

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

**OCORRÊNCIA DE RAÇAS DE *Bremia lactucae* NO
ESTADO DE SÃO PAULO NO TRIÊNIO 2008 - 2010, E
DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS DE ALFACE
CRESPA RESISTENTES**

Renata Castoldi
Engenheira Agrônoma

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro de 2011

**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 NOS ANOS DE 2008, 2009 E
2010, E DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS DE ALFACE
CRESPA RESISTENTES**

Renata Castoldi

Orientadora: Profa. Dra. Leila Trevizan Braz

Co-Orientadora: Profa. Dra. Margarete Camargo

Co-Orientador: Dr. Tagli Dalpian

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

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro de 2011

Castoldi, Renata
C354o Ocorrência de raças de *Bremia lactucae* no Estado de São Paulo no triênio 2008 - 2010, e desenvolvimento de linhagens de alface crespa resistentes / Renata Castoldi. -- Jaboticabal, 2011
x, 56 f. : ie.; 28 cm

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011.

Orientadora: Leila Trevizan Braz

Banca examinadora: Érika Auxiliadora Giacheto Scaloppi, Joaquim Adelino de Azevedo Filho, Pablo Forlan Vargas, Rita de Cássia Panizzi.

Bibliografia

1. *Lactuca sativa* L. 2. genes DM. 3. míldio I. Título. II. Jaboticabal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU: 635.52

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

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

RENATA CASTOLDI - nascida em 25 de junho de 1982 na cidade de São Roque-SP, filha de João Carlos Castoldi e Sandra Aparecida Mendes Castoldi. Graduiu-se em Engenharia Agrônoma em 06 de janeiro de 2006, pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Durante toda a graduação realizou estágio na área de Olericultura, sendo, no ano de 2004, bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Obteve título de mestre em Agronomia (Produção Vegetal) em fevereiro de 2008, pela mesma Universidade, onde, durante 24 meses desenvolveu o projeto da dissertação, como bolsista da FAPESP, além de outros trabalhos com hortaliças. Em março de 2008 ingressou no curso de doutorado em Agronomia (Produção Vegetal) pela mesma Faculdade, tendo desenvolvido o projeto de tese como bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), cujos resultados estão descritos neste exemplar.

“Na multidão de conselhos está a sabedoria”

“Porque a sabedoria serve de sombra, como de sombra serve o dinheiro; mas a excelência da sabedoria é que ela dá vida ao seu possuidor”

(Eclesiastes 7, 12)

A

Deus pelo dom da vida e da saúde.

Aos

Meus pais, Sandra e João Carlos, e a minha irmã Fernanda, pessoas mais do que especiais na minha vida, que me dão força para sempre continuar lutando e acreditando na vitória.

DEDICO

Ao

Meu eterno amigo e conselheiro Hamilton, que me apoiou e esteve ao meu lado nos bons e nos maus momentos, tanto da minha vida pessoal quanto da profissional.

OFEREÇO

“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e semeando, no fim terás o que colher.”

Cora Corlina

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo amor demonstrado e por guiar cada passo da minha vida;

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV-UNESP), por me fornecer esse gigantesco espaço e professores capacitados que me ajudaram subir mais um degrau da vida;

À minha orientadora Profa. Dra. Leila Trevizan Braz, pela confiança depositada e estrutura fornecida para execução deste trabalho;

Ao meu Co-orientador Dr. Tagli Dalpian e a minha Co-Orientadora Profa. Dra. Margarete Camargo, pela valiosa co-orientação e ensinamentos;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de Auxílio Financeiro, processo nº 2008/55767-6; e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de doutorado;

À Banca Examinadora, pelas excelentes sugestões de correção;

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal, em especial à Nádia Lynn Oliveira, Sidinéia de Aguiar Ferreira e Wagner Aparecido Tarina (Bola), presentes todos os dias, ajudando-me nas tarefas diárias, bem como tornando meu dia mais divertido;

Aos antigos e atuais funcionários do Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais, João Mota da Silva, Tiago de Souza Sieno, Inauro Santana de Lima, Cláudio Oian e Reinaldo Aparecido dos Santos (Tilápia), pela convivência agradável e auxílio prestado;

Aos amigos formados durante o curso de pós-graduação, que me ajudaram, de alguma forma, durante toda a implantação desse experimento e que serão lembrados eternamente, em especial ao Hamilton, Pablo, Adelita, Danilo, Anarlete e Amanda;

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DA LITERATURA	02
2.1. <i>Bremia lactucae</i>	02
2.2. Identificação de raças de <i>Bremia lactucae</i>	03
2.3. Melhoramento genético para resistência de alface ao míldio.....	06
3. MATERIAL E MÉTODOS	09
3.1. Identificação de raças de <i>Bremia lactucae</i>	09
3.2. Obtenção de linhagens resistentes.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1. Identificação de raças de <i>Bremia lactucae</i> no triênio 2008 – 2010	26
4.2. Seleção de linhagens de alface crespa resistentes ao míldio.....	47
5. CONCLUSÕES	51
6. REFERÊNCIAS	51

**OCORRÊNCIA DE RAÇAS DE *Bremia lactucae* NO ESTADO DE SÃO PAULO
NO TRIÊNIO 2008 - 2010, E DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS DE
ALFACE CRESPA RESISTENTES**

RESUMO: A alface é a hortaliça folhosa de maior consumo no Brasil, no entanto a dificuldade em produzi-la vem aumentando, principalmente pela infestação das áreas de produção por *Bremia lactucae*, sendo necessário o monitoramento anual para utilização ou desenvolvimento de cultivares resistentes. Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram: identificação de raças de *B. lactucae* no Estado de São Paulo, durante os anos de 2008, 2009 e 2010 e obtenção de linhagens de alface crespa resistentes às raças SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03, SPBI:04, SPBI:05, SPBI:06 e SPBI:07. Na primeira fase do estudo foram coletadas nos meses de agosto, setembro e outubro de 2008; agosto e setembro de 2009; e junho e julho de 2010 folhas de alface com esporângios de *B. lactucae* nos principais municípios produtores de alface do Estado de São Paulo. Após a multiplicação dos esporângios na cultivar suscetível Solaris, com posterior inoculação nas diferenciadoras, realizaram-se as avaliações, no mesmo dia do aparecimento da primeira esporulação na cultivar suscetível Cobham Green (DM 0). Na segunda fase do estudo realizou-se o cruzamento entre a cultivar Argeles e a linhagem JAB 4-13-7, bem como autofecundações, até a obtenção da geração F₃, quando realizou-se o teste de resistência. Os dados permitiram concluir que: três novos códigos “Sextet” para *Bremia lactucae* ocorreram no Estado de São Paulo: 63/63/33/00, 63/63/02/00 e 63/31/03/00, denominados raças SPBI:05, SPBI:06 e SPBI:07, respectivamente; recomenda-se a utilização dos genes R-17, R-18 e R-38 como fontes de resistência ao míldio para o desenvolvimento de cultivares no Estado de São Paulo; e 19 progênies resistentes à *B. lactucae*, raças SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03, SPBI:04, SPBI:05, SPBI:06 e SPBI:07, apresentaram-se homocigotas, e podem ser avançadas e avaliadas no processo de seleção.

Palavras – Chave: *Lactuca sativa* L., genes DM, míldio

OCCURRENCE OF *Bremia lactucae* RACES IN SÃO PAULO STATE, IN THE PERIOD 2008 - 2010, AND DEVELOPMENT OF RESISTANT LETTUCE STRAINS.

ABSTRACT: Lettuce is the most consumed leafy vegetable in Brazil. Its production, nonetheless, is meeting with increasing difficulties mainly due to the infestation of producing areas with *Bremia lactucae*. Thus, the annual monitoring of *B. lactucae* races becomes of essential importance to use or development of resistant cultivars. The objectives of this work were identification of new races of *B. lactucae* occurring during the years of 2008, 2009 and 2010 in the state of São Paulo, Brazil, and development of resistant lettuce cultivars to races SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03, SPBI:04, SPBI:05, SPBI:06 and SPBI:07. In the first phase of experiment in August, September, and October of 2008; August and September of 2009; and June and July of 2010 lettuce leaf samples containing *B. lactucae* sporangia were collected in some of the lettuce producing areas of the state of São Paulo. After a multiplication procedure in which the susceptible lettuce cultivar 'Solaris' was used, the *B. lactucae* sporangia were inoculated in differentiating lettuce cultivars. Evaluations of the plants response were performed on the same day when plants of the susceptible Cobham Green (DM 0) cultivar showed signs of the first sporulation. In the second phase of experiment made the crossing between Argeles cultivar and JAB 4-13-7 line, and self pollination, to obtain the F₃ generation, when made the resistant test. The data have identified: three new codes "Sextet" in the state of São Paulo: 63/63/33/00, 63/63/02/00 e 63/31/03/00. SPBI:05, SPBI:06 and SPBI:07 were the denomination proposed to races, respectively. The genes R-17, R-18, and R-38 are suggested to be used as source of resistance in the lettuce cultivars to state of São Paulo; and 19 resistant progenies to *B. lactucae*, races SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03, SPBI:04, SPBI:05, SPBI:06 and SPBI:07, shown homozygous, and they can be advanced and evaluated in the selection process.

Keywords: *Lactuca sativa* L., genes DM, downy mildew

1. INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.), pertencente à família Asteraceae, é uma planta originária da Ásia e trazida para o Brasil pelos portugueses no século XVI. Constitui um grupo de hortaliças de grande interesse, devido sua importância alimentar e valor nutracêutico, apresentando elevados teores de vitaminas e sais minerais, e baixo teor calórico (OSHE et al., 2001).

No Estado de São Paulo, entre os meses de janeiro a julho de 2010, foram comercializadas, no CEAGESP, 29.297 toneladas de alface, predominando no Brasil o grupo cresspa, que contribuiu com 47,34% do total desse volume (13.869 toneladas) (AGRIANUAL, 2011). Na região do Cinturão Verde de São Paulo, encontram-se os maiores produtores, destacando-se, no ano de 2009, Mogi das Cruzes com a maior área de produção (3.402,60 ha) (IEA, 2010). No entanto, áreas menores dessa cultura distribuem-se por todo o Estado, ao redor das principais cidades, sendo seu aumento gradativo com o decorrer dos anos.

Com a intensificação da produção, a dificuldade em se cultivar essa hortaliça também tem aumentado, mesmo em condições de outono e inverno, épocas de temperatura amena e adequada à produção, principalmente pela infestação das áreas de produção pelo fitopatógeno, *Bremia lactucae* Regel, causador do míldio (YURI et al., 2004).

O sintoma da doença inicia-se com a formação de pequenas manchas angulares, de coloração verde-clara a amarelada, na face superior da folha. Com o seu desenvolvimento, a coloração da parte infectada torna-se marrom e, sob condições de alta umidade, o fitopatógeno forma frutificações brancas na face inferior das folhas, causando danos notórios às lavouras (PERSLEY, 1994).

O controle da doença baseia-se na pulverização de plantas com fungicidas sistêmicos, porém o uso contínuo desses produtos pode levar à seleção de patógenos resistentes e de difícil controle. Portanto, o desenvolvimento de cultivares resistentes é uma das medidas de controle mais eficiente e econômica, proporcionando benefícios tanto para os produtores como para os consumidores,

pela redução na utilização de produtos fitossanitários, e conseqüentemente no menor custo de produção e menor impacto ao meio ambiente.

Já existem no mercado cultivares comerciais de alface resistentes a algumas raças de *B. lactucae*, porém o surgimento de novas raças, através da introdução ou mutação de novos genes, pode ocasionar o aparecimento de raças com todos os genes de virulência, capazes de quebrar a resistência dessas cultivares comerciais. Sendo assim, o conhecimento das raças que ocorrem anualmente em diferentes regiões é de grande valia para o desenvolvimento de linhagens resistentes.

Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram: identificação de raças de *B. lactucae* no Estado de São Paulo, durante o triênio 2008 - 2010 e obtenção de linhagens de alface crespa resistentes às raças SPBL:01, SPBI:02, SPBI:03, SPBI:04, SPBI:05, SPBI:06 e SPBI:07.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Bremia lactucae*

O gênero *Bremia* compreende oomicetos da família Peronosporaceae, sendo a espécie *B. lactucae*, um parasita biotrófico, que vive nas células vivas do hospedeiro e que só pode ser cultivado em plantas vivas de alface (MICHELMORE & INGRAM, 1982).

Embora estes organismos exibam um crescimento filamentoso, análises bioquímicas e filogenéticas demonstraram que os oomicetos são distintos dos principais grupos fúngicos e estão mais relacionados com algas marrons heterocontas no Reino Straminipila (SOGIN & SILBERMAN, 1998; KAMOUN et al., 2002). Algumas características que compreendem a classificação destes organismos no Reino Straminipila são a produção de esporos assexuais com flagelos heterocontos (tipo tinsel e chicote), denominados zoósporos; produção de esporos sexuais chamados oósporos, constituído de parede celular de glucano-celulose; fase vegetativa diplóide e crista mitocondrial tubular (ALEXOPOULOS et al., 1996).

O fitopatógeno *B. lactucae* é o agente causal do míldio da alface, uma das doenças mais importantes e severas na cultura, tanto em ambiente protegido como em sistemas convencionais, pois possui alto poder destrutivo, sendo controlado, principalmente, pelo uso de cultivares com fatores de resistência monogênicos (KOCH & BLOK, 1985) ou pela aplicação de fungicidas (WU et al., 2000).

O míldio é particularmente importante em condições ambientais de alta umidade e temperatura amena a baixa, provocando graves prejuízos econômicos aos produtores (LEBEDA et al., 2001).

VAN BRUGGEN & SCHERM (1997) descreveram as lesões de míldio como sendo de coloração verde-clara ou levemente clorótica, tornando-se amarela ou necrótica após a esporulação do fitopatógeno. As lesões são irregulares em tamanho e freqüentemente delimitadas pelas nervuras. Sob condições ambientais ótimas, esporangióforos e esporângios tornam-se visíveis após uma semana, principalmente na face inferior das folhas. Lesões velhas tornam-se necróticas, e os tecidos são invadidos por patógenos saprófitas secundários.

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

De acordo com CRUTE & DAVIS (1977), *Bremia* de alface apresenta tipos patogênicos que variam na sua capacidade de parasitar diferentes genótipos de *Lactuca sativa*, sendo tal variação utilizada para categorizar patótipos como raças fisiológicas.

2.2 Identificação de raças de *Bremia lactucae*

A identificação de uma ampla diversidade genética, tanto em populações de plantas cultivadas, quanto em populações de patógenos são de grande valia para melhoristas de plantas que desejam obter linhagens resistentes a determinada moléstia e/ou fitopatógeno.

No melhoramento de alface visando resistência ao míldio é importante que se identifique a diversidade de raças de *B. lactucae*, bem como o gene que confere resistência às raças encontradas. Para isso, faz-se uso de cultivares diferenciadoras, as quais, segundo VAN ETTEKOVEN & VAN DER AREND (1999) são divididas em quatro grupos, sendo atribuídos valores de 1 a 32 a cada cultivar, como segue:

- Grupo I: Lendnicky (1); UCDm-2 (2); Dandie (4); R4T57D (8); Valmaine (16); Sabine (32).
- Grupo II: LSE 57/15 (1); UCDm-10 (2); Captan (4); Hilde II (8); Pennlake (16); UCDm-14 (32).
- Grupo III: PIVT 1309 (1); CG Dm-16 (2); LS-102 (4); Colorado (8); Ninja (16); Discovery (32).
- Grupo IV: Argeles (1); RYZ 2164 (2); RZY 910457 (4); Bedford (8); Balestra (16); Bellissimo (32).

De acordo com os autores citados acima, surgiram muitas raças de *B. lactucae* em áreas fora da Europa e muita confusão foi criada quanto à identificação das mesmas. Em razão disso criaram-se parcerias entre órgãos públicos e empresas de melhoramento de alface, principalmente da França e da Holanda, com o intuito de uniformizar o sistema de identificação. Para tal, utilizam-se códigos para cada raça, denominados de “Sextet Codes”, evitando que uma mesma raça receba denominações diferentes em distintas regiões do mundo. As cultivares diferenciadoras utilizadas para a formação do “Sextet Codes” são as relacionadas na Tabela 1.

Tabela 1. Relação das cultivares diferenciadoras de alface utilizadas para identificação de raças de *Bremia lactucae* pelo sistema de “Sextet Codes”.

Número do material	Gene Dm	Cultivar/Linhagem
-	DM 0	Cobham Green
-	DM 0	LSR G288
1	DM 1	Lednicky
2	DM 2	UCDM 2
3	DM 3	Dandie
4	DM 4	R4T57D
5	DM 5	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	CG Dm-16
15	R 17*	LS 102
16	R 18*	Colorado
17	R 36*	Ninja
18	R 37*	Discovery
19	R 38*	Argeles
20	-	RYZ 2164 [#]
21	-	RZY 910457 [#]
22	-	Bedford [#]
23	-	Balestra [#]
24	-	Bellisimo [#]

* Genes cuja herança monogênica dominante e posição nos “clusters” do genoma da alface não foram determinados. Em trabalhos científicos, recebem temporariamente a denominação R (VAN ETTEKOVEN & VAN DER AREND, 1999).

[#] Cultivares diferenciadoras cujos genes ainda não foram determinados (VAN DER AREND¹).

BRAZ et al. (2007) verificaram em estudos realizados nos anos de 2003 e 2004 no Estado de São Paulo, a ocorrência predominante da raça SPBl:01, tendo como genes que conferem resistência o R-17, R-18 e R-38. Já em levantamentos

¹VAN DER AREND (Lettuce breeder, Nunhems Seeds – Noordlandseweg 54 – 2691 KM’s – Gravenzande – The Netherlands). Comunicação pessoal, 2009.

nos anos de 2006 e 2007, três novas raças foram constatadas: SPBI:02, SPBI:03 e SPBI:04, tendo como genes de resistência o R-17, R-18, R-37 e R-38 (SOUZA, 2009).

De acordo com o PLANTUM (2010), o International *Bremia* Evaluation Board (IBEB) avaliou diversos isolados de alface no ano de 2009, e verificou que até o momento, existem na Europa 27 raças identificadas, sendo que, a maioria dos focos de míldio em propriedades produtoras de alface, foram causados por novas raças de *B. lactucae*, tendo estas, somente importância local.

O IBEB salienta que, embora as empresas produtoras de sementes apresentem materiais com resistência aos isolados BI:1 ao BI:27, isto não é totalmente seguro contra o fitopatógeno, pois fornece ao produtor apenas proteção temporária, já que através de mutações, a combinação dos vários genes existentes numa mesma cultivar pode ser quebrada (PLANTUM, 2010).

Segundo SCHETTINI et al. (1991), em 18 isolados de *B. lactucae* coletados na Flórida, em alface para processamento e para mercado *in natura*, durante os meses de junho a novembro de 1991, observaram após a inoculação nas cultivares diferenciadoras, que 50% dos isolados eram da raça 4 e 28% dos isolados pertenciam à raça 3. Dessa forma, os autores puderam recomendar as cultivares mais adaptadas ao plantio na Flórida.

2.3 Melhoramento genético para resistência de alface ao míldio

O Brasil é um país com uma enorme aptidão agrícola, sendo que uma das características importantes para esta vasta aptidão é a ampla diversidade climática. Porém, esse fator também favorece o surgimento de moléstias em algumas regiões, reduzindo o potencial de produção em determinadas regiões, e conseqüentemente, levando em alguns casos a perdas de 100% do cultivo, sendo que o melhoramento genético visando à resistência das plantas é uma das maneiras de controle mais eficientes e de reduzido impacto ambiental.

CRUTE & JHONSON (1976) citam que o melhoramento para resistência de alface ao míldio foi iniciado por Jagger em 1924.

Devido às doenças terem se tornado grande ameaça aos campos de produção, a maioria dos programas de melhoramento tem dedicado muito tempo e recursos na busca de genótipos com alta produtividade e elevada resistência a campo (MATIELLO et al., 1997).

Para condução e avaliação de progênies segregantes podem-se utilizar vários métodos de melhoramento, dentre eles, o método de populações, o genealógico ou *Pedigree* e o Single Seed Descendent (BORÉM & VIEIRA, 2009).

O método genealógico foi inicialmente proposto por Hjalman Nilsson, entretanto a primeira descrição completa e detalhada foi apresentada por Love em 1927. Neste método, as plantas fenotipicamente superiores em F_2 são selecionadas visualmente e trilhadas individualmente, obtendo-se as melhores famílias $F_{2:3}$. Essas são semeadas em linhas, sendo, posteriormente, selecionadas dentro das melhores famílias, os indivíduos superiores. O processo é repetido nas sucessivas gerações até $F_{5:6}$ ou $F_{6:7}$, quando as famílias, já praticamente homozigóticas, passam a ser avaliadas em experimentos com repetições (RAPOSO, 1999). Este método é provavelmente o mais empregado pelos melhoristas de plantas autógamas, dentre elas a alface, apresentando várias vantagens, sendo a principal, a possibilidade de se obter um completo registro da origem da família e assim orientar o processo seletivo.

Segundo LEBEDA & SEDLAROVÁ (2003), existem quatro categorias de mecanismos de resistência na interação entre *Lactuca* spp. e *Bremia lactucae*, sendo: não-hospedeiro, raças específicas, raças não-específicas e resistência horizontal. Sabe-se que os eventos cruciais deste patossistema ocorrem nos primeiros estágios da interação patógeno – hospedeiro. Na reação de hospedeiro incompatível, as plantas possuem genes específicos de resistência, exibindo uma sequência de eventos de defesa induzidos pela presença do patógeno. Dentro das interações entre *Lactuca* spp. – *B. lactucae*, nos mecanismos de raça específica e raças não-específicas, observa-se grande variabilidade de reações no hospedeiro, podendo exibir respostas de resistência ou suscetibilidade a nível celular. O

conhecimento destes mecanismos é muito importante para a diversificação de desenvolvimento de cultivares com resistência genética.

A resistência conferida pelos genes DM é, na maioria das vezes, expressa por uma reação de hipersensibilidade (RH) (INGRAM et al., 1976). Essa RH 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 demonstram que há grande diferença no atraso do desenvolvimento de *B. lactucae* em cultivares de alface com mecanismos de resistência diferentes, e também em genótipos com genes DM diferentes (LEBEDA & REININK, 1991).

A relação entre as espécies de *Lactuca* e *B. lactucae* é demonstrada em estudos da especificidade entre patógeno e hospedeiro, pois a genética de ambos é estudada simultaneamente. A resistência e a suscetibilidade de muitas cultivares de alface a diversos isolados do patógeno podem ser explicadas pelo modelo da interação gene-a-gene (CRUTE & JHONSON, 1976).

Genes de resistência dominante (DM genes) correspondem à dominância de genes de avirulência (Avr genes). A combinação de um gene DM e de um gene Avr resulta em interação incompatível, expresso como hipersensibilidade do hospedeiro.

Na interação gene-a-gene de uma relação patógeno-hospedeiro, a especificidade é determinada por um gene de resistência dominante nas plantas que é combinada com um gene de avirulência no patógeno. Entretanto, genes adicionais nas plantas e nos patógenos podem também influenciar a interação (CRUTE, 1985). Muitos trabalhos foram feitos sobre a expressão e estrutura de genes de avirulência e suas funções estão sendo elucidadas.

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.

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

Estudos de herança de virulência específica em *B. lactucae* confirmam uma relação gene-a-gene e comprovam a existência de vinte e quatro genes de resistência (DM-1 a DM-7; DM-10 a DM-16; R-17; R-18; R-36 a R-38 e cinco novas variedades diferenciais com outros genes de resistência ainda não identificados) (PLANTUM, 2010). Em muitos casos, a virulência para cada um dos genes de resistência segregam como um gene dominante simples, independente dos outros fatores (MICHELMORE et al., 1984).

Uma alternativa para diminuir a pressão de seleção seria a rotação de culturas ou o uso de cultivares carregando um ou mais genes de resistência 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 declina rapidamente e assegura que os fatores de resistência correspondentes sejam eficientes (CRUTE & JHONSON, 1976).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Identificação de raças de *Bremia lactucae*

Nos meses de agosto, setembro e outubro de 2008; agosto e setembro de 2009; e junho e julho de 2010, coletaram-se folhas com esporângios de *B. lactucae* (Figura 1) nos principais municípios produtores de alface do Estado de São Paulo (Figura 2): Ribeirão Preto, Jaboticabal, Pirangi, Catanduva, São José do Rio Preto, Atibaia, Salesópolis, Biritiba Mirim, Mogi das Cruzes, Itapira, Mogi

Mirim, Cândido Mota, Presidente Prudente, Echaporã, Marília, Botucatu e Bauru. Cada amostra foi considerada um isolado, totalizando 35, 49 e 56 isolados, respectivamente para os anos de 2008, 2009 e 2010.



Figura 1. Folhas de alface coletadas nos principais municípios produtores de alface, contendo estruturas reprodutivas de *Bremia lactucae* (eflorescência branca).

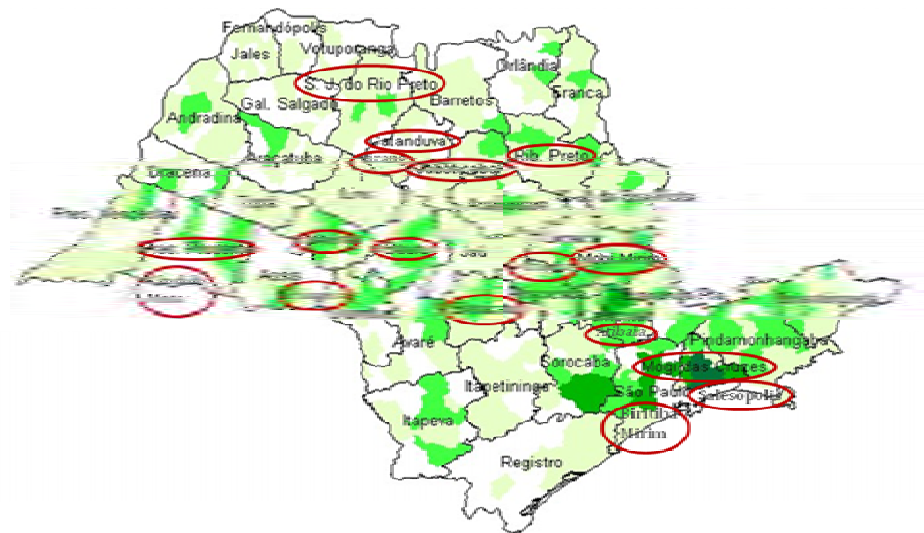


Figura 2. Locais de coleta dos isolados de *Bremia lactucae* no triênio 2008 – 2010 no Estado de São Paulo.

As amostras foram embaladas em sacos plásticos identificados com a região da coleta, nome do produtor, nome da propriedade e nome da cultivar (Tabelas 2, 3 e 4) e acondicionadas em caixas térmicas para o transporte até o Laboratório de Genética e Melhoramento de Olerícolas, do Departamento de Produção Vegetal (UNESP-FCAV).

Tabela 2. Relação dos isolados coletados em 2008 para identificação das raças de *Bremia lactucae* no Estado de São Paulo. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Nº	Região de Coleta	Nome do produtor	Nome da propriedade	Cultivar
1	Ribeirão Preto	Sérgio Luís Paris	Sítio São José	Elisa
2	Ribeirão Preto	Sérgio Luís Paris	Sítio São José	Lucy Brown
3	Ribeirão Preto	Antônio Di Donato	Chácara Sto. Antônio	Isabel
4	Jaboticabal	UNESP/FCAV	Horta Experimental	Lucy Brown
5	Jaboticabal	UNESP/FCAV	Horta Experimental	Karla
6	Jaboticabal	João Bento	---	Tainá
7	Jaboticabal	André	Sítio Santo Antônio	Lucy Brown
8	Biritiba Mirim	Hiroshi Shintati	Sítio Boa Vista	Raider Plus
9	Biritiba Mirim	Hiroshi Shintati	Sítio Boa Vista	Amanda
10	Biritiba Mirim	Flávio Yazawa	Sítio Yazawa	Solaris
11	Biritiba Mirim	Flávio Yazawa	Sítio Yazawa	Elisa
12	Biritiba Mirim	Mauro Massato Takagaki	Sítio Takagaki	Raider Plus
13	Mogi das Cruzes	Luis Yano	---	Doremi
14	Mogi das Cruzes	Luis Yano	---	Sophia
15	Mogi das Cruzes	Cláudio Cajima	---	Vanda
16	Mogi das Cruzes	Mário Okuyama	Sítio Okuyama	Laurel
17	Mogi das Cruzes	Mário Okuyama	Sítio Okuyama	Solaris
18	Mogi das Cruzes	Mário Okuyama	Sítio Okuyama	Elisa
19	Itapira	Maurício Luís de Godoy	Sítio São Lázaro	Estela
20	Itapira	Maurício Luís de Godoy	Sítio São Lázaro	Vanda
21	Itapira	João Benedito Codes	Sítio Santana	Elizabete
22	Itapira	João Benedito Codes	Sítio Santana	Lucy Brown
23	Mogi Mirim	Paulo César Guardia	Chácara do Guardia	Solaris
24	Mogi Mirim	Paulo César Guardia	Chácara do Guardia	Elisa
25	Cândido Mota	Osmar Zanqueta	Sítio Água do Macuco	Lucy Brown
26	Botucatu	Jesumiro de Assis Oliveira	---	Mimosa
27	Botucatu	Jesumiro de Assis Oliveira	---	---
28	Botucatu	---	Horta Comunitária	Lucy Brown
29	Botucatu	Marcos Antônio de Oliveira	---	---
30	Botucatu	Marcos Antônio de Oliveira	---	---
31	Bauru	Silvia Indrigo	Sítio Santa Maria	Vanda
32	Bauru	Silvia Indrigo	Sítio Santa Maria	Elisa
33	Bauru	Lebrino de Jesus	Chácara Bom Jesus	Vera
34	Bauru	Aparecido Ernesto	Chácara do Forno	Lucy Brown
35	Bauru	Claudinéia Amador	Chácara do Forno	Vera

--- Propriedades e cultivares não identificadas pelo produtor.

Tabela 3. Relação dos isolados coletados em 2009 para identificação das raças de *Bremia lactucae* no Estado de São Paulo. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Nº	Região de Coleta	Nome do produtor	Nome da propriedade	Cultivar
1	Ribeirão Preto	Roseli Cristina Alves	Sítio Vista Alegre	Lucy Brown
2	Ribeirão Preto	Roseli Cristina Alves	Sítio Vista Alegre	Vanda
3	Ribeirão Preto	Roseli Cristina Alves	Sítio Vista Alegre	Mimosa X
4	Ribeirão Preto	Sérgio Luís Paris	Sítio São José	Elisa
5	Ribeirão Preto	Sérgio Luís Paris	Sítio São José	Vanda
6	Pirangi	Marcos Antônio Martins	---	Lucy Brown
7	Pirangi	Roseli Karia Lima	---	Verônica
8	Pirangi	Roseli Karia Lima	---	Lucy Brown
9	Catanduva	José Sobrinho	Horta São José	Lucy Brown
10	Catanduva	José Sobrinho	Horta São José	Vanda
11	S. José do Rio Preto	José Carlos	Sítio São Pedro	Mimosa
12	S. José do Rio Preto	José Carlos	Sítio São Pedro	Vanda
13	S. José do Rio Preto	José Carlos	Sítio São Pedro	Elisa
14	S. José do Rio Preto	Augusto Beguelini	Chácara Sto Antônio	Gloriosa
15	S. José do Rio Preto	Augusto Beguelini	Chácara Sto Antônio	Verônica
16	Atibaia	Cidemar Rocha	Sítio Araújo	---
17	Atibaia	Cidemar Rocha	Sítio Araújo	---
18	Atibaia	Cidemar Rocha	Sítio Araújo	---
19	Salesópolis	César Antônio	---	Vanda
20	Salesópolis	César Antônio	---	Elisa
21	Biritiba Mirim	Mário Okuyama	Sítio Okuyama	Sheila
22	Mogi das Cruzes	Luís Yano	---	Mimosa
23	Mogi das Cruzes	Cláudio Cajima	---	Elisa
24	Itapira	Sebastião M. de Moraes	Sítio São Pedro	Vanda
25	Itapira	Sebastião M. de Moraes	Sítio São Pedro	Mimosa
26	Itapira	Maurício Luís de Godoy	Sítio São Lázaro	Estela
27	Itapira	Maurício Luís de Godoy	Sítio São Lázaro	Lucy Brown
28	Mogi Mirim	Paulo César Guardia	Chácara do Guardia	Vanda
29	Mogi Mirim	Paulo César Guardia	Chácara do Guardia	Elisa
30	Mogi Mirim	Paulo César Guardia	Chácara do Guardia	Raider Plus
31	Cândido Mota	Sérgio Martins Freitas	Sítio Santa Luzia	---
32	Cândido Mota	Sérgio Martins Freitas	Sítio Santa Luzia	---
33	Cândido Mota	Osvaldo Sabatieli	---	Elisa
34	Cândido Mota	Osvaldo Sabatieli	---	Vanda
35	Presidente Prudente	José Aparecido Soares	Chácara do Badeco	Solaris
36	Presidente Prudente	José Aparecido Soares	Chácara do Badeco	Lucy Brown
37	Presidente Prudente	José Aparecido Soares	Chácara do Badeco	Vanda
38	Presidente Prudente	José Aparecido Soares	Chácara do Badeco	Elisa
39	Presidente Prudente	Marcos Querubin	Sítio Nova Esperança	---
40	Echaporã	Olinda da Silva Paglione	---	---
41	Marília	Luiz Gonçalves	---	Vanda
42	Marília	Luiz Gonçalves	---	Elisa

Continuação...

Tabela 3. Relação dos isolados coletados em 2009 para identificação das raças de *Bremia lactucae* no Estado de São Paulo. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Nº	Região de Coleta	Nome do produtor	Nome da propriedade	Cultivar
43	Marília	Fábio Taira	---	Verônica
44	Marília	Wanderley Clemente	---	Verônica
45	Marília	Wanderley Clemente	---	Elisa
46	Botucatu	Aparecido Bártoli Dearo	---	---
47	Botucatu	Aparecido Bártoli Dearo	---	---
48	Bauru	Lebrino de Jesus	Chácara Bom Jesus	Vanda
49	Bauru	Mário	---	Mimosa

--- Propriedades e cultivares não identificadas pelo produtor.

Tabela 4. Relação dos isolados coletados em 2010 para identificação das raças de *Bremia lactucae* no Estado de São Paulo. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Nº	Região de Coleta	Nome do produtor	Nome da propriedade	Cultivar
1	Ribeirão Preto	Enzo Távio Mário Pavoni	---	Verônica
2	Ribeirão Preto	Roseli Cristina Alves	Sítio Vista Alegre	Vanda
3	Ribeirão Preto	Roseli Cristina Alves	Sítio Vista Alegre	Lucy Brown
4	Ribeirão Preto	Hanilton	Chácara São Pedro	Lucy Brown
5	Ribeirão Preto	Hanilton	Chácara São Pedro	Mimosa X
6	Jaboticabal	André	Sítio Santo Antônio	Lucy Brown
7	Jaboticabal	André	Sítio Santo Antônio	Verônica
8	S. José do Rio Preto	José Carlos	Sítio São Pedro	Verônica
9	S. José do Rio Preto	José Carlos	Sítio São Pedro	Lucy Brown
10	S. José do Rio Preto	José Carlos	Sítio São Pedro	Mimosa
11	S. José do Rio Preto	José Carlos	Sítio São Pedro	Elisa
12	S. José do Rio Preto	José Carlos	Sítio São Pedro	Vanda
13	Atibaia	Gilberto R. Espinassi	Sítio Santa Isabel	Laurel
14	Atibaia	Gilberto R. Espinassi	Sítio Santa Isabel	Isabel
15	Atibaia	Gilberto R. Espinassi	Sítio Santa Isabel	Raider Plus
16	Salesópolis	Paulo Tomioka	Sítio Tomioka	Verônica
17	Salesópolis	Shuiti Goto	Sítio Goto	Elisa
18	Biritiba Mirim	Mauro Massato Takagaki	Sítio Takagaki	Raider Plus
19	Biritiba Mirim	Mauro Massato Takagaki	Sítio Takagaki	Lucy Brown
20	Biritiba Mirim	João Kato	---	Elisa
21	Biritiba Mirim	João Kato	---	Verônica
22	Biritiba Mirim	Celso R. de Souza	---	Laurel
23	Biritiba Mirim	Jair Prado	---	Verônica
24	Biritiba Mirim	Jair Prado	---	Laurel
25	Mogi das Cruzes	José de Amazonas	Sítio Araújo	Vanda
26	Mogi das Cruzes	Paulo Shentate	---	Elisa
27	Mogi das Cruzes	Paulo Shentate	---	Veneranda

Continuação...

Tabela 4. Relação dos isolados coletados em 2010 para identificação das raças de *Bremia lactucae* no Estado de São Paulo. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Nº	Região de Coleta	Nome do produtor	Nome da propriedade	Cultivar
28	Mogi das Cruzes	Celso Nakamura	---	Brida
29	Mogi das Cruzes	Celso Nakamura	---	Salad Bowl
30	Itapira	João Benedito Codes	Sítio Santana	---
31	Itapira	João Benedito Codes	Sítio Santana	---
32	Mogi Mirim	José Francisco Campos	---	---
33	Mogi Mirim	José Francisco Campos	---	---
34	Mogi Mirim	Paulo César Guardia	Chácara do Guardia	Mauren
35	Mogi Mirim	Paulo César Guardia	Chácara do Guardia	Elisa
36	Cândido Mota	Romualdo	Chácara do Diogo	---
37	Cândido Mota	Romualdo	Chácara do Diogo	---
38	Cândido Mota	Oswaldo Sabatieli	---	Lucy Brown
39	Cândido Mota	Oswaldo Sabatieli	---	Elisa
40	Cândido Mota	Oswaldo Sabatieli	---	Vanda
41	Cândido Mota	Oswaldo Sabatieli	---	Mimosa
42	Presidente Prudente	José Zalpa	Chácara São José	---
43	Presidente Prudente	José Zalpa	Chácara São José	---
44	Presidente Prudente	José Zalpa	Chácara São José	---
45	Presidente Prudente	Mário Sukino	Chácara do Limão	Lucy Brown
46	Echaporã	Olinda da Silva Paglione	---	Lucy Brown
47	Echaporã	Olinda da Silva Paglione	---	Vanda
48	Marília	Antônio Carlos Panteli	Sítio Bela Vista	Tainá
49	Marília	Antônio Carlos Panteli	Sítio Bela Vista	Vanda
50	Botucatu	Aparecido Bártoli Dearo	---	---
51	Botucatu	Aparecido Bártoli Dearo	---	---
52	Botucatu	Ângelo Fumis Filho	Chácara do Fumis	Elisa
53	Botucatu	Alonso Dias Calman	Sítio Boa Vista	Raider Plus
54	Bauru	Silvia Indrigo	Sítio Santa Maria	Tainá
55	Bauru	Silvia Indrigo	Sítio Santa Maria	Vera
56	Bauru	Silvia Indrigo	Sítio Santa Maria	Salad Bowl

--- Propriedades e cultivares não identificadas pelo produtor.

Anualmente, ao término das coletas, realizou-se a multiplicação dos esporângios na cultivar suscetível Solaris, para obtenção de quantidades de esporângios suficientes para utilização no teste de diferenciação.

Obtendo-se quantidades suficientes de esporângios, sementes de 21 cultivares diferenciadoras de alface foram semeadas separadamente em caixas plásticas gerbox (11 x 11 x 3,5 cm), forradas com papel germitex umedecido e dividido em quatro partes iguais, sendo que em cada uma das partes foram semeadas aproximadamente 40 sementes de cada cultivar diferenciadora (Figura

3) e mantidas por 15 dias em câmara de incubação tipo BOD (Biochemical Oxygen Demand) na temperatura de 13°C e fotoperíodo de 12 h. Apesar da existência de 26 cultivares diferenciadoras, cinco delas (RYZ 2164, RZY 910457, Bedford, Balestra e Bellissimo) não foram utilizadas no teste de identificação de raças, pelo fato dos genes DM ainda não terem sido determinados (VAN DER AREND¹).



Figura 3. Semeadura das cultivares diferenciadoras em caixas plásticas gerbox, forradas com papel germitex umedecido e dividido em quatro partes iguais.

Transcorrido o período descrito acima, realizou-se a inoculação com os isolados coletados, de acordo com a técnica de ILOTT et al. (1987), utilizando-se de esporângios lavados de tecidos infestados do hospedeiro e agitados em água destilada. Utilizou-se suspensão com concentração de 5×10^4 esporângios mL⁻¹ e pulverizou-se nas plântulas até o ponto de escorrimento.

Após a inoculação, as caixas foram recolocadas em câmara de incubação tipo BOD com temperatura de 13°C, sendo que durante as seis primeiras horas, foram deixadas em câmara escura e, após esse tempo, o fotoperíodo foi ajustado para 12 horas.

¹VAN DER AREND (Lettuce breeder, Nunhems Seeds – Noordlandseweg 54 – 2691 KM's – Gravenzande – The Netherlands). Comunicação pessoal, 2009.

O monitoramento foi diário e quando houve o aparecimento da primeira esporulação na cultivar suscetível Cobham Green (DM 0), que normalmente variou de 12 a 15 dias, as cultivares diferenciadoras foram avaliadas individualmente, verificando-se a presença ou não de esporulação e de necrose, conforme metodologia proposta por VAN ETTEKOVEN & VAN DER AREND (1999). Essa metodologia baseia-se na colocação de sinais +, (+), - ou (-), de acordo com a porcentagem de níveis de danos nos tecidos vegetais de alface, sendo colocado: +: quando mais de 80% das plântulas apresentam lesões esporulantes; (+): quando mais de 80% das plântulas apresentam pontos necróticos e com muitas lesões esporulantes; -: quando menos de 5% das plântulas apresentam lesões esporulantes; e (-): quando as plântulas apresentam pontos necróticos e com poucas lesões esporulantes.

Materiais que se mostram suscetíveis a determinado isolado tem seus valores somados dentro de cada grupo e o resultado é separado por uma barra, da seguinte forma: 63/63/51/00, como demonstrado na Tabela 5, por meio da exemplificação da utilização do “Código Sextet”.

Para fins de entendimento, o resultado 63/63/51/00 mostra que todas as cultivares do grupo I e II foram suscetíveis ($1 + 2 + 4 + 8 + 16 + 32 = 63$); do grupo III, somente as cultivares LS 102 (R-17) e Colorado (R-18) foram resistentes ($1 + 2 + 0 + 0 + 16 + 32 = 51$); e do grupo IV, todas as cultivares foram resistentes ($0 = 00$). No entanto, somente a cultivar Argeles é utilizada para formar o “Sextet Codes” (mesmo que as outras cultivares recebam sinal (+) ou +), pois as demais cultivares diferenciadoras do grupo IV (RYZ 2164, RZY 910457, Bedford, Balestra e Bellissimo), ainda não possuem seus genes DM identificados.

Tabela 5. Exemplo da utilização do “Sextet Codes” para identificação das raças de *Bremia lactucae* em alface.

Cultivares	Resposta de resistência – ou suscetibilidade +																Código “Sextet”				
	Grupo I				Grupo II				Grupo III				Grupo IV								
Cobham Green	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	63/63/51/00
LSR G288	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	63/31/19/00
Lednický	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	63/63/19/00
UC Dm-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	63/31/51/00
Dandle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
R4T57D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Valmaine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Sabine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
LSE 57/15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
UC Dm-10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Capitan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Hilde II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Pennlake	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
UC Dm-14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
PVT 1309	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
LSE /18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
LS-102	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Colorado	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Ninja	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Discovery	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Argeles	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
RYZ 2164	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
RZY 910457	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Bedford	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Balestra	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Bellissimo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Genes Dm	1	2	3	4	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
Sextet N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
Valor	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	

3.2 Obtenção de linhagens resistentes

A primeira etapa do programa de melhoramento (cruzamentos) foi realizada no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais e a segunda etapa (teste de resistência das linhagens às raças de *B. lactucae*) foi realizada no Laboratório de Genética e Melhoramento de Olerícolas, ambos pertencentes ao Departamento de Produção Vegetal da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal-SP.

Os parentais utilizados na obtenção das linhagens resistentes foram: Argeles (cultivar diferenciadora do grupo crespa, possuidora do gene R-38, que confere resistência as raças SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03, SPBI:04, SPBI:05, SPBI:06 e SPBI:07.) (Figura 4) e a linhagem JAB 4-13-7 (alface do tipo crespa de coloração verde médio brilhante, boa precocidade, média tolerância ao pendoamento precoce, boa tolerância ao Tip Burn, possuidora do gene R-18) (Figura 5) (DALPIAN, 2005).



Figura 4. Cultivar de alface diferenciadora Argeles, possuidora do gene R-38, para resistência à *Bremia lactucae*.



Figura 5. Linhagem de alface crespa JAB 4-13-7, possuidora do gene R-18 para resistência à *Bremia lactucae*.

O objetivo principal deste cruzamento foi a obtenção de linhagens de alface do tipo crespa, com os genes R-18 e R-38, os quais podem conferir maior

longevidade à resistência de tal planta, minimizando os problemas de quebra de resistência, muito comum no desenvolvimento de cultivares de alface resistentes ao míldio.

Para obtenção das linhagens com resistência às sete raças de *B. lactucae* encontradas no Estado de São Paulo, utilizou-se o Método genealógico, tendo como padrão para as seleções a cultivar Hortência (cultivar do tipo crespa, que apresenta ciclo de 55 a 60 dias; plantas grandes e uniformes, adaptadas para o plantio durante o ano todo em cultivo convencional ou também hidroponia; possui folhas grandes e boa base de planta, possibilitando um maior rendimento no encaixamento; tolerante ao pendoamento precoce e ao "Tip Burn") (HORTEC, 2011); bem como a linhagem JAB 4-13-7.

Os cruzamentos foram conduzidos em casa de vegetação no período de 30-01-2009 a 14-11-2010 em área experimental do Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais, pertencente ao Departamento de Produção Vegetal, nas dependências da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP–FCAV), Câmpus de Jaboticabal-SP, cujas coordenadas geográficas são 21° 14' 05" Latitude Sul, 48° 17' 09" Longitude Oeste e altitude de 614 m.

A semeadura dos parentais foi realizada no dia 30-01-2009, em bandejas de poliestireno expandido, com capacidade para 288 células, preenchidas com substrato Plantmax® HA.

As bandejas foram acondicionadas em ambiente protegido do tipo arco, com dimensões de 15 m de comprimento, 7 m de largura, 3 m de pé-direito e com cobertura de polietileno de baixa densidade (PEBD), de 150 micrometros de espessura, sendo a irrigação realizada duas vezes ao dia.

O espaçamento utilizado foi de 0,30 x 0,55 m para melhor manejo da cultura e realização dos cruzamentos.

O transplante ocorreu 31 dias após a semeadura, em 02-03-2009, em casa-de-vegetação, quando as plantas apresentavam 3 ou 4 folhas definitivas. Para isto removeram-se as mudas da bandeja e colocaram-nas no local definitivo, anteriormente preparado, conforme sistema convencional (aração e gradagem),

calcareado, para elevar a saturação por bases a 80%, e adubado cinco dias antes do transplante, conforme os resultados da análise química do solo (Tabela 6).

A adubação de plantio constou de 40 kg ha⁻¹ de N, 50 kg ha⁻¹ K₂O e 200 kg ha⁻¹ P₂O₅. Foram efetuadas três adubações em cobertura, sendo a primeira aos 10 dias após o transplante, e as demais em intervalos de 10 dias, totalizando 70 kg ha⁻¹ de N (TRANI et al., 1997).

Tabela 6. Resultados da análise química do solo da área experimental.

pH	M.O	P	K	Ca	Mg	H+Al	SB	T	V
		mg.dm ⁻³			mmol _c . dm ⁻³				%
4,8	21	73	4,0	26	12	52	42	94	45

O sistema de irrigação utilizado foi por gotejamento, com turno diário para manter o solo sempre úmido e adequado para um melhor desenvolvimento da cultura.

O cruzamento entre os parentais foi realizado no período da manhã, sendo que primeiramente as pétalas das flores dos genitores femininos foram lavadas para eliminar o pólen (Figura 6-A), e então realizou-se a polinização com as flores coletadas dos genitores masculinos (Figura 6-B).

Tanto a cultivar Argeles, quanto a cultivar JAB 4-13-7 foram utilizadas como doadoras e receptoras de pólen. Esse procedimento foi adotado, pois algumas características desejáveis como formato de planta, tolerância ao pendoamento precoce, tolerância a queima de bordos entre outras recebem influência da herança materna.

Com os cruzamentos dos parentais, obteve-se a geração F₁. A semeadura, bem como o transplante e a condução desta geração ocorreu da mesma maneira conforme especificado anteriormente, sendo a semeadura realizada em 10-12-2009 e o transplante em 06-01-2010.

Todas as plantas da geração F₁ foram autofecundadas e suas sementes colhidas para dar origem a geração F₂. Nesta geração (F₁), escolheram-se quatro plantas oriundas de cada um dos cruzamentos.

As oito progênies foram semeadas em 06-05-2010 e transplantadas em 07-06-2010, da mesma forma como descrito anteriormente para os parentais.

Para cada progênie semeou-se 144 sementes, levando-se em consideração que as sementes poderiam não germinar, ou que poderia ocorrer a morte de alguma plântula, sendo, no entanto, transplantadas 66 plântulas (Figura 7).



Figura 6. Lavagem das pétalas da flor do genitor feminino (6-A), cruzamento do genitor feminino com o genitor masculino (6-B) e flor identificada após cruzamento (6-C).



Figura 7. Plantas de alface transplantadas da geração F_2 em ponto de seleção.

Na geração F_2 realizou-se seleção das melhores plantas dentro de cada linha, mantendo-se no campo apenas as plantas que apresentavam folhas de coloração verde-clara e com alta crespicidade, com tamanho grande, com ausência de brotações laterais e tolerantes ao pendoamento precoce e queima dos bordos.

Após a seleção e autofecundação das plantas, as mesmas floresceram e produziram sementes para geração F_3 .

As linhas advindas dessa geração foram denominadas de, respectivamente, F_3 (JAB x A) e F_3 (A x JAB), para aquelas provenientes do cruzamento JAB 4-13-7 x Argeles e Argeles x JAB 4-13-7 e codificadas conforme as Tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Relação das progênies de alface obtidas a partir do cruzamento entre a linhagem JAB 4-13-7 e a cultivar diferenciadora Argeles. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Geração F₁	Geração F₂	Código
Planta 1	Planta 1	F ₃ (JAB x A) 1-1
	Planta 2	F ₃ (JAB x A) 1-2
	Planta 3	F ₃ (JAB x A) 1-3
	Planta 4	F ₃ (JAB x A) 1-4
Planta 2	Planta 1	F ₃ (JAB x A) 2-1
	Planta 2	F ₃ (JAB x A) 2-2
	Planta 3	F ₃ (JAB x A) 2-3
Planta 3	Planta 1	F ₃ (JAB x A) 3-1
	Planta 2	F ₃ (JAB x A) 3-2
	Planta 3	F ₃ (JAB x A) 3-3
	Planta 4	F ₃ (JAB x A) 3-4
	Planta 5	F ₃ (JAB x A) 3-5
	Planta 6	F ₃ (JAB x A) 3-6
Planta 4	Planta 1	F ₃ (JAB x A) 4-1
	Planta 2	F ₃ (JAB x A) 4-2
	Planta 3	F ₃ (JAB x A) 4-3
	Planta 4	F ₃ (JAB x A) 4-4
	Planta 5	F ₃ (JAB x A) 4-5

Tabela 8. Relação das progênies de alface obtidas a partir do cruzamento entre a cultivar diferenciadora Argeles e a linhagem JAB 4-13-7. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Geração F₁	Geração F₂	Código
Planta 1	Planta 1	F ₃ (A x JAB) 1-1
	Planta 2	F ₃ (A x JAB) 1-2
	Planta 3	F ₃ (A x JAB) 1-3
Planta 2	Planta 1	F ₃ (A x JAB) 2-1
	Planta 2	F ₃ (A x JAB) 2-2
	Planta 3	F ₃ (A x JAB) 2-3
Planta 3	Planta 2	F ₃ (A x JAB) 3-2
	Planta 3	F ₃ (A x JAB) 3-3
	Planta 4	F ₃ (A x JAB) 3-4
Planta 4	Planta 1	F ₃ (A x JAB) 4-1
	Planta 2	F ₃ (A x JAB) 4-2
	Planta 3	F ₃ (A x JAB) 4-3
	Planta 4	F ₃ (A x JAB) 4-4
	Planta 5	F ₃ (A x JAB) 4-5
	Planta 6	F ₃ (A x JAB) 4-6
	Planta 7	F ₃ (A x JAB) 4-7
	Planta 8	F ₃ (A x JAB) 4-8
	Planta 9	F ₃ (A x JAB) 4-9
	Planta 10	F ₃ (A x JAB) 4-10
	Planta 11	F ₃ (A x JAB) 4-11
	Planta 12	F ₃ (A x JAB) 4-12
	Planta 13	F ₃ (A x JAB) 4-13
	Planta 14	F ₃ (A x JAB) 4-14
	Planta 15	F ₃ (A x JAB) 4-15
	Planta 16	F ₃ (A x JAB) 4-16
	Planta 17	F ₃ (A x JAB) 4-17
	Planta 18	F ₃ (A x JAB) 4-18
	Planta 19	F ₃ (A x JAB) 4-19
	Planta 20	F ₃ (A x JAB) 4-20
	Planta 21	F ₃ (A x JAB) 4-21
	Planta 22	F ₃ (A x JAB) 4-22
	Planta 23	F ₃ (A x JAB) 4-23
	Planta 24	F ₃ (A x JAB) 4-24
	Planta 25	F ₃ (A x JAB) 4-25
	Planta 26	F ₃ (A x JAB) 4-26
	Planta 27	F ₃ (A x JAB) 4-27
	Planta 28	F ₃ (A x JAB) 4-28
	Planta 29	F ₃ (A x JAB) 4-29
	Planta 30	F ₃ (A x JAB) 4-30

Continuação...

Tabela 8. Relação das progênies de alface obtidas a partir do cruzamento entre a cultivar diferenciadora Argeles e a linhagem JAB 4-13-7. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Geração F ₁	Geração F ₂	Código
	Planta 31	F ₃ (A x JAB) 4-31
	Planta 32	F ₃ (A x JAB) 4-32
	Planta 33	F ₃ (A x JAB) 4-33
	Planta 34	F ₃ (A x JAB) 4-34
	Planta 35	F ₃ (A x JAB) 4-35
	Planta 36	F ₃ (A x JAB) 4-36
	Planta 37	F ₃ (A x JAB) 4-37
	Planta 38	F ₃ (A x JAB) 4-38
	Planta 39	F ₃ (A x JAB) 4-39
	Planta 40	F ₃ (A x JAB) 4-40
	Planta 41	F ₃ (A x JAB) 4-41
	Planta 42	F ₃ (A x JAB) 4-42
	Planta 43	F ₃ (A x JAB) 4-43
	Planta 44	F ₃ (A x JAB) 4-44
	Planta 45	F ₃ (A x JAB) 4-45
Planta 4	Planta 46	F ₃ (A x JAB) 4-46
	Planta 47	F ₃ (A x JAB) 4-47
	Planta 48	F ₃ (A x JAB) 4-48
	Planta 49	F ₃ (A x JAB) 4-49
	Planta 50	F ₃ (A x JAB) 4-50
	Planta 51	F ₃ (A x JAB) 4-51
	Planta 52	F ₃ (A x JAB) 4-52
	Planta 53	F ₃ (A x JAB) 4-53
	Planta 54	F ₃ (A x JAB) 4-54
	Planta 55	F ₃ (A x JAB) 4-55
	Planta 56	F ₃ (A x JAB) 4-56
	Planta 57	F ₃ (A x JAB) 4-57
	Planta 58	F ₃ (A x JAB) 4-58
	Planta 59	F ₃ (A x JAB) 4-59
	Planta 60	F ₃ (A x JAB) 4-60
	Planta 61	F ₃ (A x JAB) 4-61

Para selecionar as linhas 100% resistentes coincidentes com as homozigóticas, 20 sementes de cada linhagem da geração F₃ foram semeadas separadamente em caixas plásticas gerbox (11 x 11 x 3,5 cm), forradas com papel

germitex umedecido e mantidas por 15 dias em câmara de incubação tipo BOD na temperatura de 13°C e fotoperíodo de 12 h.

Transcorrido esse período, realizou-se a inoculação nas linhagens. Utilizou-se a suspensão de uma mistura de isolados coletados nos anos de 2008 a 2010 (mantidos em freezer à -21 °), que continham esporângios de *B. lactucae* das raças SPBL:01, SPBL:02, SPBL:03, SPBL:04, SPBL:05, SPBL:06 e SPBL:07. Para que não ocorresse nenhuma dúvida sobre a resistência ou suscetibilidade das linhagens avaliadas, fez-se o teste e o re-teste de cada linhagem proveniente dos cruzamentos realizados.

A inoculação foi realizada de acordo com a técnica de ILOTT et al. (1987). Após a inoculação, as caixas foram recolocadas em BOD com temperatura de 13°C, sendo que durante as seis primeiras horas, foram deixadas em câmara escura e, após esse tempo, o fotoperíodo foi ajustado para 12 horas.

Quinze dias depois de inoculadas, as plântulas foram selecionadas, descartando-se aquelas que possuíam esporulação de *B. lactucae*.

As progênies que não apresentaram esporulação e/ou necrose foram identificadas para posterior continuação do programa de Melhoramento genético da UNESP-FCAV.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Identificação de raças de *Bremia lactucae* no triênio 2008 - 2010

Os dados encontrados nos testes de diferenciação, realizados nos isolados coletados no ano de 2008 encontram-se nas Tabelas 9, 10, 11 e 12.

Avaliando-se os resultados, identificaram-se quatro codificações de *B. lactucae* nos municípios produtores de alface do Estado de São Paulo no ano de 2008 (63/63/03/00; 63/63/33/00; 63/63/51/00 e 63/63/19/00), sendo que o Código "Sextet" 63/63/03/00 ocorreu com maior frequência, ou seja, 48,57% dos isolados (Tabela 24).

O Código “Sextet” 63/63/03/00 também foi verificado por SOUZA (2009) no ano de 2006, que apesar de pouco frequente, caracterizou uma nova raça, denominada de SPBI:04. Verifica-se que houve dispersão desta raça pelas regiões produtoras de alface do Estado de São Paulo, já que no ano de 2006 estava presente somente na região de Bauru, e no ano de 2008 encontrou-se espalhada em oito dos nove municípios amostrados.

Este fato evidencia a necessidade de monitoramento dos municípios produtores de alface, com o intuito de identificar a presença de novas raças e desenvolver cultivares com genes de resistência.

O código 63/63/33/00 ocorreu em grande parte dos municípios produtores de alface do Estado de São Paulo, de forma abrangente (Ribeirão Preto, Jaboticabal, Mogi das Cruzes, Biritiba Mirim e Botucatu), podendo ser considerado uma nova raça, à qual se propõe a denominação de SPBI:05. A diferença desta raça em relação as demais já encontradas no Estado de São Paulo (SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03 e SPBI:04), consiste na resistência do gene DM-16 na formação do Código “Sextet”. No entanto, esse gene não deve ser usado em programas de melhoramento, pois será suscetível aos códigos 63/63/51/00; 63/63/19/00 e 63/63/03/00, ou seja, as raças SPBI:01, SPBI:03 e SPBI:04.

Tabela 9. Reação de raças *Bremia lactucae* em alface, coletados no Estado de São Paulo durante 2008, nos municípios de Ribeirão Preto (isolados 1 à 3) e Jaboticabal (isolados 4 à 7). Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cultivares diferenciadoras	'Cobhan Green'	LSR G288	Lednický	UC DM2	Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM14	PVT 1309	CG Dm-16	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery	Argelles	Código "Sextet"
Genes DM	-	-	1	2	3	4	5	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18	36	37	38	
Sextet nº	-	-	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																						
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	63/63/33/00
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	63/63/33/00
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	63/63/03/00
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	63/63/33/00
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	63/63/51/00
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	63/63/33/00
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	63/63/33/00

Tabela 11. Reação de isolados de *Bremia lactucae* em alface, coletados no Estado de São Paulo durante 2008, nos municípios de Itapira (isolados 19 à 22), Mogi Mirim (isolados 23 e 24) e Cândido Mota (isolado 25). Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cultivares diferenciadoras	'Cobhan Green'	LSR G288	Lednický	UC DM2	Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM14	PVT 1309	CG Dm-16	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery	Argelles	Código "Sextet"
19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	63/63/51/00
20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	63/63/03/00
21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	63/63/03/00
22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	63/63/51/00
23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	63/63/03/00
24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	63/63/03/00
25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	63/63/03/00

Tabela 12. Reação de isolados de *Bremia lactucae* em alface, coletados no Estado de São Paulo durante 2008, nos municípios de Botucatu (isolados 26 à 30) e Bauru (isolados 31 à 35) e codificações de todas as raças encontradas no respectivo ano (*). Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cultivares diferenciadoras	'Cobhan Green'	LSR G288	Lednický	Grupo 1				Grupo 2				Grupo 3				Arges	Código "Sextet"						
				UC DM2	Dandle	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Capitan	Hilde II	Penlake	UC DM14	PVT 1309			CG Dm-16	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery	
Genes DM	-	-	1	2	3	4	5	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18	36	37	38		
Sextet nº	-	-	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	Resposta de resistência – ou suscetibilidade +												Grupo 3				4					
26	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	63/63/33/00
27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	63/63/19/00
28	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	63/63/33/00
29	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	63/63/03/00
30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	63/63/03/00
31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	63/63/03/00
32	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	63/63/03/00
33	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	63/63/19/00
34	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	63/63/51/00
35	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	63/63/03/00
SPBI:01*	+	+	(+)	(+)	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	-	-	+	+	+	+	63/63/51/00
SPBI:03*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	(-)	+	(-)	(-)	(-)	63/63/19/00
SPBI:04*	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	+	+	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/63/03/00
SPBI:05*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	63/63/33/00

Nas Tabelas 13, 14, 15, 16 e 17, são apresentados os resultados obtidos na avaliação dos 49 isolados coletados no ano de 2009, quanto à resistência ou suscetibilidade aos genes DM ou R, presentes em cultivares de alfaces diferenciadoras.

Dentre os isolados avaliados, identificaram-se quatro códigos de *B. lactucae* no ano de 2009: 63/63/19/00; 63/63/51/00; 63/63/03/00 e 63/63/02/00, aparecendo respectivamente em 44,90%, 26,53%, 24,49% e 4,08% das amostras coletadas (Tabela 24). Verifica-se, no entanto que o novo código encontrado no ano de 2008 (63/63/33/00) não apareceu em nenhum dos isolados coletados no ano de 2009. Isso pode ter ocorrido devido às diferentes pressões de seleção nos distintos anos de coletas, que podem ter sido causadas pelo uso intensivo de fungicidas.

Os dados demonstram a predominância da raça SPBI:03 (63/63/19/00), além da rápida dispersão dos esporângios, já que esta codificação foi identificada no ano de 2007 por SOUZA (2009), e até então não relatada no Brasil.

O Código “Sextet” 63/63/51/00, de ocorrência elevada no ano de 2009, foi verificado no Estado de São Paulo por BRAZ et al. (2007) nos anos de 2003 e 2004, em estudos pioneiros com *B. lactucae* no Brasil, sendo denominada de SPBI:01. No entanto, tornou-se menos frequente nos anos subsequentes (2006 e 2007), com o surgimento de novas raças. Nota-se com isso, que o surgimento de novas raças, ou a dispersão de raças já identificadas de *B. lactucae*, evidencia, cada vez mais, a necessidade de monitoramento de regiões produtoras de alface e programas de melhoramento genético para a obtenção de novas cultivares com diferentes fatores de resistência, já que pode ocorrer introdução ou mutação de novos genes, capazes de quebrar a resistência de cultivares resistentes.

Avaliando-se os resultados por código e comparando-se com os já existentes no Brasil (63/63/51/00; 63/31/19/00; 63/63/19/00 e 63/63/03/00), nota-se que o Código “Sextet” 63/63/02/00, ocorreu pela primeira vez no ano de 2009, sendo denominado, portanto, de raça SPBI:06.

Os genes que conferem resistência a essa nova raça são: DM-15, R-17, R-18, R-36, R-37 e R-38, diferindo das demais raças já encontradas pela resistência do gene DM-15. No entanto, esse gene não deve ser usado em programas de melhoramento, pois será suscetível às raças cujos códigos são 63/63/51/00; 63/31/19/00; 63/63/19/00 e 63/63/03/00.

Tabela 13. Reação de isolados de *Bremia lactucae* em alface, coletados no Estado de São Paulo durante 2009, nos municípios de Ribeirão Preto (isolados 1 à 5), Pirangi (isolados 6 à 8) e Catanduva (isolados 9 e 10). Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cultivares diferenciadoras	'Cobhan Green'	LSR G288	Lednický	UC DM2	Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM14	PIVT 1309	CG Dm-16	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery	Argelles	Código "Sextet"
1	+	+	+	+	+	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(+)	(+)	-	-	+	-	-	63/63/19/00
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	+	(+)	-	-	(+)	-	(-)	63/63/19/00
3	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+	+	(+)	-	(-)	+	-	-	63/63/19/00
4	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	-	-	-	(-)	(-)	63/63/03/00
5	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	-	-	(+)	(-)	(-)	63/63/19/00
6	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	+	(-)	(-)	63/63/19/00
7	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	+	(+)	(+)	+	+	(+)	(+)	-	-	+	+	-	63/63/51/00
8	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	+	+	-	-	(+)	-	-	63/63/19/00
10	+	+	(+)	(+)	+	(+)	(+)	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	-	-	-	-	-	63/63/03/00

Tabela 15. Reação de isolados de *Bremia lactucae* em alface, coletados no Estado de São Paulo durante 2009, nos municípios de Salesópolis (isolados 19 e 20), Biritiba Mirim (isolado 21), Mogi das Cruzes (isolado 22 e 23), Itapira (isolados 24 à 27) e Mogi Mirim (isolados 28 à 30). Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cultivares diferenciadoras	'Cobhan Green'	LSR G288	Lednicky	UC DM2	Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	Resposta de resistência – ou suscetibilidade +										Código "Sextet"			
									Grupo 0			Grupo 1			Grupo 2					Grupo 3		
Genes DM	-	-	1	2	3	4	5	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18	36	37	38	Argelles
Sextet nº	-	-	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	Discovery
Valor	-	-	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	Argelles
Isolados	DM 0		Grupo 1			Grupo 2				Grupo 3				Grupo 4								
19	+	+	(+)	(+)	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	+	(+)	+	+	-	-	-	(-)	(-)	63/63/03/00
20	+	+	(+)	(+)	+	+	+	(+)	+	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+	-	-	+	+	(-)	63/63/51/00
21	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	(+)	+	+	-	-	+	+	-	63/63/51/00
22	+	+	(+)	(+)	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	-	63/63/03/00
23	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	-	(-)	+	-	-	63/63/19/00
24	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	+	(-)	(-)	63/63/19/00
25	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	-	(-)	(-)	(-)	-	63/63/03/00
26	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	63/63/02/00
27	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	+	-	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	+	+	-	63/63/51/00
28	+	+	(+)	+	+	+	(+)	(+)	-	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	+	+	+	63/63/51/00
29	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	+	+	+	63/63/51/00
30	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	+	+	-	63/63/19/00

Tabela 17. Reação de isolados de *Bremia lactucae* em alface, coletados no Estado de São Paulo durante 2009, nos municípios de Marília (isolados 41 à 45), Botucatu (isolados 46 e 47) e Bauru (isolados 48 e 49), e codificações de todas as raças encontradas no respectivo ano (*). Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cultivares diferenciadoras	'Cobhan Green'	LSR G288	Lednicky	UC DM2	Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM14	PIVT 1309	CG Dm-16	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery	Argelles	Código "Sextet"
41	+	+	+	+	(+)	(+)	+	(+)	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	+	(-)	-	63/63/19/00
42	+	+	(+)	+	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	-	(-)	+	(-)	(-)	63/63/19/00
43	+	+	(+)	(+)	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	-	-	+	(-)	(-)	63/63/19/00
44	+	+	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(-)	(-)	+	(-)	-	63/63/19/00
45	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	-	-	+	(-)	(-)	63/63/19/00
46	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	(+)	(-)	(-)	+	(-)	(-)	63/63/19/00
47	+	+	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/63/03/00
48	+	+	+	+	(+)	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	+	(+)	(+)	(-)	-	+	+	(-)	63/63/51/00
49	+	+	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	-	-	+	(-)	(-)	63/63/19/00
SPBI:01*	+	+	(+)	(+)	(+)	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	-	-	+	+	(-)	63/63/51/00
SPBI:03*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	(+)	(-)	(-)	+	(-)	(-)	63/63/19/00
SPBI:04*	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/63/03/00
SPBI:06*	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	(+)	-	-	(-)	(-)	(-)	63/63/02/00

Nas Tabelas 18, 19, 20, 21, 22 e 23, são apresentados os resultados obtidos na avaliação dos 56 isolados coletados no ano de 2011.

Identificaram-se no respectivo ano, seis codificações de *B. lactucae* nos principais municípios produtores de alface do Estado de São Paulo: 63/63/51/00; 63/31/19/00; 63/63/19/00; 63/63/03/00; 63/63/02/00 e 63/31/03/00, sendo que somente o código 63/31/03/00 corresponde a uma nova raça, já que os demais já haviam sido identificados em anos anteriores. Portanto, somando-se aos resultados de BRAZ et al. (2007) e SOUZA (2009), atualmente, no Estado de São Paulo, já foram identificadas sete raças de *B. lactucae*. Dessa forma a nova codificação encontrada recebeu a denominação de raça SPBI:07.

O novo Código “Sextet” (63/31/03/00) não quebra a resistência dos genes DM-14, R-17, R-18, R-36, R-37 e R-38, diferindo das raças SPBL:01; SPBI:02; SPBI:03; SPBI:04; SPBI:05 e SPBI:06, respectivamente, pela resistência dos genes DM-14 e R-36; R-36; DM-14 e R-36; DM-14; DM-14 e R-37; DM-14 e R-36.

Em comparação a outros países como Flórida e Austrália, o Brasil possui uma baixa frequência de raças fisiológicas identificadas, isso porque, segundo BERGAMIN FILHO et al. (1995), em condições brasileiras, o modo de reprodução predominante de *B. lactucae* é a assexuada, gerando menor variabilidade genética.

Avaliando-se os resultados, nota-se que o Código “Sextet” 63/31/03/00 ocorre predominantemente nos isolados coletados de alface no Estado de São Paulo no ano de 2010 (32,14%), sendo verificado em todos os municípios, com exceção de Atibaia, Biritiba Mirim, Mogi das Cruzes e Marília.

As raças encontradas com grande frequência nos anos de 2008 e 2009 (SPBI:04 e SPBI:03, respectivamente), apesar de ocorrerem em menor porcentagem dos isolados, ainda foram frequentes no ano de 2010, aparecendo em 17,86% e 25% das coletas (Tabela 24). No entanto, assim como relatado no ano de 2009, verifica-se que a nova raça encontrada no ano de 2008 (SPBI:05) também não foi detectada nos levantamentos no ano de 2010.

As demais raças encontradas no Estado de São Paulo no ano de 2010, ou seja, SPBI:01, SPBI:02 e SPBI:06 apareceram, respectivamente, em 3,57%, 19,64% e 1,78% (Tabela 24).

Tabela 19. Reação de isolados de *Bremia lactucae* em alface, coletados no Estado de São Paulo durante 2010, nos municípios de São José do Rio Preto (isolados 8 à 12) e Atibaia (isolados 13 à 15). Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cultivares diferenciadoras	DM 0				Grupo 1				Grupo 2				Grupo 3				Grupo 4				Código "Sextet"	
	'Cobhan Green'	LSR G288	Lednický	UC DM2	Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM14	PVT 1309	CG Dm-16	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery		Argelles
Genes DM	-	-	1	2	3	4	5	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18	36	37	38	
Sextet nº	-	-	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	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
8	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
9	+	+	(+)	+	(+)	(+)	+	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	-	(-)	+	-	(-)	63/63/19/00
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	-	+	+	-	(-)	+	-	-	63/31/19/00
11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(-)	+	+	-	-	-	-	-	63/31/03/00
12	+	+	(+)	+	(-)	+	(+)	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
13	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	63/63/03/00
14	(+)	+	(+)	+	+	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	-	-	+	(-)	(-)	63/63/19/00
15	(+)	+	+	(+)	+	(+)	(+)	(+)	+	+	(+)	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00

Tabela 20. Reação de isolados de *Bremia lactucae* em alface, coletados no Estado de São Paulo durante 2010, nos municípios de Salesópolis (isolados 16 e 17), Biritiba Mirim (isolados 18 à 24) e Mogi das Cruzes (isolados 25 à 29). Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cultivares diferenciadoras	'Cobhan Green'	LSR G288	Grupo 1				Grupo 2				Grupo 3				Argêles	Código "Sextet"							
			Lednický	UC DM2	Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM14			P1VT 1309	CG Dm-16	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery	
Genes DM	-	-	1	2	3	4	5	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18	36	37	38		
Sextet nº	-	-	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								
16	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00
17	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	(+)	+	+	+	+	+	+	-	+	(-)	(-)	-	-	-	-	63/63/02/00
18	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	-	-	+	(-)	-	-	63/63/19/00
19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	63/63/03/00
20	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	(+)	-	-	-	-	(-)	-	63/63/03/00
21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	(-)	-	-	-	63/63/03/00
22	(+)	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	63/63/03/00
23	(+)	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(+)	-	-	+	-	-	-	63/63/03/00
24	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	63/63/19/00
25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	63/31/19/00
26	(+)	+	+	+	(-)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	+	-	-	+	-	-	(-)	63/63/19/00
27	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	(-)	63/63/19/00
28	(+)	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	63/63/03/00
29	(+)	+	+	+	(+)	(+)	+	(+)	+	+	(+)	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	63/63/19/00

Tabela 21. Reação de isolados de *Bremia lactucae* em alface, coletados no Estado de São Paulo durante 2010, nos municípios de Itapira (isolados 30 e 31), Mogi Mirim (isolados 32 à 35) e Cândido Mota (isolados 36 à 41). Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cultivares diferenciadoras	Cobhan Green	LSR G288	Lednický	UC DM2	Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM14	PIVT 1309	CG Dm-16	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery	Argeles	Código "Sextet"
30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	63/63/03/00
31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	-	+	+	-	-	-	-	-	63/31/03/00
32	(+)	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	+	(-)	+	(+)	-	(-)	+	-	-	63/31/19/00
33	+	+	(+)	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	(+)	(-)	-	-	-	-	63/31/03/00
34	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+	-	(-)	(-)	-	(-)	63/31/03/00
35	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+	(-)	(-)	-	-	-	63/31/03/00
36	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
37	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	(-)	(-)	-	63/31/03/00
38	(+)	+	+	+	(+)	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+	-	-	-	(-)	(-)	63/63/03/00
39	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	+	-	+	+	-	(-)	(-)	-	-	63/31/03/00
40	(+)	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	63/31/03/00
41	(+)	+	(+)	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+	-	-	-	(-)	(-)	63/31/03/00

Tabela 22. Reação de isolados de *Bremia lactucae* em alface, coletados no Estado de São Paulo durante 2010, nos municípios de Presidente Prudente (isolados 42 à 45), Echaporã (isolados 46 e 47) e Marília (isolados 48 e 49). Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cultivares diferenciadoras	Cobhan Green	LSR G288	Lednický	UC DM2	Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM14	PVT 1309	CG Dm-16	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery	Argeles	Código "Sextet"
Genes DM	-	-	1	2	3	4	5	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18	36	37	38	
Sextet nº	-	-	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																						
Resposta de resistência – ou suscetibilidade +																						
42	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	(-)	+	-	(-)	63/63/19/00
43	+	+	+	(+)	+	(+)	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00
44	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	(+)	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00
45	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+	-	-	-	-	-	63/31/03/00
46	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(-)	+	(+)	-	-	-	-	-	63/31/03/00
47	(+)	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	-	-	+	(-)	(-)	63/63/19/00
48	(+)	+	+	(+)	+	+	+	(+)	(+)	+	(+)	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	63/63/51/00
49	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	63/63/51/00

Tabela 23. Reação de isolados de *Bremia lactucae* em alface, coletados no Estado de São Paulo durante 2010, nos municípios de Botucatu (isolados 50 à 53) e Bauru (isolados 54 à 56), e codificações de todas as raças encontradas no respectivo ano (*). Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cultivares diferenciadoras	'Cobhan Green'		LSR G288		Lednicky	UC DM2	Dandle	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM14	PVT 1309	CG Dm-16	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery	Argelles	Código "Sextet"			
	DM 0	DM 1	DM 2	DM 3	DM 4	DM 5	DM 6	DM 7	DM 8	DM 9	DM 10	DM 11	DM 12	DM 13	DM 14	DM 15	DM 16	DM 17	DM 18	DM 19	DM 20	DM 21	DM 22				
50	(+)	+	(+)	+	+	(+)	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(-)	+	(+)	(-)	-	-	-	-	63/31/03/00			
51	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00			
52	(+)	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00			
53	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+	(-)	-	+	-	-	63/31/19/00			
54	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	(-)	+	+	-	-	+	(-)	-	63/31/19/00			
55	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	(+)	-	-	-	(-)	(-)	63/31/03/00			
56	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	(+)	+	(-)	-	+	(-)	(-)	63/31/19/00			
SPBI:01*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	63/63/51/00			
SPBI:02*	(+)	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	63/31/19/00			
SPBI:03*	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	63/63/19/00			
SPBI:04*	(+)	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	(+)	+	+	(+)	+	+	+	+	-	-	-	(-)	(-)	63/63/03/00			
SPBI:06*	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	(-)	-	-	-	63/63/02/00			
SPBI:07*	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	-	+	(+)	-	-	-	(-)	(-)	63/31/03/00			
Resposta de resistência – ou suscetibilidade +																											
Grupo 1												Grupo 2						Grupo 3						Grupo 4			

Tabela 24. Porcentagem de ocorrência das raças de *Bremia lactucae* nos anos de 2008, 2009 e 2010. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Raças	2008	2009	2010
SPBI:01	14,28%	26,53%	3,57%
SPBI:02	---	---	19,64%
SPBI:03	8,57%	44,90%	25,00%
SPBI:04	48,57%	24,49%	17,86%
SPBI:05*	28,57%	---	---
SPBI:06*	---	4,08%	1,78%
SPBI:07*	---	---	32,14%

*Novas raças; --- Raças não identificadas nos respectivos anos.

4.2 Seleção de linhagens de alface crespa resistentes ao míldio

Pelo método genealógico, selecionaram-se plantas de alface nas gerações F_2 e F_3 , para características desejáveis, tais como: coloração verde-clara e alta crespicidade das folhas, plantas de tamanho grande, ausência de brotações laterais, tolerâncias ao pendoamento precoce e queima dos bordos.

Observa-se que após o teste de resistência, em 88 linhagens F_3 com boas características agrônômicas, somente 19 apresentaram todas as plantas resistentes ao míldio, mantendo-se a proporção esperada nas Leis de Mendel, ou seja de aproximadamente 25% de plantas homozigóticas resistentes (Tabelas 25 e 26).

Pelos resultados apresentados na Tabela 26, a progênie F_2 oriunda da planta 4 F_1 (Argeles x JAB 4-13-7) apresentou o maior número de plantas com características desejáveis se comparado as demais progênies F_2 oriundas das outras plantas, por isso manteve-se para autofecundação maiores quantidades de plantas F_2 oriunda desta planta (61 plantas).

É esperado que progênies F_2 oriundas de plantas F_1 dos mesmos parentais segreguem de forma igual, independente de quais genitores serviram como doador de pólen. No entanto, a diferença observada no atual experimento pode ser explicada ou pelo fato das progênies resultantes do cruzamento Argeles x JAB 4-13-7 não estarem totalmente uniformes, ou por ter ocorrido interações entre os

genomas das duas plantas. Desta forma a colheita de sementes de forma individualizada pode gerar resultados mais interessantes ao melhorista.

Tabela 25. Teste de resistência das linhagens de alface crespa às raças de *Bremia lactucae*: SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03, SPBI:04, SPBI:05, SPBI:06 e SPBI:07, provindas do cruzamento entre JAB 4-13-7 x Argeles. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cruzamentos	Total de plântulas avaliadas	% de plântulas sem pontos necróticos	% de plântulas sem esporulação
(JAB x A) 1-1	20	80,0	100,0
(JAB x A) 1-2	20	50,0	32,5
(JAB x A) 1-3	20	92,5	100,0
(JAB x A) 1-4	20	80,0	67,5
(JAB x A) 2-1	20	90,0	95,0
(JAB x A) 2-2	20	85,0	95,0
(JAB x A) 2-3	20	90,0	97,5
(JAB x A) 3-1	20	40,0	95,0
(JAB x A) 3-2	20	85,0	95,0
(JAB x A) 3-3	20	87,5	100,0
(JAB x A) 3-4	20	95,0	97,5
(JAB x A) 3-5	20	75,0	100,0
(JAB x A) 3-6	20	0,0	77,5
(JAB x A) 4-1	20	70,0	100,0
(JAB x A) 4-2	20	90,0	100,0
(JAB x A) 4-3	20	67,5	100,0
(JAB x A) 4-4	20	90,0	82,5
(JAB x A) 4-5	20	0,0	100,0

Tabela 26. Teste de resistência das linhagens de alface crespa às raças de *Bremia lactucae*: SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03, SPBI:04, SPBI:05, SPBI:06 e SPBI:07, provindas do cruzamento entre Argeles x JAB 4-13-7. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cruzamentos	Total de plântulas avaliadas	% de plântulas sem pontos necróticos	% de plântulas sem esporulação
(A x JAB) 1-1	20	70,0	92,5
(A x JAB) 1-2	20	92,5	100,0
(A x JAB) 1-3	20	65,0	100,0
(A x JAB) 2-1	20	80,0	100,0
(A x JAB) 2-2	20	100,0	55,0
(A x JAB) 2-3	20	0,0	100,0
(A x JAB) 3-2	20	100,0	100,0
(A x JAB) 3-3	20	87,5	100,0
(A x JAB) 3-4	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-1	20	75,0	100,0
(A x JAB) 4-2	20	90,0	100,0
(A x JAB) 4-3	20	95,0	100,0
(A x JAB) 4-4	20	52,5	100,0
(A x JAB) 4-5	20	95,0	100,0
(A x JAB) 4-6	20	90,0	100,0
(A x JAB) 4-7	20	40,0	100,0
(A x JAB) 4-8	20	90,0	90,0
(A x JAB) 4-9	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-10	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-12	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-13	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-14	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-15	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-16	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-17	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-18	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-19	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-20	20	0,0	100,0
(A x JAB) 4-21	20	0,0	100,0
(A x JAB) 4-22	20	25,0	95,0
(A x JAB) 4-23	20	0,0	95,0
(A x JAB) 4-24	20	0,0	95,0
(A x JAB) 4-25	20	0,0	100,0
(A x JAB) 4-26	20	42,5	100,0
(A x JAB) 4-27	20	0,0	100,0
(A x JAB) 4-28	20	80,0	97,5
(A x JAB) 4-29	20	75,0	100,0
(A x JAB) 4-30	20	0,0	100,0

Continuação...

Tabela 26. Teste de resistência das linhagens de alface crespa às raças de *Bremia lactucae*: SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03, SPBI:04, SPBI:05, SPBI:06 e SPBI:07, provindas do cruzamento entre Argeles x JAB 4-13-7. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV, 2011.

Cruzamentos	Total de plântulas avaliadas	% de plântulas sem pontos necróticos	% de plântulas sem esporulação
(A x JAB) 4-31	20	95,0	100,0
(A x JAB) 4-32	20	30,0	100,0
(A x JAB) 4-33	20	0,0	100,0
(A x JAB) 4-34	20	80,0	100,0
(A x JAB) 4-35	20	87,5	100,0
(A x JAB) 4-36	20	55,0	100,0
(A x JAB) 4-37	20	82,5	100,0
(A x JAB) 4-38	20	82,5	100,0
(A x JAB) 4-39	20	70,0	100,0
(A x JAB) 4-40	20	80,0	100,0
(A x JAB) 4-41	20	80,0	100,0
(A x JAB) 4-42	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-43	20	75,0	100,0
(A x JAB) 4-44	20	90,0	100,0
(A x JAB) 4-45	20	80,0	100,0
(A x JAB) 4-46	20	0,0	100,0
(A x JAB) 4-47	20	0,0	100,0
(A x JAB) 4-48	20	50,0	100,0
(A x JAB) 4-49	20	80,0	100,0
(A x JAB) 4-50	20	50,0	100,0
(A x JAB) 4-51	20	50,0	100,0
(A x JAB) 4-52	20	37,5	100,0
(A x JAB) 4-53	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-54	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-55	20	75,0	100,0
(A x JAB) 4-56	20	77,5	100,0
(A x JAB) 4-57	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-58	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-59	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-60	20	100,0	100,0
(A x JAB) 4-61	20	100,0	100,0

5. CONCLUSÕES

Com base nos dados apresentados pode-se concluir que:

- Três novos Códigos “Sextet” para *Bremia lactucae* ocorreram no Estado de São Paulo: 63/63/33/00, 63/63/02/00 e 63/31/03/00, denominados raças SPBI:05, SPBI:06 e SPBI:07, respectivamente;
- Recomenda-se a utilização dos genes R-17, R-18 e R-38 como fontes de resistência ao míldio para o desenvolvimento de cultivares no Estado de São Paulo, pois esses genes, além de conferirem resistência às raças SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03 e SPBI:04, também conferem resistência às raças encontradas no atual levantamento (SPBI:05, SPBI:06 e SPBI:07);
- As progênies: (A x JAB) 3-2; (A x JAB) 3-4; (A x JAB) 4-9; (A x JAB) 4-10; (A x JAB) 4-12; (A x JAB) 4-13; (A x JAB) 4-14; (A x JAB) 4-16; (A x JAB) 4-17; (A x JAB) 4-18; (A x JAB) 4-19; (A x JAB) 4-42; (A x JAB) 4-53; (A x JAB) 4-54; (A x JAB) 4-57; (A x JAB) 4-58; (A x JAB) 4-59; (A x JAB) 4-60 e (A x JAB) 4-61 são resistentes à *B. lactucae*, raças SPBI:01, SPBI:02, SPBI:03, SPBI:04, SPBI:05, SPBI:06 e SPBI:07, apresentaram-se homozigotas, e podem ser avançadas e avaliadas no processo de seleção, para que, futuramente, venham originar cultivares comerciais do tipo crespa.

6. REFERÊNCIAS

AGRIANUAL 2011: **anúário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Agroinformativo, 2011. p. 135.

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. M.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 4. ed. New York; John Willey, 1996. 869 p.

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*. **The Plant Journal**, Oxford, v. 9, n. 6, p. 851-865, 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.

BORÉM, A.; VIEIRA, G. **Melhoramento de plantas**. 5. ed. Viçosa: Editora UFV, 2009. v. 1, 2009, p. 46.

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

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

CRUTE, I. R.; DAVIS, A. A. Specificity of *Bremia lactucae* from *Lactuca sativa*. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 69, n. 3, p. 405-410, 1977.

CRUTE, I. R.; JHONSON, A. G. Breeding for resistance to lettuce downy mildew, *Bremia lactucae*. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 84, n. 2, p. 287-290, 1976.

DALPIAN, T. **Identificação das raças de *Bremia lactucae* que ocorrem nas principais regiões produtoras do Estado de São Paulo, e obtenção de linhagens de alface crespa resistentes**. 47 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

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

HORTEC. Alface Hortência. Disponível em: <<http://www.hortec.com.br/alface-hortencia1.htm>>. Acesso em: 15 mar. 2011.

IEA. Instituto de Economia Agrícola. **Área e produção dos principais produtos da agropecuária**. Disponível em: <http://ciagri.iea.sp.gov.br/bancoiea/subjetiva.aspx?cod_sis=1&idioma=1>. Acesso em: 23 nov. 2010.

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

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.

KAMOUN, S.; DONG, S.; HAMADA, W.; HUITEMA, E.; KINNEY, D.; MORGAN, W. R.; STYER, A.; TESTA, A.; TORTO, T. A. From sequence to phenotype: functional genomics of *Phytophthora*. **Canadian Journal Plant Pathology**, Ontario, v. 24, p. 6-9, 2002.

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

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

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, p. 125-139, 1991.

LEBEDA, A.; SEDLAROVÁ, M. Cellular mechanisms involved in the expression of specificity in *Lactuca* spp. – *Bremia lactucae* interactions. In: EUCARPIA MEETING ON LEAFY VEGETABLES GENETICS AND BREEDING, 2003, Noordwijkehout. **Proceedings...**, p. 55 – 60.

MATIELLO, R. R.; BARBIERI, R. L.; FERNANDO, I. F. C. Resistência das plantas a moléstias fúngicas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 1, p. 161-168, 1997.

MICHELMORE, R. W.; INGRAM, D. S. Secondary homothalism in *Bremia lactucae*. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 78, p. 1-9, 1982.

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

OSHE, S.; DOURADO-NETO, D.; MANFRON, P.A.; SANTOS, O.S. Qualidade de cultivares de alface produzidos em hidroponia. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p.181-185, 2001.

PERSLEY, D. **Diseases of vegetable crops**. Queensland: Department of Primary Industries, 1994. 164 p.

PLANTUM, N. L. 2010, 6 de novembro. **New race of *Bremia lactucae* BI: 27 identified and nominated**. Disponível em: < <http://www.plantum.n/plantum/persberichten/10-05-03.pdf>>. Acesso em: 06 nov. 2010.

RAPOSO, F. V. **Comparação de métodos de condução de populações segregantes de feijoeiro**. Lavras: UFLA, 1999. 72 p.

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**, Saint Paul, v. 81, n. 1, p. 64-70, 1991.

SOGIN, M. L.; SILBERMAN, J. D. Evolution of the protists and protistan parasites from the perspective of molecular systematics. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 28, p. 11-20, 1998.

SOUZA J. O. **Identificação de raças de *Bremia lactucae* no Estado de São Paulo e desenvolvimento de linhagens de alface crespa resistentes**. 2009. 54 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

TRANI, P. E.; PASSOS, F. A.; AZEVEDO FILHO, J. A. Recomendações de adubação e calagem para alface, almeirão, chicória, escarola, rúcula e agrião d'água. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Ed.). **Recomendações da adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: IAC, 1997. p. 168 -169. (Boletim Técnico, 100).

VAN BRUGGEN, A. H. C.; SCHERM, H. Downy milldew. In: DAVIS, R. M.; SUBBARAO, K. V.; RAID, R. N.; KURTS, E. A. **Compendium of lettuce diseases**. Saint Paul: American Phytopathological Society, 1997. p. 17-19.

VAN DER PLANK, J. E. Disease resistance in plants. New York: Academic Press, 1968. 205 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, Olomuc: Czech Republic, **Proceedings...**p. 105 – 107.

YURI, J. E.; RESENDE, G. M.; MOTA, J. H.; SOUZA, R. J.; RODRIGUES JÚNIOR, J. C.. Comportamento de cultivares e linhagens de alface americana em Santana da Vargem (MG), nas condições de inverno. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 322-325, 2004.

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