

**RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE ALFACE  
AO MÍLDIO**

**JÚLIO CÉSAR DE ARAÚJO**

**2010**

**JÚLIO CÉSAR DE ARAÚJO**

**RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE ALFACE AO MÍLDIO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2010

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

Araújo, Júlio César de.

Resistência de genótipos de alface ao míldio / Júlio César de  
Araújo. – Lavras : UFLA, 2010.

63 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: Luiz Antonio Augusto Gomes.

Bibliografia.

1. *Lactuca sativa* L. 2. *Bremia lactucae* Regel. 3. Ambiente  
controlado. 4. Melhoramento de plantas. 5. Resistência genética. I.  
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 635.523

**JÚLIO CÉSAR DE ARAÚJO**

**RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE ALFACE AO MÍLDIO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 31 de março de 2010.

Profa. Dra. Cibelle Vilela Andrade Fiorini

UFRRJ

Prof. Dr. Jony Eishi Yuri

UNINCOR

Prof. Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes

DAG/UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2010

A Deus, ao meu pai João César de Araújo e a minha mãe Maria de Fátima  
Ferreira de Araujo,

**OFEREÇO.**

A todos que, por alguma razão, buscam no conhecimento soluções para  
suas inquietações,

**DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, aos familiares, aos amigos e a meus mentores que, ao longo de minha formação, não hesitaram em compartilhar suas experiências.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Agricultura, em especial ao Setor de Fitotecnia/Olericultura, pela oportunidade de realização da pós-graduação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro ao projeto e pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu professor e orientador Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes e ao professor Dr. Wilson Roberto Maluf, pela orientação e por fornecer condições para a realização do trabalho.

Ao professor, técnicos e alunos do laboratório de Nematologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

Aos responsáveis técnicos e funcionários da Hortiagro Sementes Ltda., pela disponibilidade, atenção e ajuda na condução dos experimentos.

Aos meus colegas da Fitotecnia e da Olericultura, pela contribuição na realização dos meus objetivos.

Aos meus amigos de Lavras, que demonstraram serem pessoas de valor e às quais estarei ligado para sempre.

À minha namorada, pelo seu amor, compreensão, companheirismo e paciência.

Finalmente, agradeço à minha família, pelo apoio emocional, financeiro e por compreender a minha ausência.

OBRIGADO!

## **BIOGRAFIA**

JÚLIO CÉSAR DE ARAÚJO, filho de João César de Araújo e Maria de Fátima Ferreira de Araújo e irmão de Fernanda Ferreira de Araújo, nasceu em 8 de fevereiro de 1981, em Salinas, MG. Em março de 1996 iniciou o curso de Técnico em Agropecuária na Escola Agrotécnica Federal de Salinas (EAFSAL), em Salinas, MG, concluindo-o em dezembro de 1998. Em abril de 2002, iniciou o curso de graduação em Engenharia Agrônoma, pela Universidade Federal Lavras (UFLA), em Lavras, MG, concluindo-o em maio de 2007. Em março de 2008, iniciou o mestrado em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, na UFLA, concluindo-o com a apresentação desta dissertação.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO GERAL .....	i
GENERAL ABSTRACT .....	iii
CAPITULO 1 .....	1
1 Introdução Geral .....	2
2 Referencial Teórico.....	4
2.1 A cultura da alface .....	4
2.2 O míldio .....	5
2.3 Identificação das raças de <i>Bremia lactucae</i> .....	9
2.4 Resistência genética a <i>Bremia lactucae</i> .....	13
2.5 O melhoramento genético da alface.....	15
3 Referências Bibliográficas.....	20
CAPÍTULO 2: Reação de resistência ao míldio em genótipos de alface em ambiente controlado.....	26
1 Resumo .....	27
2 Abstract.....	28
3 Introdução .....	29
4 Material e Métodos .....	31
5 Resultados e Discussão .....	33
6 Conclusões.....	35
7 Agradecimentos .....	36
8 Referências Bibliográficas.....	37
CAPÍTULO 3: Reação de resistência ao míldio e seleção em populações de alface do tipo americana .....	39
1 Resumo .....	40
2 Abstract.....	41
3 Introdução .....	42
4 Material e Métodos .....	45
4.1 Condução do programa de melhoramento .....	45
4.2 Materiais genéticos utilizados.....	45
4.3 Obtenção, manutenção e multiplicação dos esporângios de <i>B. lactucae</i> .....	45
4.4 Obtenção da geração F <sub>1</sub> ('ALF-008'x 'Salinas 88') .....	47
4.5 Obtenção da população F <sub>2</sub> .....	48
4.6 Avaliação dos parentais, da geração F <sub>1</sub> e da população F <sub>2</sub> .....	48



5 Resultados e Discussão .....	50
6 Conclusões .....	55
7 Agradecimentos .....	56
8 Referências Bibliográficas .....	57
ANEXOS .....	61

## RESUMO GERAL

ARAÚJO, Julio César de. **Resistência de genótipos de alface ao míldio**. 2010. 63 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

A alface (*Lactuca sativa* L.) é, entre as hortaliças folhosas, a mais importante, economicamente para o Brasil. No inverno, com baixas temperaturas e com alta umidade, o míldio da alface, doença causada pelo agente etiológico *Bremia lactucae*, ocorre em praticamente todas as regiões do mundo onde ela é cultivada, sendo esta considerada uma das doenças foliares mais severas desta cultura. A utilização de cultivares resistentes apresenta-se como a principal alternativa de controle. Visando à obtenção de informações que auxiliem na condução de programas de melhoramento para resistência ao míldio, foram conduzidas duas atividades de pesquisa. Na primeira, o objetivo foi avaliar a reação de resistência ao míldio (*B. lactucae*) em dez genótipos de alface. Para isso, foram utilizadas como genótipos nove cultivares ('Colorado', 'Raider Plus', 'Verônica', 'Rubete', 'Elisa', 'Salinas 88', 'Grand Rapids', 'Regina 71' e 'Hortênsia') e uma linhagem (AFX-020A-06). O ensaio foi conduzido em câmara de germinação tipo BOD, sendo os genótipos semeados em caixas gerbox sobre papel mata-borrão umedecido com água destilada. Quinze dias após a semeadura foi feita a inoculação, utilizando-se como inóculo esporângios lavados de tecidos infectados da cultivar susceptível Solaris, na concentração de  $5 \times 10^4$  esporângios.mL<sup>-1</sup>. A avaliação para resistência ao míldio foi realizada 15 dias após a inoculação, verificando-se a presença ou não de sintoma e esporulação em cada plântula. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com três repetições. As plântulas das cultivares Colorado, Raider Plus e Rubete apresentaram resistência a *B. lactucae*. A baixa porcentagem de plântulas sadias verificadas nas cultivares Verônica, Elisa, Salinas 88, Grand Rapids, Regina 71 e Hortênsia e da linhagem AFX-020A-06 evidencia a susceptibilidade desses genótipos ao patógeno *B. lactucae*. Na segunda atividade, o objetivo foi confirmar o modo de herança da resistência ao míldio (*B. lactucae*), isolado MGLA-01, a partir de cruzamentos entre materiais contrastantes para este caráter, no intuito de selecionar genótipos resistentes e mais adaptados às condições edafoclimáticas do sul de Minas Gerais. Utilizaram-se, na hibridação, dois genitores contrastantes, a linhagem resistente a *B. lactucae* AFL-008 e a cultivar susceptível Salinas 88, ambos do tipo americana. O ensaio foi conduzido

---

\* Orientador: Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes – UFLA

em câmara de germinação tipo BOD e em casa de vegetação, tendo os testes de resistência sido realizados em caixas gerbox sobre papel mata-borrão umedecido com água destilada. Quinze dias após a sementeira, foi feita a inoculação nos genitores paterno e materno, na geração F<sub>1</sub>, na população F<sub>2</sub> e na testemunha resistente, utilizando-se como inóculos os esporângios lavados de tecidos infectados na concentração de 1x10<sup>5</sup> esporângios.mL<sup>-1</sup>. A avaliação para resistência ao míldio foi realizada 15 dias após a inoculação, verificando-se a presença ou não de sintoma e esporulação em cada plântula. Foi feita análise de variância para testar os dados obtidos. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com três repetições. Para análise dos dados, a variável resposta utilizada foi o número de plantas sadias. Para o estudo de herança, foi realizado o teste de significância qui-quadrado ( $\chi^2$ ) na população F<sub>2</sub>. No controle genético da resistência a *Bremia lactucae* Regel, agente etiológico do míldio da alface, o gene apresenta interação alélica de dominância. No controle da resistência estão presentes um ou poucos genes estreitamente ligados, com dominância do alelo que confere resistência.

## GENERAL ABSTRACT

ARAÚJO, Julio César de. **Resistance genotypes of lettuce downy mildew.** 2010. 63 p. Dissertation (Master Program in Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras.\*

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is among the leafy vegetables, the most important economically for Brazil. In winter, low temperatures and high humidity, the lettuce downy mildew, a disease caused by etiological agent *Bremia lactucae* Regel, occurs in all regions of the world where lettuce is grown, which is considered one of the most severe foliar disease of lettuce. The acquisition of resistant cultivars is the main alternative to control the disease. To collect information which should assist in driving improvement program, were conducted two research activities. At first, the objective was to evaluate the resistance reaction to downy mildew (*B. lactucae*) in ten genotypes of lettuce. For this, nine genotypes were used as cultivars ('Colorado' 'Raider Plus', 'Veronica', 'Rubete', 'Elisa', 'Salinas 88', 'Grand Rapids', 'Regina 71' and 'Hortência') and one line (AFX-020A-06). The trial was conducted in a germination chamber BOD, and the genotypes sown in seedling boxes on blotting paper moistened with distilled water. Fifteen days after sowing the inoculation was made, using as inoculum sporangia washed from infected tissues of susceptible cultivar 'Solaris', at a concentration of  $5 \times 10^4$  sporangium.mL<sup>-1</sup>. Evaluation for resistance to downy mildew was recorded 15 days after inoculation, verifying the presence or absence of symptoms and sporulation of each seedling. The experimental design was completely randomized design with three replications. Seedlings of cultivars Colorado Raider Plus, Rubete and showed resistance to *B. lactucae*. The low percentage of healthy seedlings found in the cultivars Veronica, Elisa, Salinas 88, Grand Rapids, Regina 71 and Hortencia and the line AFX-020A-06 shows the susceptibility of these genotypes to the pathogen *B. lactucae*. In the second activity, the objective was to confirm the mode of inheritance of resistance to downy mildew (*B. lactucae*) isolated MGLA-01, derived from crosses between contrasting materials for this character, in order to select genotypes resistant and better adapted the soil and climatic conditions of southern Minas Gerais. It was used in the hybridization two contrasting parents, the resistant strain *B. lactucae* AFL-008 and the susceptible cultivar Salinas 88, both from American Type The trial was conducted in a germination chamber type "BOD", and in the greenhouse, and resistance tests performed on gerbox paper kills Blot dampened

---

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

with distilled water. Fifteen days after inoculation were sown in the maternal and paternal parents, the F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and population control in tough, using as inoculums the sporangia washed from infected tissues at a concentration of 1x10<sup>5</sup> sporangium.mL<sup>-1</sup>. Evaluation for resistance to downy mildew was recorded 15 days after inoculation, verifying the presence or absence of symptoms and sporulation of each seedling. Was made an analysis of variance to test the data. The experimental design was completely randomized design with three replications. For data analysis, the response variable used was the number of healthy plants. For the study of inheritance, we performed a significance test Chi-square ( $\chi^2$ ) in population F<sub>2</sub>. In genetic control of resistance to *Bremia lactucae* Regel, the causal agent of lettuce downy mildew, the gene shows allelic interaction of dominance. For the control of resistance are present one or a few closely linked genes, with dominant allele conferring resistance.

## **CAPÍTULO 1**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A alface (*Lactuca sativa* L.) é, entre as hortaliças folhosas, a mais importante, economicamente, para o Brasil, além de ser de grande importância social na agricultura familiar e para a alimentação humana. Possui ciclo curto, sendo comercializada em torno de 60 a 90 dias após a semeadura, o que torna possível obter-se elevada produção por hectare, o que faz com que seja uma atividade bastante adequada ao pequeno produtor. É uma hortaliça de alta perecibilidade, sendo, normalmente, plantada próximo aos centros consumidores e podendo ser cultivada o ano inteiro.

No estado de São Paulo, um dos maiores estados produtores, a produção anual gira em torno de 171.000 toneladas (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2006). A produção comercializada somente no CEAGESP, no ano de 2007, foi de 21.587 toneladas, com preço médio de R\$ 1,71 o quilograma (Anuário da Agricultura Brasileira - Agrianual, 2008).

A alface é classificada comercialmente, segundo o Programa Horti & Fruti (Padrão da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo), em americana, crespa, lisa, mimosa e romana, dos quais a mais consumida é a crespa. Segundo dados da CEAGESP para o quinquênio 2000-2004, o tipo crespa teve uma participação percentual em função da quantidade de engradados comercializados de 61%, seguido pelo tipo americana, que alcançou a marca de 19% (Trani et al., 2006).

O grupo de alface denominada “crisphead lettuce” ou tipo americana vem, a cada ano, aumentando o volume comercializado, já sendo um dos tipos mais importante nos grandes centros consumidores, muito utilizada pelas redes

*fast food*, em cozinhas industriais e hospitalares e, ainda, para processamento agroindustrial (Maluf, 2000).

Apesar dos importantes avanços conseguidos com o trabalho de melhoramento, a produção da alface no Brasil ainda é dependente de cultivares que são pouco adaptadas às nossas condições ambientais, especialmente, no que diz respeito às altas temperaturas que ocorrem no território brasileiro.

A produção da alface americana tem evoluído de forma rápida e moderna no sul de Minas Gerais, devido ao fato de a maior parte dela ser destinada, principalmente, à rede de lanchonetes tipo *fast food*. Assim, essa região tem se sobressaído em relação às outras regiões produtoras, tornando-se polo produtor dessa hortaliça, com cerca de 1.000 toneladas brutas por mês (Yuri et al., 2004).

No inverno, e com alta umidade, há ocorrência de doenças fúngicas, como o míldio da alface, causado pelo agente etiológico *B. lactucae*, podendo se tornar um fator limitante à produção, especialmente nas regiões sul e sudeste do Brasil. O míldio é uma das mais importantes doenças fúngicas e ocorre, especialmente, nas condições de inverno e em regiões de temperaturas amenas, condições encontradas nas grandes regiões produtoras (Pavan & Kurozawa, 1997). Torna-se um problema mais grave, também, por aumentar o custo de produção devido ao uso de defensivos, além de reduzir a produtividade, justamente no inverno, época de menores preços, devido ao fato de a oferta ser maior.

Assim, o presente trabalho foi realizado com os objetivos de avaliar a resistência de genótipos de alface ao míldio (*B. lactucae*), isolado coletado no município de Lavras, MG, bem como selecionar populações de alface do tipo americana resistentes a esse patógeno e mais adaptadas às condições de cultivo do sul de Minas Gerais.



## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 A cultura da alface

A alface cultivada (*Lactuca sativa* L.), pertencente à família Asteraceae, é uma planta herbácea com caule diminuto e não ramificado, ao qual se prendem as folhas. As folhas, de várias formas, podem também se encurvar e formar uma "cabeça", que é característica das variedades ditas repolhudas. Sua coloração pode apresentar diversos tons de verde e roxo, a consistência pode ser coriácea ou tenra e as bordas dos limbos foliares podem ser lisos, ondulados ou crespos. As raízes são do tipo pivotante com ramificações, sendo que a maior porcentagem da rizosfera se encontra nos primeiros 30 cm de profundidade do solo (Filgueira, 2000).

A inflorescência é uma panícula constituída por diversos botões florais denominados de capítulos. Cada capítulo possui de 10 a 25 flores e cada flor apresenta uma única pétala amarela, envolvida por brácteas imbricadas que formam um involúcro. O ovário contém um único óvulo. A antese ocorre pela manhã e cada flor se abre apenas uma vez, garantindo a autofecundação e conferindo à planta a autogamia por cleistogamia (Ryder, 1986).

Provavelmente originária de regiões amenas do Mediterrâneo, a alface rapidamente difundiu-se para França, Inglaterra e o resto da Europa, demonstrando tratar-se de uma cultura popular e de uso extensivo, por possuir um ciclo relativamente curto e com alta produção por área. Foi introduzida nas Américas no século XVI, sendo cultivada no Brasil desde 1647 (Silva, 1997).

A cultura da alface é anual. Dias curtos aliados a temperaturas amenas, nunca superiores a 28°C no período diurno e inferiores a 7°C no noturno, favorecem a etapa vegetativa do ciclo da maioria das cultivares, sendo capazes de resistir a baixas temperaturas e, até mesmo, a geadas de curta duração.

Temperaturas médias acima de 20°C podem induzir o pendoamento precoce da planta de alface, tornando-a imprópria ao consumo. Isso acontece devido à acentuada produção de látex que ocorre nesta fase, tornando seu sabor amargo e desagradável (Filgueira, 2000).

Assim, o início do alongamento floral assinala o início do estágio reprodutivo e o fim o estágio vegetativo e comercial da planta (Maluf, 2000). Muitos trabalhos visando aumentar a resistência ao pendoamento precoce são realizados, no sentido de melhorar a adaptação da cultura da alface às condições típicas do verão brasileiro (Aguiar, 2001).

No Brasil, a preferência pela alface de folhas lisas vem diminuindo a cada ano, com aumento do consumo da alface de folhas crespas e soltas. Mais recentemente, com o aumento das redes de “fast food”, uma nova opção que tem surgido é o cultivo da alface do tipo americana, que é crespa e forma uma cabeça repolhuda (Maluf, 2000).

A alface é sujeita à ocorrência de diversas doenças. Aproximadamente 75 delas já foram relatadas incidindo sobre a cultura em todo mundo e, dentre elas, o míldio (*B. lactucae*), é considerado a doença foliar de maior importância na cultura da alface, em condições de baixa temperatura atmosférica (Lopes & Quezedo-Duval, 1998).

## **2.2 O míldio**

Das doenças que ocorrem na alface em todo o mundo, o míldio, causado pelo agente etiológico *Bremia lactucae*, é considerado uma das mais importantes e tem sido controlado, principalmente, pelo uso de cultivares com fatores de resistência monogênicos (Koch & Blok, 1985). É considerado uma das doenças foliares mais severas para a cultura da alface e também a mais estudada (Wu et al., 2000). No Brasil, especialmente onde se cultiva alface no inverno, ou mesmo em regiões com temperatura mais amena e em condições de

elevada umidade, essa doença é de grande importância, podendo comprometer seriamente a produção.

Segundo Figueiredo (2001), a modificação ambiental devido ao uso de sistemas de cultivo protegido, tem contribuído para uma maior ocorrência do míldio da alface. Nesse contexto, mudas produzidas em cultivo protegido podem ser atacadas desde cedo pelo patógeno, acarretando grandes prejuízos aos produtores.

O gênero *Bremia* pertence à Família Peronospora, Ordem Peronosporales, Divisão Oomycota e Reino Chromista (Hawksworth, 1995; Agrios, 1997). O fungo é capaz de infectar mais de 200 espécies da Família Asteraceae, distribuídas em 40 gêneros (Lebeda & Schwinn, 1994). No Brasil, além da alface, o patógeno *B. lactucae* foi relatado infectando alcachofra (*Cynara scolymus* L.) e duas espécies de plantas daninhas, serralha lisa e serralha de espinho (*Sonchus oleraceus* e *S. asper* L.) (Vieira & Barreto, 2006). O fungo é um parasita obrigatório, ou seja, capaz de infectar e colonizar somente tecido vivo (Vieira & Barreto, 2006).

Os esporângios de *B. lactucae* são formados durante a noite e liberados durante o dia. A liberação dos esporângios do patógeno ocorre ao amanhecer, quando eles são expostos à luz do dia, atingindo o seu pico 1 a 2 horas após o início. Após esse período, a liberação dos esporângios começa a reduzir (Su et al., 2000).

Os esporângios podem ser disseminados tanto por gotas d'água como pelo vento até novas plantas saudáveis, formando novas infecções. O vento dissemina o patógeno a longa distância, comparado à disseminação pela água da chuva ou de irrigação. Com potencial para produzir milhares de esporângios na parte inferior de cada lesão em condições favoráveis, o míldio pode espalhar-se por grandes áreas (Bruggen & Scherm, 1997).

A umidade atmosférica está entre os mais importantes fatores ambientais que influenciam a esporulação do patógeno. Para que ocorra a infecção de *B. lactucae*, um filme d'água na superfície foliar é requerido para a germinação dos esporos deste fungo. O período de molhamento foliar é o fator mais importante, limitando a penetração do patógeno. O tempo médio de molhamento foliar, durante o período da manhã, deve ser de, pelo menos, três horas para que ocorra a infecção. O período de molhamento foliar também influencia na disseminação do fungo para outras partes da planta, já que os zoósporos (estruturas de reprodução assexuada) necessitam de uma lamina d'água para se locomoverem. A esporulação também exige, no mínimo, 80% de umidade relativa, chegando à sua esporulação máxima quando a umidade atmosférica se aproxima de 100%. Esse efeito causado pelo aumento da umidade relativa do ar está fortemente ligado à abertura estomática; a redução da umidade relativa aumenta o número de estômatos fechados e, conseqüentemente, reduz a chance para o surgimento de esporangióforos (Bruggen & Scherm, 1997).

Outro fator de fundamental importância para a germinação e a penetração do patógeno é a temperatura. De acordo com Bruggen & Scherm (1997), a temperatura mínima para que ocorra a infecção é de 5°C e a ótima, de 15°C; sob temperaturas superiores a 30°C a infecção não ocorre. Wu et al. (2000), estudando fatores que afetam a sobrevivência dos esporângios de *B. lactucae*, verificaram que a radiação solar é o principal fator.

Além dos esporângios, um esporo de parede espessa, chamado oósporo, pode ser formado pelo míldio (*B. lactucae*). Apesar de esse fungo produzir oósporo (reprodução sexuada), estrutura mais resistente às condições adversas do meio ambiente, não há relatos da formação desse esporo no Brasil. Assim, a fonte de inóculo fica restrita à reprodução assexuada (zoósporo) (Vieira & Barreto, 2006).

A infecção inicia quando os zoósporos de *B. lactucae* germinam e entram em contato com a folha via penetração direta nas células da epiderme por meio do apressório (Figura 1). A penetração direta nas células da epiderme ocorre trinta minutos após a formação do apressório, entretanto, pode ocorrer a penetração via estômato, denominada penetração passiva (Padgett-Johnson & Laemmlen, 2009). A colonização por *B. lactucae* ocorre quando há crescimento intercelular das hifas do fungo e estas penetram em novas células das plantas de alface, formando os haustórios, que utilizam os nutrientes destas células e produzem estruturas reprodutivas, os esporângios e esporangióforos. Os esporângios formam esporangioforos que podem infectar diretamente a folha ou tornarem-se encistados para posterior infecção (Lebeda et al., 2001; Padgett-Johnson & Laemmlen, 2009).

O fungo *B. lactucae* é capaz de infectar a alface em qualquer estágio de desenvolvimento da cultura, desde a fase de plântula até a planta adulta. Bruggen & Scherm (1997) descreveram as lesões de míldio como sendo de coloração verde clara ou levemente cloróticas, tornando-se amarelas ou necróticas após a esporulação do fungo na parte adaxial e abaxial das folhas velhas. As lesões são irregulares, de tamanhos que variam de 0,5 x 2,5 cm a 2 x 4 cm e frequentemente delimitadas pelas nervuras, dando-lhes aspectos angulares. Em condições ambientais ótimas, esporangióforos e esporângios tornam-se visíveis após uma semana, principalmente na face inferior das folhas, os quais emergem dos estômatos, onde são observados os sinais do fungo de aspecto cotonoso (branco), resultado da colonização deste.

Apesar de o míldio ser mais problemático, atacando a parte externa das folhas (afeta principalmente a fotossíntese), a doença pode ser tornar sistêmica, infectando internamente caule e colonizando até raízes. Lesões velhas tornam-se necróticas e os tecidos são invadidos por patógenos secundários, como, por exemplo, o fungo *Botrytis cinérea* Pers., o qual pode promover danos à cultura

no campo e, conseqüentemente, na comercialização desta hortaliça folhosa (Padgett-Johnson & Laemmlen, 2009).

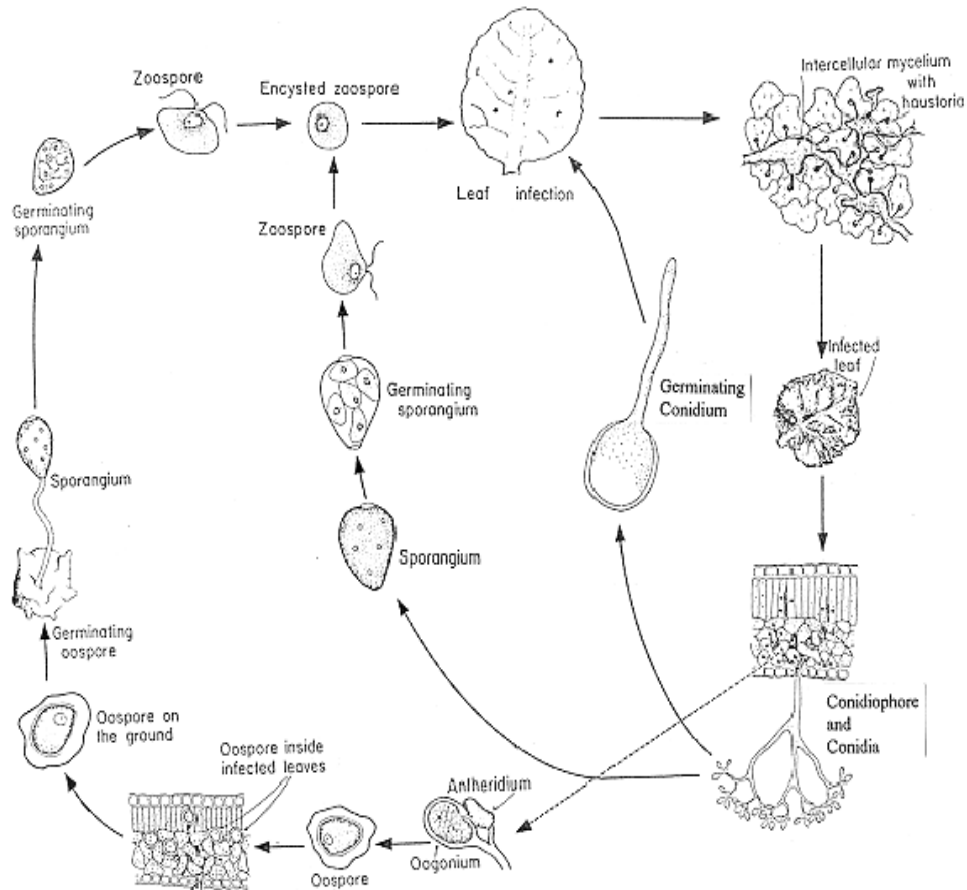


FIGURA 1 Ciclo da doença do mildio da alface, causado por *Bremia lactucae* Regel (Padgett-Johnson & Laemmlen, 2009).

### 2.3 Identificação das raças de *Bremia lactucae*

Segundo Dalpian (2005), a grande dificuldade de trabalhar com melhoramento de alface visando resistência ao patógeno *B. lactucae* no Brasil está na falta de identificação das raças desse fungo existentes nas grandes áreas de produção desta espécie olerícola.

O grande número de raças que surgiram em áreas fora da Europa provocou muita confusão quanto à identificação destas. Devido a esse problema, foram criadas parcerias entre órgãos públicos e empresas privadas de melhoramento de alface, principalmente da França e da Holanda, sendo criado um sistema de identificação dispondo de códigos, denominados Códigos Sextet's, em que cada raça possui um código, evitando que uma mesma raça receba denominações diferentes, nas regiões produtoras de alface do mundo. A denominação das raças de *B. lactuca* baseia-se em cultivares diferenciadoras de alface, para formação dos Códigos Sextet's (Tabela 1) (Ettekovén & Arend, 1999).

TABELA 1 Relação das cultivares diferenciadoras de alface, utilizadas para identificação das raças de *B. lactuca* pelo sistema de Código Sextet's (Ettekovén & Arend, 1999).

Numero do material	Gene Dm	Cultivar/Linhagem
	-	Cobham Green
1	Dm1	Lednick
2	Dm2	UCDM 2
3	Dm3	Dandie
4	Dm4	R4T57D
5	Dm5/8	Valmaine
6	Dm6	Sabine
7	Dm7	LSE 57/15
8	Dm10	UCDM 10
9	Dm11	Capitan
10	Dm12	Hilde (II)
11	Dm13	Pennlake
12	Dm14	UCDM 14

....continua...

TABELA 1, Cont.

13	Dm15	PIVIT 1309
14	Dm16	LSE/18
15	R* 17	LS 102
16	R18	Colorado
17	R36	Ninja
18	R37	Discovery
19	R38	Argeles

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

Os critérios utilizados na avaliação dos testes são os seguintes: >80% das plantas esporulando, utiliza-se o símbolo positivo “+”; >80% de plantas com pontos necróticos e com muita esporulação, utiliza-se o símbolo positivo entre parênteses “(+)”; <5% de plantas com esporulação, utiliza-se o símbolo negativo “-” e plantas com poucos pontos necróticos e com pouca esporulação, utiliza-se o símbolo negativo entre parênteses “(-)”.

As cultivares diferenciadoras são divididas em quatro grupos e são atribuídos valores de 1 a 32, conforme descrito a seguir:

- Grupos 1: Lednick (1); UCDM 2 (2); Dandie (4); R4T57D (8); Valmaine (16); Sabine (32);
- Grupo 2: LSE 57/15 (1); UCDM 10 (2); Capitan (4); Hilde II (8); Pennlake(16) ; UCDM 14 (32);
- Grupo 3: PIVIT 1309 (1); LSE7/18 (2); LS102 (4); Colorado (8); Ninja (16); Discovery (32);
- Grupos 4: Argeles (1).



Diversas são as raças de *B. lactucae* que podem afetar a alface, sendo necessária a utilização das cultivares diferenciadoras para identificar as principais raças existentes nas áreas de produção no Brasil e no mundo (Tabela 2). Nesse sentido, trabalho de grande importância foi realizado por Dalpian (2005). Por meio das 21 cultivares diferenciadoras e utilizando o sistema de Código Sextet's, proposto por Etekoven & Arend (1999), identificou-se a principal raça SPBI-01 de Código Sextet 63/63/51/00, que ocorre na maioria das grandes regiões produtoras de alface do estado de São Paulo (Dalpian, 2005).

TABELA 2 Exemplo de formação de Código Sextet's para a identificação de raças de *B. lactucae* (Arend et al., 2006).

																				Sextetcode			
Table position	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19			
Sextet value		1	2	4	8	16	32		1	2	4	8	16	32		1	2	4	8	16	32	1	
Test result NL 12		+	-	-	+	+	+		+	+	+	+	+	+		+	+	-	-	-	-	-	
Value		1			8	16	32		1	2	4	8	16	32		1	2						57-63-03-00
Test result BI: 20		+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	(m)		-	+	-	+	-	-	-	
Value		1	2	4	8	16	32		1	2	4	8	16			2		8					63-31-10-00

De acordo com Dalpian et al. (2004), comparando a raça SPBI:01, de comportamento 63/63/51/00, com as raças já descritas na Tabela de Código Sextet's, nota-se que o comportamento que mais se assemelhou foi o de 63/31/51/00, raça denominada BI-21, encontrada em todos países da Europa, diferindo do comportamento predominante nas regiões produtoras de alface paulistas (63/63/51/00) pela suscetibilidade conferida ao gene Dm-14 (Tabela 3). Com a análise do comportamento apresentado pela raça SPBI-1, nota se um padrão de resistência para os genes Dm17; 18; 38, que confere resistência a esta raça, considerada predominante no estado de São Paulo e todos os comportamentos encontrados nos cinturões verdes de São Paulo e Campinas, indicando que estes genes podem ser utilizados como fonte de resistência em programas de melhoramento da alface no Brasil. O gene Dm 18, presente na

cultivar européia de folhas crespas e roxas ‘Colorado’, confere resistência a essa raça e todos os comportamentos avaliados e catalogados nas regiões estudadas (Dalpian et al., 2004).

TABELA 3 Comportamento do isolado SPBI-01, raça de maior ocorrência nas regiões produtoras do cinturão verde do estado de São Paulo (Dalpian, 2005).

	Variety	CobhamGr	LSER G288	Lednický	UC DM2	Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM14	PIVT 1309	LSE/18	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery	Arges	Sextet code	Source
DM gene	0	0	1	2	3	4	5/8	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18	36	37	38			
Sextet nr	0		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19			
Value	0		1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1			
<b>SPBI;01</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	EU-A	<b>BR</b>	
<b>BI;21</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	EU-A	EU	
																						63/63/51/00	63/31/51/00	

Crute & Jhonson (1976) citam como alternativa para diminuir a pressão de seleção do patógeno *B. lactucae* a rotação de culturas e o plantio de cultivares que incorporem resistência de diferentes fontes. Segundo os mesmos autores, na falta de pressão de seleção, fatores de virulência da população do patógeno tende a declinar rapidamente, assegurando que os fatores de resistência sejam sempre eficientes.

#### 2.4 Resistência genética a *Bremia lactucae*

Segundo Crute & Jhonson (1976), estudos de melhoramento para resistência da alface ao míldio foi iniciado por Jagger (1940) e, desde então, continuado em países como Estados Unidos, Israel e em outros países da Europa, que também se engajaram em trabalhos nesse amplo campo de pesquisa.

O modelo de interação gene-a-gene é o que pode explicar a resistência e a suscetibilidade de muitas cultivares de alface a diversos isolados deste patógeno. Quatro categorias de mecanismos de resistência são conhecidas na interação entre *Lactuca* spp. e *B. lactucae*, São eles não-hospedeiro, raças específicas, raças não-específicas e resistência de campo (Lebeda & Sedlarová, 2003). Resistência e suscetibilidade não são atributos absolutos do genótipo do hospedeiro, mas sim uma interação com o genótipo específico do patógeno (Farrara et al., 1987).

A resistência ao míldio em alface é conferida pelos genes denominados Dm, sendo normalmente expressa por uma reação de hipersensibilidade (Ingram et al., 1976). Segundo Bennet et al. (1996), essa reação de hipersensibilidade é provocada por um dano irreversível na membrana da célula penetrada, havendo diferenças entre esses danos, dependendo do gene Dm que confere a resistência. Genes de resistência dominante (Dm) correspondem à dominância de genes de avirulência (Avr). A combinação de um gene Dm e de um gene Avr resulta em uma interação incompatível, expressa como hipersensibilidade do hospedeiro. Genes Dm em *Lactuca sativa* ocorrem em grupos no genoma e a segregação monogênica é uma relação consistente com outros genes simples ou múltiplos. Mais de 20 fatores-R já foram postulados para explicar a especificidade de cultivares a isolados de *B. lactucae*, no entanto, apenas nove únicos genes dominantes de resistência foram identificados (Johnson et al., 1977, 1978; Norwood et al., 1981; Crute & Lebeda, 1981, 1983; Lebeda & Yuen, 1984; Michelmore & Hulbert, 1985 citados por Farrara et al., 1987). Por essa razão, um novo fator de resistência é formalmente indicado como R, até que demonstrem um gene simples Dm (Bonnier et al., 1994).

Segundo Michelmore et al. (1984), estudos de herança de virulência específica em *B. lactucae* reafirmam uma relação de gene-a-gene e comprovam a existência dos nove genes de resistência (Dm 1, Dm 2, Dm 3, Dm 4, Dm 5,

Dm 6, Dm 7, Dm 10 e Dm 11). Em muitos casos, a virulência, para cada um dos nove genes de resistência, segrega como um gene dominante simples, independentemente dos outros fatores. Evidências mostraram que um gene simples *Dm* é de segregação monofatorial de resistência no hospedeiro e avirulência no patógeno. Os genes *Dm* ocorrem em quatro grupos de gene: grupo 1, são Dm 1; 2; 3; 6; 12; 14; 15 e 16; grupo 2, são Dm 5/8 e 10; grupo 3, Dm 4; 7 e 11 e grupo 4, Dm 13. Na maioria dos casos, a avirulência de cada um dos nove genes de resistência isolados de um único gene dominante é independente de todos os outros locos de avirulência (Norwood et al., 1983; Michelmore et al., 1984; Norwood & Crute, 1984). Mas, avirulência a Dm 11 parece ser uma exceção, sendo determinada por dois genes independentes. Isso indica que Dm 11 pode realmente ser dois genes estreitamente ligados. No entanto, recombinantes dentro do Dm 11 ainda têm de ser detectados em posteriores estudos de herança genética, nas espécies de *Lactuca* spp., portadoras desse caráter (Farrara et al., 1987).

Mais de 200 hospedeiros e 30 genótipos de *B. lactucae* já foram relatados, o que torna o míldio da alface uma das doenças de plantas de melhor caracterização genética (Farrara et al., 1987).

## **2.5 O melhoramento genético da alface**

No melhoramento de plantas, o conhecimento da natureza do controle genético de um caráter é de grande importância para a condução eficiente de um programa de melhoramento, orientando na escolha do melhor procedimento de seleção e dos métodos de melhoramento mais eficientes na condução das populações segregantes (Vencovsky & Barriga, 1992; Ramalho et al., 1993; Cruz & Regazzi, 1994). Na alface, é comum a utilização de métodos de melhoramento que envolvam a hibridação e a seleção, principalmente o método genealógico (Ryder, 1986; Vecchia et al., 1999).

A alface tem inúmeras características que a tornam apropriada para estudos genéticos, como, por exemplo, ciclo precoce, autocompatibilidade, baixa taxa de polinização cruzada natural (5%) e número reduzido de cromossomos. Além disso, é possível a execução de elevado número de polinizações controladas em uma mesma planta, dessa forma, necessitando de pequenos espaços para a condução das plantas, o que pode ser feito em vasos. Contudo, a alface apresenta uma desvantagem para os geneticistas e melhoristas de plantas, que é a pequena quantidade de sementes produzidas em cada ciclo de polinização controlada (hibridação).

De acordo com Michelmore & Eash (1986), a alface cultivada (*L. sativa*), juntamente com as espécies *L. serriola*, *L. saligna* e *L. virosa*, constitui um grupo básico comum de  $2n=18$  cromossomos, reprodutivamente isolado das demais espécies, *L. sativa* e *L. serriola*, cruzam-se facilmente, originando híbridos com pouca ou nenhuma esterilidade. Como a alface cultivada tem base genética restrita, a compatibilidade no cruzamento com a espécie selvagem acima mencionada abre perspectivas de obtenção de grande número de segregantes desejáveis, particularmente aqueles com resistência às doenças (Ryder, 1985).

Vários genes têm sido identificados em alface. Robison et al. (1982) relataram a existência de 59 genes para espécie *L. sativa*, dos quais seis condicionam a presença de antocianina, dez de clorofila, onze de morfologia foliar, quatro de formação de “cabeça”, sete de morfologia floral e caracteres de sementes, sete de macho-esterilidade, um de sensibilidade a agentes químicos e treze de resistência às doenças. São conhecidos também muitos casos de alelos múltiplos e genes ligados. Outros genes têm sido identificados em pesquisas recentes: Ef (florescimento precoce) parcialmente dominante (Ryder, 1986), genes Dm 11; 13; 14; 15 e 16, de resistência a *B. lactucae* (Farrara et al., 1987;

Lebeda et al., 1994), genes de resistência ao vírus do mosaico do alface (LMV) (Stangarlin, 1995) e gene de resistência a nematóides (Gomes et al., 2000).

Nos Estados Unidos, as cultivares de cabeça crespa tornaram-se dominantes nas primeiras décadas do século XX, após a execução de programas de melhoramento que enfatizaram o tamanho e o peso da “cabeça”, além da capacidade de suportar o transporte a longa distância. Posteriormente, em 1941, foram desenvolvidas as cultivares do tipo ‘Great Lakes’, que mostravam cor, tamanho e peso de “cabeça” adequada, certa resistência ao pendoamento precoce e às principais doenças da época. Atualmente, a popularidade da alface crespa tem aumentado consideravelmente no Brasil e nos demais países consumidores.

No início da década de 1970, no Brasil, o Instituto Agrônomo de Campinas lançou comercialmente a cultivar Brasil 48, com resistência ao pendoamento precoce e ao *lettuce mosaic virus* (LMV), resultante do cruzamento entre ‘Gallega’, de inverno’ e ‘White Boston’. As cultivares White Boston e Sem Rival foram utilizadas como recorrentes nos retrocruzamentos (Nagai, 1989). Posteriormente, foram liberadas as cultivares Brasil-202; 203; 221 e Áurea, todas resistentes ao pendoamento precoce e ao LMV. Dentro da mesma linha de pesquisa, o Instituto de Genética da ESALQ-USP desenvolveu a cultivar Vivi e, posteriormente, a série ‘Regina’, a qual se originou do cruzamento da geração F<sub>7</sub> (‘White Boston’x’Monstruese Ronde d’Eté’) com a cultivar Brasil 48, fonte de resistência ao LMV (Nagai, 1989).

O advento das novas técnicas bioquímicas (eletroforese) e da biologia molecular (*restriction fragment length polymorphism*, RFLP; *random amplified polymorphic DNA*, RAPD; *polymerase chain reaction*, PCR) tem proporcionado grande progresso em estudos sobre a natureza do genoma em alface. Landry et al. (1987) construíram um mapa genético de *L. sativa* com 53 marcadores genéticos (41 locus RFLP, 5 genes de resistência ao patógeno *B. lactucae*, 4 locus de isoenzimas e marcadores morfológicos). Hulbert & Michelmore (1988)

realizaram análises genéticas de *B. lactucae*, usando RFLP, concluindo que a alta frequência de poliformismo do DNA em isolados de ocorrência natural e a própria segregação mendeliana detectada dos locus indicam a possibilidade de construção de um mapa genético de *B. lactucae* usando RFLPs como marcadores. Waugh & Powell (1992) discutem o potencial do uso de RAPDs como marcadores, exemplificando com gene de resistência ao patógeno *B. lactucae* (Dm) em alface. Paran et al. (1991) identificaram marcadores de DNA, RFLPs e RAPDs ligados a genes de resistência ao míldio (*B. lactucae*) em alface, utilizando linhagens quase isogênicas, concluindo que o rápido “screening” e a identificação de marcadores estreitamente ligados a genes-alvo demonstram o potencial dos marcadores RAPD para o preenchimento de mapas genéticos.

A planta de alface é dividida em dois estádios distintos. O primeiro é o estádio vegetativo, no qual a cultura da alface é explorada comercialmente e o segundo é a fase reprodutiva, no qual ocorre o pendoamento da planta, com a formação da inflorescência, composta por diversos botões florais, tornando-o o estádio mais importante para a hibridação (Ryder, 1986).

Na hibridação da planta de alface, a técnica mais utilizada foi desenvolvida por Oliver (1910), citado por Ryder (1986), em que flores que receberão o pólen são emasculadas e lavadas com um jato fino d’água na antese, retirando-se qualquer vestígio de pólen remanescente da emasculação, antes da bifurcação do estigma floral, evitando a autofecundação. Em seguida, o pólen da planta de alface doadora é colocado sobre as flores emasculadas da planta receptora, realizando-se o cruzamento. Algumas características fenotípicas, como tipos de folha, coloração de sementes e antocianina, são utilizadas como marcas na diferenciação entre plantas híbridas e as provindas de autofecundação. Isso porque a técnica de polinização artificial não é cem por cento eficiente e a identificação e a incorporação de genes para macho esterilidade e para

incompatibilidade em *L. sativa* são difíceis. Estes genes ajudariam na eficiência das hibridações em alface (Dalpian, 2005).

Diversas características são visadas no melhoramento de alface, principalmente características relacionadas à resistência a doenças, como míldio, mosaico, vira-cabeça e big-vein, além dos atributos comerciais e aumento de produtividade (Ryder, 1986).

Segundo Dalpian (2005), características agronômicas também devem ser o foco em programas de melhoramento de alface. Dentre elas, podem-se citar a uniformidade das cultivares e a adaptabilidade dos materiais a diferentes ambientes, bem como a determinados ambientes.

Nas condições brasileiras, os principais objetivos do melhoramento da alface devem ser programas relacionados a: resistência ao calor (pendimento precoce), resistência a problemas fisiológicos (*tip burn*), resistência ao *lettuce mosaic virus* (LMV), resistência a bacterioses, resistência a fungos (*Bremia lactucae*, *Sclerotinia mino* e *Sclerotinia sclerotium*, *Cercoporiose*, *Septoriose*, etc.) (Dalpian, 2005) e resistência a nematóides (Gomes et al., 2000).



### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 4. ed. San Diego: Academic Phytopathological Society, 1997. 635 p.

AGUIAR, R. G. de. **Comportamento de famílias F2:3 de alface (*Lactuca sativa* L.), originadas de cruzamentos entre cultivares contrastantes quanto a características vegetativas e pendoamento precoce**. 2001. 43 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA. São Paulo: Instituto FNP, 2008. 502 p.

AREND, A. J. M. van der; GAUTIER, J.; GRIMAUULT, V.; KRAAN, P.; LAAN, R. van der; MAZET, J.; MICHEL, H.; SCHUT, J. W.; SMILDE, D.; WITTE, I. J. de. **Identification and Denomination of "new" races of *Bremia lactucae* in Europe by IBEB until 2006**. Disponível em: <[http://www.plantum.nl/pdf/IBEB\\_identification\\_and\\_nomination\\_2006.pdf](http://www.plantum.nl/pdf/IBEB_identification_and_nomination_2006.pdf)>. Acesso em: 15 nov. 2009.

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

BONNIER, F. J. M.; REININK, K.; GROENWOLD, R. Genetic analysis of *Lactuca* accessions with new major genes resistance to lettuce downy mildew. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 84, n. 5, p. 462-428, May 1994.

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

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

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: Imprensa Universitária, 1994. 378 p.

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

DALPIAN, T.; BRAZ, L. T.; MARGARETE, C. Identificação das raças de *Bremia lactucae* que ocorrem na região de Campinas– SP. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v. 22, n. 2, abr. 2004. CD-ROM.

ETTEKOVEN, K. van; AREND, A. van der. Identification and denomination of new races of *Bremia lactucae*. In: EUCARPIA MEETING ON LEAFY VEGETABLES GENETICS AND BREEDING, 1999, Olomuc. **Proceedings...** Olomouc: IBEB, 1999. p. 105-107.

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

FIGUEIREDO, M. B. Doenças fúngicas emergentes em grandes culturas. **Biológico**, São Paulo, v. 63, n. 1/2, p. 29-32, jan./dez. 2001.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças.** Viçosa, MG: UFV, 2000. 402 p.

GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; CAMPOS, V. P. Inheritance of the resistant 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. 37-46, July 2000.

HAWKSWORTH, B. T. **Dictionary of the fungi.** 8. ed. Wallingford: CAB International, 1995. 616 p.

HULBERT, S. H.; MICHELMORE, R. W. DNA restriction fragment length polymorphism and somatic variation in the lettuce downy mildew fungus *Bremia lactucae*. **Molecular Plant Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 1, n. 1, p. 17-24, Jan. 1988.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Diretoria de pesquisa, coordenação de índices de preço, pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003**. Rio de Janeiro, 2006. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populaca/condicaodevida/pof/2006aquistica/tab25.pdf>>. Acesso em: 22 dez. 2009.

JAGGER, I. C.; WHITAKER, T. W. The inheritance of immunity from mildew (*Bremia lactucae*) in lettuce. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 30, p. 427-433, 1940.

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

LANDRY, B. S.; KESSELI, R. V.; FARRARA, B.; MICHELMORE, R. W. A genetic map of lettuce (*Lactuca sativa* L.) with restriction fragment length polymorphism, isozyme, disease resistance and morphological markers. **Genetics**, Baltimore, v. 116, n. 2, p. 331-337, June 1987.

LEBEDA, A.; PINK, D. A. C.; MIESLEROVÁ, B. Host-parasite specificity and defense variability in the *Lactuca* spp. – *Bremia lactucae* pathosystem. **Journal of Plant Pathology**, Bari, v. 83, n. 2, p. 25-35, 2001.

LEBEDA, A.; SCHWINN, F. J. The downy mildews – an overview of recent research progress. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Berlin, v. 101, n. 3, p. 225-254, 1994.

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

LOPES, C. A.; QUEZEDO-DUVAL, A. M. **Doenças da alface**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 1998. 18 p. (Circular Técnica, 14).

- MALUF, W. R. **Melhoramento genético da alface (*Lactuca sativa* L.):** melhoramento genético de hortaliças. Lavras: UFLA, 2000. 183 p. Apostila.
- MICHELMORE, R.W.; EASH, J. A. Lettuce. In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRAT, P. V. (Ed.). **Handbook of plant cell culture: techniques and applications.** New York: Macmillan, 1986. p. 512-551.
- MICHELMORE, R.W.; NORWOOD, J. M.; INGRAM, D. S.; CRUTE, I. R.; NICHOLSON, P. The inheritance of virulence in *Bremia lactucae*: specific virulence to match resistance factors 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 and 11 in lettuce (*Lactuca sativa*). **Plant Pathology**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 301-317, Sept. 1984.
- NAGAI, H. PI 342517, uma introdução de alface com resistência ao vírus do “vira-cabeça”. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 7, n. 1, p. 51-66, maio 1989.
- NORWOOD, J. M.; CRUTE, I. R. The genetic control and expression of specificity avirulence in *Bremia lactucae* (lettuce downy mildew). **Plant Pathology**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 385-401, Sept. 1984.
- NORWOOD, J. M.; MICHELMORE, R. W.; CRUTE, I. R.; INGRAM, D. S. The inheritance of specific virulence in *Bremia lactucae* (Downy mildew) to match resistance factors 1, 2, 4, 6 and 11 in the *Lactuca sativa* (lettuce). **Plant Pathology**, Oxford, v. 32, n. 2, p. 177-186, June 1983.
- PADGETT-JOHSON, M.; LAEMMLEN, F. **Downy mildew of lettuce (*Bremia lactucae*):** biology, disease symptoms and damage. Using the downy mildew index model for disease management. Sacramento, CA: Department of Pesticide Regulation, 2009. Disponível em: <<http://ucce.ucdavis.edu/files/filelibrary/2028/23067.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2009.
- PARAN, I.; KESSELI, R.; MICHELMORE, R. Identification of restriction fragment length polymorphism and random amplified polymorphic DNA markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce, using near-isogenic lines. **Genome**, Ottawa, v. 34, n. 6, p. 1021-1027, Dec. 1991.
- PAVAN, M. A.; KUROZAWA, C. Doenças da alface. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas.** São Paulo: Ceres, 1997. v. 2, p. 18-25.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; ZIMERMANN, M. J. O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: Ed. UFG, 1993. 271 p.

ROBSON, R. W.; MCCREIGHT, J. D.; RYDER, E. J. The genes of lettuce and closely related species. In: JANICK, J. (Ed.). **Plant breeding reviews**. Westport: AVI, 1982. v. 1, p. 267-293.

RYDER, E. J. Breeding vegetable crops. In: RYDER, E. J. (Ed.). **Lettuce breeding**. Westport: AVI, 1986. p. 433-474.

RYDER, E. J. Use of early flowering genes to reduce generation time in backcrossing, with specific application to lettuce breeding. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 110, n. 4, p. 570-573, July 1985.

SILVA, E. C. da. **Estudos genéticos relacionados à adaptação da alface (*Lactuca sativa* L.) sob altas temperaturas em cultivo protegido na região norte fluminense**. 1997. 70 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro.

STANGARLIN, O. S. **Identificação dos vírus causadores de mosaico em cultivares de alface resistentes ao LMV nas regiões produtoras do Estado de São Paulo**. 1995. 72 p. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu.

SU, H.; BRUGGEN, A. H. C. van; SUBBARAO, K. V. Spore release of *Bremia lactucae* on lettuce is affected by timing of light initiation and decrease in relative humidity. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 90, n. 1, p. 67-68, Jan. 2000.

TRANI, P. E.; TIVELLI, S. W.; PURQUEIRO, L. F. V.; AZEVEDO FILHO, J. A. Alface (*Lactuca sativa* L.). In: FAHL, J. I.; CAMARGO, M. B. P.; PIZINATTO, M. A.; BETTI, J. A.; MELO, A. M. T.; DEMARIA, I. C.; FURLANI, A. M. C. (Ed.). **Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas: hortaliças**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2006. p. 158-162. (Boletim, 200). Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/Alface/Alface.htm>, 2005>. Acesso em: 20 dez. 2009.

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

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**.  
Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 486 p.

VIEIRA, B. S.; BARRETO, R. W. First record of *Bremia lactucae* infecting  
*Sonchus oleraceus* and *Sonchus asper* in Brazil and its infectivity to lettuce.  
**Phytopathology**, Saint Paul, v. 154, n. 2, p. 84-87, Feb. 2006.

WAUGH, R.; POWELL, W. Using RAPD markers for crop improvement.  
**Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 10, n. 6, p. 186-191, June 1992.

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

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

## **CAPÍTULO 2**

### **REAÇÃO DE RESISTÊNCIA AO MÍLDIO EM GENÓTIPOS DE ALFACE EM AMBIENTE CONTROLADO**

## 1 RESUMO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais importante na alimentação do brasileiro, sendo consumida *in natura* na forma de salada. O míldio é uma das mais importantes doenças fúngicas que ocorrem na cultura da alface, especialmente nas condições de inverno e em regiões de temperaturas amenas. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a reação de resistência ao míldio (*Bremia lactucae*) em dez genótipos de alface. Foram utilizados como genótipos nove cultivares ('Colorado', 'Raider Plus', 'Verônica', 'Rubete', 'Elisa', 'Salinas 88', 'Grand Rapids', 'Regina 71' e 'Hortência') e uma linhagem ('AFX-020A-06'). O ensaio foi conduzido em câmara de germinação tipo BOD, sendo os genótipos semeados em caixas gerbox sobre papel mata-borrão umedecido com água destilada. Quinze dias após a semeadura, foi feita a inoculação, utilizando-se, como inoculo, esporângios lavados de tecidos infectados da cultivar suscetível Solaris, na concentração de  $5 \times 10^4$  esporângios.mL<sup>-1</sup>. A avaliação para resistência ao míldio foi realizada 15 dias após a inoculação, verificando-se a presença ou não de sintoma e esporulação em cada plântula. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com três repetições. As plântulas das cultivares Colorado, Raider Plus e Rubete apresentaram resistência a *B. lactucae*. A baixa porcentagem de plântulas sadias verificadas nas cultivares Verônica, Elisa, Salinas 88, Grand Rapids, Regina 71, Hortência e da linhagem AFX-020A-06 evidencia a suscetibilidade desses genótipos ao patógeno *B. lactucae*.

**Palavras-chave:** *Lactuca sativa* L., *Bremia lactucae* Regel, Câmara de germinação.



## 2 ABSTRACT

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is the most important leafy vegetable in the Brazilian diet, and consumed fresh as salad. Downy mildew is one of the most important fungal diseases that occur in lettuce, especially under winter conditions and in regions with mild temperatures. This study aimed to evaluate the resistance reaction to downy mildew (*Bremia lactucae*) in ten genotypes of lettuce. Genotypes were used as nine cultivars ('Colorado', 'Raider Plus', Veronica, 'Rubete', 'Elisa', 'Salinas 88', 'Grand Rapids', 'Regina 71' and 'Hortência') and one line ('AFX-020A-06'). The trial was conducted in a germination chamber B.O.D., and the genotypes sown in seedling boxes on blotting paper moistened with distilled water. Fifteen days after sowing the inoculation was made, using as inoculum sporangia washed from infected tissues of susceptible cultivar Solaris, at a concentration of  $5 \times 10^4$  .sporangium. Evaluation for resistance to downy mildew was recorded 15 days after inoculation, verifying the presence or absence of symptoms and sporulation of each seedling. The experimental design was completely randomized design with three replications. Seedlings of Colorado, Raider Plus, Rubete cultivars and showed resistance to *B. lactucae*. The low percentage of healthy seedlings found in the cultivars Veronica, Elisa, Salinas 88, Grand Rapids, Regina 71, Hortência and the line AFX-020A-06 shows the susceptibility of these genotypes to the pathogen *B. lactucae*.

**Key words:** *Lactuca sativa* L., *Bremia lactucae* Regel, Chamber of germination.

### 3 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais importante na alimentação do brasileiro, sendo consumida *in natura*, na forma de salada. No inverno, época de menor preço devido à maior oferta do produto, a ocorrência de doenças fúngicas, como o míldio (*B. lactucae*), torna-se um problema grave, por reduzir a produtividade e aumentar o custo de produção.

O míldio é uma das mais importantes doenças fúngicas da cultura da alface, ocorrendo especialmente no inverno. Temperaturas amenas e elevada umidade relativa são altamente favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, podendo comprometer seriamente a produção (Pavan & Kurozawa, 1997). Segundo Figueiredo (2001), a modificação ambiental devido à utilização do cultivo protegido tem contribuído para a maior ocorrência do míldio da alface, principalmente no estágio de plântula e na produção de mudas.

Mudas de alface produzidas em casa de vegetação podem ser atacadas desde cedo pelo patógeno, causando mortalidade e grande atraso no desenvolvimento das plântulas e, com isso, muitos prejuízos. Além disso, consideram-se os altos custos de produção provocados pelos altos preços pagos pelos defensivos agrícolas utilizados no controle deste fitopatógeno, sem mencionar os danos que esses produtos químicos podem causar ao meio ambiente e aos seres vivos que entram em contato com essas moléculas tóxicas. Um exemplo são os fungicidas sistêmicos do grupo das fenilamidas, registrados para o controle do míldio na cultura da alface. Esses produtos podem causar indução de resistência ao patógeno *B. lactucae*, provocando seleção de raças insensíveis aos agrotóxicos deste grupo químico (Crute & Harrison, 1988).

Dessa forma, o míldio tem sido um patógeno importante em programas de melhoramento, sendo controlado, principalmente, pelo uso de cultivares com resistência monogênica (Koch & Blok, 1985), conferida pelos genes denominados *Dm gene*, normalmente expressando reação de hipersensibilidade (Ingram et al., 1976).

A identificação de cultivares resistentes a isolados de *B. lactucae* que eventualmente possam ocorrer nas principais regiões produtoras de alface, torna-se de suma importância para se proceder à escolha de genitores em programas de melhoramento.

Assim, no presente trabalho, o objetivo foi avaliar a reação de resistência ao míldio (*B. lactucae*) em dez genótipos de alface, para o eventual utilização destas em programas de melhoramento, visando à obtenção de linhagens de alface multirresistentes.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nas dependências do Setor de Olericultura, no Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Foram utilizados dez genótipos de alface, sendo nove cultivares (Colorado, Raider Plus, Verônica, Rubete, Elisa, Salinas 88, Grand Rapids, Regina 71 e Hortência) e uma linhagem experimental ainda em desenvolvimento no DAG/UFLA (AFX-020A-06). Para cada genótipo utilizou-se uma caixa gerbox, na qual, sobre papel para germinação (mata-borrão) umedecido com água destilada, foram semeadas 40 sementes. Todo o processo de semeadura ocorreu sobre câmara de fluxo laminar, para evitar possíveis contaminações. Após a semeadura, as caixas gerbox foram mantidas, por 15 dias, em BOD, com fotoperíodo de 10 horas e temperatura constante de 20°C. No décimo quinto dia, as plântulas foram inoculadas com esporângios de *B. lactucae*, na concentração de  $5 \times 10^4$  esporângios.mL<sup>-1</sup>.

Como fonte de inóculo, utilizou-se um isolado de *B. lactucae*, coletado em casas de vegetação de produção de mudas de alface, do Setor de Olericultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O patógeno foi extraído de folhas infectadas de alface da cultivar suscetível Solaris. As coletas foram feitas pela manhã, período esse em que se observa a maior esporulação do patógeno. O preparo do inóculo foi feito de acordo com Ilott et al. (1987), citados por Dalpian (2005), utilizando-se esporângios de tecidos infectados das folhas, lavados em água destilada. A contagem do número de esporângios foi realizada em microscópio óptico. Colocou-se em um hemacitômetro 1µL da suspensão de esporângios previamente homogeneizada. Logo depois, ajustou-se a concentração para  $5 \times 10^4$  esporângios mL<sup>-1</sup>. Com o auxílio de um borrifador, as

plântulas com cotilédones completamente expandidos (15 dias após a semeadura) foram inoculadas por pulverização. As plântulas dispostas dentro das caixas gerbox foram levadas novamente para BOD. Após a inoculação, nas primeiras 6 horas, as plântulas foram deixadas no escuro à temperatura de 13°C, para germinação dos zoósporos. Após esse período, o fotoperíodo foi ajustado para 12 horas, com temperatura diurna e noturna de 17°C constantes e umidade relativa acima de 80%. As avaliações das plântulas para a resistência ao míldio foram feitas quinze dias após a inoculação, sendo cada plântula avaliada individualmente, verificando-se a presença ou não de sintomas e esporulação. O experimento foi conduzido em câmara de germinação (B.O.D.).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com 10 tratamentos e três repetições. A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa SISVAR® (Ferreira, 2000). Para análise dos dados, a variável resposta utilizada foi o número de plantas saudas, sendo as médias comparadas pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observaram-se diferenças significativas quanto à reação de resistência ao míldio entre os dez genótipos avaliados. A porcentagem de plântulas sadias das cultivares Colorado, Raider Plus e Rubete foi superior à dos demais genótipos, o que as caracterizou como resistentes ao míldio (Tabela 1). De acordo com Dalpian (2005), genótipos de alface que apresentam acima de 85% de plantas sem esporulação podem ser considerados resistentes a *B. lactucae* (Anexo 1, Figura 1A).

TABELA 1 Porcentagem de plântulas sadias de dez genótipos de alface, avaliados para resistência ao míldio.

Tipo	Genótipos	% plântulas sadias	Suscetível	Resistente
Americana	Grand Rapids	4,6 c	+ <sup>2</sup>	
Americana	Raider Plus	100,0 a		- <sup>1</sup>
Americana	Rubete	97,4 a		-
Americana	Salinas 88	21,5 b	+	
Crespa	Colorado	100,0 a		-
Crespa	Hortência	24,3 b	+	
Crespa	Verônica	24,3 b	+	
Lisa	AFX-020A-06	0,0 c	+	
Lisa	Elisa	22,2 b	+	
Lisa	Regina 71	23,7 b	+	
C.V.(%)=		20,36		
Média geral:		43,84		

\* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> – Cultivar com mais de 85% de plantas sadias é considerada resistente.

<sup>2</sup> + Cultivar com menos de 85% de plantas sadias é considerada suscetível.

Observou-se, ainda, que a porcentagem de plântulas sadias das cultivares Verônica, Elisa, Salinas 88, Grand Rapids, Regina 71, Hortência e da linhagem AFX-020A-06 foi relativamente baixa (Tabela 1), evidenciando a

suscetibilidade desses genótipos ao patógeno *B. lactucae* (Anexo 1, Figura 2A). As plântulas não esporuladas presentes nos genótipos suscetíveis podem ser consideradas escapes, em decorrência do protocolo descrito por Ilott et al. (1987), técnica padrão utilizada para inoculação e multiplicação de *B. lactucae* em plântulas de alface. Em trabalho semelhante, Pissardi et al. (2006) avaliaram 21 cultivares de alface, de diferentes tipos de folhas, utilizando a mesma técnica de inoculação para resistência a *B. lactucae* em isolados provenientes de campos de produção de alface do estado de São Paulo, onde foi observado um escape de até 15% nas cultivares consideradas suscetíveis.

Segundo Dalpian et al. (2004), Braz et al. (2007) e Pissardi et al. (2005), o comportamento mais encontrado de *B. lactucae*, nas principais regiões produtoras de alface do estado São Paulo e em Santana da Vargem (cidade da região sul de Minas Gerais) é o de Código Sextet's 63/63/51/00, comportamento esse considerado uma raça, para a qual se propôs a denominação SPBI- 01. Sendo assim, essa raça deve ser o foco dos programas de melhoramento visando resistência ao míldio para o estado de São Paulo e para Santana da Vargem, MG. Os genes que conferem resistência a esse comportamento são Dm 17, 18 e 38. A cultivar de alface crespa Colorado (gene de resistência Dm 18) mostrou-se resistente, no presente experimento, o que a coloca como material promissor a ser utilizado para resistência a *B. lactucae* no Brasil, juntamente com as demais cultivares resistentes testadas nesse estudo ('Rubete' e 'Raider Plus').

## 6 CONCLUSÕES

As cultivares Colorado, Raider Plus e Rubete são resistentes ao isolado do patógeno *B. lactucae*, coletado na região de Lavras, MG, agente etiológico do míldio da alface.



## **7 AGRADECIMENTOS**

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq), à UFLA, à FAEPE e à Hortiagro Sementes Ltda.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAZ, L. T.; DALPIAN, T.; CAMARGO, M.; PISSARDI, M. A. Identification of races of *Bremia lactucae* in São Paulo. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 1, n. 760, p. 317-321, 2007.

CRUTE, I. R.; HARRISON, J. M. Studies on the inheritance of resistance to metalaxyl in *Bremia lactucae* and on the stability and fitness of field isolates. **Plant Pathology**, Oxford, v. 37, n. 2, p. 231-250, June 1988.

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

DALPIAN, T.; BRAZ, L. T.; MARGARETE, C. Identificação das raças de *Bremia lactucae* que ocorrem na região de Campinas– SP. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v. 22, n. 2, abr. 2004. CD-ROM.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FIGUEIREDO, M. B. Doenças fúngicas emergentes em grandes culturas. **Biológico**, São Paulo, v. 63, n. 1/2, p. 29-32, jan./dez. 2001.

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

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

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

PAVAN, M. A.; KUROZAWA, C. Doenças da alface. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Ceres, 1997. v. 2, p. 18-25.

PISSARDI, M. A.; DALPIAN, T.; BRAZ, L. T. Caracterização de cultivares de alface quanto à resistência à *Bremia lactucae*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 46., 2006, Goiânia. **Anais...** Brasília: Associação Brasileira de Horticultura, v. 24, n. 1, p. 1168-1170, Jul. 2006.

PISSARDI, M. A.; DALPIAN, T.; BRAZ, L. T.; CAMARGO, M. Identificação do comportamento de *Bremia lactucae* no pólo produtor de alface americana do Sul de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45., 2005, Fortaleza. **Anais...** Brasília: Associação Brasileira de Horticultura, 2005. CD ROM.

## **CAPÍTULO 3**

### **REAÇÃO DE RESISTÊNCIA AO MÍLDIO E SELEÇÃO EM POPULAÇÕES DE ALFACE DO TIPO AMERICANA**

## 1 RESUMO

O Brasil tem cerca de 30.000 hectares de área plantada com a cultura da alface (*Lactuca sativa* L.). Entre os tipos de alface cultivados atualmente, tem-se destacado a americana. O sul de Minas Gerais tem se sobressaído na produção de alface americana, tornando-se polo produtor desse tipo de hortaliça. O míldio da alface ocorre em todas as regiões do mundo onde se cultiva a alface, sendo esta considerada uma das doenças foliares mais severas dessa cultura. Neste trabalho, procurou-se confirmar o modo de herança da resistência ao míldio (*B. lactucae*), isolado MGLA-01, a partir de cruzamentos entre materiais contrastantes para este caráter, no intuito de selecionar genótipos resistentes e mais adaptados às condições edafoclimáticas do sul de Minas Gerais. Utilizaram-se, na hibridação, dois genitores contrastantes, a linhagem resistente a *B. lactucae* AFL-008 e a cultivar suscetível Salinas 88, ambas do tipo americana. O ensaio foi conduzido em câmara de germinação tipo BOD e em casa de vegetação, sendo os testes de resistência realizados em caixas gerbox, sobre papel mata-borrão umedecido com água destilada. Quinze dias após a semeadura foi feita a inoculação nos genitores paterno e materno, na geração F<sub>1</sub>, na população F<sub>2</sub> e em testemunha resistente, utilizando-se como inóculo os esporângios lavados de tecidos infectados na concentração de 1x10<sup>5</sup> esporângios.mL<sup>-1</sup>. A avaliação para resistência ao míldio foi realizada 15 dias após a inoculação, verificando-se a presença ou não de sintoma e esporulação em cada plântula. Foi feita uma análise de variância para testar os dados obtidos. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com três repetições. Para análise dos dados, a variável resposta utilizada foi o número de plantas sadias. Para o estudo de herança, foi realizado o teste de significância qui-quadrado ( $\chi^2$ ) na população F<sub>2</sub>. No controle genético da resistência a *Bremia lactucae* Regel, agente etiológico do míldio da alface, o gene apresenta interação alélica de dominância, com dominância do alelo que confere resistência.

**Palavras-chave:** *Lactuca sativa* L., *Bremia lactucae* Regel, Melhoramento de plantas.

## 2 ABSTRACT

The Brazil has an area planted with lettuce (*Lactuca sativa* L.) of approximately 30,000 hectares. The types of lettuce grown now, has stood out iceberg lettuce. South of Minas Gerais has been outstanding in the production of lettuce, becoming a major producer of this type of vegetable. The lettuce downy mildew occurs in all regions of the world where lettuce is grown, which is considered one of the most severe foliar disease of lettuce. In this study we sought to confirm the mode of inheritance of resistance to downy mildew (*B. lactucae*) isolated "AMF-01, derived from crosses between contrasting materials for this character, in order to select genotypes resistant and better adapted to soil and climatic conditions South of Minas Gerais. It was used in the hybridization two contrasting parents, the resistant strain *B. lactucae* AFL-008 and the susceptible cultivar Salinas 88, both from American Type. The trial was conducted in a germination chamber type "B.O.D.", and in the greenhouse, and resistance tests performed on gerbox paper kills Blot dampened with distilled water. Fifteen days after inoculation were sown in the maternal and paternal parents, the F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and population control in tough, using as inoculums the sporangia washed from infected tissues at a concentration of 1x10<sup>5</sup> sporangium.mL<sup>-1</sup>. Evaluation for resistance to downy mildew was recorded 15 days after inoculation, verifying the presence or absence of symptoms and sporulation of each seedling. Was made an analysis of variance to test the data. The experimental design was completely randomized design with three replications. For data analysis, the response variable used was the number of healthy plants. For the study of inheritance, we performed the significance test Chi-square ( $\chi^2$ ) in the F<sub>2</sub> segregating population. In genetic control of resistance to *Bremia lactucae* Regel, the causal agent of lettuce downy mildew, the gene shows allelic interaction of dominance, with dominant allele conferring resistance.

**Key words:** *Lactuca sativa* L., *Bremia lactucae* Regel, Plant breeding.

### 3 INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta área de cerca de 30.000 hectares plantada com a cultura da alface (*Lactuca sativa* L.) e sua produção anual gira em torno de 2 milhões de toneladas (Yuri et al., 2002). Entre os tipos de alface cultivados atualmente, tem-se destacado a alface americana. No ano de 2007, foram comercializadas, no CEAGESP, aproximadamente 21.587 toneladas de alface e, desse montante, 29,6% foram representadas pela alface americana (Agrianual, 2008). Esse destaque deve-se, principalmente, às características apresentadas por esse grupo.

A alface tipo americana se diferencia dos demais tipos de alface por apresentar folhas externas de coloração verde-escura, folhas internas de coloração amarela ou branca, imbricadas e crocantes, semelhantes à do repolho (Yuri, 2000). A alface tipo americana apresenta também maior vida pós-colheita, possibilitando o transporte a longas distâncias sem grandes perdas de qualidade (Decoteau et al., 1995).

O sul de Minas Gerais tem se sobressaído na produção de alface americana destinada às redes de “fast-foods”, tornando-se polo produtor desse tipo de hortaliça, com, cerca de 1.000 toneladas brutas produzidas por mês (Mota et al., 2003; Yuri et al., 2004).

Por se tratar de uma olerícola de inverno, o seu cultivo em outras épocas do ano, nas condições da região, favorece o surgimento de alguns problemas, tais como maior incidência de doenças e desequilíbrios nutricionais, principalmente se as condições climáticas forem chuvosas e com elevadas temperaturas. Até o momento, o maior desafio tem sido selecionar cultivares produtivas e com maior adaptação às condições de cultivo no Brasil e, particularmente, do sul de Minas Gerais. Nessas condições, problemas como

incidência de nematoides das galhas, LMV e míldio têm acarretado perdas significativas nos campos de produção de alface (Yuri et al., 2004).

A cultivar ‘Salinas 88’, amplamente cultivada no mundo, é formada por um genótipo estável, tendo alelos favoráveis para resistência a doenças de grande importância, como o *lettuce mosaic virus* (LMV), apresentando também um nível elevado de resistência ao *tip burn* (desordem fisiológica), tornando-a, a primeira de uma série de cultivares que incorporaram vários genes de resistência a doenças e insetos (Ryder, 1991).

A ‘Salinas 88’ tem suscetibilidade ao míldio (*Bremia lactucae* Regel), com genes de resistência para o grupo I e suscetibilidade aos grupos II e III, sendo esses dois últimos grupos, os mais encontrados na América do Norte e nos países da Europa (Ryder, 1991).

Gomes et al. (2002); Maluf et al. (2003) e Carvalho Filho et al. (2008), avaliando cultivares de alface quanto à resistência a nematoides das galhas, verificaram que a cultivar Salinas 88, apresentou resistência a *Meloidogyne incognita* e a *Meloidogyne javanica*. Apesar de, no Brasil, esta cultivar não formar cabeça de qualidade, pode se tornar, no entanto, um material com importantes fontes de resistência para serem utilizadas em programas de melhoramento da alface.

A alface americana apresenta desenvolvimento ideal quando a temperatura está entre 15,5° e 18,3°C (Yuri et al., 2004). Devido à sua exigência por temperaturas amenas para produção, no Brasil, as regiões de clima frio são as mais indicadas. Esta exigência por temperaturas mais baixas propicia a infestação dos campos de alface americana pelo patógeno *B. lactucae*, causador do míldio da alface.

Em relação ao míldio da alface, os sintomas cloróticos e necróticos causam redução da área fotossintética e da qualidade das plantas, que podem causar danos significativos na colheita e na pós-colheita, pelo fato de atingir



diretamente a folha (parte comercializada). Elevados níveis de infecção de *B. lactucae* tornam a planta de alface imprópria para comercialização (Bruggen & Scherm, 1997).

O controle do míldio da alface é feito, principalmente, por meio uso de cultivares resistentes. Com um grande avanço nas pesquisas de cultivares de alfaces resistentes a este patógeno, o uso de defensivos agrícolas específicos para este fungo vem sendo gradativamente reduzido. Existem vários relatos de raças do patógeno *B. lactucae* resistentes aos fungicidas (grupo fenilamidas) utilizados atualmente, podendo tornar o controle da doença ineficiente e causando, assim, grandes prejuízos econômicos aos produtores de alface (Wicks et al., 1994).

Neste trabalho, procurou-se confirmar o modo de herança da resistência ao míldio (*B. lactucae*), isolado MGLA-01, a partir de cruzamento entre materiais contrastantes para este caráter, no intuito de selecionar genótipos resistentes, mais adaptados às condições edafoclimáticas do sul de Minas Gerais.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Condução do programa de melhoramento

O experimento foi conduzido no Departamento de Agricultura e no Laboratório de Nematologia, no Departamento de Fitopatologia, da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG.

Inicialmente foi feita a hibridação, sendo os cruzamentos feitos manualmente, pela manhã, antes da abertura do botão floral, utilizando-se o método de despolinização por jato d'água (Nagai, 1980). Sementes F<sub>1</sub> provenientes desses cruzamentos foram semeadas para a obtenção da geração F<sub>2</sub> e a condução das populações segregantes.

### 4.2 Materiais genéticos utilizados

- **Cultivar Salinas 88**: alface do tipo americana; resistente aos nematoides causadores das galhas (*Meloidogyne* spp.) (Gomes et al., 2002; Maluf et al., 2003; Carvalho Filho et al., 2008), apresenta também resistência ao *lettuce mosaic virus* (LMV) (Stangarlin, 1995; Oliveira, 2005) e suscetibilidade ao patógeno *B. lactucae*;
- **Linhagem 'ALF-008'**: linhagem de alface do tipo americana. Material originado de programas de melhoramento do professor Luiz Antonio Augusto Gomes (DAG/UFLA). É resistente ao fungo *B. lactucae*, agente etiológico do míldio da alface, suscetível aos nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) e ao LMV.

### 4.3 Obtenção, manutenção e multiplicação dos esporângios de *B. lactucae*

Os esporos do patógeno *B. lactucae* foram coletados, no inverno de 2008, em plantas de alface, no campo e em estufas de produção de mudas de

alface do Setor de Olericultura, no Departamento de Agricultura da UFLA, em Lavras, MG. As folhas que apresentavam sintomas da doença com esporulação visível foram colocadas em sacos plásticos, devidamente identificados e levados ao laboratório do Departamento de Fitopatologia da mesma universidade. O isolado obtido foi inoculado em plântulas da cultivar americana suscetível Salinas 88 e da cultivar de folhas lisas suscetível Regina 71, semeadas em caixas gerbox sobre papel de germinação (mata-borrão). A inoculação dos esporângios de *B. lactucae* foi feita de acordo com a técnica de Ilott et al. (1987), utilizando-se esporângios lavados de tecidos infestados do hospedeiro e agitados em água destilada. Os esporângios foram suspensos em água destilada, na concentração de  $1 \times 10^5$  esporângios/mL e pulverizado nas plântulas até o ponto de escorrimento. Após a inoculação, as plântulas foram recolocadas em câmaras de germinação tipo BOD (ANEXO 1, Figura 1B), à temperatura de 13°C e umidade relativa (UR) acima de 80%. Nas seis primeiras horas, as plântulas foram deixadas em câmara escura e, após este tempo, o fotoperíodo foi reajustado para 12 horas. Esse procedimento foi realizado para manutenção e propagação do patógeno *B. lactucae*, para a posterior utilização deste inóculo nas avaliações de genótipos de alface. A coleta dos esporângios foi feita com o dobro de dias de período latente do fungo, que normalmente é de 7 dias, portanto, os esporângios foram coletados aos 14 dias após a inoculação. Devido ao fato de o fungo *B. lactucae* ser um organismo biotrófico obrigatório, ou seja, só é possível sua sobrevivência em hospedeiro vivo, o ciclo de manutenção e propagação descrito foi realizado inúmeras vezes, para a multiplicação dos esporângios, até a obtenção da concentração necessária para a realização dos testes de resistência. Foi criado um banco de esporos no Laboratório de Fitopatologia, para garantir o armazenamento de amostras do isolado coletado em Lavras, MG, denominado, para fins de pesquisa, MGLA-01. Estas amostras foram seladas em caixas de cultura e armazenadas, a -20°C (Michelmore et al., 1984). Periodicamente, os

esporângios armazenados do isolado MGLA-01 de *B. lactucae* foram inoculadas em plântulas de alface de cultivares suscetíveis, para a avaliação e a manutenção da viabilidade dos esporos, podendo-se, assim também, ser monitorada a capacidade infectiva dos esporos após a criarmazenagem.

#### **4.4 Obtenção da geração F<sub>1</sub> ('ALF-008' x 'Salinas 88')**

A geração F<sub>1</sub> foi obtida a partir do cruzamento entre a linhagem americana ALF-008, a qual possui o gene Dm de resistência ao mildio, e a cultivar americana Salinas 88. Foram semeadas 64 sementes de cada genitor, em caixas plásticas, seguindo-se um esquema em que, durante quatro semanas, ambos os materiais foram semeados. Com este esquema, buscou-se maior coincidência de florescimento entre as plantas dos dois genitores. Após a germinação, as plântulas foram repicadas para bandejas de isopor de 128 células, com substrato comercial. Após um período de 21 dias, 5 mudas de cada cultivar foram transplantadas para vasos de 10 L, contendo substrato à base de terra de subsolo, areia, húmus e adubo químico. Os vasos foram colocados e mantidos em estufa. No florescimento foram feitos os cruzamentos entre as duas cultivares, utilizando-se a linhagem ALF-008 como genitor masculino. Os botões florais da cultivar Salinas 88, ao sofrerem a antese, foram emasculados, de acordo com a técnica de despolinização por jato d'água, que consiste em utilizar uma lâmina afiada e cortar o terço superior de cada botão antes do nascer do sol, retirando-se, assim, as anteras das flores da planta receptora. Em seguida, aguardou-se o desenvolvimento do estigma até a sua exposição. Nesse momento foi possível, com um jato de água esguichada por meio de uma pisceta, eliminar os grãos de pólen que eventualmente estivessem impregnados no estigma floral. A partir daí, aguardou-se mais algum tempo, até o completo desenvolvimento do estigma, que se torna bífido e totalmente receptivo, procedendo-se, então, à polinização cruzada. Flores completamente abertas coletadas na linhagem

doadora de pólen foram, então, esfregadas em cada botão floral emasculado da planta receptora. Cada botão floral polinizado foi identificado. Após o desenvolvimento e o amadurecimento das sementes na cultivar materna Salinas 88, foram colhidas aquelas cujas flores estavam identificadas. Estas sementes foram identificadas como  $F_1$  ('ALF-008' x 'Salinas 88'), sendo limpas, embaladas em saco de papel, identificadas e armazenadas em câmara fria.

#### **4.5 Obtenção da população $F_2$**

As sementes  $F_1$  ('ALF-008' x 'Salinas 88') foram semeadas em caixas plásticas (em torno de 50 sementes). Após a germinação, foram repicadas para bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial. Após um período de aproximadamente 21 dias, 3 mudas foram transplantadas para vasos de 10 L, contendo substrato à base de terra de subsolo, areia, húmus e adubo químico. Os vasos foram colocados em casa de vegetação e as plantas, conduzidas de acordo com as práticas culturais vigentes para essa espécie até a formação e o amadurecimento das sementes. As sementes  $F_2$  obtidas da autofecundação foram colhidas por ocasião do amadurecimento completo.

#### **4.6 Avaliação dos parentais, da geração $F_1$ e da população $F_2$**

Foram semeadas 1.200 sementes  $F_2$  ('ALF-008' x 'Salinas 88'), 120 sementes do parental materno suscetível ('Salinas 88'), 120 sementes do parental masculino resistente ('ALF-008'), 80 sementes da geração  $F_1$  ('ALF-008' x 'Salinas 88') e 80 sementes da cultivar 'Colorado' (testemunha resistente, portadora do gene Dm 18), em caixas de plástico transparente tipo 'gerbox' (11 X 11 X 2 cm), sobre papel de germinação (mata-borrão) umedecido com água destilada. Todo esse processo foi realizado sob câmara de fluxo laminar, para evitar contaminação por agentes externos, e estas caixas gerbox contendo as sementes foram colocadas em câmaras de germinação tipo BOD, à temperatura

constante de 20°C e fotoperíodo de 10 horas. Quinze dias após a semeadura, foi feita a inoculação das plântulas de alface, estas com os cotilédones completamente expandidos, utilizando esporângios do míldio (*B. lactucae*), de acordo com a técnica descrita por Ilott et al. (1987), citada anteriormente. Para a contagem do número de esporângios realizada em microscópio óptico, foi colocado em um hemacitômetro (câmara de Neubauer) 1 µL da suspensão de esporângios previamente homogeneizada. Logo após, ajustou-se a concentração para  $1 \times 10^5$  esporângios/mL. As avaliações para resistência ao míldio foram feitas quinze dias após a inoculação, sendo cada plântula avaliada individualmente, verificando-se a presença ou não de sintomas e esporulação. Para o estudo de herança, foi realizado o teste de significância qui-quadrado ( $\chi^2$ ) na população  $F_2$ , em que se testou a Hipótese  $H_0$  formulada, segundo a qual a “segregação gênica desse caráter é de 3:1, ou seja, a ação gênica é dominante”. A expressão para o teste de significância qui-quadrado ( $\chi^2$ ) foi (Ramalho et al., 2000):

$$\chi^2 = \sum [(FO - FE) / FE]$$

onde:

FO: frequência observada na população segregante;

FE: frequência esperada na população segregante.

Foi feita uma análise de variância para testar os dados obtidos. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com três repetições. A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa SISVAR® (Ferreira, 2000). Para análise dos dados, a variável resposta utilizada foi o número de plantas sadias, sendo as médias comparadas pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância evidenciou diferenças significativas ( $P \leq 0,05$ ) quanto à reação de resistência ao míldio (*B. lactucae*) entre as gerações estudadas (Tabela 1).

TABELA 1 Resumo da análise de variância, referente à característica de resistência ao patógeno *Bremia lactucae* Regel, em plântulas de ‘Colorado’, ‘Salinas 88’, ‘ALF-008’, progênies F<sub>1</sub> e população F<sub>2</sub>.

F.V	G.L	QM
		Plântulas sadias
Tratamentos	4	5625,493227 *
Resíduo	10	0,468347
Total	14	
CV(%)		0,91
Média geral		74, 82

\* Significativos, a 5% probabilidade, pelo teste F.

Observa-se, pelos dados da Tabela 1, que o coeficiente de variação experimental (CV) na análise de variância foi baixo, apresentando assim, um erro estimado pequeno, comprovando a eficiência dos métodos utilizados neste estudo. A eficiência da procura por linhagens resistentes a patógenos em um programa de melhoramento de plantas depende da precisão com que as avaliações são realizadas, essa precisão experimental pode ser avaliada por alguns procedimentos específicos e um dos mais utilizado é a estimativa do coeficiente de variação experimental (Ramalho et al., 2000).

A porcentagem das médias de plântulas sadias da cultivar ‘Colorado’ (testemunha resistente, de gene *Dm18*), da linhagem ‘ALF-008’ (genitor masculino resistente) e da geração F<sub>1</sub> (‘ALF-008’ x ‘Salinas 88’) foi superior à

dos demais genótipos, conforme o teste de médias de Scott-Knott – 5% (Tabela 2), atingindo um total de 100% de plântulas desprovidas de sintomas e esporulação (plântulas sadias) demonstrando a resistência destes materiais ao míldio. Para a cultivar ‘Salinas 88’ (genitor feminino suscetível) observou-se que não houve plântulas sadias, evidenciando a alta suscetibilidade desse genótipo ao míldio.

TABELA 2 Médias de plântulas sadias (%), dos genitores, das progênes e da testemunha, em genótipos de alface avaliados para resistência ao isolado MGLA-01 do fungo *Bremia lactucae* Regel.

<b>Famílias</b>	<b>Genótipos</b>	<b>% plântulas sadias</b>
P1	‘Salinas 88’	0,0 c
P2	‘ALF-008’	100,0 a
F1	‘ALF-008’x ‘Salinas 88’	100,0 a
F2	‘ALF-008’x ‘Salinas 88’	74,09 b
Testemunha	Colorado (Gene <i>Dm</i> 18)	100,0 a

\* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

É interessante salientar que geração F<sub>2</sub> manteve uma porcentagem média de 74,09% de plântulas sadias, evidenciando a ocorrência de segregação e confirmando o sucesso dos cruzamentos entre o genitor resistente e suscetível. O desvio amostral de menos de 1%, foi devido ao acaso, sendo assim não significativo, ou seja, o resíduo é, na realidade, a causa do desvio observado. Dalpian (2005), em um experimento de melhoramento de alface para resistência ao patógeno *B. lactucae*, utilizando como genitores as cultivares de alface crespa Colorado (resistente) e Hortêncina (suscetível), obteve resultados positivos na seleção de famílias homozigóticas resistentes para esse caráter.

Observa-se, pelos dados da Tabela 3, que os genitores utilizados ‘Salinas 88’ e ‘ALF-008’ confirmaram sua reação de resistência ou suscetibilidade obtida em avaliações prévias. A linhagem testemunha ‘Colorado’, portadora do gene



Dm 18 também confirmou sua reação de resistência, em todos os experimentos avaliados, semelhantes a resultados obtidos por Dalpian, (2005).

A obtenção de 100% de plantas sadias na geração F<sub>1</sub> ('ALF-008' x 'Salinas 88') e de 74,09% de plantas sadias na geração F<sub>2</sub> ('ALF-008' x 'Salinas 88') indica a possibilidade de o controle genético ser devido a um único gene com efeito de dominância completa, conforme a proporção de plantas resistentes e suscetíveis esperadas para esta geração (proporção de 3:1). Ao se fazer o teste de chi-quadrado ( $\chi^2$ ) verifica-se que de fato, os valores esperados se ajustam aos valores obtidos, considerando a hipótese de herança monogênica e controle de dominância completa (Tabela 3). O modelo utilizado nas estimativas dos componentes de variância foi suficiente para explicar toda a variação observada. As estimativas do teste de significância com 1 Gl ( $\chi^2_{\text{calc}} = 0,277$ ) situaram-se entre os níveis de 60 e 70% de probabilidade de que os desvios ocorridos sejam devidos ao acaso, não sendo significativos (Anexo B, Tabela 1B).

TABELA 3 Segregação para reação ao patógeno *Bremia lactucae* Regel, em progênies F<sub>2</sub> e a reação de resistência nos genitores, geração F<sub>1</sub> e na testemunha resistente.

Famílias	% plântulas resistentes	Plântulas susceptíveis (+)	Plântulas resistentes (-)	$\chi^2_{3:1}$	P
P <sub>1</sub> ('Salinas 88')	0,0	104	0		
P <sub>2</sub> ('ALF-008')	100,0	0	117		
F <sub>1</sub> ('ALF-008' x 'Salinas 88')	100,0	0	79		
F <sub>2</sub> ('ALF-008' x 'Salinas 88')	74,1	204	808	0,277	0,6 -0,7
Colorado (Testemunha)	100,00	0	77		

\*Teste qui-quadrado, a 5% de probabilidade.

Esses resultados indicam que a herança da resistência é controlada por um loco com dois alelos e presença de dominância do alelo que confere

resistência sobre o alelo que confere suscetibilidade. Esse resultado de segregação é coerente com os obtidos com relação às estimativas dos componentes de variância, que evidenciaram a presença de dominância na manifestação do caráter.

Resultados de segregação semelhantes a esses foram encontrados por Dalpian (2005), utilizando a raça SPBI-01 de *B. lactucae*, sendo esse o comportamento predominante no estudo de raças desse fungo realizado no Brasil, o qual é descrito pelo sistema de Código Sextet's, proposto por Van Ettehoven & Van Der Arend (1999). Os resultados de controle genético encontrados neste trabalho corroboram resultados obtidos por Zink (1973), Crute & Johnson (1976), Johnson et al. (1977, 1978), Norwood & Crute (1980), Michelmores & Ingram (1980, 1982) e Crute & Lebeda (1981, 1983). Estes autores utilizaram outras raças desse fungo, em trabalhos envolvendo diferentes linhagens de alface em diferentes partes do mundo. Contudo, em linhagens americanas, que são semelhantes às utilizadas no presente trabalho, autores como Norwood et al. (1983), Michelmores et al. (1983, 1984) e Norwood & Crute (1984) evidenciaram também a existência de controle poligênico para a resistência a esse fungo. Dalpian (2005) constatou que no controle genético da alface para os comportamentos de *B. lactucae* encontrados nos campos de produção de alface no Brasil estão envolvidos diferentes genes Dm, com o alelo dominante sendo o responsável pela resistência, para todos os comportamentos estudados.

Segundo Crute e & Lebeda (1981) a resistência do gene Dm é controlada por um único alelo dominante que é acompanhado por genes de avirulência no gênero *Bremia*, em uma relação de interação gene-a-gene, ou seja, para a especificidade de raças, essas interações gene-a-gene já foram demonstradas em uma ampla variedade de doenças taxonômicas. As relações de interação gene-a-gene resultam numa interação incompatível entre o patógeno e a planta,

associado com uma resposta de hipersensibilidade do hospedeiro (Crute & Johnson, 1976). A compatibilidade e a incompatibilidade de doenças de plantas, no entanto, são consequência de complexas interações entre o hospedeiro e o parasita; pouco se sabe sobre as bases genéticas ou moleculares dessas interações e a identificação molecular de um gene de resistência é problemático (Crute & Lebeda, 1981). Dentre diversos os motivos para a difícil identificação molecular de genes de resistência, estão os problemas relacionados à restrição de laboratórios especializados e pelas técnicas e metodologias disponíveis ainda estarem em fase de desenvolvimento e aperfeiçoamento (Jeuken et al., 2008).

A utilização da linhagem 'ALF-008' em programas de melhoramento de alface voltados para as condições brasileiras pode ser viável, em vista da resistência à raça MGLA-01, coletada em Lavras, no sul de Minas Gerais, apresentar-se de forma semelhante à cultivar Colorado (gene Dm 18), demonstrando também ser um único gene com efeito de dominância completa.

## 6 CONCLUSÕES

No controle genético da resistência a *Bremia lactucae* Regel, agente etiológico do míldio da alface, o gene apresenta interação alélica de dominância.

No controle da resistência estão presentes um ou poucos genes estreitamente ligados, com dominância completa do alelo que confere resistência.

As plantas da população F<sub>2</sub> selecionadas são resistentes ao fungo *Bremia lactucae*, isolado denominado MGLA-01 e podem ser avançadas no processo de seleção para esse caráter. As sementes de cada família F<sub>2:3</sub> a serem colhidas poderão ser utilizadas na seleção para a obtenção de linhagens de alface americana resistentes ao míldio.

## **7 AGRADECIMENTOS**

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq), à UFLA, à FAEPE e à Hortiagro Sementes Ltda.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA. São Paulo: Instituto FNP, 2008. 502 p.

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

CARVALHO FILHO, J. L. S. **Controle Genético da resistência a Meloidogyne incógnita nas cultivares de alface Grand rapids e Salinas 88**. 2008. 39 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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

CRUTE, I. R.; LEBEDA, A. Evidence for a race-specific resistance factor in some lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivars previously considered to be universally susceptible to *Bremia lactucae* Regel. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 60, n. 3, p. 185-189, May 1981.

CRUTE, I. R.; LEBEDA, A. Two new specific resistance factors to *Bremia lactucae* identified in cultivars of lettuce. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 102, p. 128-129, 1983.

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

DECOTEAU, D. R.; RANWALA, D.; MCMAHON, M. J.; WILSON, S. B. **The lettuce growing handbook**: botany, field procedures, growing problems, and postharvest handling. Illinois: Oak, 1995. 60 p.

ETTEKOVEN, K.; AREND, A. van der. Identification and denomination of new races of *Bremia lactucae*. In: EUCARPIA MEETING ON LEAFY VEGETABLES GENETICS AND BREEDING, 1999, Olomuc. **Proceedings...** Olomouc: IBEB, 1999. p. 105-107.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; AZEVEDO, S. M.; FREITAS, J. A.; LICURSI, V. Reação de cultivares de alface à infecção por *Meloidogyne javanica*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 1, p. 99, maio 2002.

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

JOHNSON, A. G.; CRUTE, I. R.; GORDON, P. L. The genetics of race specific resistance in lettuce (*Lactuca sativa*) to downy mildew (*Bremia lactucae*). **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 86, n. 1, p. 257-264, May 1977.

JOHNSON, A. G.; LAXTON, S. A.; CRUTE, I. R.; GORDON, P. L. L.; NORWOOD, J. M. Further work on the genetics of race specific resistance in lettuce (*Lactuca sativa*) to downy mildew (*Bremia lactucae*). **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 89, n. 2, p. 257-264, July 1978.

MALUF, L. E. J.; OKADA, A. T.; GOMES, L. A. A.; FIORINI, C. V. A.; MALUF, W. R.; LICURSI, V. Reação de cultivares de alface a *Meloidogyne incognita*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 359, abr. 2003.

MICHELMORE, R. W.; CRUTE, I. R. A method for determining the virulence phenotype of *Bremia lactucae* isolates. **Transactions**. British Mycological Society, Cambridge, v. 79, n. 3, p. 542-546, 1982.

MICHELMORE, R. W.; INGRAM, D. S. Heterothallism in *Bremia lactucae*. **Transactions**. British Mycological Society, Cambridge, v. 75, n. 1, p. 47-56, 1980.

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

MICHELMORE, R. W.; NORWOOD, J. M.; INGRAM, D. S.; CRUTE, I. R.; NICHOLSON, P. Further studies on the inheritance of virulence in *Bremia lactucae*: specific virulence to match resistance factors 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 and 11 in lettuce (*Lactuca sativa*). **Plant Pathology**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 301-317, Sept. 1984.

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

MOTA, J. H.; YURI, J. E.; FREITAS, S. A.C.; RODRIGUES JUNIOR, J. C.; RESENDE, G. M.; SOUZA, R. J. Avaliação de cultivares de alface americana durante o verão em Santana da Vargem, MG. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 234-237, abr./jun. 2003.

NAGAI, H. Obtenção de novos cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.) resistente ao mosaico e ao calor: Brasil-303 e 311. **Revista de Olericultura**, Campinas, v. 18, p. 14-21, jun. 1980.

NORWOOD, J. M.; CRUTE, I. R. The genetic control and expression of specificity avirulence in *Bremia lactucae* (lettuce downy mildew). **Plant Pathology**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 385-401, Sept. 1984.

NORWOOD, J. M.; CRUTE, I. R. Linkage between genes for resistance to downy mildew (*Bremia lactucae*) in lettuce. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 194, n. 1, p. 127-135, Jan. 1980.

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

OLIVEIRA, F. A.; FIGUEIRA, A. R.; ZERBINI JUNIOR, F. M.; BOARI, A. J. Identificação e caracterização de um isolado do vírus do mosaico da alface (Lettuce mosaic vírus – LMV). **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 297-304, out. 2005.



RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. Lavras: Ed. UFLA, 2000. 360 p.

RYDER, E. J. Salinas 88' lettuce. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 4, p. 439-440, Apr. 1991.

STANGARLIN, O. S. **Identificação dos vírus causadores de mosaico em cultivares de alface resistentes ao LMV nas regiões produtoras do Estado de São Paulo**. 1995. 72 p. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu.

WICKS, T. G.; HALL, B.; PEZZANITI, P. Fungicidal control of metalaxil-insensitive strains of *Bremia lactucae* on lettuce. **Crop Protection**, Oxford, v. 13, n. 8, p. 617-623, 1994.

YURI, J. E. **Avaliação de cultivares de alface americana em duas épocas de plantio e dois locais do sul de Minas Gerais**. 2000. 51 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

YURI, J. E.; MOTA, J. H.; SOUZA, R. J. de; RESENDE, G. M. de; FREITAS, S. A. C.; RODRIGUES JÚNIOR, J. C. **Alface americana**: cultivo comercial. Lavras: Ed. UFLA, 2002. 51 p.

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

ZINK, F. W. Inheritance of resistance to downy mildew (*Bremia lactucae* Reg.) in lettuce. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 98, p. 293-296, May 1973.

## ANEXOS

ANEXO A		Página
FIGURA 1A	Ausência de sintomas e esporulação nas plântulas da cultivar resistente Colorado, inoculadas com míldio.....	62
FIGURA 2A	Clorose, necrose e esporulação em plântulas da cultivar suscetível Salinas 88, inoculadas com míldio.....	62
ANEXO B		
FIGURA 1B	Câmara de germinação tipo BOD, com controladores de temperatura, fotoperíodo e umidade.....	63
TABELA 1B	Frequência observada, esperada e desvio de cada fenótipo na geração F <sub>2</sub> , relativos ao estudo de herança da resistência ao patógeno <i>Bremia lactucae</i> em plântulas de alface.....	63



FIGURA 1A Ausência de sintomas e esporulação nas plântulas da cultivar resistente Colorado, inoculadas com míldio.



FIGURA 2A Clorose, necrose e esporulação em plântulas da cultivar suscetível Salinas 88, inoculadas com míldio.



FIGURA 1B Câmara de germinação tipo BOD, com controladores de temperatura, fotoperíodo e umidade.

TABELA 1B Frequência observada, esperada e desvio de cada fenótipo na geração  $F_2$ , relativos ao estudo de herança da resistência ao patógeno *Bremia lactucae* em plântulas de alface.

Fenótipo $F_2$	FO	FE	Desvio	Desvio <sup>2</sup>	$\chi^2 = \text{Desvio}^2/\text{FE}$
Resistente	804	811,5	-7,5	56,25	0,069
Suscetível	278	270,5	7,5	56,25	0,208

\* Teste qui-quadrado, a 5% de probabilidade.

$\chi^2_{\text{calc}} = 0,277$ ;  $\chi^2_{\text{tab } 0,05} = 3,84$

\*\* HIPÓTESE  $H_0$ : a segregação é de 3:1, ou seja, a ação gênica é dominante.

Com 1 Gl, o valor de  $\chi^2$  calculado de 0,277, situa-se entre os níveis de 60 e 70% de probabilidade de que os desvios seja derivados ao acaso. Indicando que a herança da resistência é controlada por um loco com dois alelos e presença de dominância do alelo que confere resistência sobre o alelo que confere suscetibilidade. Os desvios são não significativos, aceita-se a hipótese  $H_0$  formulada, o erro amostral é, na realidade, a causa dos desvios observados.