1973, Santa Maria-RS, p.650-651, 1974.

FIGUEIRA, A. R. **Manejo de doenças viróticas**. Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” Especialização a Distância: Manejo de Doenças de Plantas. Lavras: UFLA/FAEPE. 2000. 95 p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Manual de olericultura**: cultura e comercialização de hortaliças. 2. ed. São Paulo: Ceres, v.1, 1981. 338 p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Manual de olericultura**: cultura e comercialização de hortaliças. 2. ed. São Paulo: Ceres, v.2, 1982. 357 p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. São Paulo, Agronômica Ceres Ltda, 2000. 402 p.

FIRMINO, A. C. et al. Três anos de análise da incidência do *Lettuce mosaic virus* (LMV) e Lettuce mottle virus (LeMoV) nos campos de produção de alface do estado de São Paulo. In: **XXXVII Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Brasília**. Fitopatologia Brasileira, v.30. p.S 192, 2005 (Suplemento).

FRANCKI, R. I. B.; HATTA, T. Tomato spotted wilt virus. In: KURSTAK, E. (Ed.). **Handbook of plant virus infections**: comparative diagnosis. Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical Press, cap. 17, p.491-512, 1981.

FURIATTI, R. S.; ALMEIDA, A. A. Flutuação da população dos afídeos *Myzus persicae* (Sulzer, 1778) e *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas, 1878) (Homoptera: Aphididae) e sua relação com a temperatura. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 37, p.821-826, 1993.

GAINES, J. C. A preliminary study of thrips on seeding cotton with special reference to the population migration and injury. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 27, p.740-743, 1934.

GALLO, D. et al. **Manual de Entomologia Agrícola**. 2. ed. São Paulo: Ceres, 2002. 920 p.

GEORGE, W. L.; KRING, J. B. Virus protection of late season summer squash with aluminum mulch. **Conecticut Agricultural Experiment Station**, New haven, n. 239, 1971. 8 p.

GERMAN, T. L.; ULLMAN, D. E.; MOYER, J. W. Tospoviruses: diagnosis, molecular biology, phylogeny and vector relationships. **Annual Ver. Phytopathol.**, v. 30, p.315-348, 1992.

GOTO, R. A cultura de alface. In: GOTO, R.; TIVELLI, S. W. (Org.). **Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais**. São Paulo: Fundação Editora da UNESP, cap. 5, p.137-159, 1998.

GREENOUGH, D. R.; BLACK, L. L.; BOND, W. P. Aluminum-surfaced mulch: an approach to the control of tomato spotted wilt virus in solanaceous crops. **Plant Disease**, v. 74, p.805-808, 1990.

GROGAN, R. G. Control of lettuce mosaic with virus-free seed. **Plant Disease**, v. 64, p.446-449, 1980.

GUIMARÃES, A. M. **Efeito da barreira física com plantas de milho na incidência de vira-cabeça na cultura do tomateiro**. 1995. 91 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP. 1995.

GUIMARÃES, A. M. **Manejo de tospovirose em alface através de métodos integrados**. 1999. 88 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agronômicas – Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP. 1999.

GUIMARÃES, A. M.; PAVAN, M. A. Efeito da barreira física com plantas de *Crotalaria juncea* e da cobertura morta com casca de arroz na incidência de *Tospovirus* na cultura da alface. **Summa Phytopatologica**, v. 24, p.81-82, 1998 (resumo).

GUIMARÃES, A. M.; PAVAN, M. A.; KUROZAWA, C. Efeito da barreira física com plantas de milho na incidência de vira-cabeça na cultura do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**. v. 22, p.142-147, 1997.

HAMMOND, J. Resistance to Plant Viruses – an Overview. In: HADIDI, A., KHETARPAL, R. K.; KOGANEZAWA, H. (Ed.). **Plant Virus Disease Control**. APS PRESS, St. Paul-Mn., p.163-171, 1998.

HARDING, J. A. Effect of migration, temperature and precipitation on thrips infestation in South Texas. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 54, p.77-79, 1961.

HEMING, B. S. Structure and function of the mouthparts in larvae of *Haplothrips verbasci* (Osborn) (Thysanoptera, Tubulifera, Phlaeothripidae). **Journal of Morphology**, New York, v. 156, p.1-38, 1978.

HENSON, J.M.; FRENCH, R. The polymerase chain reaction and plant disease diagnosis. In\_: COOK, R. J. (Coord.). **Annual Review of Phytopathology**. v. 31, p.81-109. 1993.

HEYWOOD, V. H.; HARBONE, J. B. **An overture to the Compositae**. v. 1, cap. 1, p.2-20, 1977.

HORVÁTH, J. Viruses of lettuce. II. Host range of lettuce mosaic virus and cucumber mosaic virus. **Acta Agronomica Academiae Scientiarum Hungaricae**, v. 29, p.333 -352, 1980.

HULL, R.; DAVIES, J. W. Approaches to nonconventional control of plant virus diseases. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 11, p.17-33, 1992.

IE, T. S. Tomato spotted wilt virus. **CMI/AAB Descriptions of plant viruses**, v. 39, p.1-4, 1970.

JADÃO, A. S. **Vírus do mosaico da alface patótipos II e IV: Efeitos da infecção mista com o vírus do mosqueado da alface e transmissão via semente.** 2001. 62 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista. 2001.

JADÃO, A. S. et al. **Caracterização parcial e desenvolvimento de oligonucleotídeos específicos para detecção de Sequivirus infectando alface.** 2004. 126 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

JADÃO, A. S. et al. Transmissão via semente do *Lettuce mosaic virus* (LMV) patótipos II e IV em diferentes genótipos de alface. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 28, 58-61, 2002.

JAGGER, I. C. A transmissible mosaic disease of lettuce. **Journal of Agricultural Research**, v. 20, p. 737-741, 1921.

KENNEDY, J. S. et al. A conspectus aphids as vectors of plant viruses. London, **Commonwealth Institute of Entomology**, 1962. 114 p.

KHETARPAL, R. H. et al. Breeding for Resistance to Plant Viruses. In: HADIDI, A.; KHETARPAL, R. K.; KOGANEZAWA, H. (eds.). **Plant Virus Disease Control**, APS PRESS, St. Paul-Mn., p.14-32, 1998.

KITAJIMA, E. W. Lista de publicações de viroses e enfermidades correlatas de plantas no Brasil de 1911 a 1985 (Suplemento especial). **Fitopatologia Brasileira**, 1986.

KITAJIMA, E. W. Lista de publicações de viroses e enfermidades correlatas de plantas no Brasil de 1986 a 1993 (Suplemento especial). **Fitopatologia Brasileira**. p. 92, 1993.

KITAJIMA, E. W.; NOME, C. F. Microscopia electronica en virologia vegetal. In: DOCANOIM, D. N.; LENARDON, S. L. (Org.). **Métodos para detectar patógenos sistêmicos**, Cordoba. p. 59-87, 1999.

KITAJIMA, E. W.; PAVAN, M. A. Lettuce mottle virus. In: DAVIS. R. M.; SUBBARAO, K. V.; RAID, R. N.; KURTZ, E. A. **Compendium of Lettuce Diseases**. St. Paul, APS Press, p. 45, 1997.

KITAJIMA, E. W. et al. Mosaico necrótico da alface: um vírus isométrico transmitido por afídeos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 5, n. 3, p.409, 1980.

KLEEMANN, M. Effect of photoselective plastics on the quality of lettuce. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 633, n. 1, p.173-179, 2004.

KOLDET, R. T.; NIELSON, M. W.; KUEHL, R. O. Effect of temperature and photoperiod on the biology of blue alfalfa aphid, *Acyrtosiphon kondoi* Shinji. Washington, **USDA**, 1982. 10 p.

KRAMER, M.; ORLANDO, A.; SILBERSCHMIDT. Estudos sobre uma grave doença de vírus, responsável pelo depercimento de nossas culturas de alface. **O Biológico**, São Paulo. v. 11, p.121-134, 1945.

KRAUSE-SAKATE, R. **Análise molecular da interação *Lettuce mosaic virus* (LMV) – alface, utilizando como modelo o isolado LMV-199**.2001. 178 f. Dissertação (Doutorado em Fitopatologia). Viçosa: UFV, MG, 2001.

KRAUSE-SAKATE, R. et al. Molecular characterization of *Lettuce mosaic virus* field isolates reveals the emergence and spread of a resistance-breaking strain, LMV-Most. **Phytopathology**, v.92, p.563-571, 2002.

KRAUSE-SAKATE, R. et al. Molecular characterization of two Brazilian isolates of *Lettuce mosaic virus* (LMV), with distinct biological properties. **Fitopatologia Brasileira**. v. 26, p.153 -157, 2001a.

KRAUSE-SAKATE, R. et al. Systemic necrosis caused by two isolates of *Lettuce mosaic virus* (LMV) in lettuce (*Lactuca sativa*) cultivars possessing the *Mo2* gene. **Virus Reviews and Research**, (Supplement), v. 4, p.153. 1999.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A. Doenças das cucurbitáceas. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Rezende, J.A.M. (Eds.) **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo. Ceres. v. 2. p.325-337. 1997a.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A. Doenças tomateiro. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L. E. A.; Rezende, J. A. M. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo. Ceres. v. 2. p.690-719. 1997b.

LATHAM, L. J.; JONES, R. A. C. Occurrence of tomato spotted wilt tospovirus in native flora, weeds, and horticultural crops. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 48, p.359-369, 1997.

LEWIS, T. A comparison of water traps, cylindrical sticky traps and suction traps for sampling thysanopteran at different levels. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 2, p.204-215, 1959.

LEWIS, T. **Thrips: their biology, ecology and economic importance**. London: Academic Press, 1973. 349 p.

LEWIS, T.; DIBLEY, G.C. Air movement near winbreaks and a hypothesis of the mechanism of the accumulation of airborne insects. **Annals of Applied Biology**, v. 66, p. 477-484, 1970.

LEWIS, T.; STEPHENSON, J. W. The permeability of artificial windbreaks and the distribution of flying insects in the leeward sheltered zone. **Annals of Applied Biology**, v. 58, p.355-363, 1966.

LIN, CH. **The recycling of crop residues in Taiwan**. Taiwan, ASPC Food and Fertilizer Technology Center, 1982. 14 p. (Extension bulletin, 177).

LISBÃO, R. S.; NAGAI, H.; TRANI, P. E. Alfaca. **Boletim Técnico: Instituto Agrônomo de Campinas**, v. 200, p.11-12, 1990.

LITSINGER, J. A., RUHENDI. Rice stubble and straw mulch suppression of preflowering insect pests of cowpeas sown after puddled rice. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 13, p.509-514, 1984.

MARINHO, V. L. A. et al. Caracterização do vírus do mosqueado da alfaca. **Fitopatologia Brasileira**, v. 7, n. 3, p.543, 1982.

MARINHO, V. L. A.; KITAJIMA, E. W. Purificação e sorologia do vírus do mosqueado da alfaca. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, p.937-942, 1986(a).

MARINHO, V. L. A.; KITAJIMA, E. W. Vírus do mosqueado da alfaca - um vírus isométrico transmitido por afídeo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, p.923-935, 1986(b).

MATTHEWS, R. E. F. **Plant Virology**. 3 ed. San Diego: Academic Press, 1991. 835 p.

MAURY, Y.; DUBY, C.; KHETARPAL. Seed Certification for Viruses. In: HADIDI, A.; KHETARPAL, R. K.; KOGANEZAWA, H. (eds.). **Plant Virus Disease Control**. APS PRESS, St. Paul-Mn., p.237-248, 1998.

MOFFITT, H. R. A color preference of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. **Journal of Economic Entomology**, v. 57, p.604 -605, 1964.

MONTEIRO, R. C. **Espécies de tripes (Thysanoptera, Thripidae) associadas a algumas culturas no Brasil**. 1994. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

MOORE, W. D. et al. Reduction of aphid population and delayed incidence of virus infection on yellow straight neck squash by the use of aluminum foil. **Proceedings of Florida State Horticultural Society**, Miami Beach, n. 78, p.187-191, 1965.

MORAES, G. J.; WANDERLEY, L. J.; COSTA, A. S. Surto de vira-cabeça na cultura de alface em Pernambuco. **Horticultura Brasileira**, v. 6, p.24-25, 1986.

MOUND, L. A.; KIBBY, G. **Thysanoptera: an identification guide**. 2. ed. Wallingford: CAB, 1998. 70 p.

MOUND, L. A.; RETANA, A. P.; DU HEAUME, G. Claves ilustradas para las familias y los géneros de Terebrantia (Insecta: Thysanoptera) de Costa Rica Y Panamá. **Revista de Biología Tropical**, San Jose, v. 41, n. 3, p.709-727, 1993.

MURAYAMA, S. **Horticultura**. 2. ed. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, p.147-152. 1999.

MURPHY, F. A. et al. Virus Taxonomy. Sixty Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Arch. Virol.**, n. 10, 1995. (Suplemento) 586 p.

NAGAI, H. Progresso no melhoramento de alface visando resistência ao vírus do vira-cabeça. **Horticultura Brasileira**, v. 10, p. 62, 1992. (Resumo).

NAGATA, T. et al. Occurrence of different tospoviruses in six states of Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, p.90-95, 1995.

NAKANO, O. As pragas das hortaliças: seu controle e o selo verde. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 1. p.4-5, 1999.

NAVAS, V. E. S. et al. Seasonal patterns of *Frankliniella* spp. (Thysanoptera: Thripidae) in tomato flowers. **Journal of Economic Entomology**, v. 84, p. 1818-1822, 1991.

NETER, J.; KUTNER, M.H.; NACHTSHEIM, C.J.; WASSERMAN, W. **Applied linear statistical models: regression, analysis of variance and experimental design**, 4. ed. Homewood: Richard D. Irwing. 1996. 1408 p.

BEZERRA NETO, F. et al. Produtividade de alface em função de condições de sombreamento e temperatura e luminosidade elevadas. **Horticultura Brasileira**. Brasília, v. 23, n. 2. p.189-192, abr-jun 2005.

NEWHALL, A. G. Seed transmission of lettuce mosaic. **Phytopathology**, St. Paul, v. 13, p.104-106, 1923.

NORONHA, A. B. Controle de infecções virais em plantas. In: KOTAIT, I.; RÁCZ, M. L.; BARRADAS, M. M. **2º Curso Teórico Integrado de Virologia**. Inst. Biol./ CPA/ SAA, Dept. de Microbiologia/ ICB/ USP. 1992.

PAIVA, F. A.; KITAJIMA, E. W. Doenças de plantas I. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v. 11, n. 122, p.29-35, 1985.

PANDURO, A. M. R. **Análise do comportamento da alface (*Lactuca sativa* L.), sob diferentes condições de iluminação**. 1986. 129 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agrometeorologia) - ESALQ/USP, Piracicaba, 1986.

PALIWAL, Y. C. Some characteristics of the thrips vector relationship of tomato spotted wilt virus in Canada. **Canadian Journal of Botany**, v. 54, p.402-405, 1976.

PALMER, J. M. Identification of the common thrips of Tropical Africa (Thysanoptera: Insecta). **Tropical Pest Management**, London, v. 36, n. 1, p.27-49, 1990.

PALMER, J. M.; MOUND, L. A.; HEAUME, G. J. **Thysanoptera**. Wallingford: CAB, 1989. 74 p. (Cie guides to insects of importance to man, 2).

PAVAN, M. A.; KRAUSE-SAKATE, R.; KUROZAWA, C. Doenças da alface. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**, 4ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, p.27-33, 2005.

PAVAN, M. A.; KUROZAWA, C. Doenças de alface (*Lactuca sativa* L.). In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**, 3ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, cap. 4, p.18-25, 1997.

PEREIRA, A. et al. The complex tospovirus vegetables and ornamentals in Portugal. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TOSPOVIRUSES AND THRIPS IN FLORAL AND VEGETABLE CROPS, 4, Wageningen. **Abstracts**. Netherlands: Experimental Plant Sciences and Production Ecology. p.83-85, 1998.

PETERS, D. An updated list of plant species suscetible to tospoviruses. In: Peters, D.; Goldbach, R. (Ed.). **Recent Progress in Tospovirus and Thrips Research**. Wageningen, The Netherlands, p.107-110, 1998.

PEYPELUT, M., KRAUSE-SAKATE, R., GUIRAUD, T., PAVAN, M.A., CANDRESSE, T., ZERBINI, F.M. & LE GALL, O. Specific detection of Lettuce mosaic virus isolates belonging to the "Most" type. **Journal of Virological Methods** v. 121, p. 119-124, 2004.

PINK, D. A. C.; LOT, H.; JOHNSON, R. Novel pathotypes of lettuce mosaic virus brekdown of a durable resistente. **Euphytica**, v. 63, p.169-174, 1992.

- PRINS, M.; GOLDBACH, R. The emerging problem of tospovirus infection and nonconventional methods of control. **Trends in Microbiology**. v. 6, p.31-35, 1998.
- RACCHAH, B. Non persistent viruses: epidemiology and control. **Advances in Virus Research**, New York, n. 31, p.387-429, 1986.
- REDDY, D. V. R.; WIGHTMAN, J. A. Tomato spotted wilt virus: thrips transmission and control. **Adv. in Dis. Vec. Res.**, v. 5, p.203-220, 1988.
- RESENDE, R. O. et al. Generation of envelope and defective interfering RNA mutants of envelope and defective interfering RNA mutants of tomato spotted wilt virus by mechanical passage. **Journal of General Virology**, v. 72, p.2375-2383, 1991.
- REVERS, F. et al. Biological and molecular variability of lettuce mosaic virus isolates. **Phytopathology**, v. 87, p. 397-403, 1997.
- RIBEIRO, M. I. S. D. et al. Viabilidade do uso de telado para proteção de culturas de tomateiro sob condições de alta incidência de doenças de vírus transmitidos por afídeos. **Fitopatologia Brasileira**. v. 6, p.483-488, 1981.
- ROCHA, R. C. C. **Tipos e alturas de sombrites na produção de alface sob temperatura e luminosidade elevadas**. (Tese de Mestrado), ESAM, Mossoró, 2000.
- RYDER, E. J. Transmission of common lettuce mosaic virus through the gametes of lettuce plants. **Plant Disease. Rep.** v. 48, p.522-523, 1964.
- RYDER, E. J. Evaluation of lettuce varieties and breeding lines for resistance to common lettuce mosaic. **US Department of Agriculture Tech. Bull.**, v. 1391, p.18, 1968.
- SAKIMURA, K. *Frankliniella fusca*, an additional vector for the tomato spotted wilt virus, with notes on *Thrips tabaci*, another vector. **Phytopathology**, St. Paul, v. 53, p.412-415, 1963.

SALA, F. C.; COSTA C. P. 'PIRAROXA': Cultivar de alface crespa de cor vermelha intensa. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p.158-159, 2005.

SANTOS, B. B.; COSMO, P. C.; POLACH, S. W. Insetos associados à cultura da alface em Campo Largo, Paraná, Brasil. **Rev. Agric.**, v. 67, p.84-88, 1992.

SANTOS, F. N. Avaliação de cultivares de alface sob as condições de cultivos. Congresso Brasileiro de Olericultura, Resumo expandido (45°CBO). **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n. 2, ago., 2005. (Suplemento 2. CD-ROM).

SATAPATHY, M. K.; ANJANEYULU, A. Prevention of rice tungro virus infection by oils. **Indian Phytopathol**, v. 45, p. 407-411, 1992.

SATAPATHY, M. K. Chemical control of insect and nematode vectors of plant viruses. In: HADIDI, A.; KHETARPAL, R. K.; KOGANEZAWA, H. (Ed.). **Plant Virus Disease Control**. APS PRESS, St. Paul-Mn., p.188-195, 1998.

SCOTT, S. J. et al. Influence of reflective mulch on incidence of thrips (Thysanoptera: Thripidae: Phlaeothripidae) in staked tomatoes. **Journal of Entomology Science**, v. 24, p. 422-427, 1989.

SETUBAL, W. J.; SILVA, A. R. **Avaliação do comportamento de alface de verão em condições de calor no município de Teresina-PI**. Teresina:UFPI, 1992. 17 p.  
(Mimeografado)

SHARMA, H. L.; SINGH, C. M.; MODGAL, S. C. Use of organics in rice-wheat crop sequence. **Indian Journal of Agricultural Sciences**. New Delhi, v. 57, n. 3, p.163-168, mar., 1987.

SIGVALD, R. Forecasting Aphid-borne Virus Diseases. In: HADIDI, A.; KHETARPAL, R.K.; KOGANEZAWA, H. (Ed.). **Plant Virus Disease Control**. APS PRESS, St. Paul-Mn., p. 172-186, 1998.

SILVA, E. C. **Estudos genéticos relacionados à adaptação da alface (*Lactuca sativa* L.) sob altas temperaturas em cultivo protegido na região norte fluminense**. 1997. 69 f.(Tese Doutorado)- UENF, Campos dos Goytacazes.

SLEUTJES, P. S. **Manejo integrado de viroses na cultura do pepineiro (*Cucumis sativus* L.) em ambiente protegido**. 2003. 69 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agronômicas - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

SOUSA-SILVA, C. R.; ILHARCO, F. A. **Afídeos do Brasil e suas plantas hospedeiras**. São Carlos, EDUFSCar, 1995. 85p.

STANGARLIN, O. S. **Variabilidade do 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 Agronômicas, Universidade Estadual Pau-lista, Botucatu, 1997.

STANGARLIN, O. S.; PAVAN, M. A.; SILVA, N. Occurrence of a new pathotype of *Lettuce mosaic virus* on Lettuce in Brazil. **Plant Disease**, v. 84, p.490, 2000.

SYLVESTER, E. S. Lettuce mosaic virus transmission by the green peach aphid. **Phytopathology**, St. Paul, v. 45, p.357-369, 1955.

TIBBITS, T. W.; BOTTEMBERG G. Growth of lettuce under controlled humidity levels. **Journal of the American Society of Horticultural Science**. Mount Vernon, v. 101, n. 1, p.70-73, 1976.

TOMLINSON, J. A. Lettuce mosaic virus. In: Commonwealth Agricultural Bureaux Association of Applied Biologists. **Descriptions of plant viruses**, n. 9, Kew, 1970.

TOMLINSON, J. A. \_ **Plant Pathology**, v. 11, p.61, 1992.

TRANI, P. E. et al. Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo. 2. ed. **Boletim Técnico do Instituto Agrônomo**, Campinas, v. 100, 1996. 173 p.

TRESH, J. M. Vector relationship and the development of epidemics: the epidemiology of plant viruses. **Phytopathology**, St. Paul, v. 64, p.1050-1056, 1974.

TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. Borror and DeLong's introduction to the **Study of Insects**. 7ed. Thomson Brooks/Cole, Belmont, USA, 2005. 864 p.

UENO, L. H.; CARVALHO, F. C.; FERREIRA, C. R. Custo de comercialização de produtos hortícolas no atacado de São Paulo, 1983-1989. **Informações Econômicas**, SP, v. 22, n. 4, p.13-22, 1992.

ULLMAN, D. E.; SHERWOOD, J. L.; GERMAN, T. Thrips as vectors of plant pathogens. In: LEWIS, T., (Ed.). **Thrips as crop pests**. New York: CAB International, 1997. 736 p.

VAN REGENMORTEL, M. H. V. et al. Virus Taxonomy Classification and Nomenclature of Viruses: Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Academic Press**, California, USA, 2000.

VERKLEIJ, F. N.; PETERS, D. Characterization of a defective form of tomato spotted wilt virus. **Journal of General Virology**, v. 64, p.677-686, 1983.

VIDA, J. B. Manejo de doenças em cultivos protegidos. In: ZAMBOLIM, L. **Manejo integrado de fitossanidade: cultivo protegido, pivô central e plantio direto**. Viçosa - MG, p.53-118, 2001.

VIDA, J. B. et al. Manejo de doenças de plantas em cultivo protegido. **Fitopatologia Brasileira**, vol.29, n.4, Jul./Aug, 2004.

VOS J. G. M.; UHAN, T. S.; SUTARYA, R. Integrated crop management of hot pepper (*Capsicum* spp.) under tropical lowland conditions: effects of rice straw and plastic mulches on crop health. **Crop Protect.**, v. 14, p.445-452, 1995.

WALKER, W. F. Responses of selected thysanoptera to colored surfaces. **Environmental Entomology**, v. 3, p.295-304, 1974.

WALKEY, D. G. A.; WARD, C. M.; PHELPS, K. Studies on lettuce mosaic virus resistance in commercial lettuce cultivars. **Plant Pathology**, v. 34, p.545-551, 1985.

WALKEY, D. G. A. **Applied plant virology**. London, Heinemann, 1985. 329 p.

WARTERWORTH, H. E.; HADIDI, A. Economic Losses Due to Plant Viruses. In\_: HADIDI, A.; KHETARPAL, R. K.; KOGANEZAWA, H. (Ed.). **Plant Virus Disease Control**. APS PRESS, St. Paul-Mn., p.1-13, 1998.

WATSON, M. T.; FALK, B. W. Ecological and epidemiological factors affecting carrot motley dwarf development in carrots grown in the Salina Valley of California. **Plant Disease**, v. 78, p.477-481, 1994.

WATT, B. K.; MERRILL, A. L. **Composition of food**. U.S. Department Agriculture Handb., v. 8, 1975.

WAYCOTT, W. Photoperiodic response of genetically diverse lettuce accessions. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Mount, v. 120, n. 3, p.460-467, May 1995.

WIJKAMP, I. **Virus-vector relationships in the transmission of tospoviruses**. Wageningen, Wageningen Agricultural University, 143 p. (PhD. Thesis), 1995.

WIJKAMP, I. et al. Distinct levels of specificity in thrips transmission of tospoviruses.

**Phytopathology**, v. 85, p.1069-1074, 1995.

WIJKAMP, I. et al. Multiplication of tomato spotted wilt virus in its insect vector,

*Frankliniella occidentalis*. **Journal of General Virology**, v. 74, p.341-349, 1993a.

WIJKAMP, I. et al. Virus-vector interactions during the transmission of tospoviruses by

thrips. **Proceedings of Experimental and Applied Entomology**, Amsterdam, v. 4, n. 2,

p.193-198, 1993b.

WOLFENBARGER, D. O.; MOORE, W. D. Mulch treatments of squash and tomatoes with

respect to virus infections and yield. **Proceedings of Florida State Horticultural Society**,

Miami Beach, n. 80, p.217-221, 1967.

WYMAN, J. A. et al. Effects of mulching on the spread of aphid-transmitted watermelon

mosaic virus to summer squash. **Journal of Economic Entomology**, Washington, n. 72,

p.139-143, 1979.

YARWOOD, C. E. Sulfite in plant virus inoculations. **Virology**, v. 39, p.74-78, 1969.

YUDIN, L. S.; MITCHELL, W. C.; CHO, J. J. Color preference of thrips (Thysanoptera:

Thripidae) with reference to aphids (Homoptera: Aphididae) and leafminers in Hawaiian

lettuce farms. **Journal of Economic Entomology**, v. 80, p.51-55, 1987.

YUDIN, L. S.; TABASHNIK, B. E.; CHO, J. J. Colonization of weeds and lettuce by thrips

(Thysanoptera: Thripidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 17, n. 3, p.522-526,

1988.

YUDIN, L. S. et al. Disease-prediction and economic models for managing tomato spotted

wilt virus disease in lettuce. **Plant Disease**, v. 74, p.211-216, 1990.

YUDIN, L. S. et al. Effects of mechanical barriers on distribution of thrips (Thysanoptera: Thripidae) in lettuce. **Journal of Economic Entomology**, v. 84, p.136-139, 1991.

YUKI, V. A. **Epidemiologia e controle do mosaico (VMM-Me) em aboborinha-de-moita. Piracicaba**, 1990. 84f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1990.

YUKI, V. A. Flutuação populacional de alados de “*Myzus persicae*” em três localidades do estado de São Paulo. Durante os anos de 1975 a 1977. In: **III Congresso Latino Americano de Entomologia**, 1978. Ilhéus/Itabuna, BA.(Resumo)

YUKI, V. A.; COSTA, A. S. Epidemiologia do vírus do vira-cabeça em Campinas, SP, mantém-se estável em 50 anos. **Summa Phytopathol**, v. 14, p.56, 1988. (Resumo).

YUKI, V. A. et al. Viroses presentes em curcubitáceas no Estado de São Paulo em 1997. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, p.327, 1998. (Resumo).

ZERBINI, F. M. Doenças causadas por vírus em alcachofra, alface, chicória, morango e quiabo. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 182, p.23-24, 1995.

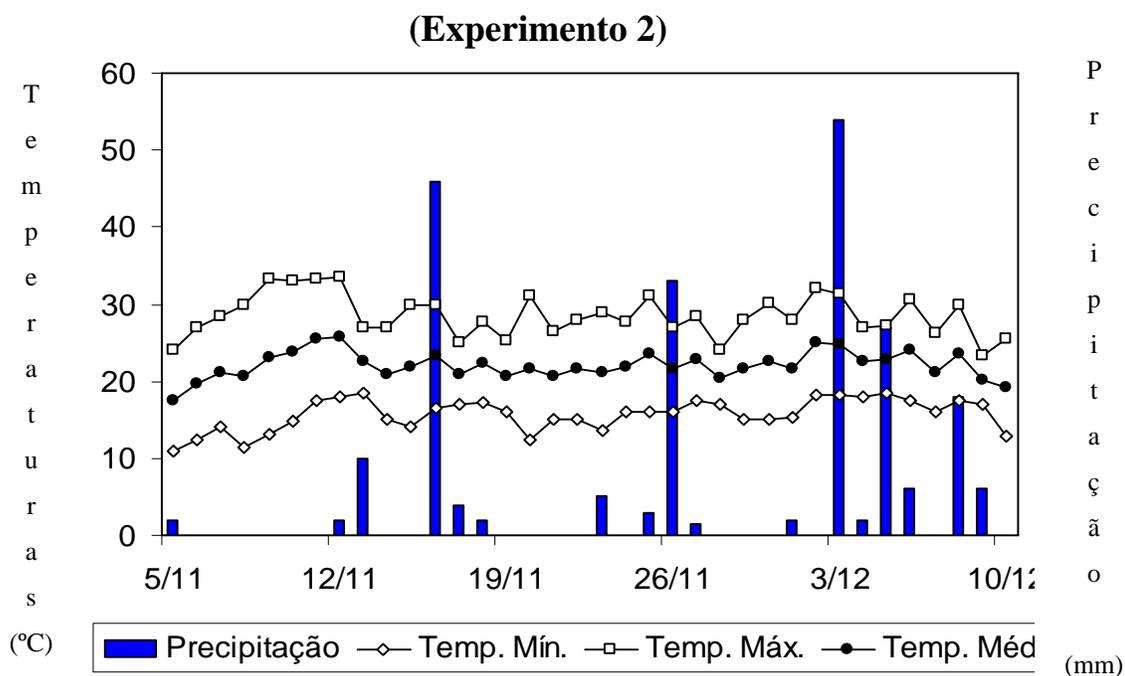
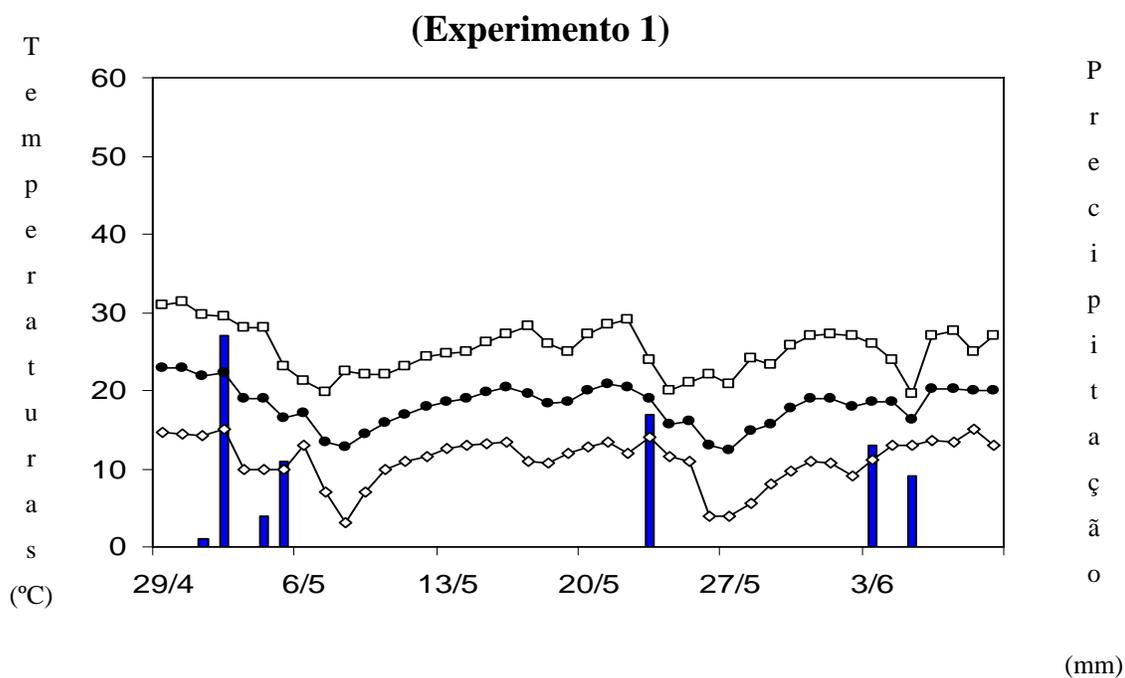
ZERBINI, F. M.; AMBROZEVICIUS, L. P.; NAGATA, A. K. I. Diagnose Molecular de Fitoviroses. In: ALMEIDA, A. M. R.; LIMA, J. A. A. (Ed.). **Princípios e técnicas de diagnose aplicados a fitovirologia**. Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Fitopatologia. p.95-124, 2001.

ZERBINI, F. M. The emergence of a new viral strain under conditions of high selective pressure: *Lettuce mosaic* (A case study). **Virus Reviews & Research**, v. 2, n. 2, p.131-132, 1997.

ZINK, F. W.; DUFFUS, J. E.; KIMBLE, K. A. Relationship of a non-lethal reaction to a virulent isolate of lettuce mosaic virus and turnip mosaic susceptibility in lettuce. **Journal of American Society of Horticultura Science**. v.1, n. 98, p.41-45, 1973.

## APÊNDICE

Apêndice 1: Dados diários de temperatura mínima, máxima e média do ar e precipitação pluviométrica, coletados na Estação Metereológica da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção São Manoel, no período de 29/04/2003 a 09/06/2003 (Experimento 1) e 05/11/2003 a 10/12/2003 (Experimento 2). São Manoel, SP, 2003.



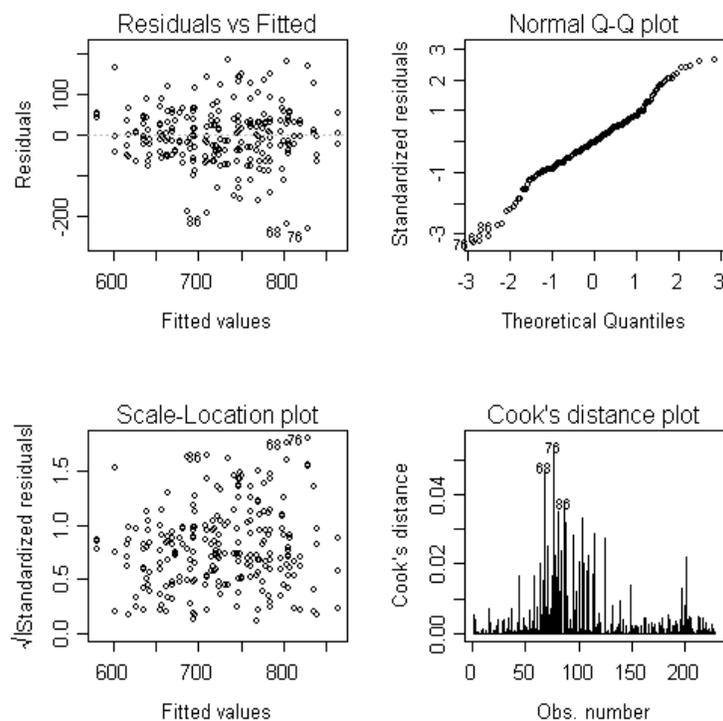
Apêndice 2: Análise química do solo da área experimental, São Manoel, SP, 2003.

pH	1.1. MO (CaCl <sub>2</sub> ) (g dm <sup>-3</sup> )	P <sub>resina</sub>	K	Ca	Mg	CTC	V
		-----mg dm <sup>-3</sup> -----					%
5,5	15	15,1	4,4	24	9	61	61

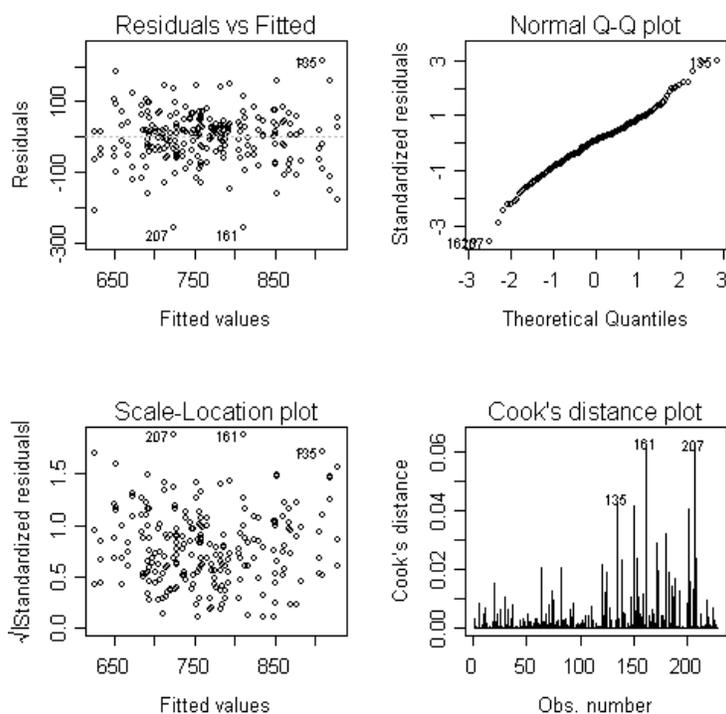
Apêndice 3: Cronograma de condução dos experimentos, São Manoel, SP, 2003.

Descrição das Atividades	Experimento 1 Outono/Inverno		Experimento 2 Primavera/Verão		
	Colocação	Retirada	Colocação	Retirada	
Pré-germinação	28/03		06/10		
Semeadura em bandejas	31/03		08/10		
Aplicação de fungicida	01 e 11/04		09 e 20/10		
Repicagem e raleio	10/04		17/10		
Transplântio no campo	29/04		05/11		
Coleta de amostras para análise em laboratório	06/05		12/11		
Colocação dos túneis e da palha de arroz	07/05		13/11		
Aplicação de nitrocálcio	06 e 20/05		14 e 21/11		
Armadilhas					
10° dia DAT	7 dias de permanência no campo	09/05	16/05	13/11	20/11
20° dia DAT		19/05	26/05	23/11	30/12
30° dia DAT		29/05	05/06	03/12	10/12
Avaliação de fitovirose Fase de Muda	12/05		18/11		
Avaliações de fitovirose Semanais	19/05 26/05 30/05 e 06/06		25/11 02/12 09/12		
Coleta de amostras para análise em laboratório	06/06		09/12		
Avaliação de fechamento de “cabeça”	08/06		09/12		
Avaliação área foliar	08/06		09/12		
Avaliação massa fresca	09/06		10/12		
Colheita	09/06		10/12		
Avaliação de tempo do pendoamento	16/06 24/06 01/07 e 06/07		14/12 19/12 24/12		
Testes de diagnose	Jun/03 a Set/03		Dez/03 a Março/04		

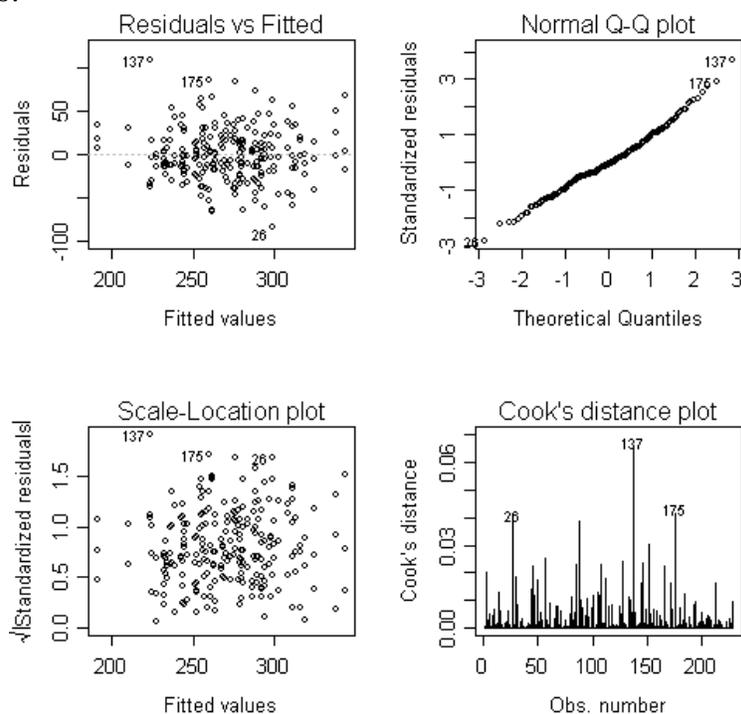
Apêndice 4. Diagnósticos de resíduo para o modelo reduzido. Área de projeção da saia – Outono/Inverno



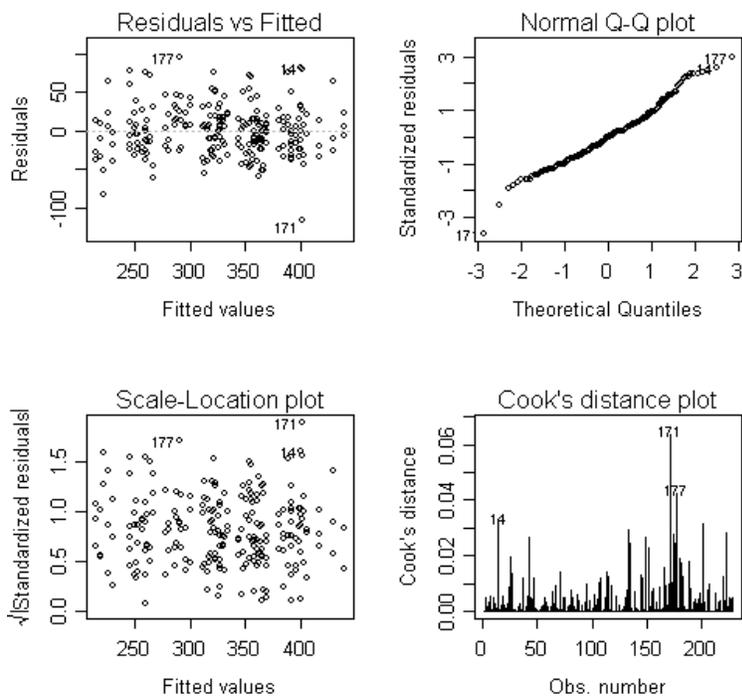
Apêndice 5. Diagnósticos de resíduo para o modelo reduzido. Área de projeção da copa – Primavera/Verão



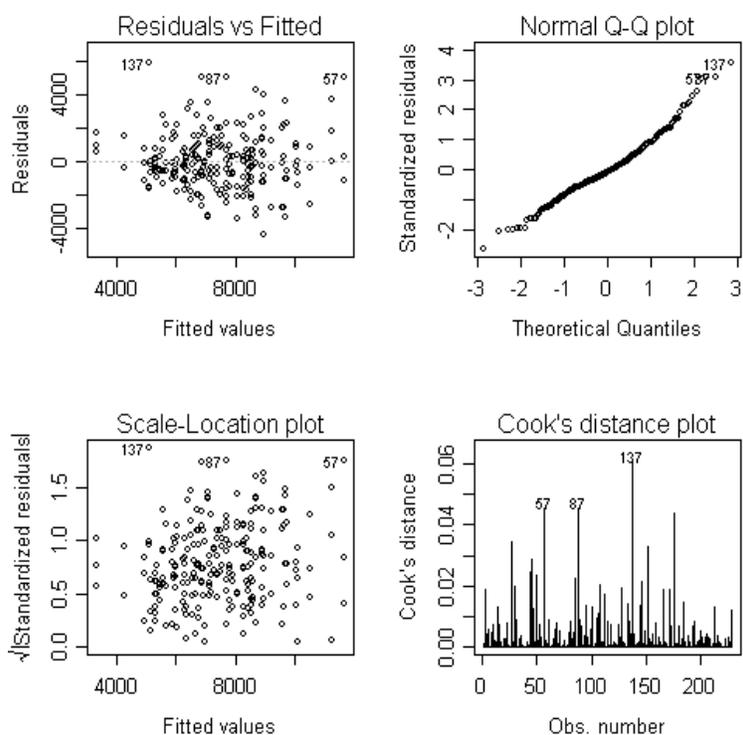
Apêndice 6. Diagnósticos de resíduo para o modelo reduzido. Massa da matéria fresca – Outono/Inverno.



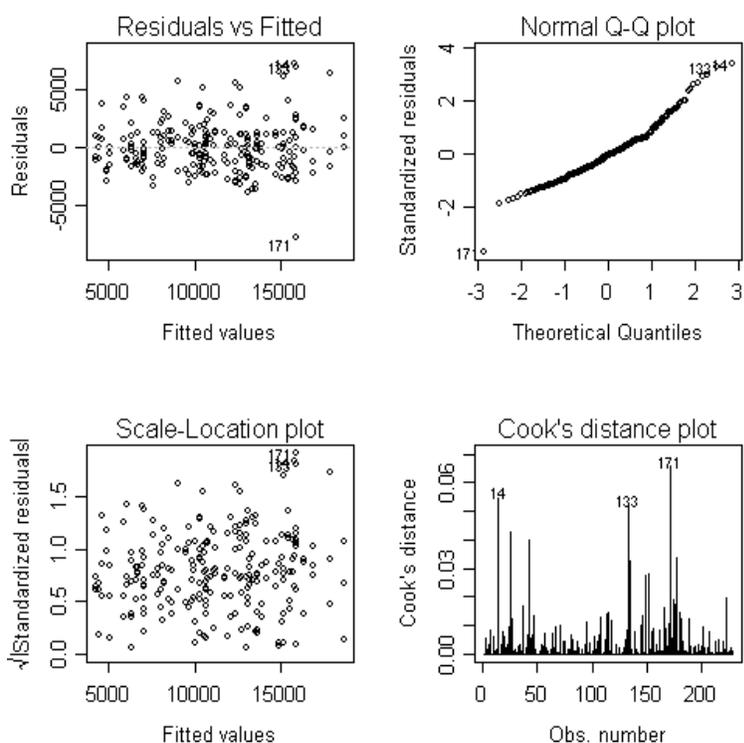
Apêndice 7. Diagnósticos de resíduo para o modelo reduzido. Massa da matéria fresca – Primavera/Verão.



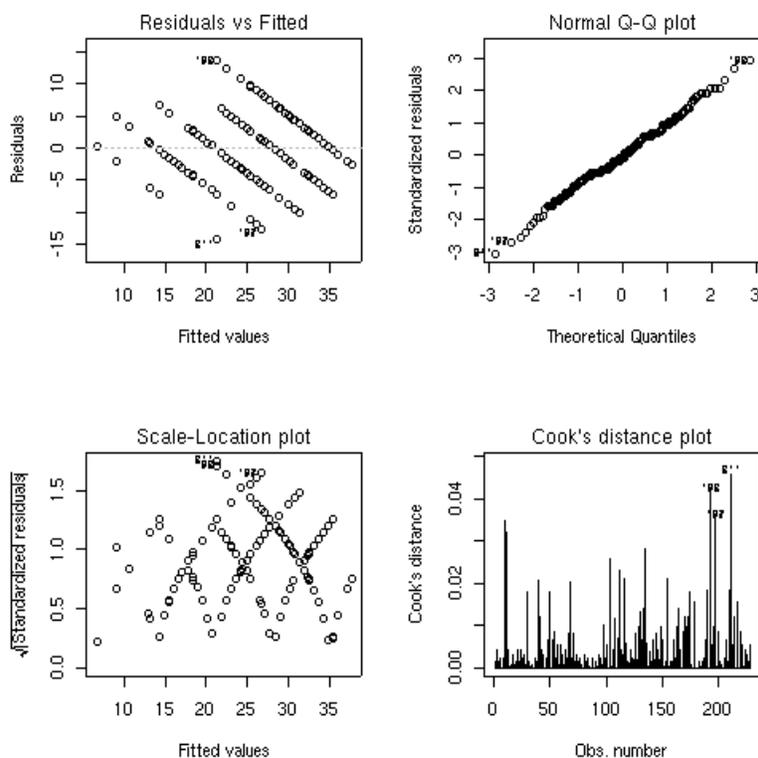
Apêndice 8. Diagnósticos de resíduo para o modelo reduzido. Produtividade – Outono/Inverno.



Apêndice 9. Diagnósticos de resíduo para o modelo reduzido. Produtividade – Primavera/Verão.



Apêndice 10. Diagnósticos de resíduo para o modelo reduzido. Tempo de início do pendoamento – Outono/Inverno.



Apêndice 11. Diagnósticos de resíduo para o modelo reduzido. Tempo de início do pendoamento – Primavera/Verão.

