

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

IDENTIFICAÇÃO DE FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Bremia lactucae* EM ALFACE NOS ESTADOS DO RIO DE JANEIRO, SÃO PAULO E SUL DO BRASIL

Izabella Garbeline Okuma
Engenheira Agrônoma

2023

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

IDENTIFICAÇÃO DE FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Bremia lactucae* EM ALFACE NOS ESTADOS DO RIO DE JANEIRO, SÃO PAULO E SUL DO BRASIL

Discente: Izabella Garbeline Okuma

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)

2023

O41i

Okuma, Izabella Garbeline

Identificação de fatores de virulência de *Bremia lactucae* em alface nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Sul do Brasil / Izabella Garbeline

Okuma. -- , 2023

41 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal,

Orientador: Pablo Forlan Vargas

1. Míldio. 2. *Lactuca sativa*. 3. Resistência. 4. Fenótipos de Virulência. 5. Cultivares diferenciadoras. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

Impacto potencial desta pesquisa

Esta pesquisa, realizada em colaboração com empresa privada, visa a monitorização do agente causal do míldio da alface (*Bremia lactucae*) nas regiões de produção dessa hortaliça, localizadas no sul e sudeste do Brasil. Desempenhando papel fundamental nos programas de aprimoramento genético da alface, buscando desenvolver resistência genética a essa doença. Dado que existem diferentes fenótipos de virulência, identificar essas variações torna-se fundamental para o sucesso desses programas de melhoria genética.

Potential impact of this research

This research, carried out in collaboration with a private company, aims to monitor the causal agent of downy mildew on lettuce (*Bremia lactucae*) in the regions where this vegetable is produced, located in the south and southeast of Brazil. Playing a key role in lettuce genetic improvement programs, seeking to develop genetic resistance to this disease. Given that there are different virulence phenotypes, identifying these variations is essential for the success of these genetic improvement programs.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: IDENTIFICAÇÃO DE FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Bremia lactucae* EM ALFACE NOS ESTADOS DO RIO DE JANEIRO, SÃO PAULO E SUL DO BRASIL

AUTORA: IZABELLA GARBELINE OKUMA

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)
Agronomia e Recursos Naturais / FCAVRUnesp Registro



Documento assinado digitalmente
PABLO FORLAN VARGAS
Data: 29/06/2023 08:20:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pesquisador Dr. MARCUS VINÍCIUS MARIN (Participação Virtual) Department of Plant Pathology / University of Florida - Wimauma/Flórida - EUA



Documento assinado digitalmente
MARCUS VINICIUS MARIN
Data: 29/06/2023 11:46:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. RITA DE CÁSSIA PANIZZI (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
RITA DE CASSIA PANIZZI
Data: 30/06/2023 09:09:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 28 de junho de 2023

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

IZABELLA GARBELINE OKUMA, nascida em 11 de março de 1996, na cidade de Yokkaichi, no Estado de Mie, Japão, filha de Marcelo Okuma e Keli Regina Carpena Garbeline Okuma. Ingressou no curso de Engenharia Agrônômica em março de 2015, na Universidade Estadual Paulista/UNESP – Câmpus Dracena, Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas/FCAT, graduando-se em fevereiro de 2020. Durante a graduação foi bolsista de Iniciação Científica por dois anos na área de Melhoramento e Produção de soja e milho, e desenvolveu projetos na mesma área por dois anos sem bolsa. Realizou o estágio obrigatório na Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina/EPAGRI, na área de Melhoramento e produção de cebola e batata-doce. Em agosto de 2020 iniciou o curso de mestrado na Universidade Estadual Paulista/UNESP – Câmpus Jaboticabal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/FCAV, pelo programa de Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) sob a orientação do Prof. Dr. Pablo Forlan Vargas.

“Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer.” (Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas bênçãos recebidas em minha vida.

Aos meus pais e irmão, por sempre me apoiarem nessa e em outras empreitadas, me dando todo o suporte que necessitei.

Aos meus avós, Darci e Osvaldo, por me incentivarem e apoiarem nas minhas decisões.

Ao professor Pablo, pelas orientações, incentivo e receptividade durante o período do mestrado.

À Carol Franco, pela parceria com a empresa Agristar do Brasil, pelas orientações durante o desenvolvimento do projeto e por me fazer amar *Bremia*.

Às minhas amigas e porto seguros, Jéssica e Melissa, que levarei pro resto do vida.

Aos colegas e funcionários do NEOM, pelo auxílio no desenvolvimento do projeto, companheirismo e tornarem minha estadia em Jaboticabal melhor.

Aos amigos que fiz em Jaboticabal, por tornarem meus dias melhores.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), pela concessão da bolsa, que me permitiu realizar o curso.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/FCAV pela oportunidade de realização do mestrado.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
3 MATERIAL E MÉTODOS	7
3.1 Coleta dos isolados	7
3.2 Multiplicação dos isolados	17
3.3 Diferenciação dos fenótipos de virulência e obtenção dos códigos sextetos ...	18
3.4 Determinação da frequência, diversidade e complexidade	19
4 RESULTADOS	20
4.1 Determinação e frequência dos fenótipos de virulência	20
4.2 Frequência dos fatores de virulência	32
4.3 Avaliação da diversidade e complexidade	34
5 DISCUSSÃO	35
6 CONCLUSÕES	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

IDENTIFICAÇÃO DE FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Bremia lactucae* EM ALFACE NOS ESTADOS DO RIO DE JANEIRO, SÃO PAULO E SUL DO BRASIL

RESUMO - O míldio é uma doença que afeta a cultura da alface, durante inverno, sob condições de alta umidade e baixa temperatura. O aparecimento de novos fenótipos de virulência tem sido motivo de estudo para programas de melhoramento para detectar novos genes de resistência. Para isso faz-se constante monitoramento para que se possa estudar o desenvolvimento do patógeno. Objetivou-se monitorar o comportamento dos isolados de *B. lactucae* presentes em regiões produtoras do Rio de Janeiro, São Paulo e sul do Brasil em 2020 e 2021. As amostras de folhas com sintomas de *B. lactucae* foram coletadas e posteriormente multiplicadas em genótipo suscetível para início da fase de diferenciação. Os genótipos diferenciadores foram avaliados, atribuindo os seguintes sinais para interpretação dos resultados +, (+), - e (-), conforme a porcentagem de níveis de danos presentes nos genótipos de alface. Em 2020, o fator de resistência presente na cultivar 'Balesta', comum em todos os estados estudados, e o fator de resistência 'Kibrile' encontrado em 2021, concederam resistência aos isolados de *B. lactucae*. Em 2020, os fenótipos de virulência de códigos sextetos 51/00/00, 31/00/00, 29/02/03 e 31/10/02 foram mais frequentes. Em 2021, os mais frequentes foram 31/00/00, 31/01/00, 51/00/00 e 31/00/02. O fator de resistência encontrado na cultivar diferenciadora 'Balesta' é a mais indicada para programas de melhoramento de alface visando resistência ao míldio para as regiões sul e sudeste do Brasil, uma vez que nos últimos anos de monitoramento a maioria dos isolados apresentou resistência a ela.

Palavras-chave: Míldio; *Lactuca sativa*; resistência; fenótipo de virulência; cultivares diferenciadoras.

IDENTIFICATION OF VIRULENCE FACTORS OF *Bremia lactucae* IN LETTUCE IN RIO DE JANEIRO, SÃO PAULO AND SOUTH OF BRAZIL

ABSTRACT - Downy mildew is a disease that affects lettuce crops during winter under conditions of high humidity and low temperature. The appearance of new virulence phenotypes has been a subject of study for breeding programs to detect new resistance genes. For this, constant monitoring is carried out so that the development of the pathogen can be studied. The objective was to monitor the behavior of *B. lactucae* isolates present in producing regions of Rio de Janeiro, São Paulo and southern Brazil in 2020 and 2021. Leaf samples with symptoms of *B. lactucae* were collected and subsequently multiplied into a susceptible genotype to start the differentiation phase. The differentiating genotypes were evaluated, assigning the following signs for interpretation of the results +, (+), - and (-), according to the percentage of damage levels present in the lettuce genotypes. In 2020, the resistance factor present in the 'Balesta' cultivar, common in all states studied, and the 'Kibrile' resistance factor found in 2021, granted resistance to the *B. lactucae* isolates. In 2020, the virulence phenotypes of sextets codes 51/00/00, 31/00/00, 29/02/03 and 31/10/02 were more frequent. In 2021, the most frequent were 00/31/00, 01/31/00, 00/51/00 and 00/31/02. The resistance factor found in the differentiating cultivar 'Balesta' is the most suitable for lettuce breeding programs aiming at resistance to downy mildew in the south and southeast regions of Brazil, since in the last years of monitoring most of the isolates showed resistance to it.

Keywords: Downy mildew; *Lactuca sativa* ; resistance; virulence phenotype; differentiating cultivar.

1 INTRODUÇÃO

Devido ao seu elevado consumo, a alface (*Lactuca sativa* L.) vem sendo considerada a principal hortaliça folhosa cultivada no Brasil, por seu relevante volume de produção e valor comercializado serem atrativos aos produtores (Silva et al., 2020). Desta forma, vem sendo bastante difundida, compondo a nutrição da população mundial, uma vez que é uma hortaliça fonte de vitaminas, fibras e contém propriedades medicinais que promovem e regulam o adequado funcionamento do nosso organismo (Santos Veras et al., 2019).

Em pesquisa realizada pela Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas (Abcsem, 2020), a alface mobilizou cerca de R\$ 8 bilhões apenas no varejo, chegando a uma produção de aproximadamente 2000 a 4000 engradados por hectare, concentrada nas regiões Sudeste e Sul, ficando em terceiro lugar entre as hortaliças, perdendo apenas para batata e tomate. Presume-se que no Brasil há cerca de 66.301 propriedades rurais comerciais produtoras de alface, considerando 30% na região Sudeste, 30% na região Sul, 26% na região Nordeste, 7% na região Centro-Oeste e 6% na região Norte, com produção em torno de 525.602 toneladas (Mendes et al., 2020).

Contudo, vários são os fatores que dificultam e limitam o cultivo desta hortaliça. Um deles é o míldio (*Bremia lactucae* Regel), uma doença que pode acometer a cultura em qualquer estágio de desenvolvimento, desde a fase de mudas até a fase em que a planta atinge o ponto comercial em campo, prestes a ser colhida.

O patógeno pode ser transportado por sementes contaminadas, plantas hospedeiras do mesmo gênero próximas ao local de cultivo, restos culturais contaminados das safras anteriores, água de irrigação ou chuvas, assim como pelo vento (Franco et al., 2021).

O controle do míldio, pode ser realizado por meio de cultivares resistentes e/ou aplicações de fungicidas. Porém, o uso de agroquímicos, tem uma série de fatores prejudiciais, como alto custo, tanto para aquisição quanto de aplicação; permanência dos resíduos no solo e na planta; eficiência reduzida, pois o ciclo da

alface é curto; e a pressão de seleção do patógeno, que pode acarretar em resistência ao fungicida (Petrzelová et al., 2013).

O uso de cultivares resistentes é uma alternativa de controle eficiente devido ao baixo custo para o produtor e por ser ambientalmente correto, pois reduz o uso de produtos fitossanitários. Entretanto, a falta de conhecimento em relação às cultivares resistentes aos comportamentos de míldio encontrados nas regiões produtoras, ainda desfavorece o seu uso (Franco et al., 2021).

Por isso, a importância de realizar monitoramentos e visitas anuais aos produtores de alface, com o intuito de verificar a distribuição e evolução do patógeno nas áreas produtoras, verificar o tipo de manejo realizado e divulgar novas cultivares resistentes ao míldio a partir dos avanços tecnológicos desenvolvidos pelas empresas produtoras de sementes que direcionam trabalhos futuros visando a introgressão de genes de resistência aos diferentes fatores de virulência encontrados.

Por isso, o controle de *Bremia lactucae*, requer uma busca constante por novos genes de resistência e para que se obtenham cultivares resistentes e com características desejáveis, são desenvolvidas pesquisas em programas de melhoramento que visam atender às demandas e exigências tanto do produtor quanto do consumidor, uma vez que o interesse de ambos os grupos são interligados.

Portanto, objetivou-se identificar fenótipos de virulência de *Bremia lactucae* em São Paulo, Rio de Janeiro e na região Sul do Brasil nos anos de 2020 e 2021.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A alface (*Lactuca sativa* L.), procedente da Ásia Ocidental, foi descoberta desde 4.500 a.C., pertence a família das Asteraceae, subfamília Cichoriaceae, inserida no gênero *Lactuca*, que contém mais de 100 espécies. Já era conhecida no antigo Egito quando chegou ao Brasil no século XVI, através dos imigrantes portugueses (Demartelaere et al., 2020a).

Seu elevado consumo, a estima como principal hortaliça folhosa cultivada no Brasil, com um volume de produção considerável e valor de comercialização

atrativos aos produtores (Silva et al., 2020). E para os consumidores: excelente fonte de vitaminas e minerais, rico valor nutricional contendo: ferro, vitamina C, cálcio e potássio, fibras e ainda propriedades anticancerígenas (Demartelaere et al., 2020b).

Normalmente, cultiva-se a alface em canteiros, sendo indispensável o uso de irrigação, principalmente, por aspersão convencional. Ainda, com o aumento da utilização de derivados de plásticos, têm-se observado uma expansão do cultivo da alface em estufas e sob túneis plásticos (Reis Nascimento et al., 2022).

No Brasil as alfaces são classificadas em seis grupos para a comercialização de acordo com o tipo de folha: Crespa; Americana; Lisa; Mimosa; Romana e Roxa, podendo ser colhidas e comercializadas em pacotes com apenas folhas ou a cabeça (Huber e Xavier, 2020).

A alface é uma planta herbácea, de aspecto tenro, com caule reduzido, onde se aderem as folhas (Queiroz et al., 2017). Sendo uma espécie autógama, devido aos mecanismos botânicos presentes na estrutura floral, exibe inflorescência do tipo capítulo composta por aproximadamente 10 a 25 floretes. Cada flor apresenta um óvulo que, posteriormente, formará um só aquênio (Sala e Nascimento, 2014).

A planta cresce em forma de roseta, em volta do caule, formando ou não uma “cabeça”, sua raiz é pivotante com ramificações finas e curtas, e conforme diferentes cultivares podem apresentar folhas lisas ou crespas, com coloração em vários tonalidades de verde ou roxa (Filgueira, 2013).

É uma planta anual com florescimento em condições de dias longos e altas temperaturas, ambientes com temperaturas amenas e dias curtos favorecem a etapa vegetativa do ciclo (Filgueira, 2013). A temperatura ideal para o desenvolvimento está na faixa de 15,5°C a 18,3°C, apesar de tolerar faixas entre 26,6°C a 29,4°C por alguns dias, desde que as temperaturas noturnas sejam baixas. Por ter sua origem em locais de clima temperado, a alface é pouco adaptável a regiões de elevada temperatura e fotoperíodos longos, o que acarreta na redução do ciclo e antecipa a fase reprodutiva (pendoamento), impedindo assim, o ápice do seu potencial genético (Huber e Xavier, 2020).

Doenças e pragas são alguns dos principais fatores que interferem negativamente na produtividade da cultura. No caso da alface, as doenças que

atingem a parte aérea são as de maior preocupação devido ao dano direto causado na parte comercial do produto, podendo ainda ser acometida por outros patógenos que também afetam as raízes e caule. Dessa forma, o conhecimento das características de cada uma delas é de grande importância para alcançar um manejo apropriado para a cultura (Nogueira et al., 2020).

Segundo Lopes et al. (2010) as doenças da parte aérea que mais afetam a alface durante o ciclo produtivo são: Míldio (*Bremia lactucae* Regel); Mancha bacteriana [*Xanthomonas campestris* pv. *vitians* (Brown) Dye]; Septoriose (*Septoria lactucae* Passerini); Mancha de Cercóspora [*Cercospora longissima* (Cugini.) Sacc.]; Podridão de Botrytis (*Botrytis cinerea* Pers); Rizoctoniose (*Rhizoctonia solani* Kuhn); Mosaico (*Lettuce mosaic virus*-LMV); Vira-cabeça [várias espécies: (*Tomato spotted wilt virus* –TSWV), (*Tomato chlorotic spot virus* – TCSV) e (*Groundnut ringspot virus* – GRSV)]; Mosqueado (*Lettuce mottle virus* – LMoV); Engrossamento-das-nervuras [(*Big-vein-Lettuce big vein virus* – LBVV) e (*Mirafiori lettuce big-vein virus* – MLBVV)]; Lettuce Dieback [*Tomato bushy stunt virus* – TBSV e *Lettuce necrotic stunt virus* – LNSV] e outras viroses [(*Cucumber mosaic virus* – CMV) e (*Turnip mosaic virus* – TuMv)].

As doenças radiculares e de caule que restringem o cultivo da alface são: Tombamento (*Pythium* spp.); Podridão de Esclerotínia [*Sclerotinia minor* Jagger, *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary]; Podridão-mole [*Pectobacterium* spp. ou *Dickeya* = *Erwinia* spp. (Jones) Waldee], Nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) (Lopes et al., 2010).

Destas destaca-se o Míldio, (*Bremia lactucae* Regel), principal doença que acomete a cultura da alface durante o inverno, coincidindo com sua principal época de cultivo, quando há baixas temperaturas.

O gênero *Bremia* engloba oomicetos da família Peronosporaceae, uma vez que a espécie *B. lactucae* se caracteriza por ser um parasita biotrófico obrigatório, significa que ele tem seu ciclo de desenvolvimento completo somente enquanto o hospedeiro estiver vivo, restringindo à espécie *Lactuca sativa* e algumas outras pertencentes a família das Asteraceas (Runge et al., 2021).

As condições climáticas durante o inverno brasileiro, com temperatura média de 15,7°C e aumento do período de molhamento foliar, que consequentemente

aumenta a umidade, favorecem o desenvolvimento do patógeno *Bremia lactucae* Regel durante o cultivo da alface, acarretando grandes perdas econômicas e produtivas ao alfacicultor. A maior incidência de míldio ocorre em regiões de temperatura amena, de 4°C a 20°C, que corresponde com as principais regiões produtoras de alface (Souza, 2021).

Este patógeno tem a capacidade de infectar a planta desde a produção de mudas até a colheita, danificando os tecidos foliares, o que compromete a taxa fotossintética da planta (Souza, 2021). Suas lesões têm colorações cloróticas características, passando para amarela ou necrótica na face adaxial, após a esporulação do patógeno na face abaxial da folha (van Bruggen e Scherm, 1997). Sob condições ambientais ótimas, a esporulação fica visível após uma semana, principalmente na face abaxial das folhas.

Os esporângios podem ser transportados pelo ar ou pela água, advindos de outras plantas de alface doentes ou hospedeiros alternativos do gênero *Lactuca*, como a Serralha, ademais de restos culturais infectados (Carvalho, 2021).

Segundo Franco et al. (2021), a influência do míldio sobre a alface é baseada na interação entre seus genes, ou seja, os genes de resistência da alface correlacionam-se aos fatores de avirulência no patógeno, podendo ocasionar hospedeiros hipersensíveis, conseqüentemente não ocorrendo a doença.

A ocorrência de virulência do míldio é tida por diversos fatores de virulência, raças fisiológicas ou fenótipos de virulência, que são identificados devido a reação ao conjunto de cultivares diferenciadoras (Marin et al., 2020).

O genes Dm ("Downy mildew") e FR (fatores de resistência), presentes nos conjuntos de diferenciadoras, retratam alto nível de resistência. Porém com o surgimento de novas raças, a eficácia tem sido temporária devido ao surgimento de novos fatores de virulência (Lebeda et al., 2007).

Os parâmetros de controle de uma doença englobam o manejo químico, físico e biológico de maneira preventiva ou curativa, ainda a introgressão de genes de resistência ao patógeno (Jacinto et al., 2020).

O manejo químico, é um dos principais meios para o controle do míldio. Entretanto, o uso de defensivos agrícola, apresentam alguns fatores limitantes: alto custo de aquisição e aplicação; baixa eficiência, devido ao ciclo curto da alface;

toxicidade ao produtor e retenção dos resíduos no solo quando aplicado de maneira incorreta; e a pressão de seleção do patógeno, que pode acarretar em resistência ao fungicida (Petrzelová et al., 2013).

Outra vertente, é o uso de cultivares resistentes, que é um método mais eficaz e menos oneroso para o controle do míldio (Franco et al., 2021), pois reduz o uso de produtos fitossanitários.

A relação entre a alface e a *B. lactucae* é fundamentada na interação gene a gene, sendo a resistência conferida por um gene dominante (Dm ou FR) correspondente a fatores de avirulência no patógeno (Avr), e o gene recessivo (dm) conferindo suscetibilidade (Sala e Costa, 2016). A combinação de um gene Dm ou FR com um fator Avr resulta em incompatibilidade, indicando a não ocorrência da doença devido a hipersensibilidade do hospedeiro (Crute, 1992; Lebeda et al., 2002; Lebeda et al., 2007).

Os genes Dm ou FR estabelecem alto nível de resistência ao patógeno. Contudo, sua eficácia é temporária, até que novos fatores de virulência ocorram dentro da população do patógeno. Desta forma, o controle permanente do míldio da alface requer busca contínua por novos genes de resistência (Caprio, 2021).

Ademais, a eficiência do controle para reduzir a frequência dos fatores de virulência na população do patógeno, depende da pressão de seleção ocorrente no ambiente. Com o intuito de reduzir essa pressão, recomenda-se utilizar regularmente cultivares com diferentes genes Dm ou FR (Jacinto et al., 2020).

Caracteriza-se a variabilidade de virulência em *B. lactucae* pelos distintos fatores de virulência (v), raças fisiológicas ou fenótipos de virulência, que por sua vez são discernidos através da reação nos conjuntos de cultivares diferenciadoras. Van Ettehoven e van der Arend (1999), padronizaram códigos para cada raça, denominados Códigos Sexteto, com a finalidade de uniformizar o sistema de identificação de raças de míldio presente nas distintas regiões do mundo.

Com a ampla variabilidade genética de *B. lactucae*, é imprescindível a identificação e monitoramento anual dos comportamentos nas principais regiões produtoras de alface para que os programas de melhoramento possam desenvolver linhagens com genes de resistência mais eficazes no manejo da doença.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta dos isolados

Folhas de alface contendo esporulações visíveis de *Bremia lactucae* foram coletadas em diferentes municípios produtores dos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, entre os meses de junho a setembro de 2020, e de maio a agosto de 2021, quando o clima é favorável ao desenvolvimento do míldio da alface.

As amostras foram embaladas individualmente em potes coletores identificados e acondicionados em caixa térmica com gelo para o transporte até o Laboratório de Genética e Melhoramento de Olerícolas, do Departamento de Ciências da Produção Agrícola (UNESP-FCAV), onde ficaram armazenadas em freezer a -20°C.

Ao término das coletas, procedeu-se a partir das amostras armazenadas do material vegetal (tecido foliar com a doença míldio da alface), o processamento para isolamento do patógeno, do qual derivou-se de cada amostra um único isolado de *B. lactucae* nomeado de acordo com o estado, a ordem e o ano de coleta, respectivamente (por exemplo, RJ01/20), para determinação dos fenótipos de virulência pelo teste de diferenciação.

No ano de 2020 foram diferenciados 178 isolados de *B. lactucae* coletados nos estados do Rio de Janeiro (RJ), São Paulo (SP), Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC) e Paraná (PR) (Tabela 1).

Tabela 1. Relação dos isolados de folhas de alface coletadas em 2020 para identificação dos fenótipos de *Bremia lactucae* no Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná.

Isolados	Local	Grupo de Alface	Cultivar
RJ12/20	Nova Friburgo	Americana	-
RJ20/20	Nova Friburgo	Americana	-
RJ25/20	Nova Friburgo	Crespa	Samira
RJ26/20	Nova Friburgo	Crespa	Samira
RJ35/20	Nova Friburgo	Americana	Gloriosa
Continua			

Continuação

RJ13/20	Sumidouro	Americana	-
RJ31/20	Sumidouro	Americana	Pedrola
RJ32/20	Sumidouro	Americana	Pedrola
RJ35/20	Sumidouro	Americana	Pedrola
RJ14/20	Teresópolis	Mimosa	TPC29875
RJ16/20	Teresópolis	Crespa	-
RJ17/20	Teresópolis	Crespa Roxa	TPX29875
RJ19/20	Teresópolis	Crespa	Renata
SP54/20	Tupã	Americana	Lucy Brown
SP58/20	Tupã	Crespa	Vanda
SP61/20	Tupã	Lisa	Elisa
SP65/20	Araçatuba	Americana	Lucy Brown
SP68/20	Araçatuba	Americana	Lucy Brown
SP75/20	Araçatuba	Crespa	Vanda
SP79/20	Araçatuba	Americana	Lucy Brown
SP144/20	Bebedouro	Americana	Lucy Brown
SP40/20	Presidente Prudente	Americana	Lucy Brown
SP41/20	Presidente Prudente	Americana	Lucy Brown
SP46/20	Presidente Prudente	Crespa	Vanda
SP113/20	Taquaritinga	Americana	Lucy Brown
SP117/20	Taquaritinga	Crespa	Vanda
SP90/20	São José do Rio Preto	Americana	Lucy Brown
SP92/20	São José do Rio Preto	Americana	Lucy Brown
SP82/20	São José do Rio Preto	Americana	Lucy Brown
SP86/20	São José do Rio Preto	Americana	Lucy Brown
SP10/20	Marília	Americana	Mauren
SP12/20	Marília	-	-
SP168/20	Marília	Americana	Diva
SP167/20	Marília	Americana	Diva
SP169/20	Marília	Americana	Diva
SP150/20	Monte Alto	Americana	Lucy Brown
SP154/20	Monte Alto	Crespa	Vanda
SP159/20	Bauru	Lisa	Elisa
SP161/20	Bauru	Americana	Lucy Brown
SP163/20	Bauru	Crespa	Valentina
SP179/20	Bauru	Americana	Lucy Brown
SP181/20	Bauru	Americana	Salad Bowl
SP184/20	Bauru	Crespa	Vanda
SP243/20	Araraquara	Americana	Lucy Brown
SP253/20	Araraquara	Crespa	Crocantela
Continua			

Continuação

SP256/20	Araraquara	Crespa	Crocantela
SP259/20	Araraquara	Crespa	Isadora
SP261/20	Araraquara	Crespa	Brida
SP262/20	Jaboticabal	Crespa	-
SP263/20	Jaboticabal	Crespa	-
SP264/20	Jaboticabal	Crespa	-
SP265/20	Jaboticabal	Crespa	-
SP266/20	Jaboticabal	Crespa	Vanda
SP267/20	Jaboticabal	Crespa	Vanda
SP268/20	Jaboticabal	Americana	Lucy Brown
SP272/20	Jaboticabal	Americana	Lucy Brown
SP171/20	Botucatu	-	Scarlet
SP172/20	Botucatu	-	Thaís
SP175/20	Botucatu	Crespa	Larissa
SP201/20	Ribeirão Preto	Crespa	-
SP204/20	Ribeirão Preto	Americana	-
SP240/20	Ribeirão Preto	Americana	Lucy Brown
SP241/20	Ribeirão Preto	Americana	-
SP242/20	Ribeirão Preto	Americana	Lucy Brown
SP226/20	Ribeirão Preto	Crespa	Vanda
SP222/20	Ribeirão Preto	Americana	Lucy Brown
SP210/20	Dumont	Americana	Lucy Brown
SP215/20	Dumont	Americana	Lucy Brown
SP16/20	Ourinhos	Americana	Lucy Brown
SP19/20	Ourinhos	Americana	Lucy Brown
SP239/20	Guariba	Americana	Lucy Brown
SP234/20	Guariba	Americana	Lucy Brown
SP104/20	Taiaçu	-	-
SP134/20	Barretos	Americana	Lucy Brown
SP147/20	Barretos	Americana	Lucy Brown
SP186/20	Catanduva	Americana	Lucy Brown
SP187/20	Catanduva	Americana	Lucy Brown
SP189/20	Catanduva	Crespa	Valentina
SP190/20	Pitangueiras	Americana	-
SP191/20	Pitangueiras	Americana	-
SP195/20	Pitangueiras	Americana	-
SP23/20	Cândido Mota	Americana	Lucy Brown
SP30/20	Cândido Mota	Crespa	Vanda
SP33/20	Cândido Mota	Lisa	Elisa
SP1/20	Itápolis	Americana	Lucy Brown
Continua			

Continuação			
SP4/20	Itápolis	Americana	Lucy Brown
SP331/20	Mogi das Cruzes	Mimosa	Eagle
SP328/20	Mogi das Cruzes	Crespa	Elisa
SP329/20	Mogi das Cruzes	Crespa	-
SP332/20	Mogi das Cruzes	Mimosa	TP
SP303/20	Mogi das Cruzes	Lisa	Larissa
SP306/20	Mogi das Cruzes	Mimosa	Salad Bowl
SP310/20	Mogi das Cruzes	Americana	Ludimila
SP312/20	Mogi das Cruzes	Crespa	Jade
SP434/20	Piedade	Americana	-
SP437/20	Piedade	Romana	-
SP427/20	Piedade	Roxa	-
SP429/20	Piedade	Crespa	-
SP417/20	Piedade	Americana	AA062
SP319/20	Rio Claro	Crespa	Vanda
SP322/20	Rio Claro	Americana	Lucy Brown
SP326/20	Biritiba Mirim	Crespa	Solaris
SP389/20	Biritiba Mirim	Romana	-
SP393/20	Biritiba Mirim	Crespa	-
SP398/20	Biritiba Mirim	Lisa	-
SP415/20	Campinas	Crespa	Valentina
SP408/20	Campinas	Crespa	Ariel
SP380/20	Campinas	Americana	Lucy Brown
SP381/20	Jacareí	Crespa	Brida
SP384/20	Jacareí	Crespa Roxa	
SP387/20	Jacareí	Lisa	Elisa
SP341/20	Conchal	Americana	Lucy Brown
SP347/20	Conchal	Americana	Lucy Brown
SP349/20	Conchal	Americana	AA0067
SP366/20	Salesópolis	Crespa	Brida
SP369/20	Salesópolis	Crespa	Brida
SP379/20	Salesópolis	Lisa	Larissa
SP378/20	Salesópolis	Lisa	Offtype de Larissa
SP399/20	Piracicaba	Americana	Lucy Brown
SP400/20	Piracicaba	Mimosa	Salad Bowl
SP336/20	Ibiúna	Crespa	Cristal
SP339/20	Ibiúna	Americana	Silvana
SP356/20	Araras	Crespa	Valentina
SP357/20	Araras	Crespa	Valentina
Continua			

Continuação SP361/20	Araras	Americana	Lucy Brown
RS01/20	Maquiné	Crespa	Samira
RS05/20	Maquiné	Lisa	Regina 500
RS08/20	Maquiné	Lisa	Regina 500
RS10/20	Maquiné	Romana	Parma
RS11/20	Maquiné	Crespa Roxa	Pira Roxa
RS13/20	Maquiné	Crocante	-
RS27/20	Maquiné	Crespa	-
RS33/20	Maquiné	Americana	Silvana
RS38/20	Maquiné	Crespa	AC0055
RS42/20	Maquiné	Americana	-
RS44/20	Maquiné	Crespa	Cristal
RS50/20	Maquiné	Mimosa verde	Brava
RS53/20	Maquiné	Americana	Rider plus
RS04/20	Terra da Areia	Lisa	Regina 500
RS55/20	Terra da Areia	Crespa	AC0055
RS56/20	Terra da Areia	Americana	Raider Plus
RS18/20	Feliz	Crespa	Vanda
RS19/20	Feliz	Crespa	Lirice
RS20/20	São José do Hortêncio	Americana	Angelina
RS21/20	São José do Hortêncio	Lisa	Regina
RS24/20	São José do Hortêncio	Mimosa roxa	-
SC12/20	Antônio Carlos	Americana	Silvana
SC15/20	Antônio Carlos	Lisa	Regiane
SC18/20	Antônio Carlos	Americana	Dinamite
SC22/20	Antônio Carlos	Americana	Piedade
SC26/20	Antônio Carlos	Americana	Piedade
SC27/20	Biguaçu	Crespa	AC0068
SC28/20	Biguaçu	Crespa	Vanda
SC29/20	Biguaçu	Americana	Lucy Brown
SC32/20	Chapecó	Crespa	Vanda
SC34/20	Chapecó	Americana	Raider Plus
SC36/20	Chapecó	Lisa	Regina 500
SC37/20	Chapecó	Crespa	Celina
SC38/20	Chapecó	Crespa	Celina
SC40/20	Chapecó	Mimosa roxa	Mirella
SC41/20	Chapecó	Lisa	Stella
SC44/20	Chapecó	Americana	Mauren
PR01/20	Colombo	Crespa	Vanda
PR02/20	Colombo	Crespa	Vanda
Continua			

Continuação

PR03/20	Colombo	Crespa	AC0055
PR05/20	Colombo	Crespa	Veneranda
PR17/20	Colombo	Americana	Silvana
PR18/20	Colombo	Americana	Piedade
PR08/20	São José dos Pinhais	Crespa	Vanda
PR10/20	São José dos Pinhais	Americana	Raider Plus
PR11/20	São José dos Pinhais	Americana	Raider Plus
PR20/20	São José dos Pinhais	Americana	Silvana
PR24/20	São José dos Pinhais	Crespa	Vanda
PR27/20	São José dos Pinhais	Americana	Lucy Brown
PR30/20	São José dos Pinhais	Crespa	AC0055
PR31/20	São José dos Pinhais	Lisa	Regiane
PR32/20	São José dos Pinhais	Mimosa roxa	AMR0076
PR34/20	São José dos Pinhais	Americana	AA0067

- : dado não fornecido.

No ano de 2021, foram diferenciados 188 isolados de *B. lactucae* coletados nos estados do Rio de Janeiro (RJ), São Paulo (SP), Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC) e Paraná (PR) (Tabela 2).

Tabela 2. Relação dos isolados de folhas de alface coletadas em 2021 para identificação dos fenótipos de *Bremia lactucae* no Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná.

Isolados	Local	Grupo de Alface	Cultivar
RJ70/21	Sumidouro	Crespa	Samira
RJ72/21	Sumidouro	Crespa Roxa	Pira Roxa
RJ74/21	Sumidouro	Crespa	Renata
RJ75/21	Sumidouro	Crespa	Renata
RJ76/21	Sumidouro	Crespa	Renata
RJ77/21	Sumidouro	Crespa	Renata
RJ82/21	Teresópolis	Crespa	Ariel
RJ83/21	Teresópolis	Crespa	Ariel
RJ85/21	Teresópolis	Americana	Astra
RJ87/21	Teresópolis	Americana	Mayumi
RJ88/21	Teresópolis	Lisa	Regina SS
RJ89/21	Nova Friburgo	Americana	AA0065
RJ92/21	Nova Friburgo	Americana	NI
RJ94/21	Nova Friburgo	Americana	NI

continua

Continuação			
RJ95/21	Nova Friburgo	Americana	NI
RJ96/21	Nova Friburgo	Americana	Romana offtype de AA0065
RJ97/21	Nova Friburgo	Crespa	AC0053
RJ99/21	Nova Friburgo	Crespa	Brida
RJ100/21	Nova Friburgo	Americana	Astra
RJ101/21	Nova Friburgo	Americana	Ironwood
RJ102/21	Nova Friburgo	Americana	Ironwood
RJ103/21	Nova Friburgo	Americana	AA0067
RJ104/21	Nova Friburgo	Americana	Romana offtype de AA0067
SP403/21	Bebedouro	Americana	Lucy Brown
SP404/21	Bebedouro	Americana	Lucy Brown
SP408/21	Barretos	Crespa	-
SP409/21	Barretos	Americana	Lucy Brown
SP414/21	Barretos	Americana	Lucy Brown
SP415/21	Barretos	Americana	Lucy Brown
SP418/21	Barretos	Crespa	-
SP420/21	Pitangueiras	Crespa	Vanda
SP422/21	Pitangueiras	Americana	-
SP424/21	Pitangueiras	Americana	-
SP425/21	Pitangueiras	Crespa	Vanda
SP427/21	Ribeirão Preto	Americana	-
SP430/21	Ribeirão Preto	Americana	-
SP429/21	Ribeirão Preto	Americana	-
SP433/21	Ribeirão Preto	Crespa	Vanda
SP431/21	Ribeirão Preto	Crespa	Vanda
SP434/21	Ribeirão Preto	Crespa	Vanda
SP437/21	Ribeirão Preto	Americana	-
SP439/21	Ribeirão Preto	Crespa	-
SP441/21	Ribeirão Preto	Crespa	-
SP442/21	Ribeirão Preto	Americana	-
SP443/21	Dumont	Americana	Lucy Brown
SP446/21	Dumont	Mimosa	Lavinia
SP448/21	Dumont	Mimosa	Lavinia
SP449/21	Dumont	Americana	Lucy Brown
SP450/21	Dumont	Mimosa	Mauren
SP452/21	Guariba	Americana	Lucy Brown
SP453/21	Guariba	Americana	Lucy Brown
SP456/21	Guariba	Crespa	Verônica
Continua			

continuação			
SP460/21	Jaboticabal	Crespa	-
SP461/21	Jaboticabal	Crespa	-
SP462/21	Jaboticabal	Crespa	-
SP463/21	Jaboticabal	Crespa	-
SP464/21	Jaboticabal	Crespa	-
SP465/21	Jaboticabal	Crespa	-
SP466/21	Jaboticabal	Crespa	-
SP01/21	Piedade	Crespa	Cristal
SP04/21	Piedade	Crespa	Cristal
SP07/21	Piedade	Crespa Roxa	-
SP105/21	São José do Rio Preto	Americana	Lucy Brown
SP107/21	São José do Rio Preto	Americana	Lucy Brown
SP109/21	São José do Rio Preto	Americana	Lucy Brown
SP110/21	São José do Rio Preto	Americana	Lucy Brown
SP115/21	Bauru	Americana	Lucy Brown
SP116/21	Bauru	Americana	Lucy Brown
SP117/21	Bauru	Americana	Lucy Brown
SP118/21	Bauru	Americana	Lucy Brown
SP121/21	Bauru	Crespa	Cida
SP122/21	Bauru	Crespa	Cida
SP124/21	Botucatu	Lisa	Larissa
SP125/21	Botucatu	Americana	Mayumi
SP126/21	Botucatu	Lisa	Larissa
SP127/21	Botucatu	Americana	Mayumi
SP129/21	Botucatu	Americana	Mayumi
SP130/21	Botucatu	Lisa	Larissa
SP131/21	Botucatu	Crespa	Samira
SP132/21	Botucatu	Crespa	Samira
SP134/21	Limeira	Americana	Silvana
SP136/21	Limeira	Americana	Silvana
SP138/21	Limeira	Crespa	Valentina
SP139/21	Limeira	Crespa	Valentina
SP140/21	Ibiúna	Americana	Silvana
SP144/21	Ibiúna	Crespa	Valentina
SP145/21	Ibiúna	Crespa	Valentina
SP146/21	Ibiúna	Lisa	Elisa
SP275/21	Ibiúna	Crespa	AC0063
SP279/21	Ibiúna	Crespa	Margarete
SP151/21	Porto Ferreira	Americana	Lucy Brown
SP247/21	Biritiba Mirim	Americana	Piedade
continua			

continuação			
SP251/21	Biritiba Mirim	Lisa	Larissa
SP263/21	Biritiba Mirim	Crespa	Brida
SP257/21	Mogi das Cruzes	Americana	-
SP260/21	Mogi das Cruzes	Lisa	Larissa
SP262/21	Mogi das Cruzes	Crespa	Jade
SP293/21	Rio Claro	Americana	Mauren
SP296/21	Rio Claro	Americana	Mauren
SP299/21	Rio Claro	Crespa	Valentina
SP303/21	Campinas	Crespa	-
SP308/21	Campinas	Lisa	-
RS158/21	Feliz	Crespa verde	Vera
RS159/21	Feliz	Lisa	TPX 29423
RS161/21	Maquiné	Lisa	Regina
RS162/21	Maquiné	Americana	Lucy Brown
RS163/21	Maquiné	Crespa verde	Cristal
RS164/21	Maquiné	Frisé Roxa	-
RS165/21	Maquiné	Frisé Verde	-
RS166/21	Maquiné	Americana	Lucy Brown
RS167/21	Maquiné	Americana	Raider Plus
RS168/21	Maquiné	Lisa	Elisângela
RS170/21	Maquiné	Americana	Raider Plus
RS171/21	Maquiné	Crespa Roxa	Raider Plus
RS172/21	Maquiné	Lisa	Regina
RS173/21	Maquiné	Crespa roxa	-
RS174/21	Maquiné	Americana	Raider Plus
RS176/21	Maquiné	Lisa	TPX 29423
RS177/21	Maquiné	Americana	NI
RS178/21	Maquiné	Lisa	NI
RS179/21	Maquiné	Crespa roxa	-
RS180/21	Maquiné	Americana	NI
RS182/21	Maquiné	Lisa	Stela
RS183/21	Maquiné	Americana	Silvana
RS184/21	Maquiné	Crespa verde	Thaís
RS185/21	Maquiné	Lisa	TPX 29423
RS186/21	Maquiné	Crespa verde	Thaís
SC187/21	Antônio Carlos	Crespa verde	Valentina
SC189/21	Antônio Carlos	Lisa	TPX 29423
SC190/21	Antônio Carlos	Americana	Lucy Brown
SC192/21	Antônio Carlos	Crespa verde	Samira
SC193/21	Antônio Carlos	Lisa	TPX 29423
continua			

continuação			
SC194/21	Antônio Carlos	Lisa	Regiane
SC195/21	Antônio Carlos	Crespa verde	Margarete
SC196/21	Antônio Carlos	Crespa verde	Valentina
SC197/21	Antônio Carlos	Lisa	TPX 29423
SC198/21	Antônio Carlos	Lisa	Regiane
SC199/21	Antônio Carlos	Crespa roxa	-
SC200/21	Antônio Carlos	Crespa verde	Margarete
SC201/21	Antônio Carlos	Lisa	Regiane
SC202/21	Antônio Carlos	Americana	Lucy Brown
SC203/21	Antônio Carlos	Crespa verde	Valentina
SC204/21	Antônio Carlos	Crespa verde	Lirice
SC205/21	Antônio Carlos	Crespa	68
SC206/21	Antônio Carlos	Lisa	TPX29423
SC208/21	Antônio Carlos	Lisa	Regiane
SC209/21	Antônio Carlos	Lisa	TPX29423
SC211/21	Antônio Carlos	Lisa	Regiane
SC213/21	Antônio Carlos	Lisa	TPX29423
SC214/21	Antônio Carlos	Crespa	Lirice
SC217/21	Antônio Carlos	Crespa	Valentina
SC219/21	Antônio Carlos	Americana	Lucy Brown
SC222/21	Chapecó	Americana	Raider Plus
SC226/21	Chapecó	Americana	Raider Plus
SC228/21	Chapecó	Crespa	Bruna
SC230/21	Chapecó	Crespa	Bruna
SC232/21	Chapecó	Crespa	Bruna
SC234/21	Chapecó	Lisa	Elisângela
SC237/21	Chapecó	Crespa	Celina
SC240/21	Chapecó	Crespa	Celina
SC244/21	Chapecó	Crespa	Celina
PR18/21	São José dos Pinhais	Americana	Lucy Brown
PR19/21	São José dos Pinhais	Americana	Lucy Brown
PR20/21	São José dos Pinhais	Americana	Lucy Brown
PR21/21	São José dos Pinhais	Americana	Lucy Brown
PR24/21	São José dos Pinhais	Crespa	AC0055
PR25/21	São José dos Pinhais	Crespa	AC0055
PR27/21	São José dos Pinhais	Americana	AA0067
PR28/21	São José dos Pinhais	Americana	AA0067
PR30/21	São José dos Pinhais	Americana	NI
PR31/21	São José dos Pinhais	Crespa	AC0055
PR32/21	São José dos Pinhais	Lisa	Elisa
Continua			

Continuação

PR33/21	São José dos Pinhais	Lisa	Elisa
PR34/21	São José dos Pinhais	Lisa	Elisa
PR36/21	São José dos Pinhais	Americana	AA0067
PR37/21	São José dos Pinhais	Americana	AA0067
PR38/21	São José dos Pinhais	Crespa	Vanda
PR41/21	São José dos Pinhais	Americana	AA0067
PR43/21	São José dos Pinhais	Americana	AA0067
PR46/21	São José dos Pinhais	Crespa	Vanda
PR47/21	São José dos Pinhais	Crespa	AC0054
PR48/21	São José dos Pinhais	Crespa	AC0054
PR55/21	São José dos Pinhais	Americana	Piedade
PR56/21	São José dos Pinhais	Americana	Piedade
PR57/21	São José dos Pinhais	Crespa	AC0054
PR62/21	São José dos Pinhais	Crespa Roxa	-
PR63/21	São José dos Pinhais	Crespa Roxa	Gabriela
PR64/21	São José dos Pinhais	Crespa Roxa	Gabriela

NI : Não identificado; - : dado não fornecido.

3.2 Multiplicação dos isolados

Com o intuito de se obterem quantidades suficientes de esporângios para utilização no teste de diferenciação, realizou-se a inoculação dos isolados coletados nos distintos municípios produtores dos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, em plântulas de alface da cultivar Solaris (suscetível).

A cultivar Solaris foi semeada em caixas plásticas gerbox (11 x 11 x 3,5 cm), forradas com papel germitest umedecido, onde as sementes foram divididas em três partes iguais e em cada uma das partes foram semeadas aproximadamente 20 sementes e tiveram suas tampas fechadas. Posteriormente, as caixas gerbox foram incubadas em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12h de luz e 12h de escuro a 18°C, por uma semana. Após este período, todos os cotilédones estavam totalmente expandidos, e então, aptos à inoculação dos isolados.

As amostras vegetais com os isolados de *B. lactucae* foram lavadas e agitadas com água deionizada e autoclavada, obtendo-se uma suspensão de

esporângios. A partir disso, procedeu-se a inoculação da suspensão nos cotilédones de alface totalmente desenvolvidos com pipetas do tipo Pasteur até o ponto de escorrimento (Ilott et al., 1987).

As caixas plásticas gerbox então foram incubadas em B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) com fotoperíodo de 12h/12h a 13°C por 15 dias, após este período os cotilédones de Solaris com esporos foram recortados, colocados em novos potinhos identificados, agitados e obtidos uma nova suspensão para inoculação em novas caixas de solaris, que foram semeadas com uma semana de antecedência para estarem aptas ao processo de multiplicação dos esporângios de *B. lactucae*. Este processo foi repetido por quatro ciclos consecutivos para multiplicar a quantidade de esporângios, a fim de uniformizar e estabilizar a população de esporos de cada isolado. Obtendo-se quantidades suficientes de esporângios, foi realizado o teste de diferenciação.

3.3 Diferenciação dos fenótipos de virulência e obtenção dos códigos sextetos

Para as cultivares diferenciadoras foi empregada a mesma metodologia descrita anteriormente (item 3.2), com as modificações em semeio de cultivares diferenciadoras do código “sextet” conjunto EU-C (Isf, 2021). Para cada isolado coletado, foi semeado um conjunto de diferenciadoras, que constituiu de três caixas plásticas gerbox (11 x 11 x 3,5 cm), forradas com papel germitest umedecido previamente dividido em seis partes iguais. Em cada uma das partes foram semeadas 20 sementes de cada cultivar diferenciadora, sendo estas: Green Tower, Dandie, R4T57D, UC DM14, Nun DM15, CG DM16, Colorado, FrRsal-1, Argeles, RYZ2164, RYZ910457, Bedford, Balesta, Bartoli, Design e Kibrille.

Estas foram mantidas por 10 dias em câmara de crescimento na temperatura de 18°C e fotoperíodo de 12 h. Transcorrido esse período foi realizada a inoculação com os isolados coletados, de acordo com a técnica de Ilott et al. (1987), utilizando-se de esporângios de tecidos infectados do hospedeiro lavados e agitados em água deionizada e autoclavada. A suspensão foi ajustada para a concentração de 5×10^4

esporângios mL^{-1} , em Câmara de Neubauer e aplicada nas plântulas das diferenciadoras com pipetas do tipo Pasteur até o ponto de escorrimento.

Após a inoculação, as caixas foram colocadas em câmara de incubação tipo B.O.D com temperatura de 13°C e o fotoperíodo de 12 horas.

As avaliações foram realizadas aos 10 dias após a inoculação e repetiu-se a avaliação aos 15 dias após a inoculação para confirmar os dados da primeira avaliação, conforme metodologia proposta por van Ettehoven e van der Arend (1999). Tal metodologia baseia-se na colocação de sinais +, (+), - ou (-), de acordo com a porcentagem de níveis de danos nos tecidos vegetais de alface, sendo: +, 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.

A determinação dos fenótipos de virulência presentes nas populações dos estados avaliados foi obtida através das respostas de suscetibilidade no conjunto diferencial EU-C. Os materiais que se mostraram suscetíveis a determinado isolado receberam o sinal de + ou (+), de acordo com a porcentagem e de acordo com o valor de cada cultivar dentro do código sexteto, tiveram seus valores somados dentro de cada grupo e obteve-se o código sexteto (por exemplo, 31/00/02).

3.4 Determinação da frequência, diversidade e complexidade dos fenótipos de virulência de *B. lactucae*

A determinação da frequência, diversidade e complexidade foi realizada de acordo com Andrivon (1994) e van Hese et al. (2016).

Estimou-se a frequência relativa (fr) dos fatores de virulência identificados nos isolados amostrados, $fr = \sum fv/N$, em que: fv são os fatores de virulência, e N é o número total de fatores de virulência observados.

A diversidade da população foi obtida por meio do índice de Gleason (Ig), que reflete quão diversa é a população avaliada, $Ig = (Nf - 1)/\ln(Ni)$

em que: N_i é o número de isolados avaliados e N_f é o número de fenótipos de virulência identificados.

A complexidade de virulência por isolado (C_i) e por fenótipo de virulência (C_f) foram calculadas. $C_i = \sum_j (p_j \cdot v_j)$ e $C_f = (\sum_j v_j) / N_f$, em que: j = é uma constante podendo variar de 1 até N_f ; p_j = é a frequência do fenótipo de virulência j , e v_j = é o número de fator de virulência do fenótipo j .

Considerou-se o número de fatores de virulência (v) do fenótipo (j) como o número de genes Dm e fatores de resistência (FR) ineficazes contra um isolado do fenótipo (j).

4 RESULTADOS

4.1 Determinação e frequência dos fenótipos de virulência

Foi possível determinar, em 2020, 104 fenótipos de virulência dentre todos os estados amostrados, a partir de 178 isolados (Tabela 3).

O fenótipo de virulência do código sexteto 31/00/00, foi o mais encontrado presente no RJ, SP, RS e PR, seguido dos códigos 51/00/00 (RJ, SP e PR) e 51/00/01 (RJ, RS e PR), com 14,05%, 5,62% e 2,81% de frequência respectivamente, em relação ao total de fenótipos estudados.

O código sexteto 31/00/00 apresentou frequências de 20% em São Paulo, 6,25% no Paraná e 7,69% no Rio de Janeiro e 4,76% no Rio Grande do Sul. Enquanto o código 51/00/00 foi encontrado em 3,6%, 18,75%, 15,38%, para SP, PR e RJ, respectivamente, dos isolados avaliados. Já 51/00/01 apareceu em 4,76% no RS, 23,08% no RJ e 6,25% no PR, dos isolados avaliados.

No estado de Santa Catarina, com exceção dos sextetos 49/02/01 e 29/02/03, todos os outros fenótipos de virulência encontrados não se repetem nos demais estados avaliados, sendo o comportamento das amostras SC27/20, SC29/20 e SC44/20, com o código sexteto 29/02/03, mais frequente com 18,75%.

Os fenótipos de virulência mais frequentes no Rio Grande do Sul foram o do sexteto 29/02/01, 33/02/00 e 31/10/02 com 9,52% cada, porém não foram encontrados nos demais estados avaliados.

Em São Paulo, o código sexteto 31/00/00 foi o mais encontrado, totalizando 22 isolados distribuídos em várias regiões do estado. Seguido do código 31/01/00 com 9% de frequência.

Em relação a complexidade, estabelecida pela quantidade de fatores de virulência presentes [atribuição dos sinais + e (+)], os códigos sextetos 31/27/00 (SC15/20), 31/10/03 (PR31/20), 31/18/06 (PR30/20), 30/10/03 (SP369/20), 31/11/02 (SP319/20), 31/25/02 (SP54/20 e SP5/20), 31/26/02 (SP259/20), 61/03/03 (SP366/20) e 63/11/00 (SP172/20) apresentaram nove fatores de virulência (Tabela 3), enquanto, o código 33/00/00 (RS56/20) apenas dois fatores de virulência, encontrado no Rio Grande do Sul.

Tabela 3. Resposta de resistência/suscetibilidade à *Bremia lactucae* e códigos sextetos identificados no Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná em 2020.

Isolados	Cultivares diferenciadoras																Código "Sextet"
	G. T.	Dandie	R4T57D	UC DM14	Nun DM 15	CG Dm 16	Colorado	FrRsal-1	Argeles	RYZ 2164	RYZ 910457	Bedford	Balesta	Bartoli	Design	Kibrille	
	Gene Dm ou fator de resistência																
	0	3	4	14	15	16	18		38								
	Valor no conjunto sexteto																
	0	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	2	4	
RJ12	(+)	+	-	+	(-)	(+)	-	(-)	(+)	-	(-)	(-)	-	+	(+)	(+)	21/02/07
RJ20	(+)	+	+	(+)	+	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	+	+	31/02/06
RJ25	(+)	+	(+)	-	-	(+)	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	51/00/01
RJ26	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
RJ35	+	+	+	+	(+)	+	-	(-)	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	31/02/02
RJ13	+	+	-	-	-	+	+	-	(+)	-	(-)	-	-	+	-	-	49/02/01
RJ14	+	+	-	-	-	+	+	(-)	(+)	(-)	(+)	-	-	+	(-)	-	49/10/01
RJ16	+	(+)	(+)	-	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	35/04/00
RJ17	+	+	+	-	-	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
RJ19	(+)	+	+	-	-	+	(+)	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	51/00/01

continua

Continuação

RJ31	+	(+)	(+)	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
RJ32	+	(+)	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19/00/00
RJ34	+	(+)	(+)	-	-	+	(+)	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	51/00/01
SP54	+	+	+	+	+	+	(-)	+	-	-	(+)	(+)	-	-	(+)	-	31/25/02
SP58	+	+	+	+	+	+	-	(+)	-	-	+	(+)	-	-	+	-	31/25/02
SP61	+	+	+	+	+	+	-	(+)	-	-	(-)	-	-	-	(-)	-	31/01/00
SP65	+	+	+	+	(+)	+	-	-	-	-	(-)	-	-	-	(-)	-	31/00/00
SP68	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	-	31/00/00
SP75	+	+	+	+	(-)	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	23/02/00
SP79	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	31/00/00
SP144	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	(-)	(-)	-	-	(-)	-	31/00/00
SP40	+	+	+	+	+	+	-	+	(-)	-	-	(-)	-	-	-	-	31/01/00
SP41	+	+	+	+	+	+	-	+	(+)	-	-	-	-	-	-	(-)	31/03/00
SP46	+	+	+	+	+	+	-	+	(+)	-	(-)	-	-	-	-	-	31/03/00
SP113	+	+	+	+	+	+	-	(-)	(-)	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
SP117	+	+	+	(+)	+	+	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(+)	(+)	31/00/06
SP90	+	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	03/00/00
SP92	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19/00/00
SP82	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	(-)	-	-	-	(-)	(-)	31/02/00
SP86	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	(-)	-	-	-	(+)	-	31/00/02
SP10	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	(+)	+	-	-	-	-	31/24/00
SP12	+	+	+	+	(-)	+	-	+	+	-	(+)	-	-	-	-	-	23/11/00
SP168	+	+	+	(+)	+	+	-	+	-	-	-	(-)	-	-	-	(-)	31/00/00
SP167	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	(-)	(-)	-	-	(-)	-	63/01/00
SP169	+	+	+	+	+	+	-	(+)	-	-	-	(-)	-	-	(-)	-	31/01/00
SP150	+	+	+	+	+	+	-	+	(+)	-	(-)	-	-	-	-	-	31/03/00
SP154	+	+	+	+	+	+	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	31/03/00
SP159	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	-	31/00/00
SP161	+	+	+	(+)	+	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	(-)	(-)	31/01/00
SP163	+	+	+	+	+	+	-	(+)	-	-	-	(-)	-	-	(-)	-	31/01/00
SP179	+	+	+	+	+	+	-	+	(-)	-	(-)	(-)	-	-	(-)	-	31/00/00
SP181	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	31/00/00
SP184	+	+	+	+	+	+	-	+	(-)	-	-	-	-	-	-	-	31/01/00
SP243	+	+	+	+	(+)	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	31/02/00
SP253	+	+	(+)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15/00/00
SP256	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15/00/00
SP259	+	+	+	+	(+)	+	-	-	+	-	(+)	(+)	-	-	(+)	-	31/26/02
SP261	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00

continua

continuação

SP262	+	+	+	+	+	+	-	(-)	-	-	(+)	-	-	-	-	-	31/08/00
SP263	+	+	-	+	+	+	-	-	(+)	-	(+)	-	-	+	(-)	-	29/10/01
SP264	+	(+)	+	(+)	(-)	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	23/01/00
SP265	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	31/02/00
SP266	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	-	31/00/00
SP267	+	+	+	+	(+)	+	-	-	(-)	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP268	+	+	+	(-)	(-)	(+)	-	-	-	-	(-)	-	-	-	(-)	(-)	19/00/00
SP272	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP171	+	+	+	-	-	(+)	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	+	51/02/04
SP172	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(-)	(+)	-	-	-	-	-	63/11/00
SP175	+	+	(+)	-	-	+	+	-	(-)	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
SP201	+	+	+	+	+	+	-	(-)	-	-	+	+	-	-	-	-	31/24/00
SP204	+	(+)	+	(+)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
SP240	+	+	+	+	+	+	-	(-)	(-)	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP241	+	+	+	+	+	+	-	-	(-)	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP242	+	+	+	+	+	+	-	-	(-)	-	(-)	-	-	-	+	-	31/00/02
SP226	+	+	+	+	+	+	-	(-)	-	-	(-)	-	-	-	(-)	-	31/00/00
SP222	+	+	+	+	+	+	-	(-)	-	-	(-)	-	-	-	(+)	-	31/00/02
SP210	+	+	+	(+)	+	+	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	31/00/00
SP215	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP16	+	+	+	(+)	+	+	-	-	-	-	(-)	-	-	-	(-)	-	31/00/00
SP19	+	(+)	+	+	(-)	+	-	-	(+)	-	(+)	-	-	-	-	-	23/10/00
SP239	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	(-)	-	-	-	-	-	31/01/00
SP234	+	+	+	+	+	+	-	(+)	-	-	(-)	(-)	-	-	(-)	-	31/01/00
SP104	+	+	+	+	(+)	(+)	-	(-)	-	-	(-)	-	-	-	(+)	-	31/00/02
SP134	+	+	+	+	+	+	-	(-)	-	-	-	-	-	-	(-)	-	31/00/00
SP147	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP186	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	31/02/00
SP187	+	+	+	(+)	+	+	-	-	(-)	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP189	+	+	(+)	+	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP190	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	31/02/00
SP191	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP195	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	31/00/00
SP23	+	(+)	+	+	(+)	+	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	31/08/00
SP30	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	(-)	-	-	(-)	(+)	31/02/04
SP33	+	+	+	+	+	+	-	-	+	(+)	-	-	-	-	(+)	-	31/06/02
SP1	+	+	+	(+)	+	(+)	-	-	(+)	-	(+)	(+)	-	-	-	-	31/26/00
SP4	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	31/02/00

Continua

continuação

SP331	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	51/11/00
SP328	+	+	+	-	+	+	-	+	(-)	-	+	-	-	-	(-)	(-)	27/09/00
SP329	+	(-)	+	-	-	(-)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	34/01/00
SP332	-	(-)	+	+	+	+	(+)	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	62/03/00
SP303	+	+	+	+	+	+	-	+	(-)	-	(+)	-	-	-	-	-	31/09/00
SP306	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	(-)	-	-	-	(+)	-	29/00/02
SP310	+	+	+	+	(-)	+	-	-	+	-	(-)	-	-	-	(-)	-	23/02/00
SP312	+	+	+	-	-	(-)	+	+	(-)	-	-	-	-	-	-	-	35/01/00
SP434	+	+	+	-	-	(-)	+	-	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	-	35/14/00
SP437	+	+	-	-	-	(+)	+	-	(+)	(+)	-	-	-	+	-	-	49/06/01
SP427	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
SP429	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	(+)	-	-	-	-	-	63/09/00
SP417	+	(+)	-	-	-	+	+	-	-	(-)	-	-	-	+	(-)	-	49/00/01
SP319	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	(+)	-	-	-	(+)	(-)	31/11/02
SP322	+	+	+	+	+	+	-	(-)	-	-	(+)	-	-	-	-	-	31/08/00
SP326	+	+	-	+	(+)	+	-	-	(+)	-	(+)	-	-	+	(-)	-	29/10/01
SP389	+	+	-	+	+	+	-	(-)	-	-	+	(-)	-	-	(-)	-	29/08/00
SP393	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)	(-)	31/18/02
SP398	+	(+)	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	51/01/00
SP415	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	31/09/00
SP408	+	+	+	+	+	+	-	(+)	(-)	-	(+)	(-)	-	-	(-)	-	31/09/00
SP380	+	+	-	+	+	+	-	-	(+)	-	(-)	-	-	(+)	(-)	(-)	29/02/01
SP381	+	(+)	+	+	+	+	-	-	(+)	-	(-)	(+)	-	-	(-)	-	31/18/00
SP384	+	+	+	-	-	+	+	-	(-)	(-)	(-)	-	-	-	-	-	51/00/00
SP387	+	+	+	-	(-)	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
SP341	+	+	-	+	+	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	29/02/00
SP347	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	(-)	31/02/00
SP349	+	+	+	-	-	+	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	51/01/00
SP366	+	(+)	-	+	+	+	(+)	+	+	-	-	-	-	+	(+)	-	61/03/03
SP369	+	-	(+)	(+)	+	(+)	-	-	(+)	-	(+)	-	-	(+)	(+)	-	30/10/03
SP379	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	51/00/00
SP378	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	(-)	-	-	-	(-)	-	31/02/00
SP399	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	(+)	-	-	-	(+)	-	31/08/02
SP400	+	+	-	+	+	+	-	-	(+)	-	-	-	-	+	(+)	-	29/02/03
SP336	+	+	(+)	-	-	-	+	-	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	-	35/14/00
SP339	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	49/00/01
SP356	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29/00/00
SP357	(+)	+	-	+	(+)	+	-	-	(-)	-	(-)	(-)	-	+	(+)	-	29/00/03

Continua

continuação

SP361	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	(+)	-	-	-	(+)	-	31/08/02
RS01	+	(+)	-	-	-	-	(+)	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	33/02/00
RS05	+	+	+	-	-	+	-	(-)	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	19/06/00
RS08	+	+	+	-	(-)	(+)	(-)	-	(+)	(-)	-	-	-	-	-	-	19/02/00
RS10	+	(-)	+	+	+	+	-	(-)	-	-	+	-	-	-	(-)	-	30/08/00
RS11	+	(+)	(-)	-	-	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	-	-	-	(-)	-	-	33/02/00
RS13	+	+	(-)	+	+	+	-	-	+	-	-	(-)	-	+	-	-	29/02/01
RS27	+	+	-	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	+	-	-	49/03/01
RS33	+	+	+	-	-	+	+	-	(-)	-	+	-	-	-	(-)	-	51/08/00
RS38	+	+	+	-	-	+	+	-	(-)	(-)	-	-	-	+	(-)	-	51/00/01
RS42	+	+	-	-	-	+	+	(-)	-	(-)	(+)	-	-	-	-	-	49/08/00
RS44	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	31/02/02
RS50	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	(-)	-	-	-	(-)	-	29/02/00
RS53	+	(-)	(-)	+	+	+	-	-	+	-	-	(-)	-	-	(-)	(-)	28/02/00
RS04	+	+	-	-	(-)	(-)	+	(-)	(-)	-	-	-	-	(+)	-	-	33/00/01
RS55	+	+	+	+	+	+	-	(-)	+	-	+	-	-	-	+	(-)	31/10/02
RS56	(+)	(+)	-	-	-	-	+	-	(-)	-	-	-	-	(-)	-	-	33/00/00
RS18	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
RS19	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	(+)	-	29/02/03
RS20	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	31/17/02
RS21	+	+	+	+	+	+	-	(-)	+	-	+	(-)	-	-	+	(-)	31/10/02
RS24	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	(-)	-	-	+	-	-	29/02/01
SC12	+	+	-	-	-	(+)	+	(-)	(+)	-	(-)	-	-	+	-	-	49/02/01
SC15	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	31/27/00
SC18	+	+	-	+	(+)	+	+	-	(+)	(-)	-	-	-	(+)	-	-	61/02/01
SC22	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	15/27/00
SC26	+	+	-	-	-	(-)	+	-	(+)	-	(-)	-	-	+	(-)	-	33/02/01
SC27	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	(+)	(-)	29/02/03
SC28	+	(+)	-	+	(+)	(-)	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	13/03/00
SC29	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	(-)	-	-	(+)	(+)	-	29/02/03
SC32	+	+	+	+	+	+	-	-	(-)	-	+	(-)	-	-	+	-	31/08/02
SC34	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	(-)	(-)	-	+	(+)	-	31/00/03
SC36	+	+	-	+	+	+	-	-	(-)	-	-	(-)	-	+	(+)	-	29/00/03
SC37	+	+	-	+	+	+	-	(-)	+	-	(-)	-	-	-	(-)	(+)	29/02/04
SC38	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	(-)	-	31/08/00
SC40	+	+	-	-	-	(+)	+	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	49/00/00
SC41	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	19/10/00
SC44	+	+	-	+	(+)	+	-	-	(+)	-	-	-	-	+	(+)	(-)	29/02/03

Continua

Continuação

PR01	+	+	+	-	-	(-)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35/00/00
PR02	+	+	+	-	-	+	+	-	(-)	(-)	-	-	-	-	-	-	51/00/00
PR03	+	+	+	-	-	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
PR05	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
PR17	+	(+)	(+)	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	51/00/01
PR18	+	(+)	(+)	-	-	(-)	(+)	-	(-)	(-)	-	-	-	-	-	-	35/00/00
PR08	+	(+)	-	+	+	+	-	-	(-)	-	-	-	-	-	-	-	29/00/00
PR10	+	+	-	-	-	+	+	-	(-)	-	-	-	-	+	-	-	49/00/01
PR11	+	+	-	-	-	+	(+)	-	(+)	(-)	(+)	-	-	+	-	-	49/10/01
PR20	+	+	-	-	-	(-)	+	-	(-)	(-)	-	-	-	+	-	-	33/00/01
PR24	(+)	+	(+)	(+)	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
PR27	(+)	+	+	-	-	+	+	-	-	-	(+)	-	-	-	(+)	-	51/08/02
PR30	+	+	+	(+)	+	+	-	-	(+)	-	-	+	-	-	(+)	(+)	31/18/06
PR31	+	(+)	(+)	+	(+)	(+)	-	-	(+)	-	(+)	-	-	+	(+)	-	31/10/03
PR32	+	+	-	+	(+)	(+)	-	-	(+)	-	-	(-)	-	(-)	(-)	-	29/02/00
PR34	(+)	+	+	-	-	-	(+)	-	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	35/08/01
Total:178 isolados																	Total: 104 fenótipos

Em 2021, foi possível determinar 113 fenótipos de virulência dentre todos os estados amostrados, a partir de 188 isolados (Tabela 4).

O fenótipo de virulência do código sexteto 31/00/00 foi mais comum nos estados de SP e RJ, com frequência de 12,65% e 17,40%, respectivamente. Seguido do fenótipo 31/00/02, com frequências de 10,13% e 13,04%, respectivamente.

No RS, os códigos sextetos mais frequentes foram o 51/00/00 e 51/02/00, com frequência de 20% e 12%, respectivamente. Em SC, o código sexteto 32/00/00, foi o mais frequente entre os isolados avaliados com 20,58%, seguido do fenótipo de virulência 51/00/00, com 11,76%. Já no PR, o código 31/00/02 foi encontrado em 22,22% dos isolados, seguido do código sexteto 31/00/00 com 11,11% de frequência.

Outros fenótipos de virulência comuns a alguns estados foram 51/00/00 (SP, RJ, PR, SC e RS), 33/00/00 (RJ, SC, RS e PR), 31/00/02 (SP, RJ, SC e PR), 32/00/00 (SP, SC, RS e PR), 31/16/00 (RJ, RS e SP) e 51/02/00 (SC, RS e PR), com frequências de 48,57%, 15%, 51,27%, 34,81%, 9,61% e 18,64%, respectivamente, do total de isolados avaliados.

Em relação a complexidade, estabelecida pela quantidade de fatores de virulência presentes, atribuição dos sinais + e (+), os fenótipos de virulência dos sextetos 31/18/06 (RS186/21), 31/11/02 (PR32/21), 31/26/02 (PR31/21), 31/18/06 (SP144/21), 31/19/02 (SP464/21) e 63/03/02 (SP415/21) apresentaram nove fatores de virulência (Tabela 4). Enquanto, o código 32/00/00 (RS180/21, SP125/21 e PR56/21) apenas um fator de virulência.

Tabela 4. Resposta de resistência/suscetibilidade à *Bremia lactucae* e códigos sextetos identificados no Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná em 2021.

Isolados	Cultivares diferenciadoras																Código "Sextet"
	G. T.	Dandie	R4T57D	UC DM14	Nun DM 15	CG Dm 16	Colorado	FrRsal-1	Argeles	RYZ 2164	RYZ 910457	Bedford	Balesta	Bartoli	Design	Kibrille	
	Gene Dm ou fator de resistência																
	0	3	4	14	15	16	18		38								
	Valor no conjunto sexteto																
	0	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	2	4	
RJ70	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
RJ72	+	(+)	-	-	-	-	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	33/02/00
RJ74	+	+	+	+	+	+	-	+	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	31/03/02
RJ75	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
RJ76	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	(+)	(+)	-	-	(+)	-	31/24/02
RJ77	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	31/00/02
RJ82	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
RJ83	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
RJ85	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	(+)	-	-	+	-	31/16/02
RJ87	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	31/16/00
RJ88	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
RJ89	(+)	(+)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	33/00/00
RJ92	+	(+)	-	-	-	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	49/00/00
RJ94	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	49/00/00
RJ95	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	48/00/00
RJ96	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
RJ97	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	31/01/00
RJ99	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	31/02/02
RJ100	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	31/02/00

Continua

continuação

RJ101	+	+	+	(+)	(+)	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	63/00/00
RJ102	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
RJ103	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	(+)	-	-	(+)	-	28/16/02
RJ104	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)	-	31/18/02
SP403	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	(+)	-	-	(+)	-	31/16/02
SP404	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30/00/00
SP408	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP409	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
SP414	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP415	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	63/03/02
SP418	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP420	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP422	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	31/16/00
SP424	+	-	-	+	+	+	-	(+)	(+)	-	-	(+)	-	-	+	-	28/19/02
SP425	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	30/00/02
SP427	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	31/48/02
SP429	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	30/02/00
SP433	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	31/00/06
SP430	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/06
SP431	+	+	-	+	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	29/00/02
SP434	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP437	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP439	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	31/00/02
SP441	+	+	(+)	(+)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
SP442	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	29/00/02
SP443	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	(+)	-	-	-	-	(+)	31/10/04
SP446	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
SP448	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
SP449	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	(+)	-	-	+	-	28/16/02
SP450	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
SP452	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29/00/00
SP453	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP456	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
SP460	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/01/02
SP461	(+)	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	30/00/04
SP462	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP463	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	31/01/02
SP464	+	+	+	+	+	+	-	+	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)	-	31/19/02

Continua

continuação

SP465	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	(+)	-	-	(+)	-	31/17/02
SP466	+	+	+	+	+	+	-	(-)	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	31/02/02
SP01	(+)	(+)	(+)	-	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	27/00/02
SP04	(+)	(+)	-	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	29/08/00
SP07	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19/00/00
SP105	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	(+)	-	31/02/02
SP107	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	31/02/02
SP109	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	(+)	-	-	(+)	-	31/16/02
SP110	+	+	+	+	+	+	-	(-)	-	-	(-)	-	-	-	(-)	-	31/00/00
SP115	+	-	-	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	28/00/02
SP116	+	(+)	-	+	(+)	(+)	-	(+)	-	-	-	-	-	-	(+)	-	29/01/02
SP117	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	31/01/02
SP118	+	+	+	(+)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
SP121	+	+	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	-	(+)	+	25/16/06
SP122	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SP124	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
SP125	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32/00/00
SP126	+	-	(+)	-	-	(+)	+	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	50/08/00
SP127	(+)	(+)	(+)	-	-	+	(+)	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	51/08/00
SP129	+	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	09/00/00
SP130	+	(+)	-	-	-	(+)	+	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	49/12/00
SP131	+	+	+	-	-	-	(+)	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	35/08/00
SP132	+	(+)	(+)	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35/00/00
SP134	(+)	-	(+)	-	-	(+)	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	50/01/00
SP136	+	+	(+)	-	-	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
SP138	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	31/01/00
SP139	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	31/01/00
SP140	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
SP144	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)	(+)	31/18/06
SP145	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	51/03/00
SP146	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	31/01/00
SP151	+	-	(+)	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	30/00/06
SP275	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25/00/00
SP279	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
SP247	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30/00/00
SP251	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	32/01/00
SP263	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	(+)	-	-	(+)	-	31/24/02
SP257	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	31/16/02

Continua

continuação

SP260	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32/00/00
SP262	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	34/01/00
SP293	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	28/01/00
SP296	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	30/00/02
SP299	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	31/01/02
SP303	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	(+)	(+)	-	-	(+)	-	23/25/02
SP308	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	30/01/00
RS158	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
RS159	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	31/16/00
RS161	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	52/00/00
RS162	+	+	+	-	-	+	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	51/02/00
RS163	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	31/02/00
RS164	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	31/02/00
RS165	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	63/02/00
RS166	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
RS167	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
RS168	+	(+)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	33/00/00
RS170	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32/00/00
RS171	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	52/00/00
RS172	+	(+)	-	-	-	-	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	33/02/00
RS173	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19/00/00
RS174	+	+	+	-	-	+	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	51/02/00
RS176	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
RS177	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
RS178	(+)	(+)	-	-	-	(+)	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	49/02/00
RS179	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
RS180	+	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32/00/00
RS182	+	+	+	-	-	+	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	51/02/00
RS183	+	(+)	-	-	-	(+)	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	(+)	49/02/04
RS184	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24/00/00
RS185	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
RS186	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)	(+)	31/18/06
SC187	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	31/00/02
SC189	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SC190	+	+	+	+	(+)	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	(+)	31/16/04
SC192	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
SC193	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	31/02/02
SC194	+	(+)	(+)	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00

Continua

continuação

SC195	+	-	(+)	-	-	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50/00/00
SC196	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	33/00/00
SC197	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	31/03/00
SC198	+	+	+	-	-	(+)	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	51/02/00
SC199	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	59/00/00
SC200	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	31/01/00
SC201	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
SC202	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
SC203	+	+	+	+	(+)	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	31/01/00
SC204	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	31/01/00
SC205	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	28/00/00
SC206	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	(+)	-	-	-	+	-	31/09/02
SC208	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32/00/00
SC209	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23/00/00
SC211	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
SC213	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22/00/00
SC214	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	31/01/06
SC217	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32/00/00
SC219	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32/00/00
SC222	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32/00/00
SC226	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32/00/00
SC228	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
SC230	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32/00/00
SC232	+	-	(+)	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50/00/00
SC234	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32/00/00
SC237	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	(+)	31/16/04
SC240	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
SC244	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	31/02/02
PR18	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
PR19	+	+	-	+	-	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	-	(+)	-	21/16/02
PR20	(+)	(+)	-	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29/00/00
PR21	(-)	+	(+)	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
PR24	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
PR25	+	(+)	+	(+)	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	31/00/02
PR27	+	+	+	-	(+)	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	+	-	27/02/02
PR28	(+)	+	(+)	(+)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
PR30	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
PR31	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	(+)	(+)	-	-	+	-	31/26/02

Continua

continuação

PR32	(+)	+	(+)	(+)	(+)	+	-	(+)	(+)	-	(+)	-	-	-	(+)	-	31/11/02
PR33	+	-	-	(+)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	28/00/02
PR34	+	+	-	+	(+)	(+)	-	-	+	-	(+)	-	-	-	(+)	-	29/10/02
PR36	+	(+)	(+)	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
PR37	(+)	(+)	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	33/00/00
PR38	+	+	+	+	+	+	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	+	-	31/18/02
PR41	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	31/00/02
PR43	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/00/00
PR46	+	+	+	-	-	+	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	51/02/00
PR47	+	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	(+)	-	-	-	(+)	-	29/08/02
PR48	(+)	+	(+)	+	+	+	-	-	-	-	(+)	-	-	-	(+)	-	31/08/02
PR55	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51/00/00
PR56	+	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32/00/00
PR57	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	+	31/00/06
PR62	+	+	(+)	+	+	+	-	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	31/09/00
PR63	+	+	(+)	(+)	+	+	-	-	-	-	(-)	-	-	-	(+)	-	31/00/02
PR64	(+)	(+)	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19/00/00
Total:188 isolados																	Total: 113 fenótipos

4.2 Frequência dos fatores de virulência

Nas populações avaliadas de cada estado, encontrou-se os seguintes fatores de virulência: v3, v4, v14, v15, v16, v18, vFRsal-1, v38, vRYZ2164, vRYZ910457, vBedford, vBartoli, vDesing e vKibrille no ano de 2020 (Figura 1) e no ano de 2021 (Figura 2), e vBalesta somente em 2021.

Os genes de virulência que ocorreram em menor frequência em 2020 foram vFRsal-1, vRYZ2164, vRYZ910457, vBedford, vDesign e vKibrille. O gene vBalesta, não ocorreu em nenhum dos estados estudados. Os fatores de virulência que apresentaram maior variação entre os isolados avaliados foram v3, v4, v14, v15, v16, v18 e v38.

Os genes de virulência que ocorreram em menor frequência em 2021 foram vFRsal-1, v38, vRYZ910457, vBedford, vDesign e vKibrille. O gene vBartoli, não

ocorreu em nenhum dos estados estudados. Os genes vRYZ910457 e vBalesta ocorreram somente em São Paulo. Os fatores de virulência que apresentaram maior variação entre os isolados avaliados foram v3, v4, v14, v15, v16 e v18.

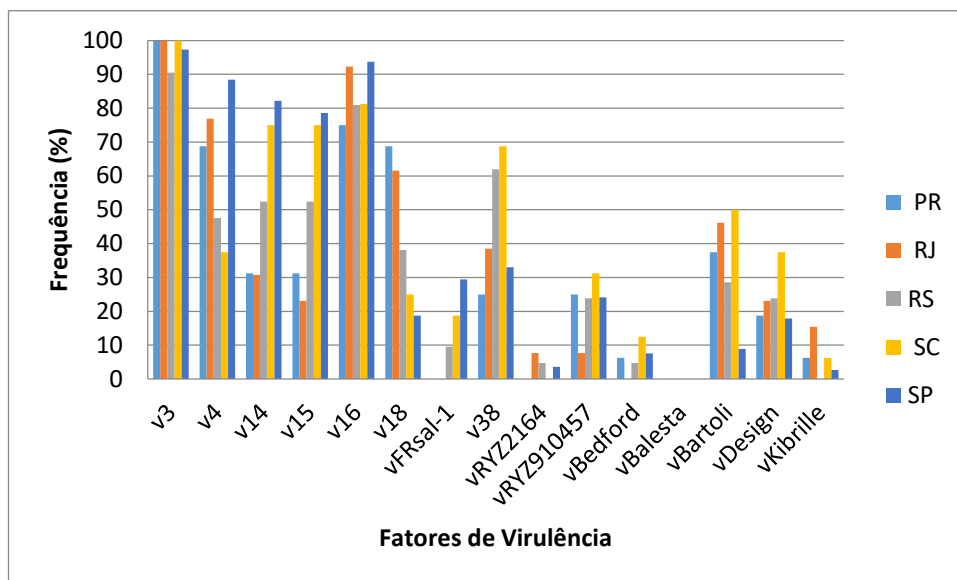


Figura 1. Frequência dos fatores de virulência observados nas populações de *Bremia lactucae* nos estados do Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo em 2020.

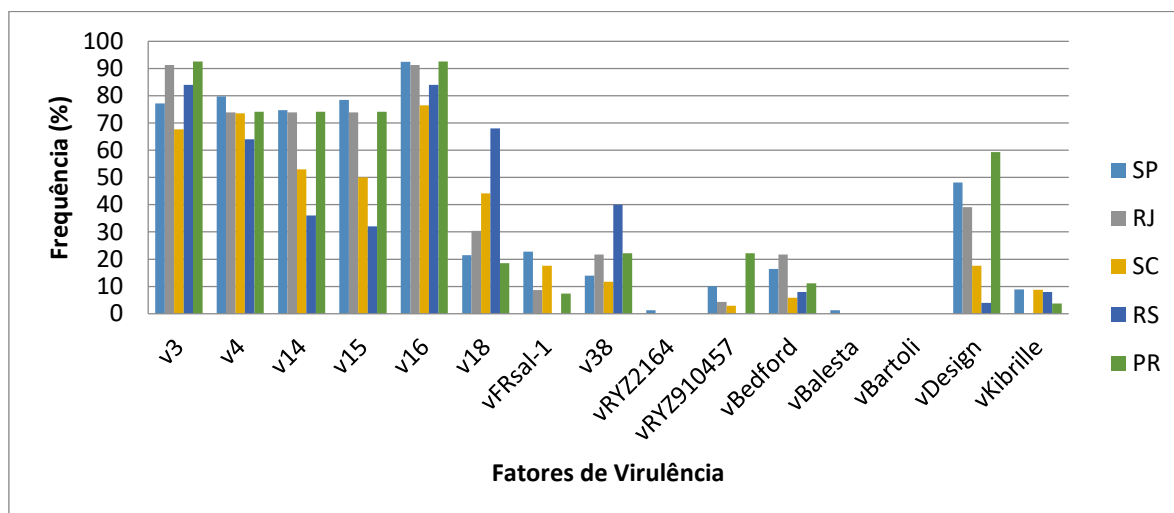


Figura 2. Frequência dos fatores de virulência observados nas populações de *Bremia lactucae* nos estados do Rio de Janeiro, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Paraná e São Paulo em 2021.

4.3 Avaliação da diversidade e complexidade dos fenótipos de virulência

O Índice de Gleason (Ig) representa o nível de diversidade nos isolados amostrados dentro da população estudada, ressaltando a população de isolados de São Paulo em 2020 com $Ig = 10,17$, indicando que houve maior quantidade de fenótipos. O menor nível de diversidade foi observado no estado do Rio de Janeiro, indicando uma população mais homogênea ($Ig = 3,51$), isso pode estar relacionado a quantidade de isolados avaliados em cada estado (Tabela 5). As expedições para coleta de tecidos com esporos de *B. lactucae* envolve recursos humanos e econômicos, além da difícil logística. Esse fato torna essa etapa complexa, contudo, há necessidade de equilibrar a proporção de coletas em função da representatividade de produção de alface em cada estado.

Em 2021, a população coletada em São Paulo apresentou maior diversidade nos isolados avaliados, com um $Ig = 10,07$, ou seja, mais fenótipos avaliados, enquanto a população do Rio Grande do Sul apresentou menor Índice de Gleason, possivelmente relacionado ao menor número de fenótipos avaliados ($Ig = 4,34$) (Tabela 6).

Na avaliação conjunta dos isolados identificados nos estados estudados, a diversidade apresentada pelo Índice de Gleason encontrada foi alta com uma média de 5,65 em 2020, e 5,9 em 2021.

Tabela 5. Caracterização da diversidade e complexidade dos fenótipos de virulência de *Bremia lactucae*, presentes nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e do total de isolados amostrados em 2020.

Estados	Ni	Nf	Ig	Ci	Cf
Rio de Janeiro	13	10	3,51	5,23	5,40
São Paulo	112	49	10,17	5,88	6,25
Rio Grande do Sul	21	18	5,58	5,19	5,11
Santa Catarina	16	14	4,69	6,19	6,07
Paraná	16	13	4,32	4,69	5,23
Total Amostrado	178	104	28,27	27,18	28,06

Número de isolados identificados (Ni), número de fenótipos de virulência identificados (Nf), índice de Gleason (Ig), Complexidade de virulência por isolado (Ci) e complexidade de virulência por fenótipo (Cf).

Tabela 6. Caracterização da diversidade e complexidade dos fenótipos de virulência de *Bremia lactucae*, presentes nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e do total de isolados amostrados em 2021.

Estados	Ni	Nf	Ig	Ci	Cf
Rio de Janeiro	23	17	5,10	5,30	5,41
São Paulo	79	45	10,07	5,48	5,50
Rio Grande do Sul	25	15	4,34	4,28	4,40
Santa Catarina	34	17	4,53	4,32	4,94
Paraná	27	19	5,46	5,55	5,58
Total Amostrado	188	113	29,50	24,93	25,83

Número de isolados identificados (Ni), número de fenótipos de virulência identificados (Nf), índice de Gleason (Ig), Complexidade de virulência por isolado (Ci) e complexidade de virulência por fenótipo (Cf).

5 DISCUSSÃO

O míldio da alface vem sendo monitorado no estado de São Paulo desde 2003. Já nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná desde 2015 e 2016, respectivamente. No Rio de Janeiro e Santa Catarina, o monitoramento teve início em 2019.

O monitoramento do míldio era baseado no conjunto EU-A e EU-B, até os anos de 2013 e 2015, respectivamente. A partir de 2016 foi estabelecido o conjunto EU-C, conceituando os fatores de virulência que foram mais proeminentes ao decorrer dos monitoramentos realizados ao longo dos anos, conforme surgimento nas populações do patógeno, e também devido aos estudos realizados pelos programas de melhoramento. A partir de 2014, teve-se a avaliação da reação as cultivares RYZ2164, RYZ910457, Bedford e Balesta. Já as cultivares FRsal-1, Bartoli e Kibrille, só foram inseridas ao conjunto de diferenciadoras a partir de 2016 (Isf, 2021).

Dos 105 fenótipos de virulência encontrados em 2020, dois são equivalentes a códigos sextetos (EU-C) já identificados na Europa. O código 19/00/00, corresponde à raça Bl:EU16, encontrado em São José do Rio Preto/SP, Jaboticabal/SP e Sumidouro/RJ, e o código 51/00/00, corresponde à Bl:EU20, encontrado em Botucatu/SP, Piedade/SP, Jacareí/SP, Salesópolis/SP, Sumidouro/RJ, Teresópolis/RJ e Colombo/PR.

Os mesmos comportamentos de códigos sextetos 19/00/00 e 51/00/00, correspondentes às raças Bl:EU16 e Bl:EU20, respectivamente, também foram encontrados no ano de 2021. Sendo a raça Bl:EU16 encontrada em Piedade/SP, São José dos Pinhais/PR e Maquiné/RS e a raça Bl:EU20 encontrada em Botucatu/SP, Ibiúna/SP, Limeira/SP, Nova Friburgo/RJ, Antônio Carlos/SC, Maquiné/RS e São José dos Pinhais/PR.

Em 2020, o fator de resistência presente na cultivar 'Balesta', comum em todos os estados estudados, ainda concedia resistência aos isolados de *B. lactucae*. Ainda, o gene de resistência 'RyZ2164' pode ser estudado para conferir resistência em Santa Catarina e Paraná; enquanto o gene 'Kibrille' pode ser usado para conceder resistência aos isolados do Rio Grande do Sul; ademais no Rio de Janeiro, pode ser utilizado os genes 'Frsal-1' e 'Bedford' para conferir resistência aos seus isolados.

Em 2021, os fatores de resistência 'Balesta' e 'RyZ2164' concedem resistência aos isolados de todos os estados estudados, com exceção de São Paulo. O fator de resistência 'Bartoli', concede resistência a todos os estados estudados. Sendo o fator de resistência de 'Kibrille' utilizado para conceder resistência também para os isolados do Rio de Janeiro; e os fatores 'Frsal-1' e 'RyZ910457' para conceder resistência aos isolados do Rio Grande do Sul.

O estado de São Paulo, em 2021, apresentou pelo menos um isolado suscetível para cada cultivar diferenciadora. Sendo a avaliação do isolado SP427/21, encontrado em Ribeirão Preto/SP, surpreendente ao apresentar possível quebra de resistência ao fator de resistência presente na cultivar 'Balesta', uma vez que até então ela conferia resistência a população de *B. lactucae*.

Uma vez que, até então, os genes de virulência da cultivar 'Balesta' não tinham sido detectados no Brasil, nos EUA, a resistência conferida por esta é eficaz em mais de 95% dos isolados avaliados até 2017 (Franco et al., 2021).

A complexidade de virulência por isolado (Ci) e a complexidade de virulência por fenótipo (Cf) foram maiores em Santa Catarina e São Paulo no ano de 2020, e no Rio de Janeiro e em São Paulo em 2021. A similaridade dos resultados de Ci e Cf, indicam que cada fenótipo ocorreu na mesma frequência, como pode ser visto no Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e em Santa Catarina em 2020, e entre todos os

estados avaliados em 2021. No Paraná, no ano de 2020, o Cf foi superior ao Ci, o que indica a predominância de fenótipos com menor número de fatores de virulência.

Quando a complexidade de virulência por fenótipo (Cf) é maior do que por isolado (Ci), tendem a predominar fenótipos de virulência simples (Andrivon 1994; Lebeda e Zinkernagel 2003), como foi observado no presente estudo quando realizou-se a avaliação por estado (Tabela 5 e 6). Pode-se observar alta diversidade entre as populações estudadas, o que faz com que a introdução de novas cultivares seja mais complexa.

Assim sendo, verifica-se a necessidade de monitoramento contínuo dos fenótipos de virulência que ocorrem nas principais regiões produtoras de alface do Brasil, visando identificar àqueles com frequência e distribuição, a fim de direcionar programas de melhoramento por meio da introgressão de genes de resistência nas futuras cultivares de alface.

6 CONCLUSÕES

Em 2020, o código sexteto 51/00/00, foi o mais frequente e presente nos estados do Rio de Janeiro e Paraná, enquanto o código sexteto 31/00/00 foi o mais frequente em São Paulo, o código sexteto 29/02/03 mais frequente em Santa Catarina, e o código sexteto 31/10/02 foi o mais frequente no Rio Grande do Sul.

Em 2021, os códigos sextetos mais frequentes foram 31/00/00 encontrado em São Paulo e Rio de Janeiro, 31/01/00 em Santa Catarina, 51/00/00 no Rio Grande do Sul e 31/00/02 no Paraná.

Os isolados RS56/20 e SP90/20, coletado em Terra de Areia/RS e São José do Rio Preto/SP, no ano de 2020, devem ser utilizados na avaliação de cultivares resistentes para os estados da região sul do Brasil e em São Paulo e Rio de Janeiro, por apresentar menor número de fatores de virulência, indicando possível resistência a maioria das cultivares diferenciadoras, uma vez que apresentaram suscetibilidade a apenas duas cultivares.

Os isolados RS180/21 e RS170/21, de Maquiné/RS; PR56/21, de São José dos Pinhais/PR; SC234/21, SC230/21, SC226/21 SC222/21 e SC219/21, de Chapecó/SC; SC217/21, de Antônio Carlos/SC; SP125/21 de Botucatu/SP; SP260/21 de Mogi das Cruzes; e SP263/21 de Biritiba Mirim, coletados no ano de 2021, também devem ser considerados na avaliação de cultivares resistentes para as regiões Sul e Sudeste do país, por apresentarem apenas um fator de virulência, ambos com o código sexteto 32/00/00, indicando susceptibilidade a apenas uma das cultivares diferenciadoras.

O fator de resistência encontrado na cultivar diferenciadora 'Balesta' é a mais indicada para programas de melhoramento de alface visando resistência ao míldio da alface para a região sul do Brasil e os estados de São Paulo e Rio de Janeiro, uma vez que nos dois anos de monitoramento a maioria dos isolados apresentou resistência a ela, apesar de apenas um dos 331 isolados ter manifestado reação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abcsem. MANUAL TÉCNICO CULTIVO DE HORTALIÇAS 2020: Alface. Campinas: [s. n.], 2001-2020. Disponível em: <https://www.abcsem.com.br/publicacoes>. Acesso em: 22 mar. 2022.

Andrivon D. (1994) Race structure and dynamics in populations of *Phytophthora infestans*. **Canadian Journal of Botany** 72:1681–1687.

van Bruggen AHC, Scherm H. (1997) Downy mildew. In: Davis RM, Subbarao KV, Raid RN, Kurts EA. (eds.) Compendium of lettuce diseases. Saint Paul: **American Phytopathological Society**. p. 17-19.

Caprio CH. **Genômica populacional de *Bremia lactucae* e variação fenotípica para resistência em alface no Brasil**. 2021.

Carvalho LTS. **Monitoramento de fenótipos de virulência e fatores de resistência à *Bremia lactucae* nas regiões Sul e Sudeste do Brasil**. 2021.

Crute IR. O papel do melhoramento de resistência no controle integrado do míldio (*Bremia lactucae*) em alface protegida. **Criação para Resistência a Doenças**, p. 95-102, 1992.

Demartelaere ACF, Preston HAF, Feitosa SS, Preston W, Silva RM, Rosado AKHB, Medeiros DC, Ferreira MS, Rodrigues ALS, Benjamin RF. A influência dos fatores climáticos sob as variedades de alface cultivadas no Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 90363-90378, 2020a.

Demartelaere ACF, Silva TBM, Preston HAF, Ferreira AS, Rodrigues ALS, Feitosa, SS, Preston W, Medeiros DC, Rosado AKHB, Silva RM, Benjamin RF. O cultivo hidropônico de alface com água de reuso. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 90206-90224, 2020b.

van Ettehoven K, vanDer Arend A. (1999) Identification and denomination of “new” races of *Bremia lactucae*. In: Eucarpia meeting on leafy vegetables genetics and breeding, Czech Republic: **Proceedings**. p. 105 – 107.

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

Franco CA, Marin MV, Silva EHC, Soares RS, Candido WS, Souza LN, Caprio CH, Vidal RL, Panizzi RC, Braz LT. Monitoramento da virulência de *Bremia lactucae* como ferramenta de melhoramento contra o míldio da alface das regiões sul e sudoeste do Brasil. **European Journal of Plant Pathology** , v. 159, p. 179-189, 2021

van Hese N, Huang CJ, Vleesschauwer D, Delaere I, Pauwelyn E, Bleyaert P, Höfte M (2016) Evolution and distribution of virulence characteristics of Belgian *Bremia lactucae* populations between 2008 and 2013. **European Journal of Plant Pathology** 144:431–441.

Huber ACK, Xavier F. Influência de diferentes cortes no rebrote na cultura da alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Científica Rural**, v. 22, n. 1, p. 140-151, 2020.

Ilott TW, Durgan ME, Michelmore RW. Genetics of virulence in California populations of *Bremia lactucae* (Lettuce Downy Mildew). **Phytopathology**, Saint Paul, v. 77, n. 10, p. 1381-1386, 1987.

ISF (2021) **The International Bremia Evaluation Board (IBEB)**. Disponível em: <<https://www.worldseed.org/our-work/plant-health/other-initiatives/ibeb/>>. Acesso em: 17 nov. 2021.

Jacinto ACP, Silveira AJ, Silva IG, Castoldi R, Franco CA, Finzi RR, Marin MV, Braz LT, Maciel GM. Comparison of methods to evaluate resistance of lettuce genotypes against *Bremia lactucae*. **Australian Journal of Crop Science**, v. 14, n. 8, p. 1283-1287, 2020.

Lebeda A, Pink DAC, Astley D. (2002) Aspects of the interactions between wild *Lactuca* spp. and related genera and lettuce downy mildew (*Bremia lactucae*). In: Spencer- Phillips PTN, Gisi U, Lebeda A (Ed.). **Advances in downy mildew research**. Holanda: Kluwer Academic Publishers, p.85–117.

Lebeda A, Zinkernagel V. (2003) Evolution and distribution of virulence in the German population of *Bremia lactucae*. **Plant Pathology**, v. 52, n. 1, p. 41-51.

Lebeda A, Ryder EJ, Grube R, Doležalová I, Křístková E. Lettuce (Asteraceae; *Lactuca* spp.). In: Singh R, Boca Raton FL. (Ed) **Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement series, vegetable crops**. CRC Press, p.377–472, 2007.

Lopes CA, Quezado-Duval AM, Reis A. (2010) **Doenças da alface**. Brasília: Embrapa Hortaliças. 68p.

Marin MV, Franco CA, Smilde D, Panizzi RC, Braz LT. Distribuição de raças e fatores de virulência de *Bremia lactucae* na principal área produtora de alface do Brasil. **Journal of Plant Pathology** , v. 102, p. 395-407, 2020.

Mendes FC, Tavares AT, Rosa PHL, Reyes IDP, Lopes DAPS, Nascimento IR. Desenvolvimento de cultivares de alface sob casa de vegetação em condição climática tropical semi-úmido. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 16, n. 2, p. 86-95, 2020.

Nogueira MM, Abud LLS, Stival MM. Levantamento de pragas e doenças em hortaliças cultivadas na horta escola do UNIVAR. **Revista Eletrônica Interdisciplinar**, v. 12, p. 057-063, 2020.

Petrzelová I, Lebeda A, Kosman E. Distribution, disease level and virulence variation of *Bremia lactucae* on *Lactuca sativa* in the Czech Republic in the period 1999-2011. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 161, n. 7-8, p. 503-514, 2013.

Queiroz AA, Cruvinel VB, Figueiredo KME. (2017) Produção de alface americana em função da fertilização com organomineral. Goiânia: **Enciclopédia Biosfera**, v.14, p.105-106. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2017a/agrar/producao%20de%20alface.pdf>. Acesso em: 21 jun, 2021.

Reis Nascimento A, Morgado CMA, Aguiar FCO, Santana IG, Lago IN, Moura ACM, Cunha Junior LC. Produção de variedades de alface destinadas ao processamento mínimo. **Scientific Electronic Archives**, v. 15, n. 1, 2022.

Runge F, Gärber U, Lebeda A, Thines M. *Bremia lactucae* populations on cultivated lettuce originate from prickly lettuce and are interconnected with the wild pathosystem. **European Journal of Plant Pathology**, v. 161, n. 2, p. 411-426, 2021.

Sala FC, Nascimento WM. (2014) Produção de sementes de alface. In: Nascimento WM. (ed.). **Produção de Sementes de Hortaliças**. Brasília: Embrapa. p. 17.

Sala FC, Costa CP. (2016) Melhoramento de Alface. In: **Melhoramento de Hortaliças**. Nick C, Borém A. (eds.) Viçosa: UFV. ISBN: 9788572695510. P.95-127.

Santos Veras RN, Lima DS, Carvalho JA, Reis AS, Silva MR. Desempenho da alface Vanda em relação ao uso de adubo químico e composto orgânico. **Research, Society and Development**, v. 8, n. 1, 2019.

Silva MH, Lima MS, Ferreira AB, Souza RB, Nascimento MM. Cultivo de alface utilizando substratos alternativos. **Scientia Naturalis**, v. 2, n. 2, 2020.

Souza LN. ***Bremia lactucae*: monitoramento e estudo da compatibilidade sexual em populações brasileiras**. 2021.