

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 02/03/2025.

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

**RAÇAS DE *Bremia lactucae* NO BRASIL E
DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS DE ALFACE
RESISTENTES AO PATÓGENO**

**Natáli Vidal do Carmo
Engenheira Agrônoma**

2024

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

**RAÇAS DE *Bremia lactucae* no Brasil e
DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS DE ALFACE
RESISTENTES AO PATÓGENO**

Natáli Vidal Do Carmo

**Orientador: Prof. Dr. Pablo Forlan
Vargas**

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

2024

C287r	Carmo, Natáli Vidal do Raças de <i>Bremia lactucae</i> no Brasil e desenvolvimento de linhagens resistentes ao patógeno / Natáli Vidal do Carmo. -- Jaboticabal, 2024 57 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Pablo Forlan Vargas 1. <i>Bremia lactucae</i> Regel. 2. <i>Lactuca sativa</i> L. 3. Melhoramento genético. 4. Monitoramento. 5. Fenótipos de virulência. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: RAÇAS DE *Bremia lactucae* NO BRASIL E DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS DE ALFACE RESISTENTES AO PATÓGENO

AUTORA: NATÁLI VIDAL DO CARMO

ORIENTADOR: PABLO FORLAN VARGAS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. PABLO FORLAN VARGAS (Participação Virtual)
Departamento de Agronomia / UNESP - Câmpus de Registro/SP



Documento assinado digitalmente
PABLO FORLAN VARGAS
Data: 02/03/2024 11:04:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pesquisadora Dra LARISSA NOGUEIRA DE SOUZA (Participação Virtual)
LNS Pesquisa e Serviços de Agronomia Ltda / Frutal/MG



Documento assinado digitalmente
LARISSA NOGUEIRA DE SOUZA
Data: 04/03/2024 09:07:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. RITA DE CÁSSIA PANIZZI (Participação Virtual)
Departamento de Fitossanidade / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
RITA DE CÁSSIA PANIZZI
Data: 04/03/2024 15:59:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 02 de março de 2024

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

NATÁLI VIDAL DO CARMO, nascida em 12 de dezembro de 1991, na cidade de Tabatinga-SP, filha de Elisa Terezinha Vidal e Edilson Aparecido Umbelino do Carmo. Ingressou no curso de Engenharia Agrônoma em 2015, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal UNESP/FCAV, graduando-se em 2021. Desenvolveu seu Trabalho de Conclusão de Curso na Área de Fitopatologia e Melhoramento Genético de Plantas com ênfase no patógeno *Bremia lactucae* Reagel. Realizou o estágio obrigatório na mesma área no Núcleo de Estudos em Olerícolas e Melhoramento (NEOM) da mesma instituição onde se formou. Em 2022 ingressou o curso de mestrado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/FCAV.

**“Consagre ao Senhor tudo o
que você faz, e os seus planos
serão bem-sucedidos” –
Provérbios 16:3**

DEDICO

A Deus, por todas as bençãos e pela força que me concedeu ao longo desta jornada acadêmica. Aos meus pais Elisa e Edilson, e à minha querida avó Anirce, por serem meus pilares e pelo amor incondicional dedicado a mim todos esses anos. À minha família, pelo apoio e compreensão nos meus dias ausentes.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pois sem Tua orientação e proteção não seria possível chegar até aqui. Agradeço a sabedoria e força que me concedeste, permitindo que eu completasse esse importante capítulo da minha jornada acadêmica.

À minha família, quero expressar minha mais sincera gratidão. O apoio que recebi de cada um de vocês foi fundamental para superar os desafios e alcançar este objetivo. Agradeço por estarem sempre ao meu lado, me encorajando e me apoiando em todos os momentos.

Aos meus amigos, obrigada pela amizade e pelo incentivo nessa fase tão desafiadora. Suas palavras de encorajamento e apoio foram um grande impulso para mim durante todo o processo.

Ao meu orientador, quero agradecer por sua orientação, apoio e paciência. Sua experiência e conhecimento foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço por compartilhar seu tempo e conhecimento comigo, e por me encorajar a alcançar o melhor de mim.

Agradeço também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo 131401/2022-0.

Por fim, agradeço a todos os que, de uma forma ou de outra, contribuíram para o sucesso desta dissertação. Este é um momento de grande alegria e gratidão, e sou profundamente grata por tudo o que foi possível alcançar.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 A Alface	3
2.2 <i>Bremia lactucae</i>	3
3. MATERIAL E MÉTODOS	6
3.1 Coleção de Amostras de <i>Bremia lactucae</i>	6
3.2 Multiplicação das amostras	6
3.3 Diferenciação das amostras	7
3.4. Caracterização das amostras	7
3.5 Determinação da frequência e estabilidade dos principais fenótipos de virulência de <i>B. lactucae</i>	8
3.6 Desenvolvimento de Linhagens Resistentes ao Míldio	8
3.7 Teste de Resistência de Linhagens	9
3.8 Delineamento experimental	10
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
4.1 Padrões dos fatores de virulência no Brasil entre 2015 e 2022	10
4.2 Identificação de novas raças de <i>Bremia lactucae</i> no Brasil entre 2015 e 2022	12
4.3 Teste de resistência das linhagens	20
5 CONCLUSÃO	22
6 REFERÊNCIAS	23
7 APÊNDICE	28

RAÇAS DE *Bremia lactucae* NO Brasil E DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS DE ALFACE RESISTENTES AO PATÓGENO

RESUMO - A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais produzida no mundo. Apesar de ser cultivada o ano todo, seu desenvolvimento é favorecido em temperaturas entre 15° e 25°C e umidade relativa de 60 a 80%. Entretanto, essas condições também favorecem o surgimento de diversas doenças, como o míldio da alface, causado pelo oomiceto *Bremia lactucae* Regel. O método mais eficaz e economicamente viável de controle dessa doença é a utilização de cultivares resistentes. O monitoramento de *B. lactucae* visa dar suporte aos programas de melhoramento genético da alface com foco no desenvolvimento de cultivares resistentes ao míldio. O objetivo foi identificar e caracterizar raças de míldio da alface no Brasil, visando identificar genes de resistência disponíveis para o desenvolvimento de cultivares resistentes ao patógeno. Foram analisados os fenótipos de virulência identificados entre 2015 e 2022. Os fenótipos de virulência que mais se repetiram ao longo do período e nas regiões produtoras foram 31/00/02, 31/00/00, 31/01/00, 51/00/00 e 31/08/02. Esses fenótipos serão definidos respectivamente como raças BI:01BR, BI:02BR, BI:03BR, BI:04BR e BI05:BR nomeadas conforme a ordem e a frequência de ocorrência. Para a etapa de desenvolvimento de linhagens resistentes ao míldio, foram utilizadas sementes de um retrocruzamento na fase F5 de linhagens desenvolvidas pelo programa de Melhoramento de Plantas do NEOM. O retrocruzamento teve como objetivo a introgressão do gene de resistência da cultivar “Balesta” (parental doador) nas linhagens pertencentes ao programa (parental recorrente). Essas sementes foram levadas a campo para a primeira autofecundação. Após autofecundação, colheu-se as sementes de cada planta, separadamente, para testar a resistência em relação às cinco raças de *B. lactucae*. As plântulas testadas apresentaram resistência a algumas raças porém não foi constatado a presença do gene de resistência da Balesta.

Palavras-chave: *Bremia lactucae* Regel, *Lactuca sativa* L., melhoramento genético, monitoramento, fenótipos de virulência

RACES OF *Bremia lactucae* IN BRAZIL AND THE DEVELOPMENT OF LETTUCE LINES RESISTANT TO THE PATHOGEN

ABSTRACT - Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is the most produced leafy vegetable in the world. Despite being cultivated all year round, its development is favored at temperatures between 15° and 25°C and relative humidity of 60 to 80%. However, these conditions also favor the emergence of several diseases such as lettuce downy mildew, caused by the oomycete *Bremia lactucae* Regel. The most effective and economically viable method for producers to control this disease is the use of resistant cultivars. *Bremia lactucae* monitoring aims to support lettuce genetic improvement programs focused on developing cultivars resistant to downy mildew. The objective was to identify and characterize downy mildew races in Brazil, aiming to identify available resistance genes for the development of resistant cultivars against the pathogen. The virulence phenotypes identified between 2015 and 2022 were analyzed. The virulence phenotypes that were most repeated over time and in the monitored regions were 00/31/02, 00/31/00, 01/31/00, 51/00 /00 and 08/31/02. These phenotypes will be defined respectively as breeds Bl:01BR, Bl:02BR, Bl:03BR, Bl:04BR and Bl05:BR named according to the order and frequency of appearance. For the development stage of downy mildew-resistant lines, seeds from a backcross in the F5 phase of lines developed by the NEOM Plant Breeding program were used. The backcrossing aimed to introduce the resistance gene from the “Balesta” cultivar (donor parent) into the lines belonging to the program (recurrent parent). These seeds were taken to the field for the first self-fertilization. After self-fertilization, the seeds of each plant were collected separately to test resistance against the five races of *B. lactucae*. The tested seedlings showed resistance to some races, but the presence of the Balesta resistance gene was not found.

Keywords: *Bremia lactucae* Regel, *Lactuca sativa*, genetic breeding, downy mildew, *Bremia lactucae* monitoring, virulence phenotypes

1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma planta pertencente à família Asteraceae e ao gênero *Lactuca*. São descritas mais de 100 espécies selvagens desse gênero (Ryder, 1999; Filgueira, 2008). É a hortaliça folhosa mais produzida no mundo. O sabor agradável, o valor nutricional e o ciclo curto (60 a 90 dias) favorecem o protagonismo da cultura (Jacinto et al., 2022).

Apesar de ser cultivada o ano todo, seu desenvolvimento é favorecido em temperaturas entre 15° e 25°C e umidade relativa de 60 a 80% (Favarato et al., 2019), ou seja, clima típico do inverno nas principais regiões produtoras do Brasil. Entretanto essas condições também favorecem o surgimento de diversas doenças e a principal delas é o míldio da alface, causada pelo oomiceto *Bremia lactucae* Regel.

O míldio da alface é uma doença causada pelo patógeno biotrófico *Bremia lactucae* e que afeta as folhas da cultura em qualquer fase de desenvolvimento. Seus sintomas iniciam-se com esporulações a face abaxial das folhas e clorose na face adaxial que posteriormente evoluem para necroses causando a morte do tecido foliar.

Essa doença é importante pois ataca a parte aérea das plantas, que é justamente a parte comercializável. Além disso esse patógeno pode causar perdas de até 80% da produção. O controle dessa doença é realizado, pelo produtor, principalmente com aplicação de fungicidas, porém o método de controle mais eficiente e economicamente viável é a utilização de cultivares resistentes.

Além disso, esse patógeno apresenta alta taxa de variabilidade genética e mutações que quebram rapidamente a resistência das cultivares, tornando-a ineficiente. Sendo assim, torna-se preciso que os programas de melhoramento exercitem o fornecimento contínuo de novos genes de resistência aos materiais de alface existentes bem como o monitoramento anual do patógeno.

No Brasil, algumas empresas comercializam sementes de alface caracterizadas como resistentes a diversas raças de *Bremia lactucae*, porém a maioria dessas cultivares são desenvolvidas em programas de melhoramento de outros países e a resistência presente nessas cultivares são relacionadas às raças que não ocorrem no Brasil.

Sendo assim, para o desenvolvimento de cultivares resistentes às raças de *Bremia lactucae* presentes no Brasil, é essencial que exista um programa de

monitoramento anual deste patógeno. Isso se deve ao fato de que a *Bremia lactucae* apresenta alta variabilidade genética, resultando no surgimento recorrente de novas raças. Essa elevada diversidade genética, aliada à sua capacidade de mutação e adaptação, implica que a resistência de uma cultivar a uma raça específica pode não ser eficaz contra outras raças emergentes. Assim, um monitoramento contínuo é essencial para o estudo de genes de resistência eficazes contra esse patógeno e para garantir que as cultivares desenvolvidas permaneçam eficazes ao longo do tempo, com o surgimento de novas variantes do patógeno.

Por isso, o Núcleo de Estudos em Olerícolas e Melhoramento (NEOM) da UNESP – FCAV vêm realizando o monitoramento desse patógeno desde 2003 e desde então identificou 17 raças no estado de São Paulo.

Sendo assim, objetivou-se com o presente estudo realizar o levantamento dos fenótipos de virulência mais encontrados no Brasil de 2015 a 2022 e a identificação de possíveis raças.

5 CONCLUSÃO

Entre 2015 e 2022, foram identificadas cinco raças de *B. lactucae* no Brasil, as quais são derivadas dos fenótipos de virulência 31/00/02, 31/00/00, 31/01/00, 51/00/00 e 31/08/02, sendo denominados BI: 01BR, BI: 02BR, BI: 03BR, BI: 04BR e BI: 05BR.

Quanto ao desenvolvimento de cultivares resistentes, deve-se utilizar os genes de resistência das cultivares “Argeles”, “RYZ2164”, “Bedford”, “Balesta”, “Bartoli” e “Kibrille”, pois essas cultivares foram resistentes às cinco raças.

Em relação às linhagens desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento do NEOM, concluiu-se que as linhagens não receberam o gene de resistência da cultivar “Balesta”.

6 REFERÊNCIAS

Braz LT, Dalpian T, Pissardi MA (2007) Identification of races of *Bremia lactucae* in São Paulo, Brazil. **Acta Horticulturae**, Seoul-Korea 760: 317- 321.

Braz LT, Diniz GMM, Castoldi R, Nunes RC, Galatti FS, Camargo M, Marin MV, Dalpian T, Souza JO, Gomes RF, Rabelo HO (2016) Monitoring races of *Bremia lactucae* in the state of São Paulo from 2003 to 2012. **Acta Horticulturae** 1127: 325–330.

Caprio CH (2021) **Genômica populacional de *Bremia lactucae* e variação fenotípica para resistência em alface no Brasil**. 94 f. Tese (Doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas)) – Unesp, Jaboticabal.

Carvalho, C, Kist, BB (2017) Anuário brasileiro de hortaliças. **Gazeta Santa Cruz**.56 p.

Carvalho, LTS (2021) **Monitoramento de fenótipos de virulência e fatores de resistência à *Bremia lactucae* nas regiões Sul e Sudeste do Brasil**. 28 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal)) – Unesp, Jaboticabal.

Castoldi R, Charlo HCO, Dalpian T, Melo DM, Botelho AP, Braz LT (2012) Identification of new *Bremia lactucae* races in lettuce in São Paulo state. **Horticultura Brasileira** 30:209–213.

Castoldi R, Charlo HCO; Melo DM, Candido W S, Vargas PF, Dalpian T, Braz LT (2014) Obtaining resistant lettuce progenies to downy mildew. **Horticultura Brasileira** 32:69-73, 2014.

Dolar FS, Ebrahimzadh R, Sönmez K, Smilde D, Ellialtıoğlu ŞŞ (2022) Evaluation of the Existence of a New Race of *Bremia lactucae* on Lettuce. **Journal of Horticultural Studies** 39: 28-32.

Fall ML, Van Der HH; Beaulieu C, Carisse O (2015) *Bremia lactucae* infection efficiency in lettuce is modulated by temperature and leaf wetness duration under Quebec field conditions. **Plant Disease** 99:1010–1019.

Favarato LF, Eutrópio FJ, Guarçoni RC, Piassi M, Mendes L (2019) Papel kraft: uma alternativa para o controle de plantas daninhas no cultivo da alface. A produção do Conhecimento nas Ciências Agrárias e Ambientais 4. **Ponta Grossa**, PR: Atena Editora 307p.

Filgueira FAR (2008) Asteráceas. Alface e outras folhosas. In: Filgueira FAR (ed.) **Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna para produção de hortaliças**. Viçosa: UFV. p.300–306.

Filgueira FAR (2013) **Novo manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 421p.

Galatti FS, Castoldi R, Braz LT, Panizzi RC (2012) Monitoramento de raças de *Bremia lactucae* em 2010 e 2011 no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica** 4: 271-279.

ISF - International Seed Federation (2021) The International Bremia Evaluation Board (IBEB) aims to identify new races of *Bremia lactucae* that pose a significant threat to the European lettuce industry. Available at: <http://www.worldseed.org/our-work/plant-health/other-initiatives/ibeb/>. Acessado em Novembro 18, 2023.

ISF - International Seed Federation (2023) The International Bremia Evaluation Board (IBEB) aims to identify new races of *Bremia lactucae* that pose a significant threat to the European lettuce industry. Available at: <http://www.worldseed.org/our-work/plant-health/other-initiatives/ibeb/>. Acessado em Novembro 18, 2023.

Jacinto ACP, Castoldi R, Maciel G, Prado JR, Charlo HCDO (2022) Vertical and Horizontal Resistance of F5:6 Progenies of Carotenoid-Biofortified Lettuce to *Bremia lactucae*. **Revista Caatinga** 35: 857-864.

Lebeda A, Petrželoá I (2010) Screening for resistance to lettuce downy mildew (*Bremia lactucae*). In: Miranda M, Lebeda A. (Ed.). Mass screening techniques for selecting crops resistant to disease, **Vienna IAEA** 245–256.

Lebeda A, Ryder EJ, Grube R, Doležalov AI, Křistkova R (2007) Lettuce (*Asteraceae*; *lactuca spp*). Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement. Boca Raton, Florida USA 472p.

Marin MV, Franco CA, Smilde D, Panizzi RC, Braz LT (2020) Distribution of races and virulence factors of *Bremia lactucae* in the main lettuce production area in Brazil. **Journal of Plant Pathology** 102: 395-407.

Mesquita PG (2008) **Biologia, epidemiologia e controle do míldio (*Bremia lactucae*) da alface (*Lactuca sativa*) em viveiro**. 145 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Unb, Brasília.

Michelmore R, Wong J (2008) Classical and molecular genetics of *Bremia lactucae*, cause of lettuce downy mildew. **European Journal of Plant Pathology** 122: 19-30.

Nunes RC, Castoldi R, Gomes RF, Tobar-Tosse DE, Braz LT (2016) Levantamento de raças do agente causador do míldio da alface no Estado de São Paulo em 2012 e 2013. **Summa Phytopathologica** 1: 53-58.

Okuma IG (2023) **Identificação de fatores de virulência de *Bremia lactucae* em alface nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Sul do Brasil**. 41 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) – Unesp, Jaboticabal.

Rodrigues P (2019) Novas cultivares de alface crespa suportam até dez dias mais o calor. **Embrapa Hortaliças**, São Paulo 61: 403.

Ryder EJ (1999) *Lettuce, Endive and Chicory*. **CABI Publishing**, New York.

Silva RR, Gomes LAA, Monteiro AB, Maluf WR, Carvalho Filho JLS, Massaroto JA (2008) Linhagens de alface-crespa para o verão resistentes ao *Meloidogyne javanica* e ao vírus mosaico-da-alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 10: 1347-1356.

Souza JO, Dalpian T, Braz LT, Camargo M (2011) Novas raças de *Bremia lactucae*, agente causador do míldio da alface, identificadas no estado de São Paulo. **Horticultura Brasileira** 29: 282-286.

Souza LN (2021) ***Bremia lactucae*: monitoramento e estudo da compatibilidade sexual em populações brasileiras**. 72 f. Tese (Doutorado em Agronomia (Produção Vegetal) – Unesp, Jaboticabal.

Tobar-Tosse DE (2015) **Linhagens de alface crespa resistentes a *Bremia lactucae* e interação genótipo x ambiente**. (Tese Doutorado) Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (Câmpus Jaboticabal), Jaboticabal-SP.

UCDavis (2024) A new race of *Bremia lactucae*, BI: 9US, has been identified and nominated in the Western US. Universidade de Davis, California. s.d. Disponível em: <https://bremia.ucdavis.edu/data/BI_9US.pdf>. Acesso em: 18 fev. 2024

Van Ettehoven K, Van Der AA (1999) Identification and denomination of "new" races of *Bremia lactucae*. Proceedings of Eucarpia Meeting on Leafy Vegetables Genetics and Breeding Olomuc. **Czech Republic** p105-107.

Xu Limin (2011) **Development of molecular approaches in the study of lettuce downy mildew (*Bremia lactucae*) population biology.** (Ph.D. thesis) University of Warwick Reino Unido.