

**CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA À
MELOIDOGYNE INCOGNITA NAS
CULTIVARES DE ALFACE GRAND RAPIDS
E SALINAS 88**

JOSÉ LUIZ SANDES DE CARVALHO FILHO

2009

JOSÉ LUIZ SANDES DE CARVALHO FILHO

CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA À *Meloidogyne incognita* NAS CULTIVARES DE ALFACE GRAND RAPIDS E SALINAS 88

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador

Prof. Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2009**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Carvalho Filho, José Luiz Sandes de.

Controle genético da resistência à *Meloidogyne incognita* nas cultivares de alface Grand Rapids e Salinas 88 / José Luiz Sandes de Carvalho Filho. – Lavras : UFLA, 2009.

39 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Luiz Antonio Augusto Gomes.

Bibliografia.

1. Nematóide das galhas. 2. Herança. 3. *Lactuca sativa* L. 4. Parâmetros. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 635.52952

JOSÉ LUIZ SANDES DE CARVALHO FILHO

**CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA À *MELOIDOGYNE*
INCOGNITA NAS CULTIVARES DE ALFACE GRAND RAPIDS E
SALINAS 88**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 24 de março de 2009

Prof. Dr. Wilson Roberto Maluf	UFLA
Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank	UFS
Profa. Dra. Luciane Vilela Resende	UFRPE
Pesq. Dra. Cibelle Vilela Andrade Fiorini	UFLA/CNPq

Prof. Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes
Orientador

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL**

Aos meus pais, José Luiz e Maria Izabel,
Aos meus irmãos, Álvaro, Fabiano e Isabele,
A minha noiva, Rejane

OFEREÇO

Aos meus avôs, Bento e Francisco (*in memoriam*),
As minhas avós, Lia e Miriam,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas oportunidades colocadas em meu caminho.

A minha família, pelo apoio e compreensão.

A minha noiva, Rejane, responsável por momentos muito felizes da minha vida.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao Departamento de Agricultura e à Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (Capes), pela oportunidade e viabilização, com suporte financeiro para a realização do doutorado.

Ao Prof. Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes, pela amizade, paciência, ensinamentos e orientação ao longo do curso.

Aos professores dos Departamentos de Agricultura e de Genética e Melhoramento de Plantas, pelos ensinamentos durante o doutorado.

Ao Prof. Dr. Vicente de Paulo Campos e ao Tarlei, pelo apoio técnico científico no Laboratório de Nematologia, durante a realização de análises laboratoriais.

Aos funcionários da Hortiagro Sementes Ltda., em especial Paulo Moretto, Ná e Vicente Licursi, pela amizade e pela ajuda na condução dos experimentos.

Aos colegas Alice, Aline, Daniela, Rafael, Renata, Ronaldo e Sindynara, pela amizade e auxílio na condução dos experimentos.

Aos amigos de Lavras que sempre estiveram comigo nesta caminhada.

Aos colegas da Pós-Graduação em Fitotecnia, pela amizade e convivência.

E a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
ARTIGO 1: Resistência a <i>Meloidogyne incognita</i> em alface nas cultivares Grand Rapids e Salinas 88.....	1
Resumo.....	2
Abstract.....	3
1 Introdução.....	4
2 Material e métodos.....	6
3 Resultados e discussão.....	10
Referências Bibliográficas.....	21
ARTIGO 2: Parâmetros populacionais e correlação entre características da resistência a <i>Meloidogyne incognita</i> em alface.....	23
Resumo.....	24
Abstract.....	25
1 Introdução.....	26
2 Material e Métodos.....	28
3 Resultados e Discussão.....	31
4 Conclusões.....	37
Referências Bibliográficas.....	37

RESUMO

CARVALHO FILHO, José Luiz Sandes de. **Controle genético da resistência à *Meloidogyne incognita* nas cultivares de alface Grand Rapids e Salinas 88.** 2009. 39p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o controle genético da resistência a *Meloidogyne incognita* raça 1, nas cultivares Grand Rapids e Salinas 88. Foram realizados dois experimentos. No primeiro, utilizaram-se ‘Grand Rapids’, ‘Salinas 88’, ‘Regina 71’, F₁ (‘Grand Rapids’ x ‘Salinas 88’), F₂ (‘Grand Rapids’ x ‘Salinas 88’) e F₃ (‘Grand Rapids’ x ‘Salinas 88’), além das famílias F₄ (‘Grand Rapids’ x ‘Salinas 88’). No segundo, utilizaram-se ‘Grand Rapids’, ‘Salinas 88’, ‘Regina 71’ e famílias F₄. A infestação do substrato foi realizada com *Meloidogyne incognita* raça 1, com uma suspensão de 30 ovos.cm⁻³ de substrato. Aos 45 dias após a inoculação, avaliou-se cada planta para incidência de galhas, nota para número de galhas, nota para número de massas de ovos e número de ovos. Existem genes diferentes envolvidos no controle da resistência a *Meloidogyne incognita* raça 1 nas cultivares de alface Grand Rapids e Salinas 88. Além disso, há correlação genética alta e positiva entre todas as características avaliadas e o número de ovos proporciona os maiores ganhos de seleção.

Palavras chave: *Lactuca sativa* L., herança, nematóide das galhas.

*Orientador: Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes - UFLA.

ABSTRACT

CARVALHO FILHO, José Luiz Sandes de. **Genetic control of resistance to *Meloidogyne incognita* in lettuce cultivars Grand Rapids e Salinas 88.** 2009. 39p. Thesis (Doctorate Program in Crop Science). – Federal University of Lavras, Lavras, MG*.

The aim of this work was to study the genetic control the resistance to *Meloidogyne incognita* race 1 of the cultivars lettuce 'Grand Rapids' and 'Salinas 88'. Two experiments were accomplished. The first 'Grand Rapids', 'Salinas 88', 'Regina 71', F₁ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), F₂ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), F₃ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88') and F₄ progenies ('Grand Rapids' x 'Salinas 88') were used. The second 'Grand Rapids', 'Salinas 88', 'Regina 71' and F₄ progenies were used. The substrate was infested with substrate 30 eggs of *Meloidogyne incognita* race 1.cm⁻³ of substrate. The evaluation was made 45 days for the incidence of galls, score for number of galls, score for number of egg-masses and number of eggs, for root system. Different genes are involved in the genetic control of the resistance to *Meloidogyne incognita* race 1 in 'Grand Rapids' and 'Salinas 88' and high and positive genetic correlation there was among all of the appraised characters and the number of eggs is the best character to select resistant plants.

Keywords: *Lactuca sativa* L., inheritace, root-knott nematodes.

*Major Professor: Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes – UFLA.

ARTIGO 1

**RESISTÊNCIA À *MELOIDOGYNE INCOGNITA* EM ALFACE
NAS CULTIVARES GRAND RAPIDS E SALINAS 88**

(O artigo 1 será encaminhado para submissão do Periódico Científico: Pesquisa Agropecuária Brasileira)

José Luiz Sandes de Carvalho Filho¹, Luiz Antonio Augusto Gomes¹

¹ Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 3037, CEP 37200-000. Lavras, MG.
Email: jlsandes2000@yahoo.com.br; laagomes@yahoo.com.br

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar a resistência a *Meloidogyne incognita* raça 1, a partir das cultivares de alface resistentes Grand Rapids e Salinas 88. Os experimentos foram conduzidos em estufa, em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, sendo avaliadas as populações 'Salinas 88', 'Grand Rapids', F₁ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), F₂ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), F₃ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88') e famílias F₄ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'). A infestação do substrato foi realizada com ovos de *Meloidogyne incognita* raça 1, com uma suspensão de ovos na proporção de 30 ovos.cm⁻³ de substrato. Aos 45 dias após a inoculação, avaliou-se cada planta para incidência de galhas, nota para número de galhas, nota para número de massas de ovos e número de ovos. Existem diferentes genes envolvidos no controle genético da resistência a *Meloidogyne incognita* raça 1, nas cultivares de alface Grand Rapids e Salinas 88, podendo-se obter materiais com maior nível de resistência a partir do cruzamento entre estas cultivares.

Palavras chave: *Lactuca sativa* L., herança, nematóide das galhas.

*Orientador: Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes - UFLA.

ABSTRACT

The objective of this work was to study the resistance to *Meloidogyne incognita* race 1 from 'Grand Rapids' and 'Salinas 88' resistant lettuce. The experiments were driven in greenhouse, in trays of expanded polystyrene of 128 cells, where they were appraised the populations 'Salinas 88', 'Grand Rapids', 'Regina 71', F₁ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), F₂ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), F₃ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88') and progenies F₄ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'). The experiment was carried out in greenhouse, using expanded polystyrene trays with 128 cells, in completely randomized blocks design with three replicates and eight plants each plot. The substrate was infested with substrate 30 eggs of *Meloidogyne incognita* race 1.cm⁻³ of substrate. The evaluation was made 45 days for the incidence of galls, score for number of galls, score for number of egg-masses and number of eggs, for root system. Different genes are involved in the genetic control of the resistance to *Meloidogyne incognita* race 1 in 'Grand Rapids' and 'Salinas 88', the crossing between ones will like this be able to generate a line with level of superior resistance.

Keywords: *Lactuca sativa* L., inheritace, root-knott nematodes.

*Major Professor: Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes – UFLA.

1 INTRODUÇÃO

Os fitonematóides parasitas da alface, principalmente representados pelo gênero *Meloidogyne*, danificam o sistema radicular e impedem a absorção de água e sais minerais, afetando características comerciais, como coloração das folhas, formação de cabeça, tamanho e peso de planta. Plantas de alface atacadas por nematóides ficam atrofiadas e amarelecidas, tornando-se impróprias à comercialização.

Redução da massa foliar fresca da alface ocasionada pelos nematóides das galhas tem sido relatada. No plantio da cultivar de folhas lisas Elisa, em vasos, cujo solo foi infestado com *M. javanica*, verificou-se redução na fitomassa fresca das plantas de alface de 28,8% e 54%, dependendo da origem das plantas, das mudas ou da semeadura direta, respectivamente (Santos et al., 2006). A cultivar Babá, avaliada sob condições de casa de vegetação, mostrou desenvolvimento reduzido quando atacada pelas raças 1 e 2 de *Meloidogyne incognita* (Krzyzanowski & Ferraz, 2000). Em outro experimento, as cultivares Brisa e Lucy Brown tiveram massa fresca da parte aérea e de raiz reduzida devido ao ataque de *M. incognita* (Asuaje et al., 2004).

O controle químico é uma prática algumas vezes utilizada no manejo dos nematóides das galhas. Contudo, os produtos são tóxicos e de longo efeito residual nas folhas. Considerando que alface tem ciclo curto, o método mais seguro e eficaz para o controle dos nematóides é mediante o emprego de cultivares resistentes.

A resistência genética é considerada um dos métodos mais eficientes para o controle dos nematóides das galhas (*Meloidogyne* spp.) em diferentes espécies vegetais. No caso da alface, alguns trabalhos têm sido encontrados na literatura, tratando da resistência aos nematóides das galhas. Em 1996, Charchar & Moita, avaliando 45 cultivares de alface de diferentes tipos, em campo,

verificaram que as cultivares Bix, Romana Balão e Salad Bowl Mimosa foram altamente resistentes a *M. incognita* raça 1 e *M. javanica*. Em outro trabalho, as cultivares do tipo americana Salinas 88, Challenge, Vanguard 75, Calgary, Classic e La Jolla apresentaram fator de reprodução abaixo de 1 para *M. incognita* raça 2, sendo consideradas fontes de resistência promissoras para utilização em programas de melhoramento genético, visando à obtenção de cultivares resistentes à raça 2 de *M. incognita* (Wilcken et al., 2005). A avaliação de cinco cultivares de alface também mostrou a presença de resistência genética, identificando a ‘Grand Lakes’ como altamente resistente à *M. incognita* (Pedroche et al., 2007).

A herança da resistência ao nematóide das galhas foi inicialmente estudada a partir do cruzamento entre as cultivares Regina 71 (suscetível, folhas lisas) e Grand Rapids (resistente, folhas crespas), evidenciando-se que tanto para as raças 1, 2, 3 e 4 de *M. incognita* (Gomes et al., 2000) quanto para *M. javanica* (Maluf et al., 2002), o caráter é controlado por um único loco gênico. Resultado semelhante foi obtido por Carvalho Filho (2006), ao estudar a herança da resistência a partir do cruzamento entre ‘Salinas 88’ (resistente) e ‘Regina 71’ (suscetível). Neste caso, detectou-se, ainda, além de um loco gênico de efeito maior, a presença de modificadores. Trabalhos posteriores, como o de Fiorini et al. (2007), confirmam a transferência do alelo de resistência da cultivar Grand Rapids, quando foram identificadas 10 famílias como homozigotas resistentes, a partir da avaliação de 39 famílias F_{2,3}, obtidas do cruzamento entre as cultivares Regina 71 e Grand Rapids.

As cultivares Grand Rapids e Salinas 88 são materiais que podem ser utilizados como fontes de resistência aos nematóides das galhas, podendo-se escolher uma ou outra como genitor, conforme os objetivos do programa de melhoramento e também do tipo de alface que se deseja obter. Apesar da evidência da resistência a *M. incognita* das cultivares Grand Rapids e Salinas 88,

não há relatos sobre o possível alelismo entre os genes que controlam a resistência a nematóides nestas duas cultivares.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em estufa nas dependências da HortiAgro Sementes Ltda., no município de Ijaci, MG localizado na região sul do estado de Minas Gerais, a 21°10' latitude Sul e 44°55' longitude Oeste, à altitude de 832 m. A temperatura média anual é de 19,4°C, com médias mínimas de 14,8°C e com médias máximas de 26,1°C. Os experimentos foram conduzidos no período de dezembro de 2007 a fevereiro de 2008, época em que as temperaturas médias oscilaram entre 24°C e 28°C.

Num primeiro experimento, os tratamentos foram constituídos pelas cultivares parentais Grand Rapids e Salinas 88, as populações F₁ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), F₂ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), F₃ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), além da cultivar Regina 71. Sementes F₂ foram semeadas e as plantas colhidas em bandejas de poliestireno expandido, tendo cada célula 110cm³. Foram colhidas sementes em bulk de 400 plantas F₂ para constituir a geração F₃ utilizada neste estudo. Grand Rapids caracteriza-se por apresentar folhas soltas e crespas e resistência às raças 1, 2, 3 e 4 de *M. incognita* (Gomes et al., 2000) e a *M. javanica* (Maluf et al., 2002). Salinas 88 é uma cultivar do tipo americana e apresenta resistência a *M. incognita* raça 1 (Carvalho Filho, 2006). Regina 71 é uma cultivar de folhas lisas e soltas e é suscetível a *M. incognita* raça 1 (Fiorini et al., 2007), utilizada como padrão de suscetibilidade em alface. Foram avaliadas 48 plantas de 'Grand Rapids', 'Salinas 88', 'Regina 71' e da geração F₁, além de 300 plantas das gerações F₂ e F₃.

A semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno expandido de 128 células contendo substrato comercial. Cada célula possui o volume aproximado

de 44 cm³. Foram colocadas de duas a três sementes por célula e, após a emergência, quando as plântulas apresentavam o estágio de primeira folha definitiva, procedeu-se ao desbaste, deixando-se apenas uma plântula em cada célula. Uma fileira (oito células) de cada bandeja foi semeada com tomate cultivar Santa Clara, suscetível a *Meloidogyne* spp., para se verificar a eficiência do inóculo, o que foi feito mediante a constatação de intensa formação de galhas em suas raízes. Aos 15 dias após a semeadura, fez-se a infestação do substrato com os ovos de *M. incognita* raça 1, utilizando-se uma seringa veterinária e injetando-se ao lado de cada planta, diretamente no substrato, uma suspensão de ovos na proporção de 30 ovos.cm⁻³ de substrato. Os ovos foram obtidos de acordo com a técnica proposta por Hussey & Barker (1973), modificada por Bonetti & Ferraz (1981), a partir de isolados de *M. incognita* raça 1 mantidos em casa de vegetação na Universidade Federal de Lavras, em vasos de 10 dm³, com plantas de tomate suscetível, cultivar Santa Clara. Aos 45 dias após a infestação, retiraram-se as plantas de tomate de cada bandeja, verificando-se a intensa formação de galhas e de massas de ovos em suas raízes, confirmando, assim, a eficiência do inóculo.

Em seguida, cada planta de alface foi avaliada individualmente para as características incidência de galhas, nota para número de galhas, nota para número de massas de ovos e número de ovos. As plantas foram retiradas da bandeja, sendo avaliadas, ainda com o torrão, para incidência de galhas. Para esta característica, observou-se visualmente o sistema radicular de cada planta, sendo atribuída uma nota, conforme Fiorini et al. (2007), sendo: nota 1, atribuída a sistema radicular com poucas galhas visíveis (<10), pequenas (<1mm) e não coalescentes; nota 2, atribuída a sistema radicular com poucas galhas visíveis (<10), porém, algumas com tamanho médio (1-3 mm); nota 3, atribuída a sistema radicular com número médio de galhas visíveis (10-30), de tamanho médio e algumas de tamanho grande (>3 mm); nota 4, atribuída a sistema

radicular com muitas galhas visíveis (>30), de tamanho grande, com poucas galhas de tamanho médio, algumas galhas coalescentes e nota 5, atribuída a sistema radicular com muitas galhas visíveis, de tamanho grande, com grande número de galhas coalescentes.

Para as características notas para o número de galhas e nota para o número de massas de ovos, cada planta teve seu sistema radicular submergido em água para o desprendimento do substrato do torrão. As raízes foram lavadas com cuidado, em água não corrente, até se encontrarem limpas de substrato, sendo, em seguida, coloridas com o corante usado na indústria alimentícia, contendo bordeaux, na concentração de 1% (Rocha et al., 2005), para a visualização das massas de ovos.

Em seguida, contaram-se o número de galhas e o número de massas de ovos por sistema radicular, atribuindo-se as notas correspondentes. Para a característica nota para o número de galhas, utilizou-se uma escala de notas que variou de 1 a 5, sendo: nota 1, atribuída a sistema radicular com número de galhas menor ou igual a 20; nota 2, atribuída a sistema radicular com número de galhas maior que 20 e menor ou igual a 40; nota 3, atribuída a sistema radicular com número de galhas maior que 40 e menor ou igual a 60; nota 4, atribuída a sistema radicular com número de galhas maior que 60 e menor ou igual a 80; nota 5, atribuída a um sistema radicular com um número de galhas maior que 80. Para o número de massas de ovos, utilizou-se também uma escala de notas de 1 a 5, sendo: nota 1, atribuída a sistema radicular com número de massas de ovos menor ou igual a 10; nota 2, atribuída a sistema radicular com número de massas de ovos maior que 10 e menor ou igual a 20; nota 3, atribuída a sistema radicular com número de massas de ovos maior que 20 e menor ou igual a 30; nota 4, atribuída a sistema radicular com número de massas de ovos maior que 30 e menor ou igual a 40 e nota 5, atribuída a um sistema radicular com número de massas de ovos superior a 40.

Após a contagem das galhas e massas de ovos, extraíram-se os ovos das raízes das plantas de alface pela técnica de Hussey & Barker (1973), modificada por Boneti & Ferraz (1981). Os ovos assim obtidos foram contados com auxílio de estereomicroscópio, obtendo-se o número de ovos por sistema radicular.

Para cada característica, obteve-se uma distribuição de frequência do número de plantas para cada nota, considerando-se as populações: 'Grand Rapids', 'Salinas 88', 'Regina 71', F₁ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), F₂ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88') e F₃ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'). Na distribuição de frequência do número de ovos, adotou-se uma escala de notas variando de 1 a 5, sendo: nota 1, atribuída a sistema radicular com número de ovos menor ou igual a 2000; nota 2, atribuída a sistema radicular com número de ovos maior que 2.000 e menor ou igual a 4.000; nota 3, atribuída a sistema radicular com número de ovos maior que 4.000 e menor ou igual a 6.000; nota 4, atribuída a sistema radicular com número de ovos maior que 6.000 e menor ou igual a 8.000 e nota 5, atribuída a sistema radicular com um número de ovos maior que 8000.

Estimaram-se também a média, a amplitude e a variância, por meio do programa computacional Sisvar (Ferreira, 2000), para todas as características nas populações sob estudo. Com as variâncias das populações, foram obtidas as estimativas das variâncias genética, ambiental e fenotípica e herdabilidade no sentido amplo, em nível das gerações F₂ e F₃ (Ramalho et al., 1993).

Em outro experimento, os tratamentos foram compostos pelas cultivares parentais Grand Rapids e Salinas 88 resistentes a *M. incognita* raça 1 e a cultivar Regina 71 (suscetível), utilizada como testemunha, além de 35 famílias F₄. Na obtenção dessas famílias, foram semeadas 400 sementes F₂, oriundas da autofecundação de plantas F₁ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'). Das plantas F₂ obtidas, colheram-se as sementes F₃ em bulk. Em seguida, sementes F₃ e 35 plantas F₃ foram aleatoriamente escolhidas para a colheita de sementes planta a

planta, originando as 35 famílias F_4 ora avaliadas. As cultivares Grand Rapids, Salinas 88 e Regina 71, além das 35 famílias F_4 ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), foram avaliadas para as mesmas características anteriormente citadas, utilizando o delineamento experimental em blocos casualizados com 3 repetições e 8 plantas por parcela, perfazendo 24 plantas por tratamento. As médias das famílias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). Posteriormente, as famílias foram separadas em fenótipos, seguindo a orientação da análise do teste de Scott-Knott. Os fenótipos das famílias foram avaliados pelo teste de qui-quadrado (5%), com um grau de liberdade, para validar ou não a hipótese de herança digênica da herança à *M. incognita* raça 1, seguindo um modelo de segregação independente sem epistasia.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A distribuição de frequência de notas para as diferentes características mostrou que a maioria das plantas das cultivares Grand Rapids e Salinas 88 apresentou notas relativamente baixas, tendo cerca de 90% sido inferior a 3 (Figura 1). Por outro lado, 100% das plantas da cultivar Regina 71 apresentaram notas iguais ou superiores a 3, confirmando a resistência das cultivares Grand Rapids (Gomes et al., 2000 & Fiorini et al, 2005) e Salinas 88 (Carvalho Filho, 2006). Ao se considerar a geração F_1 ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), verificou-se maior porcentagem de plantas distribuídas em torno de valores 3 e 4. Considerando-se as gerações F_2 ('Grand Rapids' x 'Salinas 88') e F_3 ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), observou-se uma variação nas notas entre 1 e 5, mostrando que nessas gerações ocorrem plantas resistentes e suscetíveis. Estes resultados indicam que a resistência nas cultivares Grand Rapids e Salinas 88, provavelmente, é controlada por locos diferentes.

Ao se considerar as médias dos genitores, verificou-se que não houve diferença entre essas para as características incidência de galhas, nota para número de galhas e nota para número de massas de ovos (Tabela 1). Para o número de ovos, na cultivar Grand Rapids, encontrou-se um menor número, diferindo de 'Salinas 88'. Considerando a cultivar Regina 71, testemunha suscetível, observou-se uma média significativamente superior a todos os demais tratamentos, para todas as características. Analisando-se as gerações F₁, F₂ e F₃, notou-se que não houve diferença significativa entre as gerações F₁ e F₂; já a geração F₃ apresentou valores de média significativamente inferiores para todas as características, fato que está, provavelmente, associado a uma maior frequência de genótipos homozigotos resistentes.

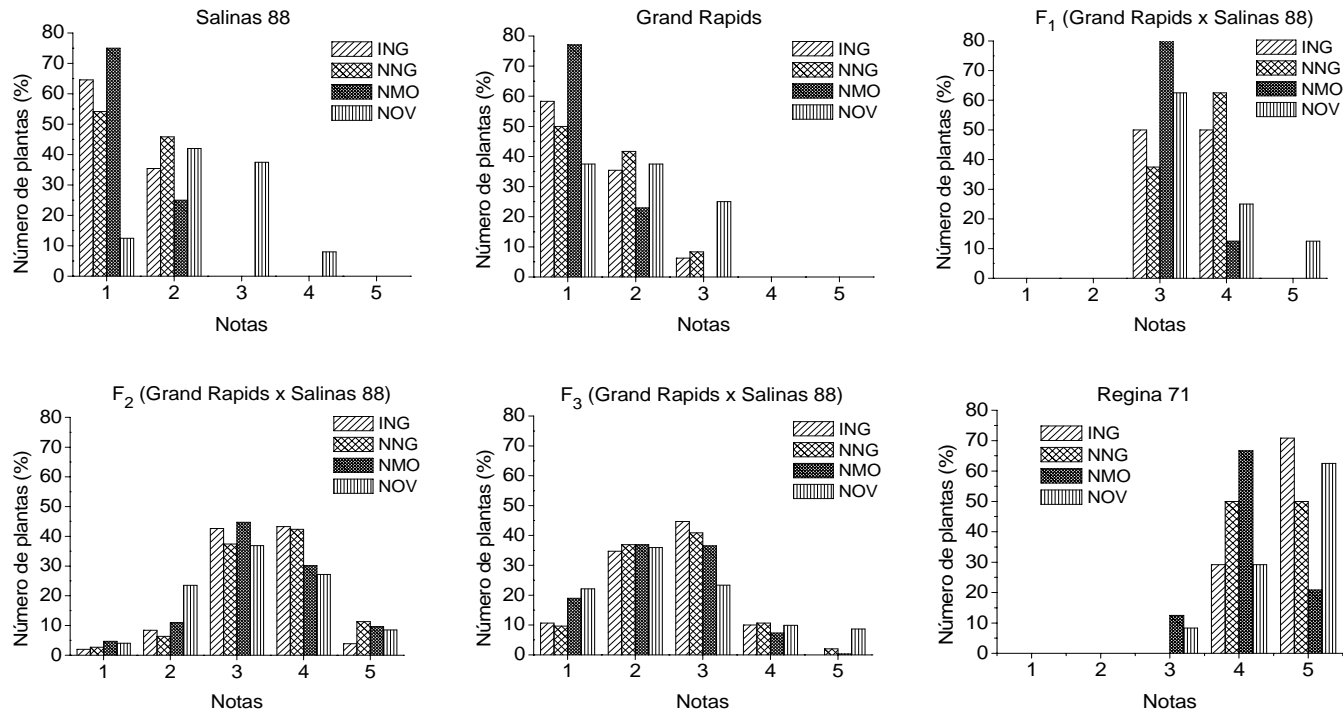


FIGURA 1. Distribuições de freqüências para as características incidência de galhas (ING), nota para número de galhas (NNG), nota para número de massas de ovos (NMO) e número de ovos (NOV), em plantas das populações ‘Salinas 88’, ‘Grand Rapids’, F₁ (‘Grand Rapids’ x ‘Salinas 88’), F₂ (‘Grand Rapids’ x ‘Salinas 88’), F₃ (‘Grand Rapids’ x ‘Salinas 88’) e ‘Regina 71’.

TABELA 1. Parâmetros das populações ‘Salinas 88’, ‘Grand Rapids’, ‘Regina 71’, F₁ (‘Grand Rapids’ x ‘Salinas 88’), F₂ (‘Grand Rapids’ x ‘Salinas 88’) e F₃ (‘Grand Rapids’ x ‘Salinas 88’) para as características incidência de galhas, nota para número de galhas, nota para número de massas de ovos e número de ovos.

Populações	Parâmetros	Incidência de galhas	Nota para número de galhas	Nota para número de massas de ovos	Número de ovos (x 10 ³)
Salinas 88	Média	1,35	1,46	1,25	3,88
	Amplitude	[1,21 ; 1,49] ⁽²⁾ (1 ; 2) ⁽¹⁾	[1,31 ; 1,60] (1 ; 2)	[1,22 ; 1,38] (1 ; 2)	[3,42 ; 4,33] (1,35 ; 6,40)
	Variância	0,23 [0,16 ; 0,37]	0,50 [0,42 ; 0,63]	0,19 [0,13 ; 1,38]	2465 [1708 ; 3868]
Grand Rapids	Média	1,48	1,58	1,22	2,65
	Amplitude	[1,30 ; 1,66] (1 ; 3)	[1,40 ; 1,77] (1 ; 3)	[1,11 ; 1,35] (1 ; 3)	[2,21 ; 3,09] (0,52 ; 6,00)
	Variância	0,38 [0,27 ; 0,60]	0,42 [0,29 ; 0,65]	0,18 [0,13 ; 0,28]	2301 [1594 ; 3610]
Regina 71	Média	4,71	4,50	4,08	11,9
	Amplitude	[4,51 ; 4,90] (4 ; 5)	[4,28 ; 4,72] (4 ; 5)	[3,84 ; 4,33] (4 ; 5)	[9,47 ; 14,26] (5,86 ; 22,6)
	Variância	0,22 [0,13 ; 0,42]	0,26 [0,16 ; 0,51]	0,34 [0,21 ; 0,67]	32101 [19390 ; 63166]
F ₁	Média	3,50	3,63	3,13	6,15
	Amplitude	[3,05 ; 3,95] (3 ; 4)	[3,19 ; 4,05] (3 ; 4)	[2,83 ; 3,42] (3 ; 4)	[4,91 ; 7,38] (4,27 ; 8,42)
	Variância	0,28 [0,15 ; 1,18]	0,27 [0,12 ; 1,11]	0,13 [0,05 ; 0,52]	2173 [950 ; 9005]

...continua...

TABELA 1, Cont.

F ₂	Média	3,39 [3,30 ; 3,47]	3,53 [2,93 ; 4,01]	3,29 [3,18 ; 3,39]	5,53 [5,21 ; 5,85]
	Amplitude	(1 ; 5)	(1 ; 5)	(1 ; 5)	(0,89 ; 19,4)
	Variância	0,59 [0,51 ; 0,69]	0,76 [0,65 ; 0,89]	0,90 [0,77 ; 1,06]	6618 [5588 ; 7963]
F ₃	Média	2,55 [2,46 ; 2,64]	2,58 [2,49 ; 2,68]	2,33 [2,23 ; 2,43]	4,11 [3,78 ; 4,45]
	Amplitude	(1 ; 5)	(1 ; 5)	(1 ; 5)	(0,10 ; 16,9)
	Variância	0,63 [0,54 ; 0,74]	0,77 [0,66 ; 0,91]	0,77 [0,66 ; 0,91]	7247 [6131 ; 8700]
Variância ambiental		0,30	0,40	0,17	2313
Variância fenotípica (F ₂) ⁽³⁾		0,59	0,76	0,90	6618
Variância fenotípica (F ₃) ⁽⁴⁾		0,63	0,77	0,77	7247
Variância genética (F ₂) ⁽³⁾		0,29	0,36	0,73	4304
Variância genética (F ₃) ⁽⁴⁾		0,33	0,37	0,60	4934
Herdabilidade (F ₂ ; %) ⁽³⁾		49,2	47,4	81,1	65,0
Herdabilidade (F ₃ ; %) ⁽⁴⁾		52,4	48,1	77,9	68,1

⁽¹⁾ Limites inferior e superior da amplitude; ⁽²⁾ Intervalo de confiança (95%); ⁽³⁾ Valores estimados em relação à geração F₂; ⁽⁴⁾ Valores estimados em relação à geração F₃.

Houve variância genética tanto para a geração F₂ quanto para a geração F₃. Por se tratar de um cruzamento envolvendo dois genitores resistentes, essas informações indicaram também a existência de pelo menos dois locos gênicos distintos de resistência a *M. incognita* raça 1 participando da expressão do caráter, oriundo(s) de ‘Grand Rapids’ e de ‘Salinas 88’. Relacionando os valores de herdabilidade obtidos para as gerações F₂ e F₃, obtiveram-se valores ligeiramente mais elevados na geração F₃ para as características: incidência de galhas, nota para número de galhas e número de ovos. O número de ovos foi a característica que apresentou o maior valor de herdabilidade, apresentando-se, assim, como uma característica importante para se proceder a seleção de genótipos com maiores níveis de resistência. A nota para número de massas de ovos obteve valor de herdabilidade, na geração F₂, superior a da geração F₃. Apesar de haver diferença entre os valores de herdabilidade estimados a partir da geração F₂ e F₃, essa diferença não foi grande, evidenciando a possibilidade de seleção de plantas resistentes com eficiência já na geração F₂.

No experimento que incluiu as famílias F₄ (‘Grand Rapids’ x ‘Salinas 88’), não houve diferença significativa entre as cultivares Grand Rapids e Salinas 88, enquanto ‘Regina 71’ teve médias de danos significativamente superiores a ambos os genitores, para todas as características avaliadas (Tabela 2). Para incidência de galhas, 8 famílias (3, 5, 15, 16, 24, 31, 33, 35) obtiveram médias de danos significativamente superiores a ambos os genitores e, assim, apresentaram níveis inferiores de resistência; destas, apenas uma família (24) não diferiu significativamente de ‘Regina 71’. Para a característica nota para número de galhas, 16 famílias (3, 5, 7, 9, 10, 12, 15, 16, 19, 21, 24, 26, 29, 31, 32 e 35) obtiveram médias de danos significativamente superiores a ambos os genitores e não diferiram significativamente da cultivar Regina 71. Para a característica nota para número massas de ovos, 11 famílias (3, 12, 15, 16, 21, 24, 26, 29, 31, 32 e 35) obtiveram médias de danos significativamente superiores

a ambos os genitores e também não diferiram da cultivar Regina 71. Para o número de ovos, 11 famílias (3, 6, 7, 13, 15, 24, 28, 29, 31, 32, 35) apresentaram médias de danos significativamente superiores a ambos os genitores e diferiram significativamente da cultivar Regina 71.

A ocorrência de médias de famílias com valores de danos significativamente superiores às médias dos genitores reforça a hipótese da existência de mais de um loco gênico afetando a expressão da resistência a *M. incognita* raça 1.

TABELA 2. Incidência de galhas, nota para número de galhas, nota para número de massas de ovos e número de ovos de famílias F₄ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'), 'Grand Rapids', 'Salinas 88' e 'Regina 71'.

Tratamentos	Incidência de galhas	Nota para número de galhas	Nota para número de massas de ovos	Número de ovos
Família F ₄ # 1	2,50 a	2,99 a	2,35 a	7449,16 a
Família F ₄ # 2	1,92 a	2,13 a	1,54 a	7983,33 a
Família F ₄ # 3	2,93 b	3,72 b	3,17 b	14675,24 b
Família F ₄ # 4	2,58 a	2,64 a	1,78 a	6050,00 a
Família F ₄ # 5	3,13 b	3,25 b	2,29 a	9241,67 a
Família F ₄ # 6	2,39 a	2,79 a	2,21 a	15211,90 b
Família F ₄ # 7	2,44 a	3,11 b	2,27 a	16333,33 b
Família F ₄ # 8	2,50 a	2,49 a	2,02 a	6458,33 a
Família F ₄ # 9	2,51 a	3,18 b	2,33 a	10650,00 a
Família F ₄ # 10	2,14 a	3,22 b	2,12 a	2061,90 a
Família F ₄ # 11	2,25 a	2,79 a	2,08 a	5783,33 a
Família F ₄ # 12	2,61 a	3,23 b	2,69 b	11041,67 a
Família F ₄ # 13	2,26 a	2,82 a	2,23 a	16883,33 b
Família F ₄ # 14	2,18 a	2,25 a	1,61 a	7948,57 a
Família F ₄ # 15	3,04 b	3,96 b	3,29 b	13250,00 b
Família F ₄ # 16	2,89 b	3,04 b	2,61 b	8363,89 a
Família F ₄ # 17	2,17 a	2,58 a	2,17 a	7483,33 a
Família F ₄ # 18	1,96 a	2,25 a	1,50 a	4483,33 a
Família F ₄ # 19	2,46 a	3,29 b	2,42 a	10666,67 a
Família F ₄ # 20	2,42 a	2,75 a	2,00 a	2246,43 a
Família F ₄ # 21	2,45 a	3,35 b	2,62 b	9592,86 a
Família F ₄ # 22	1,99 a	2,39 a	2,00 a	8894,05 a
Família F ₄ # 23	2,28 a	2,52 a	1,99 a	7504,76 a
Família F ₄ # 24	3,61 c	3,94 b	2,78 b	12800,00 b
Família F ₄ # 25	2,08 a	2,76 a	1,86 a	2570,24 a
Família F ₄ # 26	2,25 a	3,38 b	2,63 b	7151,19 a
Família F ₄ # 27	2,58 a	2,38 a	1,83 a	7679,17 a
Família F ₄ # 28	2,64 a	2,81 a	2,31 a	12626,67 b
Família F ₄ # 29	2,60 a	3,51 b	2,73 b	13476,19 b
Família F ₄ # 30	2,29 a	2,33 a	2,17 a	9791,67 a
Família F ₄ # 31	2,79 b	3,17 b	2,96 b	13845,24 b
Família F ₄ # 32	2,67 a	3,71 b	2,83 b	16183,33 b
Família F ₄ # 33	2,83 b	2,58 a	2,04 a	7933,33 a
Família F ₄ # 34	1,96 a	1,96 a	1,29 a	1850,00 a
Família F ₄ # 35	2,92 b	3,33 b	2,75 b	12316,67 b
Grand Rapids	2,29 a	2,79 a	1,67 a	4066,67 a
Salinas 88	2,39 a	2,76 a	2,01 a	9677,78 a
Regina 71	4,21 c	4,51 b	4,15 b	26094,44 c

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem significativamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, P < 0,05.

Notou-se a distinção das famílias em três grupos: grupo a - famílias que não diferiram significativamente dos genitores; grupo b - famílias que diferiram significativamente dos genitores e grupo c - famílias que não diferiram significativamente da cultivar Regina 71 (Tabela 2). A presença de famílias com níveis de resistência mais baixos que os genitores para todas as características avaliadas praticamente anula as hipóteses de alelismo num mesmo loco. Dessa forma, procedeu-se ao teste de herança digênica do controle genético da resistência *M. incognita* raça 1 em alface, considerando famílias F₄. Consideraram-se dois fenótipos. O primeiro fenótipo (resistente) foi formado por famílias do grupo a, que possuiriam pelo menos 1 dos 2 locos em homozigose para o alelo de resistência e que correspondem àquelas famílias cujas médias não diferiram significativamente de nenhuma das duas cultivares parentais (Grand Rapids e Salinas 88). O segundo fenótipo (não resistente) foi corresponde ao das famílias cujas médias não diferiram da cultivar Regina 71 (presumivelmente possuem 2 locos em homozigose para os respectivos alelos de suscetibilidade) ou apresentaram médias de danos significativamente menores que as de ‘Regina 71’, mas significativamente superiores aos genitores — famílias que correspondem a umas das seguintes situações: (1) ambos os locus em heterozigose e (2) um loco em homozigose para o alelo de suscetibilidade e o outro em heterozigose. Assim, a frequência esperada entre famílias F₄ com o fenótipo um é 39/64 e com o fenótipo dois é 25/64. Os testes de qui-quadrado desta hipótese foram não significativos para nota para número de galhas e nota para número de massas de ovos e número de ovos e apenas aproximou-se do limite de significância (P=0,05) para incidência de galhas.

Assim, os dados podem ser interpretados como aderentes à hipótese de que a resistência a *M. incognita* raça 1 em ‘Grand Rapids’ e ‘Salinas 88’ é controlada por alelos de resistência localizados em locos distintos com segregação independente. O fato de que plantas F₁ são significativamente menos

resistentes que os genitores indica que ambos os alelos de resistência têm efeitos predominantemente aditivos.

TABELA 3. Teste para hipótese de herança digênica do controle genético da resistência *Meloidogyne incognita* raça 1, em alface, considerando as características incidência de galhas, nota para número de galhas, nota para número de massas de ovos e número de ovos de famílias F₄ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88') comparadas com os genitores.

Características	Fenótipos	FO (Famílias F ₄)	χ^2
Incidência de galhas	Resistentes	27	3,86 ^{ns}
	Não resistentes	8	
Nota para número de galhas	Resistentes	19	0,65 ^{ns}
	Não resistentes	16	
Nota para número de massas de ovos	Resistentes	24	0,85 ^{ns}
	Não resistentes	11	
Número de ovos	Resistentes	24	0,85 ^{ns}
	Não resistentes	11	

⁽¹⁾ Frequência esperada 39:25, em que o grupo 1 é composto por famílias que não diferiram significativamente dos genitores, enquanto o grupo 2 é composto pelas famílias que diferiram significativamente dos genitores, pelo teste de Scott-Knott (5%).

^{ns} Não significativo pelo teste de qui-quadrado (5%).

Os estudos de herança sobre o controle genético da resistência a *M. incognita* raça 1 anteriormente realizados em alface haviam relatado o envolvimento de um único gene na Grand Rapids (Gomes et al., 2000) e de um gene maior com poligenes na 'Salinas 88' (Carvalho Filho, 2006). Ambos os trabalhos utilizaram a cultivar Regina 71 como genitor suscetível. Dessa maneira, a herança digênica existente nas famílias F₄ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88') seria um resultado plausível. Por não se tratar de pais contrastantes, neste

trabalho, a presença de poligenes não pôde ser detectada, contudo, seria seguro considerar que eles existam, já que na cultivar ‘Salinas 88’ eles estavam presentes.

A existência de dois genes maiores distintos oriundos de duas fontes de resistência deve ser observada com atenção em futuros programas de melhoramento em que as cultivares Grand Rapids e Salinas 88 estejam envolvidas direta ou indiretamente. Outras fontes de resistência têm sido identificadas, tais como: Bix, Romana Balão e Salad Bowl Mimosa Charchar & Moita, 1996), Challenge e Vanguard 45 (Wilcken et al., 2005). Contudo, relatos sobre a ação gênica da resistência ainda são raros ou inexistentes. Novos estudos ampliariam o conhecimento sobre a resistência, verificando-se a possibilidade de existirem outros locos gênicos, o que permitiria se elevar os níveis de resistência de linhagens de alface via piramidização de genes.

Pelo que foi relatado, sugere-se a denominação *Me1* para o gene que confere resistência na cultivar Salinas 88, já que Gomes et al. (2000) denominaram de *Me* o gene existente na cultivar Grand Rapids.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de Minas Gerais (Fapemig), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), à Universidade Federal de Lavras (UFLA) e à HortiAgro Sementes Ltda., pelo suporte financeiro e apoio na realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASUAJE, L.; JIMENEZ, M.A.; JIMENEZ-PEREZ, N.; CROZZOLI, R. Efecto del nematodo agallador, *Meloidogyne incognita*, sobre el creciahento de tres cultivares de lechuga. **Fitopatologia-Venezolana**, Champigo, v.17, n.1, p.2-5, 2004.

BONETI, J.I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, n.3, p.553, 1981.

CARVALHO FILHO, J.L.S. **Resistência da alface 'Salinas 88' a *Meloidogyne incogina* (Kofoid & White) Chitwood**. 2006. 49f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CHARCHAR, J.M.; MOITA, A.W. Reação de cultivares de alface à infecção por mistura populacionais de *Meloidogyne incognita* em condições de campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.14, n.2, p.185-189, 1996.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.

FIORINI, C.V.A.; GOMES, L.A.A.; MALUF, W.R.; FIORINI, I.V.A.; DUARTE, R.P.F.; LICURSI, V. Avaliação de populações F2 de alface quanto à resistência aos nematóides das galhas e tolerância ao florescimento precoce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p.299-302, 2005.

FIORINI, C.V.A.; GOMES, L.A.A.; LIBÂNIO, R.A.; MALUF, W.R.; CAMPOS, V.P.; LICURSI, V.; MORETTO, P.; SOUZA, L.A.; FIORINI, I.V.A. Identificação de famílias F_{2:3} de alface homozigotas resistentes aos nematóides das galhas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.25, n.4, p.509-513, 2007.

GOMES, L.A.A.; MALUF, W.R.; CAMPOS, V.P. Inheritance of the resistance reaction of the lettuce cultivar 'Grand Rapids' to the southern root-knot ematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. **Euphytica**, Wageningen, v.114, n. 1, p.34-46, 2000.

HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. A comparison of methods collecting inocula of *Meloidogyne* spp. Including a new technique. **Plant Disease Report**, Washington, v.57, n.12, p.1025-1028, 1973.

KRZYZANOWSKI, A.A.; FERRAZ, L.C.C.B. Effect of inoculation type and inoculum level of *Meloidogyne incognita* races 1 and 2 on the growth of lettuce cv. Baba under greenhouse conditions. **Summa-Phytopathologica**, Jaguariúna, v.26, n.2, p.286-288, 2000.

MALUF, W.R.; AZEVEDO, S.M.; GOMES, L.A.A.; OLIVEIRA, A.G.B. Inheritance of resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in lettuce. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.1, n.1, p.64-71, 2002.

PEDROCHE, N.B.; VILLANUEVA, L.M.; DIRK, W. de. Response of five lettuce cultivars to root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences**, Washington, v.72, n.3, p.659-666, 2007.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; ZIMMERMANN, M.G. **Genética quantitativa em plantas autógamas**: aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: UFG, 1993. 227p.

ROCHA, F.S.; MUNIZ, M.F.S.; CAMPOS, V.P. Coloração de fitonematóides com corantes usados na indústria alimentícia brasileira. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v.29, n.2, p.293-297, 2005.

SANTOS, H.S.; SCAPIM, C.A.; MACIEL, S.L.; VIDA, J.B.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.S.F.; BRANDÃO FILHO, J.U. Patogenicidade de *Meloidogyne javanica* em alface em função do tamanho de células de bandeja e idade de transplante das mudas. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.28, n.2, p.253-259, 2006.

WILCKEN, S.R.S.; GARCIA, M.J.M.; SILVA, N. Resistência de alface do tipo americana a *Meloidogyne incognita* raça 2. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v.29, n.2, p.267-271, 2005.

ARTIGO 2

PARÂMETROS POPULACIONAIS E CORRELAÇÃO ENTRE CARACTERÍSTICAS DA RESISTÊNCIA A *MELOIDOGYNE* *INCOGNITA* EM ALFACE

(O artigo 2 será encaminhado para submissão do Periódico Científico:
Horticultura Brasileira)

José Luiz Sandes de Carvalho Filho¹, Luiz Antonio Augusto Gomes¹

¹ Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal
3037, CEP 37200-000. Lavras, MG.
Email: jlsandes2000@yahoo.com.br; laagomes@yahoo.com.br

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de estimar parâmetros populacionais e quantificar o grau de associação entre características relacionadas à resistência ao nematóide das galhas *M. incognita* raça 1 em famílias F₄ de alface, por meio das análises de correlações fenotípicas, genotípicas e ambientais, visando auxiliar programas de melhoramento para a incorporação da resistência aos nematóides das galhas. O experimento foi conduzido em estufa, em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, em delineamento de blocos casualizados, com três repetições e oito plantas por parcela. Foi feita a infestação do substrato com ovos de *Meloidogyne incognita* raça 1, na proporção de 30 ovos.cm⁻³ de substrato. Aos 45 dias após a inoculação, avaliou-se cada planta para incidência de galhas, número de galhas, número de massas de ovos e número de ovos. Os valores de herdabilidade no sentido amplo, para todas as características, foram superiores a 45%, chegando a 72% para a característica número de ovos. Existe correlação genética alta e positiva entre todas as características avaliadas e o número de ovos proporciona os maiores ganhos de seleção.

Palavras chave: *Lactuca sativa*; herdabilidade; ganho de seleção; nematóide das galhas.

*Orientador: Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes - UFLA.

ABSTRACT

The aim of this work was to estimate populations parameters and to know the association degree between characters related with resistance to *Meloidogyne incognita* raça 1 in lettuce F₄ progenies with analyses of environment, genotypic and fenotypic correlations may lead to contribute breeding programs for incorporation of the resistance to root-knot nematodes. The experiment was carried out in greenhouse, using expanded polystyrene trays with 128 cells, in completely randomized blocks design with three replicates and eight plants each plot. The substrate was infested with substrate 30 eggs of *Meloidogyne incognita* race 1.cm⁻³ of substrate. The evaluation was made 45 days for the incidence of galls, score for number of galls, score for number of egg-masses and number of eggs, for root system. The estimated high broad heritability was higher than 45%, reaching 72% for number of eggs. High and positive genetic correlation exists among all of the appraised characters and the number of eggs is the best character to select resistant progenies to *Meloidogyne incognita* raça 1.

Keywords: *Lactuca sativa*; heritability; gain of selection; root-knott nematodes.

*Major Professor: Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes – UFLA.

1 INTRODUÇÃO

A cultura da alface vem ganhando importância no grupo das olerícolas. Novos sistemas de cultivo estão propiciando aumento na produção com redução de custo, além de possibilitar a produção da alface mais próximo aos centros consumidores, aumentando, assim, sua qualidade. Em se tratando de mercado brasileiro, a alface ocupa lugar de destaque entre as hortaliças folhosas, sendo a mais procurada pelos consumidores.

Apesar dos grandes avanços conseguidos por meio dos trabalhos de melhoramento com a geração de cultivares de alface mais adaptadas às condições tropicais, muitos problemas persistem, sendo necessária uma constante busca por genótipos mais competitivos. Entre estes problemas encontra-se a ocorrência de nematóides das galhas. Esses fitonematóides endoparasitas sedentários, representados, principalmente, pelo gênero *Meloidogyne*, causam perdas significativas a lavouras desta hortaliça. A cultivar de alface Baba, avaliada sob condições de casa de vegetação, apresentou redução da parte aérea quando atacada pelas raças 1 e 2 de *Meloidogyne incognita* (Krzyzanowski & Ferraz, 2000). Em outro experimento, as cultivares Brisa e Lucy Brown tiveram redução na massa fresca da parte aérea e de raiz, devido ao ataque de *M. incognita* (Asuaje et al., 2004). O controle químico é uma prática algumas vezes utilizada no manejo dos nematóides das galhas. Contudo, esses produtos são tóxicos e de longo efeito residual nas folhas. Considerando que alface tem um ciclo relativamente curto, o método mais seguro e eficaz para o controle dos nematóides seria mediante o emprego de cultivares resistentes.

Wilcken et al. (2005) estudaram a reação de resistência de cultivares de alface tipo americana a *M. incognita* raça 2. As cultivares de alface tipo americana Salinas 88, Challenge, Vanguard 75, Calgary, Classic e La Jolla

tiveram fator de reprodução abaixo de 1, sendo consideradas fontes de resistência promissoras para a utilização em programas de melhoramento genético, visando à obtenção de cultivares de alface americana resistentes à raça 2 de *M. incognita*.

Estudos de herança, realizados a partir do cruzamento das cultivares Regina 71 (suscetível, folhas lisas) e Grand Rapids (resistente, crespas), evidenciaram que tanto para *M. incognita* (Gomes et al., 2000) quanto para *M. javanica* (Maluf et al., 2002), o controle da resistência está ligado a um único loco gênico. Um segundo estudo de herança utilizando as cultivares Regina 71 e Salinas 88, evidenciou que a resistência à raça 1 de *M. incognita*, conferida pela ‘Salinas 88’, está ligada a um gene maior com modificadores, afetando a expressão do caráter (Carvalho Filho, 2006). Apesar da herança monogênica, este caráter é fortemente influenciado pelo ambiente e, no caso da ‘Salinas 88’, ainda há modificadores. Por isso, a estimação de parâmetros genéticos, fenotípicos e ambientais auxiliaria na tomada de decisões sobre a escolha do método de melhoramento, modos de condução e seleção de plantas e famílias. Outro estudo de interesse para a seleção de famílias são as correlações genéticas, fenotípicas e ambientais. Estas correlações possibilitam ao melhorista estimar a relação entre as características, visualizar a possibilidade de seleção indireta e obter ganhos da seleção em uma característica de difícil aferição em função da seleção por outra característica relacionada.

Assim, objetivou-se estimar parâmetros populacionais e quantificar o grau de associação entre as características da resistência ao nematóide das galhas *M. incognita* raça 1 em famílias F₄ de alface, por meio das análises de correlações fenotípicas, genotípicas e ambientais, visando auxiliar programas de melhoramento para a incorporação da resistência aos nematóides das galhas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em estufa, nas dependências da HortiAgro Sementes Ltda., no município de Ijaci, MG, no período de dezembro de 2007 a fevereiro de 2008. Utilizaram-se as cultivares genitores Grand Rapids e Salinas 88 (resistentes a *M. incognita* raça 1) e a cultivar Regina 71 (suscetível), como testemunhas, além de 35 famílias F₄ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88'). Essas foram oriundas do cruzamento entre 'Salinas 88' e 'Grand Rapids'. Foram semeadas 400 plantas F₂ [autofecundação de F₁ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88')] e, destas, foram colhidas sementes F₃ em bulk. Por fim, 35 plantas F₃ geraram as famílias F₄.

A semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno expandido de 128 células contendo substrato comercial Plantmax®. Cada célula possui o volume aproximado de 45 cm³. Foram colocadas de duas a três sementes por célula e, após a germinação, quando as plântulas apresentavam o estágio de primeira folha definitiva, procedeu-se ao desbaste, deixando-se apenas uma plântula em cada célula. Em cada bandeja, uma fileira (oito plantas) foi semeada com tomate cultivar Santa Clara, suscetível a *Meloidogyne* spp. Estas plantas foram utilizadas para se verificar a eficiência do inóculo, mediante a constatação de formação de galhas nas raízes. Aos 15 dias após a semeadura, fez-se a infestação do substrato com os ovos de *M. incognita* raça 1, utilizando-se uma seringa veterinária e injetando-se ao lado de cada planta, diretamente no substrato, uma suspensão de ovos, na proporção de 30 ovos.cm⁻³ de substrato. Os ovos foram obtidos de acordo com a técnica proposta por Hussey & Barker (1973), modificada por Bonetti & Ferraz (1981), a partir de isolados de *M. incognita* raça 1, mantidos em casa de vegetação na Universidade Federal de Lavras, em vasos de 10 dm³, com plantas de tomate suscetível, cultivar Santa Clara. Aos 45 dias após a inoculação, retiraram-se as plantas de tomate de cada bandeja,

verificando-se a intensa formação de galhas e de massas de ovos em suas raízes, confirmando, assim, a eficiência da inoculação.

Em seguida, cada planta foi avaliada individualmente para as características de incidência de galhas, nota para número de galhas, nota para número de massas de ovos e número de ovos. As plantas foram retiradas da bandeja, sendo avaliadas, ainda com o torrão, para incidência de galhas. Para esta característica, observou-se, visualmente, o sistema radicular de cada planta, sendo atribuída uma nota, conforme Fiorini et al. (2005), sendo: nota 1, atribuída a sistema radicular com poucas galhas visíveis (<10), pequenas (<1mm) e não coalescentes; nota 2, atribuída a sistema radicular com poucas galhas visíveis (<10), porém, algumas com tamanho médio (1-3 mm); nota 3, atribuída a sistema radicular com número médio de galhas visíveis (10-30), de tamanho médio e algumas de tamanho grande (>3 mm); nota 4, atribuída a sistema radicular com muitas galhas visíveis (>30), de tamanho grande, com poucas galhas de tamanho médio, algumas galhas coalescentes e nota 5, atribuída a um sistema radicular com muitas galhas visíveis, de tamanho grande, com grande número de galhas coalescentes.

Para as características nota para número de galhas e nota número de massas de ovos, cada planta teve seu sistema radicular submerso em água para o desprendimento do substrato do torrão. As raízes foram lavadas com cuidado, em água parada, até se encontrarem limpas de substrato, sendo, em seguida, coloridas com o corante usado na indústria alimentícia, contendo bordeaux na concentração de 1% (Rocha et al., 2005), para a visualização das massas de ovos. Em seguida, contaram-se o número de galhas e o número de massas de ovos por sistema radicular, atribuindo-se as notas correspondentes.

Para o número de galhas, utilizou-se uma escala de notas que variou de 1 a 5, sendo: nota 1, atribuída a sistema radicular com número de galhas menor ou igual a 20; nota 2, atribuída a sistema radicular com número de galhas maior que

20 e menor ou igual a 40; nota 3, atribuída a sistema radicular com número de galhas maior que 40 e menor ou igual a 60; nota 4, atribuída a sistema radicular com número de galhas maior que 60 e menor ou igual a 80 e nota 5, atribuída a um sistema radicular com um número de galhas maior que 80.

Para o número de massas de ovos, utilizou-se também uma escala de notas de 1 a 5, sendo: nota 1, atribuída a sistema radicular com número de massas de ovos menor ou igual a 10; nota 2, atribuída a sistema radicular com número de massas de ovos maior que 10 e menor ou igual a 20; nota 3, atribuída a sistema radicular com número de massas de ovos maior que 20 e menor ou igual a 30; nota 4, atribuída a sistema radicular com número de massas de ovos maior que 30 e menor ou igual a 40 e nota 5, atribuída a um sistema radicular com número de massas de ovos superior a 40.

Após a contagem das galhas e de massas de ovos, extraíram-se os ovos de cada sistema radicular pela técnica de Hussey & Barker (1973), modificada por Boneti & Ferraz (1981). Os ovos assim obtidos foram contados com auxílio de estereomicroscópio. Dessa forma, obteve-se o número de ovos por sistema radicular.

O delineamento experimental empregado foi em blocos casualizados, com 3 repetições e 8 plantas por parcela, perfazendo 24 plantas, distribuídas por tratamento. Com os dados, realizaram-se as análises de variância e, utilizando-se o programa Genes (Cruz, 2006), estimaram-se: as variâncias fenotípicas, genéticas e ambientais; a herdabilidade no sentido amplo para as médias das famílias F_4 ; o coeficiente de variação genética; a razão entre coeficiente de variação genética e coeficiente de variação ambiental; as correlações genéticas, fenotípicas e ambientais e os ganhos de seleção e resposta correlacionada, considerando a seleção de 10% das famílias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O quadrado médio da variância para famílias das características incidência de galhas, nota para número de galhas e número de ovos foi significativo, indicando que a variância genética não foi nula para estas características (Tabela 1). Esses resultados indicam a existência de variabilidade genética entre as famílias para as diferentes características avaliadas, o que é um indicativo favorável à realização de melhoramento do caráter resistência. Os coeficientes de variação ambiental obtiveram valores entre 16,71% e 40,79% (Tabela 1). Valores mais elevados podem ser explicados pela característica *per se*, cuja expressão pode sofrer maior influência do ambiente, assim como pela própria existência de variabilidade genética dentro das famílias, tendo em vista o fato de as mesmas não serem, ainda, linhas endogâmicas.

TABELA 1. Resumos das análises de variância e parâmetros fenotípicos, genéticos e ambientais para as características incidência de galhas, nota para número de galhas (NNG), nota para número de massas de ovos, número de ovos em famílias F₄ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88') de alface.

Fonte de variação	Grau de liberdade	Quadrado médio			
		Incidência de galhas	Nota para número de galhas	Nota para número de massas de ovos	Número de ovos ⁽¹⁾
Famílias	34	0,42**	0,80*	0,66 ^{ns}	52228**
Erro	68	0,17	0,43	0,44	14654
Média		2,49	2,93	2,27	9,38
CVe ⁽²⁾		16,71	22,46	29,19	40,79
Variância fenotípica		0,14	0,27	0,22	17409
Variância ambiental		0,06	0,14	0,15	4884
Variância genotípica		0,08	0,12	0,07	12524
Herdabilidade (%) ⁽³⁾		58,32	45,73	33,30	71,94
CVg (%) ⁽⁴⁾		11,41	11,91	11,91	37,71
Razão CVg/CVe		0,68	0,53	0,41	0,92

^{ns}Não significativo. * e ** Significativos pelo teste de F, a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente. ⁽¹⁾Os valores de variância e média para número de ovos foram divididos por 1.000. ⁽²⁾Coefficiente de variação ambiental. ⁽³⁾Herdabilidade no sentido amplo, para média das famílias. ⁽⁴⁾Coefficiente de variação genética.

O valor de herdabilidade no sentido amplo para as características incidência de galhas, nota para número de galhas e número de ovos foi superior a 45%, chegando a 72% para a característica número de ovos. Valores semelhantes também foram encontrados por Gomes et al. (2000) e Carvalho Filho (2006), corroborando esses dados. Os valores de herdabilidade

encontrados indicam boa chance de sucesso na seleção de plantas resistentes a *M. incognita* raça 1.

Para a característica número de ovos, obteve-se o maior coeficiente de variação genética, acompanhando a herdabilidade no sentido amplo, reforçando que a variação genética entre as famílias foi de maior grandeza em relação ao efeito do ambiente para essa característica.

A razão entre os coeficientes de variação genética e ambiental foi abaixo da unidade, para todas as características. Contudo, para o número de ovos, este valor aproximou-se da unidade (0,92), o que demonstra uma situação mais favorável para a seleção desta característica do que as outras.

O maior ganho de seleção estimado foi alcançado quando a seleção se realizou para o número de ovos (Tabela 2). A seleção para qualquer uma das características no sentido de decréscimo promoveu a maior redução esperada para o número de ovos. A seleção direta para a menor incidência de galhas contribuiria para a redução da nota para número de galhas, nota para número de massas de ovos e número de ovos (Tabela 3). Por outro lado, a seleção para a característica nota para número de massas de ovos permitiu a maior redução esperada do número de ovos, justificada pela elevada correlação genética de 83% (Tabela 3). Independentemente da característica de seleção, maior redução percentual será esperada para o número de ovos. Isso se deve ao elevado valor de herdabilidade apresentado por esta característica em relação às demais.

TABELA 2. Ganho de seleção e resposta correlacionada para as características incidência de galhas, nota para número de galhas, nota para número de massas de ovos, número de ovos em famílias F₄ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88') de alface.

Característica selecionada	Ganho de seleção (%)	Resposta correlacionada (%)		
		Nota para número de galhas	Nota para número de massas de ovos	Número de ovos
Incidência de galhas	12,56	12,26	17,07	23,32
Nota para número de galhas	12,26		13,34	28,36
Nota para número de massas de ovos	11,51			41,02
Número de ovos	55,21			

TABELA 3. Correlações genética, fenotípica e ambiental para as características incidência de galhas, nota para número de galhas, nota para número de massas de ovos, número de ovos em famílias F₄ ('Grand Rapids' x 'Salinas 88') de alface.

Características	Correlação	Nota para número de galhas	Nota para número de massas de ovos	Número de ovos
Incidência de galhas	Genética	0,80 ^{**}	0,88 ^{**}	0,48 ^{**}
	Fenotípica	0,71 ^{**}	0,70 ^{**}	0,48 ^{**}
	Ambiental	0,62 ^{**}	0,39 ^{**}	0,50 ^{**}
Nota para número de galhas	Genética		0,97 ^{**}	0,65 ^{**}
	Fenotípica		0,90 ^{**}	0,54 ^{**}
	Ambiental		0,87 ^{**}	0,42 ^{**}
Nota para número de massas de ovos	Genética			0,83 ^{**}
	Fenotípica			0,66 ^{**}
	Ambiental			0,26 [*]

* e ** Significativos, pelo método de bootstrap, com 5.000 simulações, a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

Pelas análises realizadas por meio dos parâmetros populacionais, verifica-se que a característica incidência de galhas não se mostrou a mais vantajosa para a seleção. Por outro lado, apesar de sua menor eficiência, esta característica ainda pode ser a melhor opção, tendo em vista a praticidade de avaliação das plantas e o aproveitamento das próprias plantas, que poderão ser levadas para o campo, uma vez que as avaliações não são destrutivas e ocasionam pouco estresse às plântulas. Com o uso da incidência de galhas, há possibilidade de avaliação para outras características, tais como tipo de folha e pendoamento. Além disso, as sementes das plantas selecionadas poderão ser colhidas. Por fim, seriam necessários mais estudos com gerações mais avançadas

ou com mais gerações de seleção utilizando as quatro características para realmente esclarecer uma forma eficaz de seleção à resistência ao nematóide das galhas.

Além das análises dos parâmetros populacionais, as correlações entre as características auxiliam no entendimento da ação gênica. Todas as correlações foram significativas e positivas, indicando que o comportamento das características avaliadas foi sempre no mesmo sentido (Tabela 3). As correlações genéticas foram superiores a 0,80, considerando todas as combinações, exceto incidência de galhas e número de ovos, e nota para número de galhas e número de ovos. Assim, pode haver pleiotropia entre o(s) gene(s) controlador(es) dessas características. Os valores das correlações ambientais foram positivos, indicando uma tendência de que a expressão de todas as características seja influenciada igualmente pelas mesmas condições ambientais. As correlações fenotípicas foram superiores a 70%, exceto quando a característica número de ovos esteve correlacionada.

Dentre todas as características analisadas, pode ser considerada como a de maior relevância o número de ovos, que melhor representa o nível de resistência de uma família. Entretanto, é uma característica de difícil aferição que demanda tempo e equipamento específico. Nesta questão, a busca por métodos alternativos para mensurar o nível de resistência ao nematóide das galhas é de fundamental importância. A incidência de galhas, a nota para número de galhas e a nota para número de massas de ovos têm sido utilizadas na seleção de plantas, mas sua relação com o número de ovos ainda não havia sido claramente identificada. Vem-se utilizando a incidência de galhas como característica de seleção (Fiorini et al., 2005, 2007), principalmente pela sua praticidade e por ser um método não destrutivo, possibilitando o uso das plantas selecionadas em campo para outras avaliações e produção de sementes. A avaliação quanto ao número de ovos em famílias previamente selecionadas para

incidência de galhas corroborará os estudos genéticos relacionados com o melhoramento visando à resistência a *M. incognita*.

4 CONCLUSÕES

1. Existe correlação genética alta e positiva entre as características incidência de galhas, número de galhas, número de massas de ovos e número de ovos.
2. Todas as características relacionadas à resistência à *M. incognita* podem ser utilizadas no sentido de reduzir a produção de ovos do fitonematóide.
3. O número de ovos é a característica que proporciona os maiores ganhos de seleção.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de Minas Gerais (Fapemig), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), à Universidade Federal de Lavras (UFLA) e à HortiAgro Sementes Ltda., pelo suporte financeiro e apoio na realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASUAJE, L.; JIMENEZ, M.A.; JIMENEZ-PEREZ, N.; CROZZOLI, R. Efecto del nematodo agallador, *Meloidogyne incognita*, sobre el creciahento de tres cultivares de lechuga. **Fitopatologia-Venezolana**, Champigo, v.17, n.1, p.2-5, 2004.

BONETI, J.I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, n.3, p.553, 1981.

CARVALHO FILHO, J.L.S. **Resistência da alface 'Salinas 88' a *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood**. 2006. 49f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CRUZ, C.D. **Programa GENES**: estatística experimental e matrizes. Viçosa, MG: UFV, 2006. 285p.

FIORINI, C.V.A.; GOMES, L.A.A.; MALUF, W.R.; FIORINI, I.V.A.; DUARTE, R.P.F.; LICURSI, V. Avaliação de populações F2 de alface quanto à resistência aos nematóides das galhas e tolerância ao florescimento precoce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p.299-302, 2005.

FIORINI, C.V.A.; GOMES, L.A.A.; LIBÂNIO, R.A.; MALUF, W.R.; CAMPOS, V.P.; LICURSI, V.; MORETTO, P.; SOUZA, L.A.; FIORINI, I.V.A. Identificação de famílias F_{2:3} de alface homozigotas resistentes aos nematóides das galhas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.25, n.4, p.509-513, 2007.

GOMES, L.A.A.; MALUF, W.R.; CAMPOS, V.P. Inheritance of the resistance reaction of the lettuce cultivar 'Grand Rapids' to the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. **Euphytica**, Wageningen, v.114, n.1, p.34-46, 2000.

HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. A comparison of methods collecting inocula of *Meloidogyne* spp. Including a new technique. **Plant Disease Report**, Washington, v.57, n.12, p.1025-1028, 1973.

KRZYZANOWSKI, A.A.; FERRAZ, L.C.C.B. Effect of inoculation type and inoculum level of *Meloidogyne incognita* races 1 and 2 on the growth of lettuce cv. Baba under greenhouse conditions. **Summa-Phytopathologica**, Jaguariúna, v.26, n.2, p.286-288, 2000.

MALUF, W.R.; AZEVEDO, S.M.; GOMES, L.A.A.; OLIVEIRA, A.G.B. Inheritance of resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in lettuce. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.1, n.1, p.64-71, 2002.

ROCHA, F.S.; MUNIZ, M.F.S.; CAMPOS, V.P. Coloração de fitonematóides com corantes usados na indústria alimentícia brasileira. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v.29, n.2, p.293-297, 2005.

WILCKEN, S.R.S.; GARCIA, M.J.M.; SILVA, N. Resistência de alface do tipo americana a *Meloidogyne incognita* raça 2. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v.29, n.2, p.267-271, 2005.