

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS DE *Bremia lactucae* NO ESTADO DE SÃO  
PAULO E DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS DE ALFACE-CRESPA  
RESISTENTES**

**Jean de Oliveira Souza**

Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Outubro de 2009

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS DE *Bremia lactucae* NO ESTADO DE SÃO  
PAULO E DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS DE ALFACE-CRESPA  
RESISTENTES**

**Jean de Oliveira Souza**

**Orientadora: Profa. Dra. Leila Trevizan Braz**

**Co-Orientador: Dr. Tagli Dalpian**

**Co-Orientadora: Profa. Dra. Margarete Camargo**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal).

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Outubro de 2009

S729i Souza, Jean de Oliveira  
Identificação de raças de *Bremia lactucae* no Estado de São Paulo e desenvolvimento de linhagens de alface-crespa resistentes / Jean de Oliveira Souza. -- Jaboticabal, 2009  
xiii, 54 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009

Orientador: Leila Trevizan Braz

Banca examinadora: Leila Trevizan Braz, Arlete Marchi Tavares de Melo, Antonio Ismael Inácio Cardoso, Modesto Barreto, Érika Auxiliadora Giacheto Scaloppi.

Bibliografia

1. *Lactuca sativa*. 2. Melhoramento genético. 3. Míldio. 4. Hortaliça. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 635.52:632.938

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

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**JEAN DE OLIVEIRA SOUZA** - Nascido em Mossoró-RN, no dia 06 de setembro de 1977, filho de Inácio João de Souza e Lídia Martins de Oliveira Souza, solteiro, formado em Engenharia Agrônoma, em janeiro de 2002, pela Escola Superior de Agricultura de Mossoró-ESAM. Obteve título de Mestre em Agronomia (Fitotecnia), em 2005, pela Universidade Federal Rural do Semiárido-UFERSA; em 2006, ingressou no curso de Doutorado em Agronomia (Produção Vegetal) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal-SP, bolsista da CAPES/DS, de outubro de 2006 a setembro de 2009.

## **OFEREÇO**

Aos meus familiares que vivenciaram comigo mais uma fase da minha vida, e em especial aos meus pais Inácio João de Souza e Lídia Martins de Oliveira Souza, que me deram a vida e ensinaram-me a vivê-la com dignidade.

## **DEDICO**

A todos aqueles que acreditam que a ousadia e o erro são caminhos para as grandes realizações.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela fortaleza nos momentos difíceis e de desânimos da caminhada.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade de realização do curso.

À Capes, pela concessão da bolsa durante o curso de doutorado.

À FAPESP, pelo auxílio financeiro à pesquisa, processo nº 59.701-1/05, relevante para o desenvolvimento do projeto.

À minha Orientadora, Dra. Leila Trevizan Braz, pela orientação, conselhos, estímulos, persistência para meu crescimento na dimensão profissional e como ser humano. Considero-a como uma pessoa fantástica, modelo de personalidade.

Ao grande amigo Dr. Tagli Dalpian, pela serenidade, tolerância, paciência, amizade e ensinamentos durante a sua Co-Orientação ao longo desses três anos do curso de Doutorado, a quem sou muito grato.

À minha Co-Orientadora e Professora, Dra. Margarete Camargo, pela atenção, amizade e disponibilidade.

À banca examinadora composta pelos profissionais: Dra. Leila Trevizan Braz, Dra. Arlete Marchi Tavares de Melo, Dr. Antonio Ismael Inácio Cardoso, Dr. Modesto Barreto e Dra. Érika Auxiliadora Giacheto Scaloppi, pelas contribuições na melhoria da qualidade da tese.

Aos funcionários do Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal: João Mota da Silva, Cláudio Oian, Inauro Santana de

Lima e Tiago de Souza Fieno, por todo auxílio prestado na condução dos experimentos e pela amizade e convivência agradável nesse período.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal: Sidnéia de Aguiar Ferreira, Wagner Aparecido Tarina e Nádia Lynn Oliveira.

Aos professores do Departamento de Produção Vegetal: Arthur Bernardes Cecílio Filho, Sérgio Valiengo Valeri, Rinaldo César de Paula e Antonio Baldo Geraldo Martins, pela amizade construída.

À Tiekko T. Sugahara, pela contribuição dada nas correções das referências bibliográficas.

Aos amigos do programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal: Aurélio, Anarlete, Atalita, Bráulio, Danilo, Gilvaneide, Gilson, Hamilton, Letícia, Lonjoré, Rafael e Sueyde, pela amizade.

Aos amigos da Anatomia e Fisiologia Animal da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal-SP: Leandro, Sérgio e José Geraldo, pela amizade saudável.

Aos amigos do Laboratório de Biologia Molecular da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal-SP: Elaine, Karina, Agda, Gislayne e André, que fizeram meus dias em Jaboticabal mais alegres e felizes, minha gratidão.

Às minhas grandes amigas: Carol, Carla e Cláudia, que fizeram parte da minha vida como família.

Ao Padre Luís, pela amizade sincera, orientação espiritual e conselhos.

Por todos os que contribuíram direta ou indiretamente por mais esta conquista.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	ii
<b>RESUMO</b> .....	iii
<b>SUMMARY</b> .....	iv
<b>CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS</b> .....	1
Revisão de literatura.....	2
O míldio.....	2
Identificação de raças de <i>Bremia lactucae</i> .....	4
Resistência de alface ao míldio.....	4
Melhoramento genético da alface.....	7
Épocas de plantio no desempenho de genótipos de alface.....	8
<b>CAPÍTULO 2 - IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS DE <i>Bremia lactucae</i> EM ALFACE NO ESTADO DE SÃO PAULO</b> .....	09
Resumo.....	09
Introdução.....	10
Material e Métodos.....	11
Resultados e Discussão.....	14
Conclusões.....	18
<b>CAPÍTULO 3 - OBTENÇÃO DE LINHAGENS DE ALFACE-CRESPA COM RESISTÊNCIA À RAÇA SPBI:01 DE <i>Bremia lactucae</i></b> .....	19
Resumo.....	19
Introdução.....	20
Material e Métodos.....	22
Resultados e Discussão.....	27
Conclusão.....	30
<b>CAPÍTULO 4 - DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE ALFACE-CRESPA VISANDO À RESISTÊNCIA A <i>Bremia lactucae</i> EM DUAS ÉPOCAS DE CULTIVO</b> .....	31
Resumo.....	31
Introdução.....	32
Material e Métodos.....	33
Resultados e Discussão.....	38
Conclusões.....	45
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	46

## LISTA DE TABELAS

	Página
<b>Tabela 1.</b> Relação das cultivares diferenciadoras utilizadas para identificação de raças de <i>Bremia lactucae</i> pelo sistema de código “Sextet” .....	5
<b>Tabela 2.</b> Critérios utilizados na avaliação do teste de diferenciação de raças de <i>Bremia lactucae</i> em alface.....	12
<b>Tabela 3.</b> Comportamento de isolados de <i>Bremia lactucae</i> em alface, coletados em Ibiúna (IB), Mogi das Cruzes (MC), Araçatuba (ARAÇ), Ribeirão Preto (RP), Rio Claro (RC), Bauru (BAU), São Carlos (SC), Campinas (CAMP) e Araraquara (ARA) em 2006.....	15
<b>Tabela 4.</b> Comportamento de isolados de <i>Bremia lactucae</i> em alface, coletados em Botucatu (BOT), Bauru (BAU), Piedade (PIED), Araraquara (ARA), Ribeirão Preto (RIB), Jaboticabal (JAB), Biritiba Mirim (BM) e Ibiúna (IB) em 2007.....	16
<b>Tabela 5.</b> Genealogia de três famílias de linhagens de alface-crespa resistentes ao míldio ( <i>Bremia lactucae</i> ).....	25
<b>Tabela 6.</b> Valores médios de diâmetro de plantas (DP), altura de planta (AP), número de folhas (NF), massa fresca da parte aérea (MF) e produtividade estimada (PE), de oito linhagens de alface-crespa.....	27
<b>Tabela 7.</b> Resultados da análise química do solo da área experimental.....	33
<b>Tabela 8.</b> Análise de variância conjunta para massa fresca da parte aérea (MF), altura de plantas (AP), diâmetro de planta (DP), número de folhas por planta (NF) e produtividade estimada (PE) de seis genótipos de alface-crespa, em duas épocas de plantio.....	39
<b>Tabela 9.</b> Valores médios para massa fresca da parte aérea (MF), altura de plantas (AP), diâmetro de planta (DP), número de folhas por planta (NF) e produtividade estimada (PE), de seis genótipos de alface-crespa, em duas épocas de plantio.....	40
<b>Tabela 10.</b> Percentual de plântulas com lesões esporulantes de genótipos de alface-crespa em quatro raças de <i>Bremia lactucae</i> .....	43

## IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS DE *Bremia lactucae* NO ESTADO DE SÃO PAULO E DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS DE ALFACE-CRESPA RESISTENTES

**RESUMO** - Os objetivos do trabalho foram identificar raças de *Bremia lactucae* agente causal do míldio no período de 2006 a 2007, na região produtora de alface do Estado de São Paulo; obter linhagens de alface-crespa resistentes. Os experimentos de campo foram realizados no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais e no Laboratório de Melhoramento Genético de Hortaliças, do Departamento de Produção Vegetal da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal-SP. Foram coletados 36 isolados de *B. lactucae* em regiões produtoras do Estado de São Paulo, que permitiram identificar três novos comportamentos do fungo, dando origem a três novas raças: SPBI:02 (63/31/19/00), SPBI:03 (63/63/19/00) e SPBI:04 (63/63/03/00). Os genes Dm-14, Dm-17, Dm-18, Dm-36, Dm-37 e Dm-38 conferem resistência a essas novas raças identificadas. As linhagens JAB 4-2-4, JAB 4-13-7 e JAB 4-13-9 apresentaram os melhores resultados de padrão de plantas e com resistência a *B. lactucae*. Os genótipos 'Amanda', 'Solaris', 'Vanda', 'Vera', JAB 4-13-7 e 'Malice' apresentaram melhores desempenhos das características agronômicas no inverno. Para as condições de verão, JAB 4-13-7 e 'Solaris' apresentaram melhores desempenhos das características agronômicas. JAB 4-13-7 é o mais indicado para o cultivo de inverno pelo bom desempenho e resistência às raças de *B. lactucae*. 'Malice' apresentou o pior comportamento produtivo, apesar da resistência às quatro raças de *B. lactucae* avaliadas.

**Palavras-Chave:** *Lactuca sativa*, melhoramento genético, resistência, Dm genes, míldio

## IDENTIFICATION OF RACE OF *Bremia lactucae* IN THE STATE OF SÃO PAULO AND DEVELOPMENT OF RESISTANT LETTUCE LINES

**SUMMARY** - The aims of the study were to verify the emergence of races of *B. lactucae* casual agent of downy mildew in the period from 2006 to 2007 in lettuce-producing region in the State of São Paulo; to obtain lines lettuce with resistance to race SPBI:01; the performance of JAB 4-13-7 before the commercial cultivars as an option to allow for the cultivation of this genotype for both evaluation periods, in the conditions of Jaboticabal and check the resistance of lettuce genotypes to four races of *Bremia lactucae*. The field experiments were accomplished at the Section of Vegetables Crops and Aromatic-Medicinal Plants and in the Laboratory of Vegetable Breeding of the Department of Vegetable Production from the São Paulo State University at Jaboticabal (UNESP). The monitoring of *B. lactucae* allowed to identify three new behaviors of the fungus, resulting in three new races SPBI:02 (63/31/19/00), SPBI:03 (63/63/19/00) SPBI:04 (63/63/03/00). The genes Dm-14, Dm-17, Dm-18, Dm-36, Dm-37 and Dm-38, confer resistance to these new identified races. The lines JAB 4-2-4, JAB 4-13-7 and JAB 4-13-9 achieved the best results of standard plants with resistance to *B. lactucae*. The genotypes 'Amanda', 'Solaris', 'Vanda', 'Vera', JAB 4-13-7 and 'Malice' showed the best performances of agronomic traits in winter. For summer conditions, JAB 4-13-7 and 'Solaris' presented better performances of agronomic traits. The JAB 4-13-7 is the most suitable for the winter cultivation by good performance and resistance for the races of *B. lactucae*. 'Malice' had the worst productive performance, despite the resistance to the four races of *B. lactucae* evaluated.

**Keywords:** *Lactuca sativa*, breeding, resistance, Dm genes, downy mildew

## \*CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a principal hortaliça folhosa comercializada e consumida pela população brasileira pela facilidade de aquisição e por ser produzida durante o ano inteiro (OLIVEIRA et al. 2004), o que assegura à cultura expressiva importância econômica.

Nos últimos anos, a cultura da alface tem mostrado mudanças significativas, tanto em relação às cultivares utilizadas, quanto aos sistemas de produção e formas de comercialização. Nos últimos anos, a cultura da alface tem mostrado mudanças significativas, tanto em relação às cultivares, quanto aos sistemas de produção e formas de produção e de comercialização. A cultura no Estado de São Paulo, em 2008, ocupou área de 5.800 ha, sendo produzidos 3.921 milhões de engradados de nove dúzias. O cinturão verde de São Paulo responde por grande parte desse volume comercializado, sendo a região de Mogi das Cruzes responsável por 45% da produção do Estado (IEA, 2009).

Atualmente, tem-se observado grande demanda para o tipo de alface-crespa (OLIVEIRA et al. 2004), com 70% do mercado consumidor voltado para essa folhosa.

A suscetibilidade da alface às doenças é fator de limitação na produção dessa hortaliça (DAVIS et al. 1997), sendo relatadas aproximadamente 75 doenças que ocorrem na cultura.

Com o aumento da produção de alface na região do Estado de São Paulo, em condições de outono e inverno, épocas que coincidem com temperaturas amenas e adequadas à produção, a dificuldade em produzir essa hortaliça vem aumentando, principalmente pela infestação das áreas de produção pelo fungo *Bremia lactucae* causador do míldio. Nessas regiões de temperaturas amenas, o fungo pode provocar destruição total da cultura.

Objetivou-se com este trabalho identificar as raças de *B. lactucae* que ocorrem na região produtora de alface do Estado de São Paulo; obter linhagens de alface-crespa resistentes e avaliar o desempenho produtivo de genótipos de alface-crespa, em duas épocas de cultivo.

---

\* O presente trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas da Academia Brasileira de Letras (2009).

## Revisão de literatura

### O míldio

O míldio, causado por *Bremia lactucae* Regel, é uma das doenças mais importantes que ocorrem na alface, em todo o mundo, e tem sido controlada, principalmente, pelo uso de cultivares com fatores de resistência monogênicos (KOCH & BLOK, 1985). Regel foi quem descreveu a doença pela primeira vez em 1843, na Europa, e trinta e dois anos depois foi reportada nos Estados Unidos da América (WALKER, 1952).

No Brasil, a partir da metade da década de 90, começou a causar sérios prejuízos na cultura da alface. Algumas hipóteses têm sido levantadas para descrever a entrada da doença no Brasil. A primeira é que esta doença foi introduzida por importação de alface-americana da Califórnia (USA) e também da Espanha, pelas redes de Fast Food, tornando-se importante nas condições de inverno, outono e primavera. Outra hipótese seria que esta doença já ocorreria naturalmente em nossas condições brasileiras. Algumas evidências têm reforçado a primeira hipótese, como no trabalho apresentado por DALPIAN et al. (2003), onde a raça de *B. lactucae* identificada é a mesma comumente encontrada nas regiões produtoras de alface da Espanha.

Essa doença é importante nas regiões onde, durante o inverno, existam alta umidade e temperatura amena. Na região Sudeste, em áreas como o cinturão verde de São Paulo, essa doença tornou-se muito importante, causando grandes prejuízos aos produtores (PAVAN et al. 2005).

O sintoma inicia-se com a formação de pequenas manchas angulares, de coloração verde-clara a amarelada na face superior da folha. Com o desenvolvimento da doença, a coloração da parte infectada torna-se marrom. Em condições de alta umidade, o patógeno forma frutificações brancas na face inferior das folhas, e essas infecções severas reduzem o valor comercial do produto (SUBBARAO et al. 1997).

*Bremia lactucae* é um microrganismo oomiceto do reino Stramenopila, diploide causador da doença míldio em alface e tem sido importante foco nos programas de melhoramento, principalmente na Europa e nos Estados Unidos da América. Este patógeno biotrófico não pode ser cultivado em meio artificial, mas pode ser facilmente mantido em plântulas de alface (ILOTT et al. 1987).

*Bremia lactucae* pertence à família Peronosporaceae. Embora o micélio seja não septado, os esporangióforos são frequentemente septados. As ramificações dos esporangióforos são dicotômicas, ou raramente tricotômicas. De um a três esporangióforos saem de cada estômato, formando-se esterigmas com um esporângio cada. Os esporângios possuem dimensões entre 12-30 µm de comprimento e entre 11-28 µm de largura (BRUGGEN & SCHERM, 1997). A planta pode ser afetada em todas as fases de desenvolvimento, de plântulas ao estágio adulto (VIEIRA & BARRETO, 2006).

O patógeno produz esporos, e a doença no campo resulta exclusivamente da infecção através dos esporângios. A esporulação de *B. lactucae* ocorre naturalmente de 5 a 14 dias após a infecção e é geralmente inibida por condições de luminosidade (VERHOEFF, 1960).

WU et al. (2000) realizaram experimentos para identificar os fatores que afetam a sobrevivência dos esporângios depois da deposição sobre a folha de alface, mostrando que a germinação foi significativamente reduzida quando estes são expostos à luz solar. A luz ultravioleta B reduziu significativamente a viabilidade dos esporângios, enquanto a luz ultravioleta A e a luz fluorescente não influenciaram, mostrando que a exposição à luz solar é um fator negativo para a sobrevivência de *B. lactucae*.

Os efeitos de temperatura e umidade relativa atuam simultaneamente, interagindo na esporulação de *B. lactucae*. A umidade é um dos fatores ambientais que mais afetam a esporulação de *B. lactucae*, com um mínimo requerido de UR de 80%. Já a temperatura permitida para esporulação varia de 4°C a 20°C, com ótimo em torno de 15°C (SU et al. 2004).

A liberação de esporângios é regulada pela luz, de acordo com SU et al. (2000) e coincide com o decréscimo da umidade, aumento da temperatura e evaporação da umidade da folha (SUTTON & HILDEBRAND, 1985).

*Bremia lactucae* tem exibido grande variação em sua virulência. Fenótipo de virulência é inferido para uma reação de compatibilidade (esporulação e/ou necrose) ou incompatibilidade (sem esporulação e necrose) entre um isolado do patógeno e seu hospedeiro (DATNOFF et al. 1994).

## **Identificação de raças de *Bremia lactucae***

No melhoramento de alface visando à resistência ao míldio, é importante que se identifiquem as raças de *B. lactucae*. Para isso, é necessário o uso de cultivares diferenciadoras. No Brasil, somente no Estado de São Paulo, foi identificada a raça de ocorrência predominante, e que foi denominada SPBI:01 (BRAZ et al. 2007).

De acordo com VAN ETTEKOVEN & VAN DER AREND (1999), surgiram muitas raças de *B. lactucae* em áreas fora da Europa, e muita confusão foi criada quanto à identificação das mesmas. Em razão disso, foram criadas parcerias entre órgãos públicos e empresas de melhoramento de alface, principalmente na França e na Holanda, visando a uniformizar um sistema de identificação, utilizando-se de códigos denominados de “Sextet”, onde cada raça possui um código, evitando que uma mesma raça receba denominações diferentes em distintas regiões do mundo. Conforme os mesmos autores, as cultivares diferenciadoras utilizadas para a formação do código “Sextet” são as relacionadas na Tabela 1.

## **Resistência de alface ao míldio**

O míldio é uma doença destrutiva da alface e que ocorre em diversas espécies da família Asteraceae (CRUTE & DIXON, 1981; LEBEDA et al. 2002) em sistemas de cultivos a campo ou em ambiente protegido, no mundo todo. A doença, na maioria das vezes, é controlada pela resistência genética ou pela aplicação de fungicidas (WU et al. 2000).

A resistência conferida pelos genes Dm é, na maioria das vezes, expressa por uma reação de hipersensibilidade (INGRAM et al. 1976). Essa reação é provocada por um dano irreversível na membrana da célula penetrada, havendo diferenças entre esses danos, dependendo do gene Dm que confere a resistência (BENNETT et al. 1996). Estudos demonstraram que há uma grande diferença no retardo do desenvolvimento de *B. lactucae* em cultivares de alface com mecanismos de resistência diferentes (LEBEDA & REININK, 1991).

Tabela 1. Relação das cultivares diferenciadoras utilizadas para identificação de raças de *Bremia lactucae* pelo sistema de código “Sextet” (VAN ETTEKOVEN & VAN DER AREND, 1999).

Número do material	Gene DM	Cultivar/Linhagem
	Dm 0/R?	Cobham Green
1	Dm 1	Lednicky
2	Dm 2	UCDM 2
3	Dm 3	Dandie
4	Dm 4	R4T57D
5	Dm 5/8	Valmaine
6	Dm 6	Sabine
7	Dm 7	LSE 57/15
8	Dm 10	UCDM 10
9	Dm 11	Capitan
10	Dm 12	Hilde (II)
11	Dm 13	Pennlake
12	Dm 14	UCDM 14
13	Dm 15	PIVT 1309
14	Dm 16	INRA DM-16
15	R* 17	LS-102
16	R 18 sec	Colorado
17	R 36	Ninja
18	R 37	Discovery
19	R 38	Argeles

\*Genes cuja herança monogênica dominante e posição nos “clusters” do genoma da alface não foram determinados por trabalhos científicos, recebem temporariamente a denominação R.

A genética de resistência a doenças em muitas culturas é estudada em uma relação gene a gene entre o patógeno e o hospedeiro. Resistência e suscetibilidade não são atributos absolutos do genótipo do hospedeiro, mas, sim, uma interação com o genótipo específico do patógeno (FARRARA et al. 1987).

Genes dominantes de resistência (genes Dm) correspondem à dominância de genes de avirulência (genes Avr). A combinação de um gene Dm com um gene Avr resulta em uma interação incompatível, expressa como hipersensibilidade do hospedeiro.

Genes Dm ocorrem em grupos no genoma de *Lactuca sativa*, e a segregação monogênica é uma relação consistente com outros genes simples ou múltiplos, justamente em genes que condicionam características de interesse comercial. Por essa razão, um novo fator de resistência é formalmente indicado como R#, até que se demonstre a existência de um gene simples Dm (BONNIER et al. 1994).

Em estudos genéticos em *B. lactucae*, foi largamente confirmado que a virulência da especificidade da resistência em cultivares de alface está localizada e controlada através do relacionamento gene a gene (MICHELMORE & INGRAM, 1981; NORWOOD et al. 1983; MICHELMORE et al. 1984). Na interação gene a gene de uma relação patógeno-hospedeiro, a especificidade é determinada por um gene de resistência dominante nas plantas a qual é combinada com um gene de avirulência no patógeno (CRUTE, 1985).

Segundo VAN DER PLANK (1968), a quantidade de genes de resistência na população hospedeira determina a frequência de genes de virulência na população do patógeno. Na ausência de pressão de seleção para essa característica, a frequência do gene de virulência tende a diminuir.

Estudos de herança de virulência específica em *B. lactucae* confirmam uma relação gene-a-gene e comprova a existência dos nove genes de resistência (Dm-1 a Dm-7, Dm-10 e Dm-11). Em muitos casos, a virulência para cada um de nove genes de resistência segrega como um gene dominante simples, independentemente dos outros fatores (MICHELMORE et al. 1984). Segundo os mesmos autores, evidências mostraram que um gene simples Dm é uma segregação monofatorial de resistência no hospedeiro e avirulência no patógeno.

Uma alternativa que diminuiria a pressão de seleção seria a rotação de culturas ou o uso de cultivares carregando uma ou mais resistências de diferentes fontes, visando a um melhor e mais duradouro controle. O sucesso desse controle depende da falta de pressão de seleção, na qual a frequência dos fatores de virulência na

população do patógeno assegura que os fatores de resistência correspondentes sejam eficientes (CRUTE & JHONSON, 1976).

Como em muitos outros patógenos, devido à enorme capacidade de variação na combinação de diferentes genes específicos em *B. lactucae*, o uso de genes de resistência em alface tem sido malsucedido como uma medida de controle durável. Existem raças do patógeno que carregam todos os fatores de virulência e, se uma cultivar for produzida com uma combinação de todos esses fatores, a resistência será eficiente por um curto período de tempo. Os genótipos resistentes a *B. lactucae*, com algumas exceções, contribuem apenas com poucos fatores de resistência (CRUTE & JHONSON, 1976).

### **Melhoramento genético da alface**

O desenvolvimento de cultivares resistentes tem proporcionado controle do míldio com emprego de vários genes de resistência (CRUTE & JHONSON, 1976; MICHELMORE et al. 1984; FARRARA et al. 1987). Entretanto, sendo o controle químico o método mais aceitável na maioria dos casos, o uso frequente de fungicidas sistêmicos é oneroso, além de induzir ao desenvolvimento de resistência nos isolados de *B. lactucae* (CRUTE et al. 1987; RAID & DATNOFF, 1990; SCHETTINI et al. 1991).

CRUTE & JHONSON (1976) citaram que o melhoramento para resistência do míldio em alface foi iniciado por Jagger-EUA (Califórnia), em 1926, e continuou na Europa e em Israel. Para o desenvolvimento de cultivares resistentes, é necessário conhecer a raça que ocorre na região à qual se destina a cultivar. Segundo BRAZ et al. (2007), a raça de *B. lactucae*, que ocorre no Estado de São Paulo, é denominada SPBI:01 e possui o comportamento 63/63/51/00. Os genes que conferem resistência a essa raça são Dm-17, Dm-18 e Dm-38.

Apesar de recomendações do método químico por meio de fungicidas no controle da doença, sua aplicação deve ser restrita, considerando o curto ciclo da cultura, juntamente com o período relativamente longo que deverá decorrer entre a aplicação e a colheita. No Brasil, os fungicidas registrados para o controle de míldio da alface somente são recomendados para a produção de mudas (VIEIRA & BARRETO,

2006). Porém, no AGROFIT, cinco produtos têm sido recomendados para o controle fitossanitário do míldio em alface (MAPA, 2009).

### **Épocas de plantio no desempenho de genótipos de alface**

A cultura da alface é muito sensível às condições climáticas, principalmente chuva e temperatura (RODRIGUES et al. 1997). Tradicionalmente, a alface é mais bem adaptada às temperaturas mais amenas, com maior produção nas épocas mais frias do ano, em condições de campo (OLIVEIRA et al. 2004), com variação de rendimento em função de cultivares e da mudança climática ocorrida durante o ano (DUARTE et al. 1992).

Temperaturas acima de 20°C estimulam o seu pendoamento, que é acelerado à medida que a temperatura aumenta. Dias longos, associados a temperaturas elevadas, aceleram ainda mais o pendoamento e a variação de comportamento entre cultivares (VIGGIANO, 1990). O melhor desenvolvimento tem sido observado em temperaturas oscilando entre 15°C e 20°C (LENANO, 1973; BRUNINI et al. 1976; CASSERES, 1980).

Com o aumento da temperatura, a planta emite o pendão floral precocemente, interrompendo a fase vegetativa, tornando o produto impróprio para consumo e comercialização, devido à ocorrência de sabor amargo das folhas, em função do acúmulo de látex (CASSERES, 1980).

Por se tratar de uma hortaliça de inverno, o cultivo da alface em outras estações do ano favorece a incidência de doenças e a ocorrência de desequilíbrios nutricionais, principalmente sob condições chuvosas e elevada temperatura. O maior desafio está em selecionar cultivares que apresentem precocidade de colheita, altas produtividades sob condições climáticas adversas, que sejam resistentes ao pendoamento precoce, além de possuírem boa qualidade comercial (YURI et al. 2004) e resistência a *B. lactucae*.

Pela dificuldade de controle da doença e pela exigência cada vez maior, por parte dos consumidores, de se reduzir o uso de produtos fitossanitários, deve-se enfatizar a obtenção de materiais que apresentem resistência às principais doenças foliares da alface, dentre as quais o míldio.

## **CAPÍTULO 2 - IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS DE *Bremia lactucae* EM ALFACE NO ESTADO DE SÃO PAULO.**

**RESUMO** - O objetivo do trabalho foi verificar a ocorrência de raças de *Bremia lactucae*, agente causal do míldio, no período de 2006 a 2007, nas regiões produtoras de alface do Estado de São Paulo, para auxiliar em programas de melhoramento genético da cultura. O experimento foi realizado no Laboratório de Melhoramento Genético de Hortaliças do Departamento de Produção Vegetal da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal-SP. Foram coletados 36 isolados de *B. lactucae* nas regiões produtoras de alface do Estado. O monitoramento do míldio identificou novos comportamentos, dando origem a três novas raças do fungo: SPBI:02 (63/31/19/00), SPBI:03 (63/63/19/00) e SPBI:04 (63/63/03/00). Os genes Dm-14, Dm-17, Dm-18, DM-36, Dm-37 e Dm-38, conferem resistência a essas novas raças.

**Palavras-Chave:** *Lactuca sativa*, míldio, hortaliças, melhoramento genético

## Introdução

O cultivo da alface no Estado de São Paulo concentra-se principalmente na região ao redor da grande São Paulo, destacando-se Mogi das Cruzes como a maior área produtora (CATI, 2008). Áreas menores dessa cultura distribuem-se por todo o Estado, ao redor das principais cidades. Em 2008, o valor total da produção de alface foi de R\$ 33 milhões, sendo que a região de Mogi das Cruzes respondeu por 45% desse total (IEA, 2009).

Em um cenário econômico difícil para os produtores de alface, o míldio torna-se problema ainda mais grave, pois vem aumentar o custo de produção no inverno, justamente quando os preços praticados são menores devido à maior oferta e ao menor consumo. O míldio é uma doença causada pelo fungo *B. lactucae*, sendo a mais importante doença nas condições de inverno, em regiões de temperatura amena, as quais coincidem com a observada nas regiões produtoras de alface (PAVAN et al. 2005).

Os danos notórios às lavouras de alface tiveram início a partir da década de 90, porém ainda é desconhecido como foi a entrada do patógeno no Brasil, ou se o mesmo já existia em condições brasileiras.

No período compreendido de 2003 a 2004, estudos pioneiros de identificação de raças foram desenvolvidos na região produtora de alface do Estado de São Paulo, e foi identificada a primeira raça de *B. lactucae*, denominada de SPBI:01 (BRAZ et al. 2007).

A identificação de raças de míldio que ocorrem, torna-se necessária, para que programas de melhoramento com a cultura da alface sejam desenvolvidos visando ao controle da doença. Portanto, é de extrema importância o seu monitoramento, pois uma vez identificada a raça, desenvolvem-se genótipos de alface incorporando os genes de resistência ao patógeno.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi identificar a ocorrência de raças de míldio no período de 2006 e 2007, nas regiões produtoras de alface do Estado de São Paulo, para auxiliar programas de melhoramento genético da cultura, visando à obtenção de materiais resistentes ao míldio.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Melhoramento Genético de Hortaliças do Departamento de Produção Vegetal da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal- SP, no período de 2006 e 2007.

### Coleta e inoculação dos isolados

Os isolados foram coletados em campos de produção de alface tipo crespa de vários produtores. Os locais escolhidos representaram as áreas produtoras de alface do Estado de São Paulo.

Coletaram-se 20 folhas de alface com sintomas de míldio em áreas de produtores, sendo cada amostra assim considerada um isolado. Essas amostras, embaladas em sacos plásticos, foram identificadas e acondicionadas em caixas térmicas e, em seguida, transportadas ao laboratório da UNESP-FCAV para a manutenção do inóculo. Estes isolados, ao chegarem ao laboratório, foram usados para preparar uma suspensão de esporângios e inoculados por pulverização na cultivar suscetível Cobham Green (Dm-0/R?). Após esporularem, foram mantidos no freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  em tecidos foliares de plântulas. Essa ação foi repetida oito vezes para aumentar a quantidade e a viabilidade dos esporos. Após oito ciclos de inoculação, os isolados foram utilizados no teste de diferenciação.

Em 2006, 20 isolados de *B. lactucae* foram coletados no período de julho a agosto, em diferentes regiões do Estado: Ibiúna-3, Mogi das Cruzes-3, Araçatuba-2, Ribeirão Preto-2, Rio Claro-2, Bauru-2, São Carlos-2, Campinas-2 e Araraquara-2.

Em 2007, 16 isolados *B. lactucae* foram coletados em: Botucatu-1, Bauru-1, Piedade-2, Araraquara-2, Ribeirão Preto-3, Jaboticabal-2, Biritiba Mirim-2 e Ibiúna-3. Estes foram inoculados na cultivar suscetível Cobham Green (Dm- 0/R?) e, após esporularem, foram mantidos em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ , em tecidos foliares de plântulas.

A inoculação dos isolados de *B. lactucae*, em cada diferenciadora de alface foi feita de acordo com a técnica de ILOTT et al. (1987). Utilizaram-se esporângios, lavados, de tecidos com presença de esporulação e agitados em água destilada.

A concentração da suspensão de  $1 \times 10^5$  esporângios/mL foi obtida através da contagem em câmara de Neubauer e pulverizados nas plântulas de cada cultivar diferenciadora de alface, aplicando-se 5mL de suspensão para cada uma.

As sementes das cultivares diferenciadoras de alface foram semeadas separadamente. Foram utilizadas caixas plásticas gerbox (11 x 11 x 3,5 cm) forradas com papel germitex umedecido e dividida em quatro partes iguais. Em cada uma das partes, foram semeadas 30 sementes de cada cultivar diferenciadora. Após 12 dias da semeadura, obtiveram-se 30 plântulas de cada material em ponto de inoculação. As plântulas foram mantidas em estufa (B.O.D modelo EL 212 eletrolab®) a 13°C e fotoperíodo de 12 h, e inoculadas por pulverização nesse período, com os respectivos isolados.

Após 15 dias da inoculação, foram feitas as avaliações, quando apareceu a primeira esporulação na cultivar suscetível Cobham Green (DM 0/R?). As avaliações foram realizadas nas plântulas, sendo estas avaliadas individualmente, verificando-se a presença ou não de lesões esporulantes, ou a reação necrótica com muitas ou poucas lesões esporulantes, seguindo o proposto por VAN ETTEKOVEN & VAN DER AREND (1999), na Tabela 2.

Tabela 2. Critérios utilizados na avaliação do teste de diferenciação de raças de *Bremia lactucae* em alface. ETTEKOVEN & VAN DER AREND (1999).

Símbolo	Descrição
+	> 80% das plântulas com lesões esporulantes
(+)	> 80% das plântulas com pontos necróticos e com muitas lesões esporulantes
-	< 5% das plântulas com lesões esporulantes
(-)	Plântulas com pontos necróticos e com poucas lesões esporulantes

As cultivares diferenciadoras são divididas em quatro grupos e são atribuídos valores de 1 a 32 a cada cultivar, como segue:

- Grupo 1: Lednicky (1); UCDM-2 (2); Dandie (4); R4T57D (8); Valmaine (16); Sabine (32).
- Grupo 2: LSE 57/15 (1); UCDM-10 (2); Capitan (4); Hilde II (8); Pennlake (16); UCDM-14 (32).

- Grupo 3: PIVT 1309 (1); INRA DM-16 (2); LS-102 (4); Colorado (8); Ninja (16); Discovery (32).
- Grupo 4: Argeles (1).

Após a inoculação, todos os fenótipos da série diferencial de alface que se mostraram suscetíveis aos determinados isolados, tiveram seus valores somados dentro de cada grupo, e o resultado de cada grupo representado e separado por uma barra, da seguinte forma: 63/63/51/00. No referido exemplo, todas as cultivares dos grupos 1 e 2 são suscetíveis ( $1 + 2 + 4 + 8 + 16 + 32 = 63$ ). Das cultivares do grupo 3, somente a LS-102 (Dm- 17) e Colorado (Dm-18) são resistentes ( $1 + 2 + 0 + 0 + 16 + 32 = 51$ ). E por fim, a cultivar Argeles, do grupo 4, mostrou-se resistente ( $0 = 00$ ).

## Resultados e Discussão

Foram identificados três comportamentos de *B. lactucae* na região produtora do Estado de São Paulo pelo código “Sextet”, 63/31/19/00, 63/63/19/00 e 63/63/03/00, dando origem a três novas raças do fungo SPBI:02, SPBI:03 e SPBI:04, respectivamente (Tabela 3).

A diferença entre os comportamentos dos fungos consiste na resistência na presença do gene Dm-14 (UCDM-14) da raça SPBI:02 com a resistência predominante.

Das três novas raças de *B. lactucae* identificadas: SPBI:02, SPBI:03 e SPBI:04 em 2006, somente duas: SPBI:02 e SPBI:03 tiveram também sua ocorrência verificada em 2007 (Tabela 4). Portanto, somando-se ao resultado de BRAZ et al. (2007), atualmente, no Estado de São Paulo, foram identificadas quatro raças de *B. lactucae*.

A diferença no comportamento das raças de *B. lactucae* SPBI:02, SPBI:03 SPBI:04 da raça anteriormente identificada como SPBI:01 (BRAZ et al. 2007), deve-se à suscetibilidade do gene Dm-37 na formação do código “Sextet”.

O mesmo comportamento do fungo SPBI:01(63/63/51/00) foi observado em 2004, no sul de Minas Gerais (PISSARDI et al. 2005), evidenciando ser uma raça de *B. lactucae* que predomina na maioria das regiões produtoras de alface da região Sudeste.

A ocorrência de novas raças deve-se, provavelmente, à introdução ou mutação, que é um dos principais mecanismos criadores de novos genes. Entretanto, outros mecanismos amplificam a variabilidade criada pela mutação por meio da formação de novas combinações de genes, os chamados mecanismos de recombinação gênica (BORÉM & MIRANDA, 2005).

Os fungos que se reproduzem sexuadamente, estão entre os que apresentam maior variabilidade fitopatogênica. Esse modo de reprodução gera uma recombinação meiótica que aumenta a variabilidade genética, favorecendo a criação de novas raças que contêm combinações inéditas de genes de virulência. Em condições brasileiras, o modo de reprodução predominante de *B. lactucae* é a assexuada, por isso existe uma frequência baixa de raças fisiológicas identificadas (BERGAMIN FILHO et al. 1995).

Tabela 3. Comportamento de isolados de *Bremia lactucae* em alface, coletados em Ibiúna (IB), Mogi das Cruzes (MC), Araçatuba (ARAÇ), Ribeirão Preto (RP), Rio Claro (RC), Bauru (BAU), São Carlos (SC), Campinas (CAMP) e Araraquara (ARA) em 2006. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV. 2009.

Cultivares diferenciadoras	Cobham Green		Ledinicky UC DM-2				Dandie R4T57D Valmaine Sabine				LSE 57/15 UC DM-10 Capitán Hilde II Pennlake UC DM-14				PIVT 1309 INRA DM-16 LS-102 Colorado Ninja Discovery				Argeles	Código "Sextet"		
	Odra		1	2	3	4	5/8	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18	36		37	38
Genes Dm	-	-	1	2	3	4	5/8	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18	36	37	38	
Sextet N°	-	-	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
Valor	-	-	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	
Isolados	Dm 0	Grupo 1						Grupo 2						Grupo 3				4	Código "Sextet"			
	Respostas de resistência – ou suscetibilidade +																					
IB-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
IB-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
IB-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
MC-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
MC-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
MC-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
ARAÇ-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
ARAÇ-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
RP-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
RP-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
RC-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
RC-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
BAU-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	63/63/03/00
BAU-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	63/63/03/00
SC-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
SC-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
CAMP-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
CAMP-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
ARA-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
ARA-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
<b>SPBI:02</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	<b>63/31/19/00</b>
<b>SPBI:03</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	<b>63/63/19/00</b>
<b>SPBI:04</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	<b>63/63/03/00</b>

Tabela 4. Comportamento de isolados de *Bremia lactucae* em alface, coletados em Botucatu (BOT), Bauru (BAU), Piedade (PIED), Araraquara (ARA), Ribeirão Preto (RIB), Jaboticabal (JAB), Biritiba Mirim (BM) e Ibiúna (IB) em 2007. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV. 2009.

Cultivares diferenciadoras	'Cobham Green'	Odra	Lednický UC DM-2						LSE 57/15 UC DM-10						PIVIT 1309 INRA DM-16						Arges	Código "Sextet"
			Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	Capitan	Hilde II	Penmlake	UC DM-14	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery								
Genes Dm	-	-	1	2	3	4	5/8	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18	36	37	38	
Sextet N°	-	-	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
Valor	-	-	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	
Isolados	Dm 0	Grupo 1						Grupo 2						Grupo 3						4	Código "Sextet"	
	Respostas de resistência – ou suscetibilidade +																					
BOT-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
BAU-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
PIED-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
PIED-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
ARA-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
ARA-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
RIB-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
RIB-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
RIB-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
JAB-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
JAB-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
BM-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
BM-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
IB-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
IB-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
IB-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
SPBI:02	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
SPBI:03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00

Comportamento semelhante a SPBI:02 (63/31/19/00), identificado em 2006, foi observado no sul da Holanda, na raça BI:21, de *B. lactucae*, com código "Sextet" 63/31/51/00, com os genes Dm-14; 17 e 18, que conferem resistência a essa raça (VAN DER AREND et al. 2006).

Os genes Dm-14, Dm-17, Dm-18, Dm-36, Dm-37 e Dm-38 conferem resistência a essas novas raças identificadas no Brasil. No entanto, o gene Dm-17, encontrado em LS-102 (*L. serriola*), que é uma espécie selvagem (LEBEDA & PETRZELOVÁ, 2004), necessita, para a introgressão desse gene em cultivar com bom padrão comercial, de um período maior de pesquisa para a incorporação da resistência. Por isso, recomenda-se a utilização do gene Dm-18, da cultivar diferenciadora Colorado, por ser portadora do gene Dm promissor à transferência da resistência, e que, por ser encontrado em cultivares comerciais na Europa, é um dos mais recomendados para a utilização em programa de melhoramento genético, visando à resistência ao míldio da alface em menor tempo.

VAN DER AREND et al. (2006) identificaram, na Europa, 25 raças de *B. lactucae*. Somente no período de 2000 a 2004, quatro novas raças foram identificadas: BI:22; BI:23; BI:24 e BI:25, com os comportamentos dos fungos: 59/63/09/00; 63/31/02/01; 59/31/10/01 e 59/31/42/00, respectivamente. O gene Dm-36, da cultivar diferenciadora Ninja, foi o único que conferiu resistência às quatro raças identificadas.

Na Califórnia-EUA, SCHETTINI et al. (1991) também relataram a ocorrência de novas raças de *B. lactucae* em alface.

## **Conclusões**

1. O monitoramento de *B. lactucae* no Estado de São Paulo permitiu identificar três novas raças: SPBI:02 (63/31/19/00), SPBI:03 (63/63/19/00) e SPBI:04 (63/63/03/00).

2. Os genes Dm-14, Dm-17, Dm-18, Dm-36, Dm-37 e Dm-38 conferem resistência às raças identificadas.

### **CAPÍTULO 3 - OBTENÇÃO DE LINHAGENS DE ALFACE-CRESPA COM RESISTÊNCIA À RAÇA SPBI:01 DE *Bremia lactucae***

**RESUMO** - O objetivo do trabalho foi obter linhagens de alface do tipo crespa com resistência ao míldio, raça SPBI:01 de *Bremia lactucae*. O experimento foi realizado no Setor de Olericultura e no Laboratório do Departamento de Produção Vegetal da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal-SP. As cultivares comerciais de alface do grupo crespa suscetíveis ao míldio, Vera e Hortência, foram cruzadas com fontes de resistência ao míldio, Saporo e Noisette, para a obtenção das linhagens resistentes. Após inoculações nas progênies e seleções de campo para características agronômicas, obtiveram-se as linhagens JAB 4-2-4, JAB 4-13-7 e JAB 4-13-9 com os melhores resultados de padrão de plantas e com resistência a *B. lactucae* e JAB 4-13-7 com maior tolerância ao pendoamento precoce e resistência ao “tip burn”.

**Palavras-Chave:** *Lactuca sativa*, míldio, linhagem, hortaliça

## Introdução

A cultura de alface no Estado de São Paulo, em 2008, ocupou área de 5.800 ha, sendo produzidos 3.921 milhões de engradados de nove dúzias. O cinturão verde de São Paulo responde por grande parte desse volume comercializado, sendo a região de Mogi das Cruzes responsável por 45% da produção do Estado (IEA, 2009).

Um grande desafio da produção de alface é conseguir produzir sem elevar os custos no que se refere ao controle de problemas fitossanitários, principalmente aos relacionados ao míldio, principal doença que afeta o cultivo da alface no inverno. Nessa época, o produtor de alface tenta reduzir os elevados custos do controle fitossanitário, devido aos baixos preços praticados em função da maior oferta e menor consumo.

O míldio é uma doença causada pelo fungo *Bremia lactucae*, sendo mais importante nas condições de inverno, em regiões de temperaturas de 12°C a 18°C, que coincidem com as grandes regiões produtoras de alface do Estado de São Paulo (PAVAN et al. 2005).

O desenvolvimento de cultivares resistentes é a alternativa de controle mais eficiente, proporcionando maiores benefícios tanto para o produtor como para os consumidores, pela diminuição da utilização de defensivos e adaptação às condições brasileiras.

RYDER (1986) citou que as principais características visadas no melhoramento de alface são: resistência às doenças (*Bremia lactucae*, *Lettuce mosaic virus*, *Tospovirus*), "tip burn", aumento da produtividade e qualidade. Outras características agrônômicas também devem ser focadas em um programa de melhoramento genético, como: uniformidade das cultivares, adaptabilidade dos materiais a diferentes ambientes ou a ambientes específicos, se este for o objetivo do programa. Para a alface do tipo crespa, nas condições brasileiras, os principais objetivos nos programas de melhoramento genético são: folhas bem crespas, coloração verde-clara brilhante; resistência ao florescimento prematuro, ao "tip burn", às viroses (*Lettuce mosaic virus* e *Tospovirus*, entre outras), às bacterioses, às doenças fúngicas: míldio (*B. lactucae*), queima da saia (*Sclerotinia minor* e *S. sclerotiorum*), cercosporiose (*Cercospora longissima*), entre outras doenças.

O objetivo do trabalho foi a obtenção de linhagens de alface do tipo crespa, com resistência à raça SPBI:01 de *B. lactucae*.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais e no Laboratório de Melhoramento Genético de Hortaliças do Departamento de Produção Vegetal da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal-SP, no período de 2006 a 2008.

As cultivares de alface do grupo crespa utilizadas na obtenção das linhagens resistentes ao míldio foram:

a) Vera: Início da colheita: 50 a 70 dias após a sementeira.

Planta: sem formação de cabeça.

Folha: verde-clara brilhante e bastante crespa.

Cor da semente: preta.

Destaque: muito tolerante ao pendoamento precoce, com plantas de ótimo formato.

Fonte: DELLA VECHIA et al. (1999).

a) Hortência: Início da colheita: 50 a 70 dias após a sementeira.

Planta: sem formação de cabeça.

Folhas: folha crespa e grande.

Cor da semente: preta.

Destaque: resistente ao pendoamento precoce, tolerante ao “tip burn” e com plantas de ótimo tamanho.

Fonte: HORTEC TECNOLOGIA DE SEMENTES (2001).

Como fontes de resistência a *B. lactucae* foram utilizadas as cultivares:

a) Sapore

Empresa: Enza Zaden B.V.

Tipo: Batávia: folhas crespas menos acentuadas, quase lisas.

Gene: Dm – 18.

Genes que conferem resistência: Dm-1 a 16, 21 e 23.

Resistente a SPBI:01.

b) Noisette

Empresa: Enza Zaden B.V.

Tipo: Batavia: folhas crespas menos acentuadas, quase lisas.

Gene: Dm – 11 + 18.

Genes que conferem resistência: Dm-1 a 17, 21 e 23.

Resistente a SPBI:01.

### **Obtenção, avaliações e seleção das linhagens**

Para o cruzamento a fim de se obterem as sementes da geração  $F_1RC_3$ , foi realizado no período da manhã, cortando-se as pétalas da flor, o que elimina uma parte do pólen e também expõe o estigma, facilitando a polinização. Em seguida, lavou-se a flor e por fim quando esta estava seca, polinizou-se com a flor oriunda da planta, que foi o genitor masculino do cruzamento, segundo metodologia de RYDER (1986). Para a obtenção das linhagens, apenas se colhiam as sementes das plantas selecionadas.

Para a obtenção das linhagens com resistência ao míldio, foi utilizado o método do retrocruzamento. As seleções de plantas foram realizadas nas gerações  $F_1RC_3$ ,  $F_2RC_3$ ,  $F_3RC_3$  e  $F_4RC_3$  por meio de inoculação artificial.

Foram semeadas 40 sementes de cada geração, em caixas gerbox forradas com papel germitex umedecido, e avançadas até a geração  $F_4RC_3$ , com as plântulas que se mostraram resistentes. Após 12 dias da semeadura, obtiveram-se 40 plântulas em ponto de inoculação. As plântulas foram mantidas em estufa (B.O.D modelo EL 212 eletrolab<sup>®</sup>) a 13°C e fotoperíodo de 12h, e inoculadas nesse período com a raça SPBI:01 de *B. lactucae*.

As inoculações artificiais foram feitas de acordo com a técnica de ILOTT et al. (1987). Utilizaram-se esporângios da raça SPBI:01 de *B. lactucae* na concentração de  $1 \times 10^5$  esporângios/mL, e inoculados por pulverização nas plântulas de cada geração, aplicando-se 5mL da suspensão.

Para cada geração, selecionavam-se as plantas resistentes à raça SPBI:01, com base em inoculações artificiais em plântulas, descartando as plântulas suscetíveis e

levando a campo as resistentes, seguindo a metodologia descrita por VAN ETTEKOVEN & VAN DER AREND (1999), na Tabela 2.

As plantas que se mostraram resistentes ao míldio foram selecionadas também para as características agronômicas desejáveis, como tipo de folha, coloração, volume de planta, resistência ao “tip burn” e ao pendoamento precoce. As plantas selecionadas foram transplantadas para casa de vegetação, cultivando-as em vasos onde se realizaram os avanços das gerações até F<sub>4</sub>RC<sub>3</sub>, ou seja, foram realizados três retrocruzamentos e três gerações de autofecundação, uma vez que, na geração F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>, as plantas já apresentavam bom padrão para o tipo de alface-crespa, além de coloração clara e ótimo volume de planta. Com mais um retrocruzamento, foi possível melhorar a tolerância ao pendoamento precoce e ao “tip burn” das progênies.

Após as inoculações com a raça SPBI:01 *B. lactucae* nas progênies da geração F<sub>4</sub>RC<sub>3</sub>, estas foram avaliadas em campo aberto, em canteiros, com espaçamento de 35 cm entre linhas e 35 cm entre plantas; e para o bom desenvolvimento das plantas, foram realizados os tratamentos agronômicos necessários. Nessa etapa selecionaram-se as plantas com as melhores características agronômicas de volume, coloração, crespamento, tolerância ao pendoamento precoce e ao “tip burn”, obtendo-se as seguintes progênies com potencial para se tornarem cultivares.

- Família 1: F<sub>4</sub>RC<sub>3</sub> {[ (Vera x Saporo) x Vera ] x Vera } x Vera.
- Família 2: F<sub>4</sub>RC<sub>3</sub> {[ (Hortênciã x Saporo) x Hortênciã ] x Hortênciã } x Hortênciã.
- Família 3: F<sub>4</sub>RC<sub>3</sub> {[ (Vera x Noisette) x Vera ] x Vera } x Vera.

Dentre essas famílias, destacaram-se as linhagens, cuja genealogia é descrita na Tabela 5.

Tabela 5. Genealogia de três famílias de linhagens de alface-crespa resistentes ao míldio (*Bremia lactucae*). Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV. 2009.

Linhagem	Família	Genealogia
JAB 4-2-4	1	F <sub>4</sub> RC <sub>3</sub> {{{Vera x Saporó} x Vera} x Vera} x Vera.
JAB 4-13-7	1	F <sub>4</sub> RC <sub>3</sub> {{{Vera x Saporó} x Vera} x Vera} x Vera.
JAB 4-13-9	1	F <sub>4</sub> RC <sub>3</sub> {{{Vera x Saporó} x Vera} x Vera} x Vera.
JAB 4-17-1	1	F <sub>4</sub> RC <sub>3</sub> {{{Vera x Saporó} x Vera} x Vera} x Vera.
JAB 5-1-3	2	F <sub>4</sub> RC <sub>3</sub> {{{Hortência x Saporó} x Hortência} x Hortência} x Hortência.
JAB 5-3-2	2	F <sub>4</sub> RC <sub>3</sub> {{{Hortência x Saporó} x Hortência} x Hortência} x Hortência.
JAB 5-7-4	2	F <sub>4</sub> RC <sub>3</sub> {{{Hortência x Saporó} x Hortência} x Hortência} x Hortência.
JAB 8-3-5	3	F <sub>4</sub> RC <sub>3</sub> {{{Vera x Noisette} x Vera} x Vera} x Vera.

### **Delineamento experimental**

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com oito tratamentos (JAB 4-2-4, JAB 4-13-7, JAB 4-13-9, JAB 4-17-1, JAB 5-1-3, JAB 5-3-2, JAB 5-7-4 e JAB 8-3-5) e quatro repetições.

A unidade experimental foi composta por 56 plantas, no espaçamento 0,35 x 0,35 m entre plantas e entre linhas, respectivamente. Foram consideradas como área útil as 12 plantas centrais de cada parcela.

### **Avaliações**

As características avaliadas foram:

- Massa fresca da parte aérea (MF): aferida após o corte rente ao solo das plantas da área útil da parcela, após o descarte de folhas impróprias para a comercialização, expressa em gramas;
- Altura de planta (AP): medida do caule das plantas da área útil da parcela ao ápice da folha e expressa em centímetros;

- Diâmetro da planta (DP): distância entre as margens opostas das plantas da área útil, expressas em centímetros;
- Número de folhas por planta (NF): contagem do número de folhas maiores que três centímetros, partindo das folhas basais das plantas da área útil da parcela;
- Produtividade estimada (PE): massa fresca das plantas da área útil da parcela (1,47 m<sup>2</sup>), extrapolando para um hectare e expresso em t ha<sup>-1</sup>.

Os dados foram submetidos a análises de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, com o auxílio do programa Sisvar (FERREIRA, 2000).

## Resultados e Discussão

Os resultados da avaliação agrônômica das oito linhagens mostraram efeitos significativos para todas as características (Tabela 6).

Tabela 6. Valores médios de diâmetro de planta (DP), altura de planta (AP), número de folhas (NF), massa fresca da parte aérea (MF) e produtividade estimada (PE) de oito linhagens de alface-crespa. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV. 2009.

Linhagem	DP (cm)	AP (cm)	NF	MF (g)	PE. (t ha <sup>-1</sup> )
JAB 4-2-4	53 a*	29 a	33 a	1010 a	82,44 a
JAB 4-13-7	49 a	27 a	35 a	980 a	80,00 a
JAB 4-13-9	52 a	28 a	37 a	1028 a	83,19 a
JAB 4-17-1	41 b	22 b	28 b	730 b	59,59 b
JAB 5-1-3	47 a	23 b	29 b	749 b	61,14 b
JAB 5-3-2	39 b	25 ab	30 b	710 b	57,95 bc
JAB 5-7-4	45 ab	26 ab	29 b	620 c	50,61 d
JAB 8-3-5	40 b	20 b	27 b	680 d	55,51 c
CV(%)	8,65	5,87	9,10	6,54	9,87

\* Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Para o diâmetro de plantas JAB 4-2-4, obteve-se o melhor desempenho, porém com valores estatisticamente semelhantes às linhagens JAB 4-13-7, JAB 4-13-9, JAB 5-1-3 e JAB 5-7-4. Esses resultados, que oscilaram de 39 a 53 cm, foram superiores aos valores obtidos em avaliação de cultivares de alface por QUEIROGA et al. (2001) e BEZERRA NETO et al. (2005), que obtiveram diâmetros de 31,53 a 34,01 cm e de 32,71 a 36,11cm, respectivamente.

RODRIGUES et al. (2008), avaliando o desempenho de cultivares de alface-crespa também obtiveram diâmetro inferior aos observados no presente trabalho, com valores oscilando de 13,6 a 27,73 cm.

A superioridade das linhagens de alface-crespa testadas demonstra boa adaptação das mesmas às épocas de verão e inverno, e ao local de cultivo,

contribuindo para que as plantas expressem o máximo do seu potencial genético para essa característica.

Considerando a altura da planta, as linhagens que mostraram os melhores comportamentos, foram as mesmas que se destacaram para a variável diâmetro, exceto para a linhagem JAB 5-1-3. Os resultados apresentados para essa característica variaram de 20 a 29 cm entre as linhagens avaliadas, valores semelhantes aos verificados por BEZERRA NETO et al. (2005), porém diferentes dos encontrados por RODRIGUES et al. (2008) com altura de 11,33 a 17,09 cm entre as cultivares de alface-crespa testadas.

Quanto ao número de folhas e massa fresca da parte aérea, foram estatisticamente superiores as linhagens JAB 4-2-4, JAB 4-13-7 e JAB 4-13-9 (Tabela 6).

O número de folhas, em média de 15,4 a 30,0, encontrados por RADIN et al. (2004) foram bem inferiores aos observados no presente trabalho, que variaram de 27 a 37 folhas, e de 16,05 a 18,28 por BEZERRA NETO et al. (2005). Portanto, a seleção proporcionou a obtenção de linhagens de alface que, além de bom nível de resistência ao míldio, apresentam boa adaptação à região de cultivo.

As linhagens JAB 4-2-4, JAB 4-13-7 e JAB 4-13-9, oriundas de cruzamentos de Vera x Saboro, demonstraram os melhores resultados em termos de tamanho e padrão de plantas (Tabela 6). A escolha da cultivar Vera foi com base em características apreciadas pelo mercado consumidor da região; essa cultivar exibe um excelente tamanho de plantas, ciclo precoce, não forma cabeça, coloração das folhas verde-clara, folhas crespas bem acentuadas, muito tolerante ao pendoamento precoce e ótimo formato de plantas (DELLA VECHIA et al. 1999).

Em relação à massa fresca da parte aérea, os valores oscilaram de 620 a 1028g, com as linhagens JAB 4-2-4, JAB 4-13-7 e JAB 4-13-9 destacando-se com as melhores performances bem como para a produtividade com rendimentos expressivos, acima de 80 t ha<sup>-1</sup>.

Os resultados obtidos de produtividade foram bem superiores a trabalhos com desempenho de cultivares de alface, mostrando que a seleção utilizada para a

obtenção de linhagens resistentes ao míldio foi significativa também para as características de baixa herdabilidade, como produtividade.

As linhagens obtidas com excelente resistência ao míldio figuram como boa alternativa de cultivo para a região, garantindo a produção de produto de qualidade superior e com redução de custos, com produtos fitossanitários alocados no controle da principal doença que acomete a alface no inverno.

Apesar dos excelentes resultados apresentados pelas linhagens de alface-crespa JAB 4-2-4, JAB 4-13-17 e JAB 4-13-9, elas apresentam alguns problemas quanto à adaptação ao clima tropical e subtropical, principalmente tolerância ao pendoamento precoce e “tip burn”. Dentre essas linhagens, JAB 4-13-7 foi a que mais se aproximou das alfaces crespas tropicalizadas.

## Conclusão

1. As linhagens JAB 4-2-4, JAB 4-13-7 e JAB 4-13-9 mostraram os melhores resultados de padrão de plantas e com resistência à raça SPBI:01 de *B. lactucae*.

#### **CAPÍTULO 4 - DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE ALFACE-CRESPA VISANDO À RESISTÊNCIA A *Bremia lactucae* EM DUAS ÉPOCAS DE CULTIVO**

**RESUMO** - Os objetivos deste trabalho foram avaliar o comportamento produtivo de JAB 4-13-7 e verificar a resistência de genótipos de alface-crespa a *B. lactucae*. O experimento foi constituído de duas etapas, sendo que a primeira foi em condições de campo, onde se avaliou o desempenho de genótipos de alface crespa ('Amanda', 'Solaris', 'Vanda', 'Vera', JAB 4-13-7 e 'Malice') em duas épocas de cultivo, verão e inverno. A segunda foi realizada em laboratório, para a identificação dos genótipos resistentes às raças de *B. lactucae*, SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03 e SPBI:04, que foram inoculadas nos mesmos genótipos de alface-crespa. Os genótipos 'Amanda', 'Solaris', 'Vanda', 'Vera', JAB 4-13-7 e 'Malice' apresentaram os melhores desempenhos das características agronômicas no inverno. Para as condições de verão, JAB 4-13-7 e 'Solaris' apresentaram os melhores desempenhos das características agronômicas. JAB 4-13-7 é a linhagem mais indicada para o cultivo de inverno pelo bom desempenho e resistência às raças de *B. lactucae*. 'Malice', apesar da resistência às quatro raças de *B. lactucae*, obteve o pior comportamento produtivo.

**Palavras-Chave:** *Lactuca sativa*, míldio, hortaliças.

## Introdução

A alface é muito sensível às condições climáticas principalmente chuva e temperatura (RODRIGUES et al. 1997). Tradicionalmente, é mais bem adaptada a temperaturas mais amenas, com maior produção nas épocas mais frias do ano, em condições de campo (OLIVEIRA et al. 2004), com variação de rendimento em função de cultivares e da mudança climática ocorrida durante o ciclo da cultura (DUARTE et al. 1992).

Por se tratar de uma hortaliça de inverno, o cultivo da alface em outras estações do ano favorece a incidência de doenças e a ocorrência de desequilíbrios nutricionais, principalmente sob condições chuvosas e de elevada temperatura. O maior desafio está em selecionar cultivares que apresentem precocidade de colheita, alta produtividade sob condições climáticas adversas, que sejam resistentes ao pendoamento precoce, além de possuírem boa qualidade comercial (YURI et al. 2004).

Os objetivos dos fitomelhoristas de alface são: desenvolver cultivares de alface com resistência às principais pragas e doenças que acometem a cultura e viabilizar sua exploração ao longo do ano, inclusive durante a primavera-verão (FILGUEIRA, 2007). A dificuldade encontrada pelos produtores de alface no Estado de São Paulo consiste na inexistência de materiais genéticos com resistência ao míldio (*Bremia lactucae*) e adaptados ao plantio durante todo o ano.

Diante do exposto, o objetivo geral do trabalho foi avaliar o comportamento produtivo do genótipo JAB 4-13-7 diante de cultivares comerciais, como opção de cultivo no verão e no inverno, nas condições de Jaboticabal-SP. O objetivo específico foi verificar a resistência dos genótipos de alface crespa às quatro raças de *B. lactucae* identificadas no Estado de São Paulo.

## Material e Métodos

O experimento foi constituído de duas etapas, sendo a primeira instalada em campo para avaliar o desempenho de genótipos de alface-crespa em duas épocas de cultivo, e a segunda, realizada em laboratório, para a identificação dos genótipos resistentes às raças de *B. lactucae*.

### 1ª Etapa: Avaliação do desempenho de genótipos de alface-crespa em duas épocas de cultivo

#### Localização e caracterização da área experimental

Foram realizados dois experimentos, um para cada época de cultivo: verão e inverno.

Os experimentos foram realizados no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal-SP, cujas coordenadas geográficas são: altitude de 575 metros, latitude 21°15'22" S e longitude 48°15'58" W. O solo da área experimental é caracterizado como Latossolo Vermelho eutroférico, conforme o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 1999). A área experimental foi dividida em duas subáreas (cultivo de verão e inverno), com os mesmos resultados da análise química do solo, expresso na Tabela 7.

Tabela 7. Resultados da análise química do solo da área experimental.

pH CaCl <sub>2</sub>	M.O g.dm <sup>-3</sup>	P (Resina) mg.dm <sup>-3</sup>	K	Ca	Mg	H+AL	SB	T	V (%)
			(mmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )						
4,9	1,4	93	3,3	15	6	38	24,3	62,3	39

## **Delineamento experimental**

O delineamento experimental adotado nos experimentos foi o de blocos casualizados completos, com seis tratamentos e quatro repetições. Cada parcela experimental foi constituída de quatro fileiras de 14 plantas, espaçadas de 0,28 m entre linhas e 0,35 m entre plantas, com área total de 5,488 m<sup>2</sup> por parcela. Os tratamentos foram constituídos de seis genótipos de alface ('Amanda', 'Solaris', 'Vanda', 'Vera', JAB 4-13-7 e 'Malice').

## **Características dos genótipos**

'Amanda': planta com ótima aparência quando embalada; baixo percentual de quebra de folhas; folhas crespas e firmes. Alta tolerância ao pendoamento precoce; plantas grandes e volumosas, coloração verde-clara e ciclo médio de 75 dias (EMPRESA SEMINIS VEGETABLE SEEDS, 2009).

'Solaris': planta com folhas grandes e muito crespas, cabeça grande e ótima compacidade, coloração verde-clara e ciclo médio de 75 dias (EMPRESA SEMINIS VEGETABLE SEEDS, 2009)

'Malice': vigorosa, compacta, de miolo muito cheio, coloração verde-clara brilhante. Apresenta maior número de folhas, de 50 a 55 folhas. Não forma cabeça no inverno. Apresenta excelente resultado em hidroponia e ótimo sabor. Cultivo de outono-inverno. Ciclo médio de 70 dias, peso médio de 650g e resistência a *Bremia lactucae* BI: raças 1-16, 18-24 e LMV (EMPRESA AGRISTAR DO BRASIL LTDA, 2009)

'Vanda': cultivar do tipo crespa, plantas de porte grande, folhas largas de coloração verde-clara, com ótima uniformidade no campo. Cultivar com alto nível de resistência a *Lettuce mosaic virus* (LMV) estirpe 2. Espaçamento: 0,30m x 0,30m. Início da colheita em 55 a 70 dias (EMPRESA SAKATA SEEDS SUDAMERICA LTDA, 2009).

'Vera': cultivar líder de mercado, do tipo crespa, de excelente aspecto visual. As plantas são de porte grande, miolo cheio, uniformes e com alto rendimento. As folhas são bem repicadas e de coloração verde-clara. Apresenta alta resistência ao

pendoamento precoce. Semente de coloração preta. Início da colheita em 60-70 dias (EMPRESA SAKATA SEEDS SUDAMERICA LTDA, 2009).

JAB 4-13-7: dentre os genótipos utilizados, apenas esse não é cultivar comercial, estando o genótipo em fase experimental, desenvolvido pelo Programa de Melhoramento Genético da UNESP-FCAV, com resistência à raça de *B. lactucae* SPBI:01. Essa linhagem é a que mais se aproxima das alfaces-crespas tropicalizadas com os melhores resultados para a tolerância ao pendoamento precoce e “tip burn”.

### **Experimento de verão**

No período experimental, foram registradas umidade relativa e temperaturas máxima, mínima e média de 80,6%, 31,1°C, 20,2°C e 24,5°C, respectivamente.

A semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno expandido de 288 células, em 16-12-2008, e o transplante em 02-02-2009, quando as mudas apresentavam três a quatro folhas definitivas. A colheita foi realizada em 12-03-2009.

A irrigação adotada foi por aspersão, aplicando-se a lâmina de água e turno de rega de acordo com a necessidade da cultura. A adubação de plantio foi realizada conforme análise de solo, seguindo a recomendação de RAIJ et al. (1997), aplicando-se proporcionalmente na área a dose recomendada de 40 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia, 200 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> sob a forma de superfosfato simples e 50 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma cloreto de potássio. Aplicou-se, em cobertura, a dose de 80 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, parcelado em três vezes, aos 7; 15 e 30 dias após o transplante e complementadas com três adubações foliares com nitrocálcio, na concentração de 50 gramas/20 litros de água.

### **Experimento de inverno**

No período experimental, foram registradas umidade relativa e temperaturas máxima, mínima e média de 66,7 %, 28,97°C, 15,01°C e 21,26°C, respectivamente.

A semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno expandido de 288 células, em 15-05-2009, o transplante em 30-06-2009, quando as mudas apresentavam três a quatro folhas definitivas. A colheita realizou-se em 10-08-2009. As irrigações e adubações foram realizadas conforme descrito no experimento de verão.

## Colheita

As colheitas foram realizadas aos 38 e 41 dias após o transplante, para os experimentos de verão e inverno, respectivamente, e foram consideradas como áreas úteis as 12 plantas centrais de cada parcela. O ponto de colheita foi definido com base no início do pendramento, das primeiras plantas do genótipo mais precoce.

As características avaliadas foram:

- Massa fresca da parte aérea (MF): aferida após o corte rente ao solo das plantas da área útil da parcela, no ato da colheita, com posterior descarte de folhas impróprias para a comercialização, expressa em gramas;
- Altura de planta (AP): medida do caule ao ápice da folha das plantas da área útil da parcela e expressa em centímetros;
- Diâmetro da planta (DP): distância entre as margens opostas da planta, expressa em centímetros;
- Número de folhas por planta (NF): contagem do número de folhas maiores que três centímetros, partindo das folhas basais das plantas da área útil da parcela;
- Produtividade estimada (PE): massa fresca das plantas da área útil de cada parcela (1,176m<sup>2</sup>), extrapolando para um hectare e expresso em t ha<sup>-1</sup>.

Os dados foram submetidos a análises de variância isolada para cada época de cultivo, procedendo-se em seguida à análise conjunta dos experimentos; e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, com o auxílio do programa Sisvar (FERREIRA, 2000).

## 2ª Etapa: Identificação dos genótipos resistentes às raças de *Bremia lactucae*

### Local de realização do experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Melhoramento Genético de Hortaliças do Departamento de Produção Vegetal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal-SP.

Foram utilizadas quatro raças de *B. lactucae* (SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03 e SPBI:04), que foram inoculadas nos genótipos de alface-crespa ('Amanda', 'Solaris', 'Vanda', 'Vera', JAB 4-13-7 e 'Malice').

A raça de *B. lactucae* SPBI:01 foi identificada no período de 2003 a 2004 na região produtora de alface do Estado de São Paulo (BRAZ et al. 2007), e as raças SPBI:02, SPBI:03 e SPBI:04, no monitoramento de 2006 a 2007.

As raças de *B. lactucae* foram mantidas no freezer a -20°C em tecidos foliares de plântulas, multiplicadas e inoculadas por pulverização em cultivar suscetível Cobham Green (Dm-0/R?), para melhorar a viabilidade e a quantidade de esporos para inoculação nos genótipos.

Para a inoculação, utilizaram-se 40 sementes de cada genótipo, semeadas separadamente em caixas gerbox, sobre papel de germinação. Após a semeadura, as caixas foram acondicionadas em estufas (B.O.D modelo EL 212 eletrolab®) a 13°C, com fotoperíodo de 12h e umidade relativa de 80%). Após 14 dias da semeadura, as plântulas foram inoculadas.

A inoculação de cada raça, nos respectivos genótipos, foi feita de acordo com a técnica de ILOTT et al. (1987). Utilizaram-se esporângios, lavados de tecidos com presença de esporulação, e agitados em água destilada. Os esporângios foram suspensos em água destilada, na concentração de  $1 \times 10^5$  esporângios/mL, e foi realizada a inoculação por pulverização com 5 mL da suspensão por caixa.

Após 15 dias da inoculação, os genótipos foram avaliados quanto à resposta de resistência ou suscetibilidade às raças, sendo as plântulas avaliadas individualmente com auxílio de um microscópio binocular, verificando-se a presença ou a ausência de lesões esporulantes e de necrose, conforme método de VAN ETTEKOVEN & VAN DER AREND (1999). Para cada etapa de inoculação considerada como "teste", foi executada, simultaneamente, outra avaliação para a confirmação dos resultados obtidos.

## Resultados e Discussão

### Avaliação dos genótipos nas duas épocas de cultivo

Pela análise de variância conjunta, observou-se interação significativa (genótipo x época) para todas as características avaliadas, exceto para a altura de plantas (AP) (Tabela 8). Para as características em que houve interação significativa ao nível de 5%, foi feito o desdobramento dessa interação (Tabela 9).

Os coeficientes de variação experimental (CV) variaram de 8,44%, para o caráter diâmetro de plantas, a 19,97%, para massa fresca da parte aérea e produtividade estimada. De modo geral, para a maioria dos caracteres avaliados, os coeficientes de variações experimentais foram considerados baixos, demonstrando boa precisão do experimento.

A massa fresca da parte aérea (MF) dos genótipos apresentou valores significativamente superiores no cultivo de inverno; para essa época de cultivo, destacaram-se como mais produtivos os genótipos JAB 4-13-7 (390,70g), 'Vanda' (380,00g), 'Vera' (324,82g), 'Amanda' (320,62g) e 'Solaris' (319,70g), e com o pior desempenho para 'Malice' (241,65g); porém nas condições de verão, 'Solaris' (368,77g) apresentou maior valor, não diferindo apenas de JAB 4-13-7 (334,42g) (Tabela 9).

Esses valores estão acima dos relatados por FARIA JUNIOR et al. (2000) em cultivo protegido, no Estado de São Paulo, de 142,7 e 130,2g, para as cultivares Marisa e Verônica, respectivamente, com coeficiente de variação de 11%.

Para altura de plantas (AP), não houve interação entre os fatores. Na média geral dos genótipos cultivados no inverno, os mesmos foram superiores aos genótipos no cultivo de verão. Os genótipos de alface no cultivo de verão, que mostraram as maiores alturas de plantas, foram, 'Solaris' e 'Vanda'. Para o inverno, não se obtiveram respostas diferenciadas significativas entre os genótipos avaliados (Tabela 9).

RODRIGUES et al. (2008) observaram valores máximos de altura de planta de 20,9 cm, para a cultivar Marisa, resultados semelhantes aos apresentados pelo genótipo JAB 4-13-7 com 20,9 cm de altura.

Tabela 8. Análise de variância conjunta para massa fresca da parte aérea (MF), altura de plantas (AP), diâmetro de planta (DP), número de folhas por planta (NF) e produtividade estimada (PE), de seis genótipos de alface-crespa, em duas épocas de plantio. Jaboticabal-SP, UNESP- FCAV. 2009.

Fonte de variação	GL	QM (Características)					
		MF	AP	DP	NF	PE	
Genótipo	5	28241,83**	34,78**	66,98**	40,77**	294,04**	
Época	1	78206,38**	223,60**	189,60**	65,80**	813,94*	
Genótipo x Época	5	11787,59*	6,27 <sup>NS</sup>	24,55**	34,08**	122,75*	
Bloco (Época)	6	7532,39*	2,14 <sup>NS</sup>	7,49**	3,86**	78,43*	
Resíduo	30	2544,50	4,28	4,07	3,21	26,49	

\* \*\* significativo ao nível de 5% e 1%, respectivamente, pelo teste F.

<sup>NS</sup> não significativo.

Tabela 9. Valores médios para massa fresca da parte aérea (MF), altura de plantas (AP), diâmetro de planta (DP), número de folhas por planta (NF) e produtividade estimada (PE), de seis genótipos de alface-crespa, em duas épocas de plantio. Jaboticabal-SP, UNESP- FCAV. 2009.

Genótipo	*MF (g planta <sup>-1</sup> )		AP (cm)		DP (cm)		NF		PE (t ha <sup>-1</sup> )	
	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno
'Amanda'	226,92Bbc	320,62Aab	12,92b	15,72a	24,50Babc	28,62Aa	13,30Bc	17,77Aab	23,15Bbc	32,71Aab
'Solaris'	368,77Aa	319,70Aab	16,07a	18,32a	28,62Aa	27,55Aab	19,17Aab	16,77Bb	37,62Aa	32,61Aab
'Vanda'	193,00Bc	380,00Aa	11,72b	18,87a	21,25Bc	29,20Aa	12,57Bc	18,72Aab	19,78Bc	38,77Aa
'Vera'	218,87Bbc	324,82Aab	11,95b	17,27a	22,82Bbc	28,05Aa	13,20Bc	16,60Ab	22,33Bbc	33,14Aab
JAB 4-13-7	334,42Aab	390,70Aa	16,50a	20,95a	26,82Aab	27,60Aab	22,17Aa	19,50Aab	34,12Aab	39,86Aa
'Malice'	150,25Bc	241,65Ab	11,07b	14,95a	16,50Bd	23,35Ab	15,57Bbc	21,30Aa	15,33Bc	24,65Ab
Média	248,85	329,52	13,37B	17,68A	23,42	27,39	16,00	18,34	25,39	33,62
D.M.S	86,45	3,12	3,24	2,82	8,82	19,77	10,87	8,82	19,77	19,77
CV(%)	19,77	13,29	8,44	10,87	19,77	10,87	19,77	10,87	19,77	19,77

\* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey, a 5%.

Para diâmetro de plantas (DP), os genótipos também obtiveram os maiores valores no cultivo de inverno, com o pior comportamento para 'Malice' para ambas as épocas de cultivo. No cultivo de verão, 'Solaris' (28,62 cm), JAB 4-13-7 (26,82 cm) e 'Amanda' (24,50 cm) apresentaram os melhores resultados para essa característica (Tabela 9). Os resultados encontrados para o diâmetro de planta de alface foram inferiores aos encontrados por BEZERRA et al. (2005), com a cultivar Great Lakes e similar também para as cultivares Great Lakes, Regina e Verônica (QUEIROGA et al. 2001).

Para o número de folhas (NF), a época de cultivo também influenciou significativamente nos genótipos em teste, obtendo-se maior produção de folhas no cultivo de inverno, destacando-se 'Malice' (21,30), JAB 4-13-7 (19,50), 'Vanda' (18,72) e 'Amanda' (17,77). Já, no cultivo de verão, JAB 4-13-7 (22,17) e 'Solaris' (19,17) apresentaram os maiores números de folhas em relação aos demais genótipos (Tabela 9). SALDANHA et al. (2005) obtiveram número de folhas por planta em média de 16,13, para as cultivares de alface Elba, Lucy Brown, Tainá e Verônica. Esse resultado corrobora os obtidos no cultivo de verão, no presente trabalho.

Segundo OLIVEIRA et al. (2004), na produção de alface, o número de folhas é uma característica importante e está intimamente associado à temperatura do ambiente de cultivo e ao fotoperíodo. As diferenças encontradas no número de folhas concorda com as observações de RADIN et al. (2004), que verificaram diferenças no número de folhas entre as cultivares Regina, Verônica e Marisa, tanto em estufa, como quando cultivadas no campo.

Segundo FILGUEIRA (2003), com temperaturas entre 12°C e 22°C, a alface produz folhas de melhor qualidade e quantidade. A temperatura média no período experimental de cultivo de inverno foi de 21,26°C, valor que se situa dentro da faixa ótima, favorecendo o incremento na produção de folhas.

O comportamento produtivo dos genótipos de alface mensurado pela produtividade estimada (PE) foi superior no cultivo de inverno, dependendo do genótipo. JAB 4-13-7 (39,86 t ha<sup>-1</sup>) também se destacou com maior média entre as produtividades obtidas no cultivo de inverno, apesar de diferir, estatisticamente, somente de 'Malice' (24,65 t ha<sup>-1</sup>), com o pior desempenho entre os genótipos. No cultivo de verão, 'Solaris'

(37,62 t ha<sup>-1</sup>) mostrou melhor desempenho, acompanhado por JAB 4-13-7 (34,12 t ha<sup>-1</sup>) (Tabela 9). As produtividades estimadas dos genótipos estão bem acima da produtividade média do cultivo comercial de alface do Estado de São Paulo, que foi aproximadamente de 17,40 t ha<sup>-1</sup> em 2008 (IEA, 2009).

As produtividades estimadas com máximo de 39,86 t ha<sup>-1</sup> foram superiores às obtidas por LIMA et al. (2004) com alface-crespa, com máximo de 33,25 t ha<sup>-1</sup>. A densidade populacional adotada por LIMA et al. (2004) foi maior do que na presente pesquisa; com isso, houve maior competição relativa das plantas para explorar os recursos do solo e do ambiente, como água, luz e nutrientes disponíveis para a obtenção de produtividades menores.

Tradicionalmente, a alface é mais bem adaptada a temperaturas mais amenas, com maior produção nas épocas mais frias do ano, em condições de campo (OLIVEIRA et al. 2004), com variação de rendimento em função de cultivares e da mudança climática ocorrida durante o ano (DUARTE et al. 1992).

Em síntese, observou-se que a maioria dos genótipos foi afetada significativamente pela época de cultivo. No inverno, os genótipos mostraram os melhores resultados, isso porque, nessa época de cultivo, as temperaturas foram amenas e a umidade relativa alta, condições que proporcionaram aos genótipos expressarem o máximo do seu potencial genético, visto que a espécie *Lactuca sativa* é de origem de clima temperado, do sul da Europa e Ásia ocidental (FILGUEIRA, 2007).

### **Avaliação da resistência dos genótipos às raças de *Bremia lactucae***

As raças de *B. lactucae* SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03 e SPBI:04 foram identificadas pelo monitoramento realizado no período de 2003 a 2007, em regiões produtoras de alface do Estado de São Paulo.

Dentre os genótipos avaliados quanto à suscetibilidade, apenas JAB 4-13-7 e 'Malice' mostraram-se resistentes às quatro raças de *B. lactucae* identificadas. Os demais genótipos apresentaram elevada suscetibilidade, com índices de plantas com lesões esporulantes superiores a 98% (Tabela 10).

Tabela 10. Percentual de plântulas com lesões esporulantes de genótipos de alface-crespa em quatro raças de *Bremia lactucae*. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV. 2009.

Genótipo	Raça			
	SPBI:01	SPBI:02	SPBI:03	SPBI:04
'Amanda'	100%	100%	98%	100%
'Solaris'	100%	100%	100%	100%
'Vanda'	100%	100%	98%	100%
'Vera'	100%	100%	100%	100%
JAB 4-13-7	0%	0%	0%	0%
'Malice'	0%	0%	0%	0%

(0%) Genótipos resistentes. (%) Percentual de plântulas com lesões esporulantes.

O genótipo JAB 4-13-7, desenvolvido para resistência à raça SPBI:01 de *B. lactucae*, após inoculação das três novas raças: SPBI:02, SPBI:03 e SPBI:04, mostrou-se também resistente a estas (Tabela 10). Isso assegura que a resistência do genótipo JAB 4-13-7 ao fungo ainda não foi superada pelas raças identificadas no Estado de São Paulo.

PISSARDI et al. (2006) observaram a resposta de resistência em oito cultivares comerciais de alface tipo crespa à raça SPBI:01 de *B. lactucae* e comprovaram que apenas a cultivar de alface-crespa 'Locarno' se mostrou resistente.

Os resultados observados demonstram que todas as raças do fungo possuem o mesmo espectro de virulência, com respostas semelhantes para cada genótipo testado, refletindo, possivelmente, a mesma capacidade patogênica das raças.

As quatro raças do fungo *B. lactucae* foram avirulentas somente nos genótipos 'Malice' e JAB 4-13-7, e virulentas nos demais genótipos (Tabela 10). Quando o patógeno não possui um gene de avirulência, este não será reconhecido pela planta hospedeira, resultando numa interação compatível (presença de doença). Por outro lado, se o fungo apresentar genes de avirulência estes codificam para antígenos que interagem especificamente com o produto dos genes de resistência (R), levando à incompatibilidade (ausência de doença) (JOHAL et al. 1995).

Os genes de virulência controlam a especificidade das interações entre as raças de um determinado patógeno e linhagens de uma mesma espécie de planta hospedeira (FLOR, 1955, 1956).

## Conclusões

1. Os genótipos 'Amanda', 'Solaris', 'Vanda', 'Vera', JAB 4-13-7 e 'Malice' apresentaram os melhores desempenhos das características agronômicas no inverno.
2. Para as condições de verão, JAB 4-13-7 e 'Solaris' apresentaram os melhores desempenhos das características agronômicas.
3. JAB 4-13-7 é o mais indicado para os cultivos de verão e inverno, pelo bom desempenho e resistência às raças de *B. lactucae*.
4. 'Malice', apesar da resistência às quatro raças de *B. lactucae* avaliadas, mostrou pior comportamento produtivo.

## Referências

AGRISTAR DO BRASIL LTDA **Alface**. Disponível em: <<http://www.agristar.com.br>>. Acesso em: 19 out. 2009.

BENNETT, M.; GALLAGHER, M.; FAGG, J.; BESTWICK, C.; PAUL, T.; BEALE, M.; MANSFIELD, J. The hypersensitive reaction, membrane damage and accumulation of autofluorescent phenolics in lettuce cells challenged by *Bremia lactucae*. **Plant Journal**, Oxford, v. 9, n. 6, p. 851-856, 1996.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 2, p. 455-492.

BEZERRA NETO, F.; ROCHA, R. C. C.; NEGREIROS, M. Z.; ROCHA, R. H.; QUEIROGA, R. C. F. Produtividade de alface em função de condições de sombreamento e temperatura e luminosidade elevada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 189-192, 2005.

BONNIER, F. J. M.; REININK, K.; GROENWOLD, R. Genetic analysis of *Lactuca* accessions with new major genes resistance to lettuce downy mildew. **Phytopathology**, St. Paul, v. 84, n. 5, p. 462-468, 1994.

BORÉM, M.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2005, p. 341-361.

BRAZ, L. T.; DALPIAN, T.; PISSARDI, M. A. Identification of races of *Bremia lactucae* in São Paulo, Brazil. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 760, p. 317-321, 2007.

BRUGGEN, A. H. C.; SCHERM, H. **Compendium of lettuce diseases**: downy mildew, Saint Paul: Aps Press, 1997. p. 17- 19

BRUNINI, O.; LISBÃO, R. S.; BERNARDINI, J. B.; FORNASIER, J. B.; PEDRO JUNIOR, M. J. Temperaturas básicas para alface, cultivar White Boston, em sistemas de unidades térmicas. **Bragantia**, Campinas, v. 19, n. 35, p. 213-219, 1976.

CÁSSERES, E. **Producción de hortalizas**. São José-Costa Rica: Instituto Interamericano de Ciências Agrícolas, 1980. 387 p.

CATI. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. **Mapas da agricultura paulista: principais atividades agrícolas**. Disponível em: <<http://www.cati.sp.gov.br/servicos/index.htm>>. Acesso em: 25 mar. 2008.

CRUTE, I. R. The genetic basis of relationships between microbial parasites and their host. In: FRASER, R. S. S. (Ed.), **Mechanisms of resistance in plant diseases**, Dordrecht, Junk, 1985, p. 80-142.

CRUTE, I. R.; DIXON, G. R. Downy mildew diseases caused by the genus *Bremia* Regel. In: SPENCER, D. M. (Ed.), **The downy mildews**. London: Academic Press, 1981. p. 421-459.

CRUTE, I. R.; NORWOOD, J. M.; GORDON, P. L. The occurrence, characteristics and distribution in the United Kingdom of resistance of phenylamide fungicides in *Bremia lactucae* (lettuce downy mildew). **Plant Pathology**, Oxford, v. 36, n. 3, p. 297-315, 1987.

CRUTE, L. R.; JHONSON A. G. The genetic relationship between races of *Bremia lactucae* and cultivars of *Lactuca sativa*. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 83, n. 1, p. 125- 137, 1976.

DALPIAN, T. BRAZ. L. T.; VAN DER AREND, A. J. A.; CAMARGO, M.; GRILLI, G. V. G.; First *Bremia lactucae* fysio identification in Brasil. **Eucarpia leafy vegetables conference** 19-21 march 2003. Noordwijkerhout. 2003.

DATNOFF, L. E.; NAGATA, R. T.; RAID, R. N. Pathotyping of *Bremia lactucae* in Florida. **Plant Disease**, St Paul, v. 78, n. 9, p. 854-857, 1994.

DAVIS, R. M.; SUBBARAO, K. V.; RAID, R. N.; KURTZ, E. A. **Compendium of lettuce diseases**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1997. 79 p.

DELLA VECCHIA, P. T.; KOCH, P. S.; KIKUCHI, M. Vera: nova cultivar de alface-crespa resistente ao florescimento prematuro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.17, n. 2, p.171, 1999.

DUARTE, R. L. R.; SILVA, P. H. S.; RIBEIRO, V. Q. Avaliação de cultivares de alface nos períodos chuvosos e secos em Teresina - PI. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 2, p. 106-108, 1992.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa, 1999. 412p.

FARIA JUNIOR, M. J. A.; SOUZA, R. A. R.; HORA, R. C. Cultivo de alface em ambiente protegido, sob diferentes níveis de sombreamento, em duas épocas de plantio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, supl. p. 232-233, 2000.

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

FERREIRA, D. F. **Sistemas de análises estatísticas, 3.1**. Lavras-MG, FAEPE. UFLA/PEX, 2000.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**. 2. ed. Viçosa: UFV. 2003. 412 p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2007, p. 300-306.

FLOR, H. H. Host-parasite interactions in flax rust, its genetics and other implications. **Phytopathology**, St. Paul, v. 45, p. 680-685, 1955.

FLOR, H. H. The complementary genic systems in flax and flax rust. **Advances Genetics**, New York, v. 8, n. 1, p. 29-54, 1956.

HORTEC TECNOLOGIA DE SEMENTES. **Manual de informações técnicas: Sementes de hortaliças, doenças, pragas e desordens fisiológicas**. Bragança Paulista, 2001. 108 p.

IEA. Instituto de Economia Agrícola. **Estatísticas da produção vegetal, por produto, total do Estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/fanu-pre.htm>>. Acesso em: 25 maio 2009.

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

INGRAM, D. S.; SARGENT, J. A.; TOMMERUP, I. C. Structural aspects of infection by biotrophic fungi. In: FRIEND, J.; THRELFALL, D. R. **Biochemical aspects of host-parasite relationships**. London: Academic Press, 1976. p. 43-78.

JOHAL, G. S.; GRAY, J.; GRUIS, D.; BRIGGS, S. P. Convergent insights into mechanisms determining disease and resistance response in plant-fungal interactions. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 73, supl. 1, p. 468-474, 1995.

KOCH, M. F.; BLOK, I. Inheritance of virulence in *Bremia lactucae* to match several resistance factors in lettuce. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 91, n. 1, p. 15-26, 1985.

LEBEDA, A.; PETRZELOVÁ, L. Variation and distribution of virulence phenotypes of *Bremia lactucae* in natural populations of *Lactuca serriola*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 53, n. 4, p. 316-324, 2004.

LEBEDA, A.; PINK, D. A. C.; ASTLEY, D. Aspects of the interactions between wild *Lactuca* spp. and related genera and lettuce downy mildew (*Bremia lactucae*). In: Spencer-Phillips PTN, GISI, U.; LEBEDA, A. (Ed.), **Advances in downy mildew research**. Dordrecht: Kluwer Academic Press, p. 85-117, 2002.

LEBEDA, A.; REININK, K. Histological characterization of resistance in *Lactuca saligna* to lettuce downy mildew (*Bremia lactucae*). **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 44, n. 1, p. 125-139, 1991.

LENANO, F. **Como se cultivam las hortalizas de hojas**. Barcelona: Editorial Vecchi, 1973. 228 p.

LIMA, A. A.; MIRANDA, E. G.; CAMPOS, L. Z. O.; CUZNATO JÚNIOR, W. H.; MELO, S. C.; CAMARGO, M. S. Competição das cultivares de alface Vera e Verônica em dois espaçamentos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 314-316, 2004.

MAPA, Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento: **sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>> Acesso em: 10 out. 2009.

MICHELMORE, R. W.; INGRAM, D. S. Recovery of progeny following sexual reproduction of *Bremia lactucae*. **Transactions of the British Mycological Society**. v. 77, n. 1, p. 131-137, 1981.

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

NORWOOD, J. M.; MICHELMORE, R. W.; CRUTE, L. R.; INGRAM, D. S. The inheritance of specific virulence in *Bremia lactucae* (downy mildew) to match resistance factors 1, 2, 4, 6 and 11 in *Lactuca sativa* (lettuce). **Plant Pathology**, Oxford, v. 32, n. 2, p. 177-186, 1983.

OLIVEIRA, A. C. B.; SEDYIAMA, M. A. N.; PEDROSA, M. W.; GARCIA, N. C. P.; GARCIA, S. L. R. Divergência genética e descarte de variáveis em alface cultivada sob sistema hidropônico. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 211-217, 2004.

PAVAN, M. A.; KRAUSE-SAKATE, R.; KUROZAWA, C. Doenças da alface. In: KIMATI, K.; AMORIM, L.; RESENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 4. ed. v. 2, p. 27-33, 2005.

PISSARDI, M. A.; DALPIAN, T.; BRAZ, L. T. Caracterização de cultivares de alface quanto à resistência a *Bremia lactucae*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 46., 2006, Goiânia-GO. **Anais...** 1 CD-ROM.

PISSARDI, M. A.; DALPIAN, T.; BRAZ, L. T.; CAMARGO, M. Identificação do comportamento de *Bremia lactucae* no polo produtor de alface-americana do sul de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45., 2005 Fortaleza-CE. **Anais...** 1 CD-ROM.

QUEIROGA, R. C. F.; BEZERRA NETO, F.; NEGREIROS, M. Z.; OLIVEIRA, A. P.; AZEVEDO, C. M. S. B. Produção de alface em função de cultivares e tipos de tela de

sombreamento nas condições de Mossoró. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 3, p. 192-196, 2001.

RADIN, B.; REISSER JÚNIOR, C.; MATZENAUER, R.; BERGAMASCHI, H. Crescimento de cultivares de alface conduzidas em estufa e a campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 178-181, 2004.

RAID, R. N.; DATNOFF, L. E. Loss of the EBDC fungicides: impact on control of downy mildew of lettuce. **Plant Disease**, St. Paul, v. 74, n. 10, p. 829-831, 1990.

RAIJ, B. V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: IAC, 1997. 285 p. (Boletim Técnico, 100).

RODRIGUES, A. B.; MARTINS, M. I. E. G.; ARAÚJO, J. C. C. Avaliação econômica da produção de alface em estufa. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 27-33, 1997.

RODRIGUES, I. N.; LOPES, M. T. G.; LOPES, R.; GAMA, A. S.; MILAGRES, C. P. Desempenho de cultivares de alface na região de Manaus. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 4, p. 524-527, 2008.

RYDER, E. J. Lettuce breeding In: BASSET, M. J. **Vegetables breeding crops**. Westport: AVI Publising. p. 433-474, 1986.

SAKATA SEEDS SUDAMERICA LTDA. **Hortaliças: Alface**. Disponível em:<<http://www.sakata.com.br>>. Acesso em: 19 de out. 2009.

SALDANHA, T. R. F. C.; NEGREIROS, M. Z.; BEZERRA NETO, F.; GUIMARÃES, R. A. S. Cultivares de alface-crespa em sistemas solteiro e consorciado com cenoura. **Caatinga**, Mossoró, v. 18, n. 3, p.176-184, 2005.

SCHETTINI, T. M.; LEGG, E. J.; MICHELMORE, R. W. Insensitivity to metalaxyl in California populations of *Bremia lactucae* and resistance of California lettuce cultivars to downy mildew. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, n. 1, p. 64-70, 1991.

SEMINIS VEGETABLE SEEDS. **Alface**. Disponível em: <<http://www.seminis.com.br>>. Acesso em: 19 de out. 2009.

SU, H.; VAN BRUGGEN, A. H. C.; SUBBARAO, K. V.; SCHERM, H. First, Sporulation of *Bremia lactucae* Affected by Temperature, Relative Humidity, and Wind in Controlled Conditions. **Phytopathology**, St. Paul, v. 94, n. 4, p. 396-400, 2004.

SUBBARAO, K. V.; HUBBARD, J. C.; SCHULBACH, K. F. Comparison of lettuce diseases and yield under subsurface drip and furrow Irrigation. **Phytopathology**, St paul, v. 87, n. 8, p. 877-883, 1997.

SUTTON, J. C.; HILDEBRAND, P. Environmental water in relation to *Peronospora destructor* and related pathogens. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 7, n. 3, p. 323–330, 1985.

VAN DER AREND, A. J. M.; GAUTIER, J.; GRIMAUULT, V.; KRAAN, P.; VAN DER LAAN, R.; MAZET, J.; MICHEL, H.; SCHUT, J. W.; SMILDE, D.; WITTE, I. J. Identification and denomination of new races of *Bremia lactucae* in BY IBEB UNTIL 2006. **The International Bremia Evaluation Board- IBEB**. Europa. 2006.

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

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

VERHOEFF, K. On the parasitism of *Bremia lactucae* Regel on lettuce. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 66, n. 3, p. 133-203. 1960.

VIEIRA, B. S.; BARRETO, R. W. First record of *Bremia lactucae* Infecting *Sonchus oleraceus* and *Sonchus asper* in Brazil and its Infectivity to lettuce. **Journal of Phytopathology**, St Paul, v. 154, n. 1, p. 84-87, 2006.

VIGGIANO, J. Produção de sementes de alface. In: CASTELLANE, P. D. (Org). **Produção de sementes de hortaliças**. Jaboticabal: FCAV/FUNEP, p. 1-19, 1990.

WALKER, J. C. **Desiase of vegetable crops**. Mc Graw-Hill Book. EUA. p. 212-214. 1952.

WU, B. M.; SUBBARAO, K. V.; VAN BRUGGEN, A. H. C. Factors affecting the survival of *Bremia lactucae* sporangia deposited on lettuce leaves. **Phytopathology**, St. Paul, v. 90, n. 8, p. 827–833, 2000.

YURI, J. E.; MOTA, J. H.; RESENDE, G. M.; SOUZA, R. J.; RODRIGUES JUNIOR, J. C. Desempenho de cultivares de alface tipo americana em cultivo de outono no sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 2, p. 284-288, 2004.