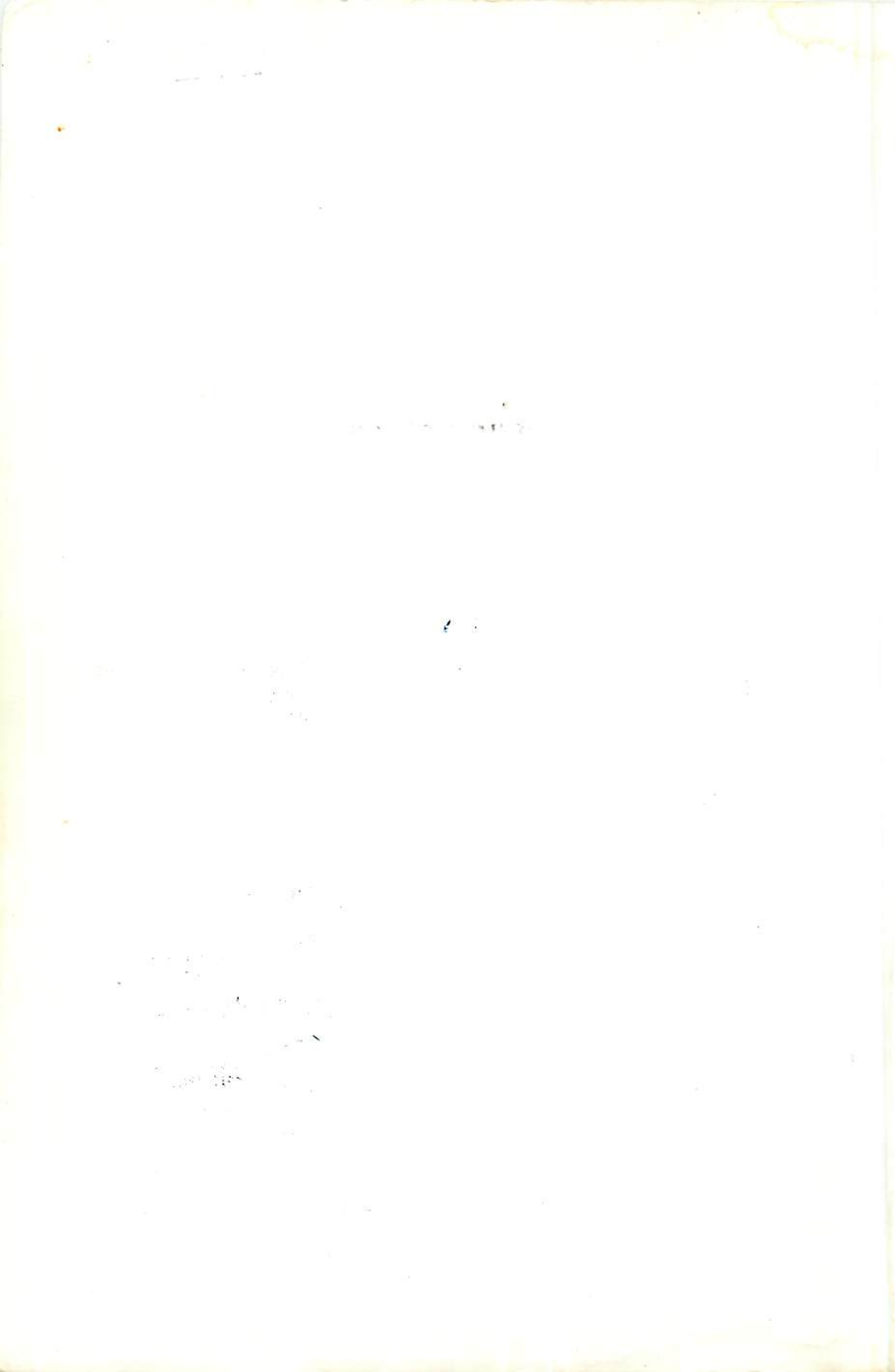


**HERANÇA DA RESISTÊNCIA DA ALFACE  
(*Lactuca sativa* L.) cv. GRAND RAPIDS AO  
NEMATÓIDE DE GALHAS  
*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White)  
Chitwood**

**LUIZ ANTONIO AUGUSTO GOMES**



46459

13241MFN

LUIZ ANTONIO AUGUSTO GOMES

**HERANÇA DA RESISTÊNCIA DA ALFACE (*Lactuca sativa* L.) cv.**

**GRAND RAPIDS AO NEMATÓIDE DE GALHAS**

***Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood**

*Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de "Doutor".*

Orientador:

Prof. Dr. Wilson Roberto Maluf

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL



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

Gomes, Luiz Antonio Augusto

Herança da resistência da alface (*Lactuca sativa* L) cv. Grand Rapids ao  
Nematóide de galhas *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood / Luiz  
Antonio Augusto Gomes. – Lavras : UFLA, 1999.

70 p. : il.

Orientador: Wilson Roberto Maluf.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Alface - *Lactuca sativa*. 2. *Meloidogyne incognita*. 3. Melhoramento. 4.  
Resistência. 5. Herança. 6. Nematóide. I. Universidade Federal de Lavras. II.  
Título.

CDD-635.523

-635.5295767

LUIZ ANTONIO AUGUSTO GOMES

**HERANÇA DA RESISTÊNCIA DA ALFACE (*Lactuca sativa* L.) cv.  
GRAND RAPIDS AO NEMATÓIDE DE GALHAS  
*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood**

*Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de "Doutor".*

Aprovada em: 05 de março de 1999.

Prof. Dr. Fernando César Juliatti

UFU

Pesquisador Dr. Emani Clarete da Silva

Bolsista FAPEMIG

Prof. Dr. Vicente Paulo Campos

UFLA

Prof. Dr<sup>a</sup>. Elaine Aparecida de Souza

UFLA



Prof. Dr. Wilson Roberto Maluf

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS – BRASIL

À meus pais Alarico e Selvita,

Ofereço

À minha esposa Rosânia,  
À meus filhos Marcos,  
Matheus, Júlia e Daniela,

Pelo carinho e amizade

Dedico

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo caminho que me tem permitido percorrer.

A Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao Departamento de Biologia e à Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela oportunidade e viabilização do suporte financeiro para realização do curso.

Ao Prof. Dr. Wilson Roberto Maluf pela amizade, confiança e apoio em diversos momentos difíceis e, também, pela presteza e boa vontade em orientar, ensinar e corrigir rumos.

Aos professores do Departamento de Biologia pelos ensinamentos recebidos durante o curso.

Aos colegas da HortiAgro, Paulo Moretto e Vicente Licursi, pela colaboração em todas etapas do nosso trabalho e pela convivência diária.

Ao Prof. Dr. Vicente Paulo Campos e ao Cleber, pela cessão do Laboratório de Nematologia e orientação na realização das análises laboratoriais.

A todos os colegas e amigos, aos pós graduandos Fausto de Sousa Sobrinho, Sebastião Márcio, Walter Pitta e Walter Carvalho. A todos orientados da equipe do Prof. Maluf, especialmente, Fabrício, Valdeir, Edvaldo, Túlio, Kleber, José Antonio e Márcia.

# SUMÁRIO

RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
1 INTRODUÇÃO .....	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	03
2.1 A cultura do alface (Melhoramento) .....	03
2.2 Biologia da reprodução .....	06
2.3 Os nematóides das galhas <i>Meloidogyne</i> spp e o ambiente .....	06
2.4 Resistência aos nematóides de galhas <i>Meloidogyne</i> spp. em espécies olerícolas .....	08
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	11
3.1 Material genético .....	11
3.2 Preparação do inóculo e metodologia de inoculação .....	12
3.2.1 Manutenção rotineira de isolados de <i>Meloidogyne</i> spp.....	12
3.2.2 Preparação do inóculo e sua inoculação em alface .....	14
3.3 Avaliação da reação de plantas de alface ao <i>Meloidogyne</i> spp.....	15
3.4 Ensaio preliminar da herança da resistência em alface ao <i>Meloidogyne incognita</i> raça 3 .....	17
3.4.1 Avaliações de plantas individuais nas gerações parentais e F <sub>2</sub> ....	17
3.4.1.1 Delineamento experimental e condições do experimento .....	17
3.4.1.2 Estimativa de parâmetros genéticos e fenotípicos .....	18
3.4.1.3 Distribuições de frequências e testes da hipótese de herança monogênica .....	19
3.5 Herança da resistência em alface a isolado da raça 1 de <i>Meloidogyne incognita</i> .....	21
3.5.1 Avaliações de plantas individuais nas gerações parentais, F <sub>1</sub> e F <sub>2</sub> .....	21
3.5.1.1 Delineamento experimental e condições do experimento .....	21
3.5.1.2 Estimativa de parâmetros genéticos .....	22
3.5.1.3 Distribuições de frequências e testes da hipótese de herança monogênica .....	24
3.6 Herança da resistência em alface, a mistura de isolados das raças 1, 2 e 4 de <i>Meloidogyne incognita</i> .....	25
3.6.1 Avaliações de plantas individuais nas gerações parentais e F <sub>2</sub> .....	25
3.6.1.1 Delineamento experimental e condições do experimento .....	25
3.6.1.2 Estimativa de parâmetros genéticos .....	26

3.6.1.3 Distribuições de frequências e testes da hipótese de herança monogênica .....	27
3.6.2 Avaliação de famílias F <sub>3</sub> e teste da hipótese de herança monogênica .....	27
3.7 Herança da resistência em alface ao <i>M. incognita</i> raça 3 .....	29
3.7.1 Avaliações de plantas individuais nas gerações parentais e F <sub>2</sub> ...	29
3.7.1.1 Delineamento experimental e condições do experimento .....	29
3.7.1.2 Estimativa de parâmetros genéticos .....	30
3.7.1.3 Distribuições de frequências e testes da hipótese de herança monogênica .....	30
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>31</b>
4.1 Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos .....	31
4.2 Testes da hipótese de herança monogênica da resistência da cultivar Grand Rapids de alface ao <i>M. incognita</i> nas gerações parentais F <sub>1</sub> e F <sub>2</sub> .....	39
4.3 Avaliação de famílias F <sub>3</sub> e teste da hipótese de herança monogênica .....	60
4.4 Considerações gerais .....	61
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>63</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>64</b>

## RESUMO

GOMES, Luiz Antonio Augusto. Herança da resistência da alface *Lactuca sativa* L. cv. Grand Rapids ao nematóide de galhas *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. Lavras: UFLA, 1999. 70p. (Tese – Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas)\*

Apesar da alface ser considerada como hospedeiro altamente susceptível tanto a *Meloidogyne incognita* como *M. javanica*, poucos estudos tem sido feitos no sentido de se conhecer e utilizar cultivares resistentes. Trabalhos recentes mostram que o cultivar de folhas crespas Grand Rapids, entre outros, apresenta alto nível de resistência. Este trabalho teve como objetivo estudar a herança da reação de resistência do cultivar Grand Rapids (P<sub>1</sub>) utilizado em cruzamento com o cultivar susceptível Regina 71 (P<sub>2</sub>). Sementes F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> obtidas a partir deste cruzamento tiveram suas plantas inoculadas juntamente com os parentais, com diferentes raças de *Meloidogyne incognita*. As estimativas de herdabilidade obtidas para as características avaliadas: n° de galhas, n° de massa de ovos e nota para tamanho de galha por sistema radicular, bem como índice de galhas, mostraram valores nunca inferiores a 0,5. A distribuição de frequência para estas variáveis em relação às gerações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>, foram semelhantes àquela esperada para uma característica cuja herança é monogênica. Famílias F<sub>3</sub> foram obtidas por amostragem a partir de plantas F<sub>2</sub> e também avaliadas para resistência a nematóide, sendo que a razão obtida entre as frequências de famílias homozigotas resistentes, segregantes e susceptíveis foi de 1:2:1, o que indica que a resistência a *M. incognita* é controlada por um único loco gênico. Para o alelo presente no cultivar Grand Rapids se propõe a denominação *Me*. Esse alelo é o responsável pela reação de resistência, tendo mostrado, pelas estimativas de grau médio de dominância, uma ação gênica predominantemente aditiva, podendo ter penetrância incompleta e expressividade variável.

---

\* Orientador: Wilson Roberto Maluf - UFLA

## ABSTRACT

GOMES, Luiz Antonio Augusto. **Inheritance of the lettuce cultivar 'Grand Rapids' resistance to the Southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood.** Lavras: UFLA, 70 p. (Thesis – Master Program in Genetics and Plant Breeding)\*

Resistance to the Southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita* Chitwood would be an important feature of lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivars adapted to both protected and field cultivation in tropical regions. 'Grand Rapids' and a few other cultivars are reported to be resistant to this nematode. In this paper, we studied the inheritance of the resistance reaction of 'Grand Rapids' (P<sub>2</sub>) in a cross with a standard nematode-susceptible cultivar Regina-71 (P<sub>1</sub>). F<sub>1</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) and F<sub>2</sub> seeds were obtained, and inoculated along with the parental cultivars with different races of *M. incognita* to evaluate nematode resistance. Broad sense heritability estimates for the number of galls and of eggmasses per root system, gall size and gall index were generally in the order of 0.5 or higher. Class distribution of these variables over generations P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> were in agreement with simulated theoretical distributions based on monogenic inheritance models. F<sub>3</sub> families were obtained from randomly sampled F<sub>2</sub> plants and tested for resistance reaction to the nematode. Frequency ratio of resistant homozygous, segregant and susceptible homozygous F<sub>3</sub> families did not differ from the 1:2:1 ratio expected from monogenic inheritance. *M. incognita* resistance appears to be under control of a single gene locus. The Grand Rapids allele (for which the symbol *Me* is proposed) is responsible for the resistance reaction, and shows high (though incomplete) penetrance, variable expressivity and predominantly additive gene action.

---

\* Major Professor: Wilson Roberto Maluf

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura da alface ocupa lugar de destaque entre as hortaliças folhosas mais cultivadas no Brasil. Nos últimos anos, a cultura vem passando por expressivas mudanças no que diz respeito aos sistemas de cultivo. A utilização de bandejas na produção de mudas, o uso de sementes peletizadas, o cultivo em ambiente protegido e a semeadura direta através de semeadeiras de precisão, vêm ganhando espaço em relação ao cultivo tradicional a partir de mudas transplantadas de canteiros.

Paralelamente, grandes avanços têm sido alcançados em relação ao melhoramento genético, o que tem permitido aos agricultores, a utilização de cultivares mais adaptadas, mais produtivas e com maior tolerância aos principais problemas que afetam à cultura. Nesse aspecto, pode-se destacar a tolerância ao LMV (*lettuce mosaic virus*) e a tolerância ao florescimento precoce, induzido pelo calor, entre outros.

Menor ênfase tem sido dada a outros problemas, como é o caso da ocorrência de nematóides das galhas (*Meloidogyne* spp). Apesar da alface ser classificada como hospedeiro altamente suscetível, tanto a *Meloidogyne incognita* como a *Meloidogyne javanica*, poucos estudos têm sido feitos no sentido de avaliar e dimensionar prejuízos causados por esses patógenos.

Campos (1985) verificou que cultivares de alface atacadas por nematóides ficam atrofiadas e amareladas, tomando-se impróprias à comercialização. Também Santos (1995) verificou redução no estande, altura de plantas, peso médio de folhas e homogeneidade de plantas cultivadas sob ambiente protegido, em solo infestado com *Meloidogyne javanica*.

A utilização de semeadura direta, na qual se expõe a cultura por mais tempo em contato com o solo, bem como o cultivo em ambiente protegido, onde

as condições favorecem ao desenvolvimento do patógeno, podem contribuir para que a ocorrência de nematóides seja um sério problema à cultura da alface.

Entre os métodos utilizados para a redução dos níveis populacionais do patógeno, no solo, o uso de fumigantes, o alqueive, o emprego de matéria orgânica e a rotação de culturas têm sido empregados largamente (Lordello, 1988). Contudo, a utilização de cultivares resistentes / tolerantes tem sido o método mais eficiente e econômico, no controle desse patógeno, em diversas culturas olerícolas, sendo também uma forma eficiente de reduzir o nível populacional do patógeno no solo, para que, posteriormente, possa ser implantada uma cultura suscetível.

Pouco se sabe a respeito de fontes de resistência em alface, não havendo disponível na literatura informações sobre o controle genético desse caráter, bem como sobre trabalhos de melhoramento, visando a obtenção de cultivares comerciais resistentes ao patógeno.

O presente trabalho teve como objetivo estudar a herança da resistência da alface ao nematóide de galhas, avaliando o potencial do cultivar Grand Rapids, como fonte de resistência à *Meloidogyne incognita* raças 1, 2, 3 e 4.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 A cultura da alface (Melhoramento)

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma planta herbácea, que apresenta durante sua fase vegetativa, um caule muito curto, onde se inserem as folhas. Após o ciclo vegetativo, ocorrendo estímulo do ambiente, a planta inicia a fase reprodutiva, emitindo uma haste floral, que atinge em torno de um metro de altura (Filgueira, 1982).

Com relação às folhas existe uma ampla variabilidade no que diz respeito ao seu comprimento, forma, cor, textura e tamanho. Também é variável a maneira como as folhas se dispõem na planta. Ryder (1986) classificou os diferentes cultivares de alface em três grupos distintos:

o primeiro constituído por plantas de folhas quebradiças, crespas, apresentando nervuras. As folhas se imbricam e formam uma cabeça. Grupo denominado “crisphead lettuce”, ou “iceberg lettuce”, ou ainda “alface americana”;

o segundo formado por cultivares cujas folhas têm as bordas lisas, aparência oleosa e coloração verde clara. É denominado “butterhead lettuce”, ou “alface manteiga”. Também forma cabeça;

o último grupo é representado por cultivares que têm folhas soltas não formando cabeça, mas rosetas de folhas, as quais podem ser lisas ou crespas. Esse grupo é denominado “looseleaf lettuce”.

O controle genético desse caráter, segundo Robinson et al. (1983) é devido a pelo menos três genes recessivos de efeito maior, *ca* (capitate); *h* (hearting) e *k* (kopfbildung), sendo este último, um fator simples, que tem sua expressão modificada por um alelo *l* para resposta ao fotoperíodo.

Também a temperatura tem grande influência na formação de cabeça (Whitaker & Ryder, 1974), em razão da mesma estar diretamente relacionada ao

aspecto de florescimento (Robinson et al., 1983), sendo que os cultivares, que florescem com maior facilidade, normalmente não formam cabeça.

No Brasil, os cultivares preferidos são os de folha lisa e que formam cabeça. Ultimamente, tem-se ampliado o mercado para os cultivares de folhas crespas e soltas. Já o mercado para o tipo Americana restringe-se às lanchonetes e restaurantes, que utilizam-se de folhas processadas.

Com relação à cor a alface pode apresentar sementes de cor preta ou branca, sendo o caráter controlado por um único gene *W*, com efeito de dominância completa da cor preta sobre branca (Durst, 1930, citado por Ryder, 1975).

Como as flores da alface são muito pequenas e apresentam cleistogamia, o que torna difícil o trabalho de emasculação e cruzamento artificial, a utilização de genes marcadores conforme Robinson et al. (1983) é de suma importância, pois, permitem a eliminação de possíveis sementes provenientes de autofecundação em trabalhos de melhoramento. Devido à herança da cor do tegumento ser materna, utilizando-se o genitor feminino com sementes brancas e o masculino com sementes pretas, é possível, por ocasião da colheita de sementes  $F_2$ , eliminarem-se todas as sementes originárias de autofecundação, as quais seriam brancas.

O estímulo ao florescimento em alface está diretamente associado ao calor, ocorrendo com maior ou menor precocidade, dependendo da cultura. Ao ocorrer a indução ao pendoamento, a planta torna-se imprópria para comercialização devido à má formação da cabeça (Thompson, 1944) e ao gosto amargo, que as folhas desenvolvem (Whitaker & Ryder, 1974). Esse estímulo ocorre em temperaturas acima de 20°C, sendo que, dias longos contribuem para que o processo se acelere (Nagai, 1980; Ryder, 1986; Viggiano, 1990).

Em regiões de clima tropical como o Brasil, a obtenção de cultivares melhoradas, tolerantes ao calor têm sido objeto de trabalho de melhoristas há

décadas. O plantio, nas condições brasileiras, ficou durante muitos anos restrito à época de inverno, ou ao cultivo em microclimas de maior altitude na época de verão.

Nagai e Lisbão (1980) comentam que um dos problemas do melhoramento de alface, no Brasil, é a obtenção de cultivares adaptadas às condições de plantio de outubro a março na região centro-sul. Dias (1969) selecionou progênies F<sub>4</sub> resultantes de diversos cruzamentos, conseguindo com isto obter linhagens, que foram amplamente cultivadas na região de Piracicaba-SP. Costa & Silva (1976), selecionando progênies F<sub>4</sub>, do cruzamento entre o cultivar Brasil 48 e progênies F<sub>7</sub>, do cruzamento entre “Monstrueuse Ronde d’Étè” e “White Boston”, obtiveram o cultivar Vivi, com boa tolerância ao calor. Posteriormente, Nagai (1979 e 1980), continuando o programa de melhoramento do Instituto Agronômico de Campinas, através de cruzamentos e seleções, obteve novos cultivares dentro da série Brasil mais resistentes ao calor.

Outro aspecto de importância para o melhoramento e a produção de sementes de alface no Brasil foi o desenvolvimento de cultivares resistentes ao vírus do mosaico da alface (*lettuce mosaic virus* – LMV). De acordo com Nagai (1993), o Brasil importava até a década de 70, cerca de 20 a 30 toneladas de sementes do cultivar White Boston anualmente. Este cultivar possui sementes brancas, sendo a planta repolhuda do tipo manteiga. Era o cultivar mais plantado até àquela época e a necessidade de importação de sementes se dava devido a sua suscetibilidade ao LMV.

Utilizando-se do método de pedigree, após cruzamento entre os cultivares Gallega de Invierno, que é resistente ao LMV, e White Boston, Nagai (1979) obteve a série Brasil de alface, com resistência ao vírus. Isto, praticamente, permitiu a independência do Brasil, em termos de produção de sementes, como também permitiu que se desenvolvessem programas de melhoramento de alface a partir desses materiais.

## 2.2 Biologia da reprodução

A inflorescência da alface constitui-se de uma panícula, onde são encontrados diversos botões florais denominados capítulos. Nos capítulos, normalmente, encontram-se presentes de 10 a 25 flores. Cada flor ou florette dá origem a uma única semente, que é um aquênio, originário de um ovário unilocular (Ryder, 1986).

Todas as flores de cada capítulo abrem-se no mesmo dia, o que acontece na parte da manhã, entre 8:00 e 10:00 h. Ao ocorrer a antese, acontece também a autofecundação das flores, garantida pela cleistogamia, onde o estilete se alonga, atravessando o tubo formado pelos estames. A maturação da semente leva em torno de 12 a 14 dias após a antese (Ryder, 1986).

## 2.3 Os nematóides das galhas *Meloidogyne* spp e o ambiente

Os nematóides causadores das galhas em raízes de plantas, englobam diversas espécies do gênero *Meloidogyne*. Em países tropicais, como o Brasil, destacam-se as espécies *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica*, que atacam diversas culturas de importância econômica, tendo uma ampla distribuição geográfica. Além disso, são de difícil controle e formam complexos de doenças, quando associados com outros patógenos (Lordello, 1964).

Os sintomas gerais no campo, exibidos pela parte aérea das plantas atacadas, são resultantes de processos, que impedem as mesmas, de desenvolverem um sistema radicular sadio. Elas perdem vigor, as folhas diminuem de tamanho, há amarelecimento e queda prematura de folhas. Apresentam ainda tamanho desuniforme e diminuição na produção (Lordello, 1964).

As perdas causadas por fitonematóides são da ordem de 12,3%, da produção mundial de alimentos (Sasser & Freckman, 1987), o que chega a representar um prejuízo estimado em cerca de 100 bilhões de dólares. No caso

de hortaliças, Sasser (1979) estima que esses parasitas causam perdas de 23% da produção.

O ciclo de vida das espécies do gênero *Meloidogyne* está na dependência de alguns fatores ambientais, entre os quais salienta-se a temperatura (Lordello, 1988), que afeta diretamente à duração do mesmo. Para espécies como *M. incognita* e *M. javanica*, as temperaturas ótimas situam-se entre 21° e 30°C. Jaehn (1989), estudando o efeito da temperatura na biologia de *M. incognita* raças 1, 2 e 4, em cafeeiro, verificou que a faixa de temperatura ideal para o seu desenvolvimento situa-se em torno de 28 a 32° C. De maneira geral, o ciclo de *Meloidogyne* spp nos diversos hospedeiros, completa-se em média, em 25, dias sob temperatura de 27°C (Agrios, 1988). Nessas condições, o parasita consegue completar maior número de ciclos na planta hospedeira, aumentando, substancialmente, o nível da população no solo.

A multiplicação desse parasita dá-se de forma logarítmica, onde uma única fêmea é capaz de produzir cerca de 500 ovos em média. Desses, apenas 5% sobrevivem, porém, nessas condições, nas quatro gerações seguintes, o número de adultos será, respectivamente, de: 25; 625; 15625 e 390625 (Taylor & Sasser, 1978).

Após seu estabelecimento no solo torna-se difícil e caro o controle de nematóide. A erradicação total é quase impossível. Geralmente, faz-se necessário a combinação de métodos de controle, a fim de reduzir a população a um nível economicamente aceitável.

Ao estudar efeito de sistemas de manejo de solo e de métodos de plantio, na produção de alface, em ambiente protegido, com solo naturalmente infestado com *Meloidogyne javanica*, Santos (1995) verificou que a presença do fitonematóide reduziu o estande, a altura das plantas, o peso médio das folhas por planta e a homogeneidade das plantas e, aumentou, por outro lado, a porcentagem de plantas com peso inferior a 200 g, quando utilizou-se de

semeadura direta, em comparação com o sistema de transplante de mudas. A permanência das plantas por um maior período de tempo, em um solo infestado, o que ocorre, quando é feita a semeadura direta, permite que haja um maior desenvolvimento do patógeno, causando maiores perdas.

A utilização de ambiente protegido, devido, principalmente, ao cultivo intensivo e às condições de temperatura e umidade, que são ali reproduzidas, favorecem um maior desenvolvimento de patógenos do solo. Em diversas culturas como, tomate, pepino e pimentão, maiores danos têm sido observados com relação a doenças causadas por patógenos radiculares (Kurosawa, 1995), como por exemplo, *Meloidogyne* spp. O nematóide, ao infestar o hospedeiro, induz mudanças fisiológicas, que podem ser responsáveis pela suscetibilidade da planta a outros patógenos. *Meloidogyne* spp tem sido um dos maiores problemas fitossanitários, em estufa, com severidade bem maior em que o cultivo convencional em culturas como tomate, melão, pepino e pimentão (Vida, 1995).

#### **2.4 Resistência aos nematóides de galhas *Meloidogyne* spp em espécies olerícolas**

A resistência, em espécies olerícolas aos nematóides causadores de galhas *Meloidogyne* spp, tem sido relatada em cultivares de batata, tomate, pimenta, pimentão, cenoura, batata doce, melancia e rabanete, entre outras (Kaloo, 1988).

O tomateiro foi uma das primeiras espécies olerícolas onde houve a preocupação de se obterem-se cultivares resistentes aos nematóides de galhas (Maluf, 1997). Essa resistência foi encontrada há mais de 50 anos, na espécie selvagem *Lycopersicon peruvianum* (Bailey, 1941), sendo posteriormente introduzida em *Lycopersicon esculentum* (Smith, 1944). Trabalhos como os de Gilbert & McGuire (1956) e Braham & Winstead (1957), evidenciaram que essa resistência é conferida por um alelo dominante (*Mi*) num único loco, que confere

resistência não só a *M. incognita*, mas também a *M. javanica*, *M. acrita* e *M. arenaria*.

Em pimentão, Hare (1956) demonstrou a existência de um gene dominante *N* no material “Santaka”. Esse gene possui uma eficácia, que pode variar conforme o isolado de nematóide, ou a quantidade de inóculo (Hare, 1957).

Hendy et al. (1983) identificaram duas diferentes fontes de resistência. São acessos de *Capsicum annum*, que possuem frutos pungentes, PM 127 (originário da América Central) e PM 687 (originário da Índia). Estudando a herança da resistência ao nematóide nesses materiais, Hendy et al. (1985) verificaram a existência de 2 genes diferentes, em PM 127, *Me1*, que confere resistência à *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. javanica*, mas não ao isolado “Seville”, e o gene *Me2*, que confere resistência à *M. javanica* e ao isolado “Seville”. No acesso PM 687, foram identificados dois outros genes, o *Me3*, que confere resistência à *M. arenaria* (com exceção do isolado “Ain Taoujdate”) *M. incognita* e *M. javanica*, e o *Me4*, que confere resistência ao isolado de *M. arenaria* “Ain Taoujdate” somente.

Zamora et al. (1994) estudaram a reação de resistência às quatro raças de *M. incognita* conhecidas na pimenta *Capsicum annum* cv. Carolina Cayenne, sem, no entanto, estudar a herança da resistência. Souza Sobrinho (1998), estudando a reação de resistência desse material à raça 2 de *M. incognita* concluiu que a mesma é monogênica, com ação gênica, predominantemente, aditiva.

Na cultura da alface, poucos e recentes são os trabalhos, que fazem referência à resistência ao nematóide. Charchar & Moita (1996), avaliando diversos cultivares, em solo, naturalmente infestado com mistura da raça 1 de *M. incognita* e *M. javanica* encontraram alguns cultivares de folhas crespas com resistência. Esse resultado coincide com o de Gomes et al. (1996), onde o

cultivar Grand Rapids de folhas crespas se mostrou mais resistente do que os de folhas lisas. Mais recentemente, Mendes (1998), avaliando 28 diferentes cultivares de alface, quanto à resistência às raças 1, 3 e 4 de *Meloidogyne incognita* e a *Meloidogyne javanica* concluiu que o cultivar de folhas crespas Grand Rapids foi, consistentemente, mais resistente às raças 3 e 4 de *Meloidogyne incognita* e à *Meloidogyne javanica*, podendo ser considerado boa fonte de resistência, com possibilidade de utilização em programas de melhoramento.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Material genético

Dois cultivares de alface — Grand Rapids e Regina-71, de reações contrastantes ao nematóide *Meloidogyne incognita*, foram utilizados nesse estudo.

Regina-71 é um cultivar brasileiro do tipo manteiga, de sementes brancas — contendo os alelos recessivos para cor de sementes, segundo Ryder (1986). Forma cabeças repolhudas, é resistente ao pendoamento prematuro e ao vírus do mosaico da alface (*lettuce mosaic virus* – LMV). Esse cultivar foi obtido e é comercializado pela empresa Sementes Agrocere S/A.

Grand Rapids, por sua vez é um cultivar de alface de folhas crespas, sementes pretas, de origem norte-americana. É comercializado no Brasil por várias empresas, sendo que nesse estudo foram utilizadas sementes de Grand Rapids, comercializadas pela empresa Agroflora/Sakata com o nome de Grande Rápida. Experimentos preliminares realizados por Gomes et al. (1996), indicaram que Grand Rapids e Regina-71 são cultivares respectivamente resistente e suscetível a *Meloidogyne incognita*.

Os cruzamentos foram efetuados entre os cultivares Grand Rapids — utilizado como genitor masculino — e Regina-71 — utilizado como genitor feminino, empregando-se a técnica de despolinização por jato de água descrita por Nagai (1980) e por Ryder (1986).

As plantas de ambos os genitores foram transplantadas para vasos plásticos com 5 litros de substrato. Por ocasião do florescimento, botões florais do cultivar Regina 71, aptos a sofrerem antese, foram submetidos, no período matinal — antes de consumada a polinização, que é cleistogâmica — a um corte com lâmina de barbear, aproximadamente, na altura do terço médio. Desta

forma, promoveu-se a remoção da parte superior das anteras, antes que acontecesse a antese e liberação de pólen.

Aguardou-se a seguir o crescimento e a emergência dos estigmas, os quais, foram lavados com jato d'água, para a retirada de eventuais grãos de pólen aderentes. Imediatamente após foram secos com papel absorvente. As flores assim emasculadas do cv. Regina 71 foram, então, polinizadas com flores recém-abertas do cv. Grand Rapids, cujos estigmas bifidos continham pólen aderente e foram pincelados aos estigmas recém-lavados das primeiras.

Sementes supostamente híbridas  $F_1$  foram colhidas, em média, três semanas após a polinização. As sementes  $F_1$  foram semeadas para obtenção da geração  $F_2$ . Plantas, que apresentassem folhas lisas, semelhantes ao genitor feminino, foram descartadas, bem como aquelas que, por ocasião da colheita das sementes  $F_2$ , tivessem produzido sementes brancas, que representavam, na verdade, plantas contaminantes do genitor feminino, Regina-71, num lote de sementes híbridas  $F_1$  — onde as verdadeiras plantas  $F_1$  são as que produziram sementes pretas. Plantas  $F_2$  foram levadas à produção de sementes, sem seleção e, posteriormente, suas sementes foram colhidas individualmente, constituindo as famílias  $F_3$ . Plantas das gerações parentais  $P_1$  (= Regina-71),  $P_2$  (= Grand Rapids),  $F_1$ (Regina-71 x Grand Rapids),  $F_2$ (Regina-71 x Grand Rapids), e famílias  $F_3$ , do mesmo cruzamento, foram utilizadas em inoculações com isolados de *Meloidogyne incognita*, para estudos da herança da resistência ao nematóide.

### **3.2 Preparação do inóculo e metodologia de inoculação**

#### **3.2.1 Manutenção de isolados de *Meloidogyne* spp**

Como inóculo, foram utilizados isolados das raças 1, 2, 3 e 4 de *M. incognita*, originalmente cedidos pelo Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR)

e pelo Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (CNPQ/EMBRAPA), já purificados e caracterizados. Os mesmos foram mantidos em estufa, na Estação Experimental de Hortaliças da HortiAgro Sementes Ltda./ Fazenda Palmital/Ijaci-MG.

Para multiplicação e manutenção rotineira dos isolados, foram utilizadas plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivar Santa Clara. Para o plantio do tomateiro, foi empregado um substrato composto de solo, esterco de curral e areia, na proporção de 2:1:1 respectivamente

Para obtenção das mudas do tomateiro, foram utilizadas bandejas de semeadura e bandejas de isopor do tipo “speedling”, com 128 células piramidais invertidas (35 ml por célula), com substrato constituído de uma mistura, contendo uma parte de casca de arroz carbonizada e 1 parte de substrato comercial Plantimax® (à base de casca de *Pinus* sp e vermiculita). Foi realizada a semeadura em bandejas apropriadas e, após a germinação, procedeu-se à repicagem das plântulas, com uma plântula repicada por célula, para as bandejas de isopor.

Quando as mudas atingiram aproximadamente 6 cm de altura, foram transplantadas duas mudas para cada vaso de polietileno, com capacidade de 8 L, contendo o primeiro substrato. Em seguida, realizou-se a inoculação, com uma solução contendo ovos de nematóides extraídos, empregando-se a técnica de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti (1981). Assim, as raízes com galhas foram cortadas em pedaços de aproximadamente 0,5 cm de comprimento e, em seguida, foram trituradas em liquidificador por 20 segundos, juntamente com a solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 0,5%. Sequencialmente a solução foi passada em peneira de 0,074 mm (200 mesh) sobre peneira de 0,028 mm (500 mesh) de abertura, com água de torneira abundante. Os ovos, que ficaram retidos na última peneira, foram recolhidos em um vidro de 500 ml,

terminando o processo de extração. Posteriormente, foi feita a contagem dos ovos utilizando estereoscópio.

A inoculação nos tomateiros, utilizando-se aproximadamente 10000 ovos por vaso, foi realizada manualmente e de forma uniforme, ao redor do colo da muda recém-transplantada para o vaso.

Durante a condução dos tomateiros, foram feitas regas diárias, além de adubações em cobertura quinzenais, utilizando-se 5 g de sulfato de amônio e 2 g de cloreto de potássio por vaso. As duas plantas de cada vaso foram conduzidas em haste única, sendo tutoradas por estacas de bambus. A medida da necessidade, foram feitas pulverizações com fungicidas e inseticidas, visando o controle de pragas e doenças.

### 3.2.2 Preparação do inóculo e sua inoculação em alface

Aproximadamente 70 dias após à inoculação em plantas de tomate (item 3.2.1) foi feita nova extração, obtendo-se ovos para inoculação em mudas de alface. O preparo do inóculo foi feito, utilizando-se a técnica já descrita de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti (1981), obtendo-se suspensão de ovos de nematóides, cuja calibração (30 ovos/ml), foi obtida através de contagem de amostras em estereoscópio.

Sementes de alface dos cultivares Regina-71 e Grand Rapids, bem como das gerações F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> e famílias F<sub>3</sub>, derivadas do cruzamento entre os dois, foram semeadas em bandejas de semeadura, e ali permaneceram até emergência e repicagem no estádio de primeira folha definitiva. O substrato 1 foi utilizado para o enchimento das bandejas de isopor tipo 'speedling', com 128 células piramidais invertidas (aproximadamente 35 ml por célula), o qual foi previamente infestado com ovos de *M. incognita* (30 ovos/ml). Quantidade essa, baseada em testes preliminares para concentração de inóculo, utilizado para outras olerícolas, tais como batata doce (Azevedo, 1995) e tomate

(Carvalho,1996). Essa infestação consistiu na mistura homogênea da solução, contendo os ovos de nematóides produzidos, já extraídos e contados, a um volume de substrato previamente calculado, de modo a resultar na concentração final de inóculo de 30 ovos/ml de substrato. Em seguida, foi realizada a repicagem das mudas de alface (1 muda por célula) para as células já cheias com o substrato infestado. O procedimento foi idêntico para todas as raças e isolados de *M. incognita* empregados nesse trabalho. Em cada bandeja foram repicadas também 8 plantas de tomate, cultivar Santa Clara, para confirmar a eficiência do inóculo.

Durante a condução do experimento, realizaram-se regas diárias e, quando necessário, foram feitas pulverizações com fungicidas e inseticidas, para o controle de pragas e doenças. Cuidou-se de não utilizar produtos com ação nematicida, para que essas práticas de controle fitossanitários fossem feitas sem interferir na população dos fitonematóides.

### **3.3 Avaliação da reação de plantas de alface ao *Meloidogyne* spp.**

Plantas de alface foram avaliadas de 68 a 94 dias após a infestação, conforme o experimento, tomando-se como referência, para a escolha da data de avaliação em cada caso, a incidência de galhas no sistema radicular das plantas do cultivar, testemunha suscetível — Regina-71, confirmada pela presença de galhas também nas plantas de tomate, cultivar Santa Clara. As plantas de alface tiveram seus sistemas radiculares lavados em água corrente, para retirada do substrato e, em seguida, avaliadas individualmente, quanto aos seguintes caracteres:

- a) número de galhas por sistema radicular, obtido pela contagem do número de galhas (independentemente do seu tamanho) no sistema radicular de cada planta;

- b) número de massas de ovos por sistema radicular, obtido pela contagem do número de massas de ovos no sistema radicular de cada planta. Para isso, após a contagem do número de galhas, as plantas de alface tiveram seu sistema radicular mergulhado em solução, contendo Floxina B (0,15 g/ litro de água), por 15 minutos, segundo técnica descrita por Taylor & Sasser (1978), para colorir as massas de ovos e facilitar sua observação e contagem;
- c) tamanho médio de galhas: a cada planta avaliada foi atribuída uma nota de 1 a 5, com base no tamanho médio das galhas existentes (independentemente de seu número). A escala utilizada foi a indicada no Quadro 1. As maiores notas correspondem a galhas de maior diâmetro e relacionam-se, pois, à maior suscetibilidade ao patógeno.

QUADRO 1. Escala de notas utilizadas para avaliação do tamanho médio de galhas (TMG), em cada planta de alface inoculada com *M. incognita*

Nota	Tamanho médio de galhas (TMG) (mm diâmetro)
1	$TMG \leq 1$
2	$1 < TMG \leq 2$
3	$2 < TMG \leq 3$
4	$3 < TMG \leq 4$
5	$TMG > 4$

- d) índice de galhas (IG) — obtido pela multiplicação do número de galhas, observado para cada planta pelo seu respectivo tamanho médio (TMG). Esse índice leva em conta tanto o número observado de galhas, quanto o seu tamanho e é, presumivelmente, uma boa indicação do grau de resistência da planta ao nematóide. Menores índices estão associados a maiores níveis de resistência.

Quatro ensaios (um deles preliminar) foram feitos, para o estudo da herança da resistência ao *M. incognita* em alface. No ensaio preliminar, foram avaliados apenas o número de galhas e o número de massas de ovos por plantas. Nos posteriores, foram também avaliados o tamanho médio de galhas (TMG) e o índice de galhas (IG). Os ensaios foram todos conduzidos em estufa modelo capela, no município de Ijaci-MG.

### **3.4 Ensaio preliminar da herança da resistência em alface ao *Meloidogyne incognita* raça 3**

#### **3.4.1 Avaliações de plantas individuais nas gerações parentais e F<sub>2</sub>**

##### **3.4.1.1 Delineamento experimental e condições do experimento**

Sementes de alface do cultivar parental suscetível Regina-71 (P<sub>1</sub>), do cultivar resistente Grand Rapids (P<sub>2</sub>) e da geração F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) foram semeadas em bandejas de semeadura. No estágio de primeira folha definitiva, em 16/10/1996, foram repicadas para bandejas tipo “speedling” cheias com substrato infestado com ovos de nematóides, conforme descrito em 3.2.2. Foram utilizadas 3, 3 e 27 parcelas de 8 plantas cada, para P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> e F<sub>2</sub>, totalizando, respectivamente, 24, 24 e 216 plantas. As parcelas — fileiras de 8 células cada — foram distribuídas pelas bandejas tipo “speedling”, de acordo com o delineamento inteiramente casualizado. O inóculo constituiu-se de um isolado de *Meloidogyne incognita*, raça 3, previamente multiplicado em plantas de tomateiro, misturado ao substrato, de maneira a constituir uma concentração de 30 ovos/ml substrato, da maneira descrita em 3.2.1 e 3.2.2. As plantas foram avaliadas quanto à resistência aos nematóides, 68 dias após a repicagem, tendo sido efetuadas, para cada planta, as contagens do número de galhas e de

massas de ovos (item 3.2.3). Durante o decurso do experimento, as bandejas com as plantas de alface foram mantidas em estufa plástica tipo capela. As temperaturas máxima e mínima foram em média 27,7°C e 17,2 °C, respectivamente, durante o período da inoculação à avaliação.

### 3.4.1.2 Estimativa de parâmetros genéticos e fenotípicos

Médias e variâncias obtidas de cada população para as características estudadas foram utilizadas para obtenção de estimativas da variância genética ( $\hat{\sigma}_G^2$ ), ambiental ( $\hat{\sigma}_E^2$ ) e fenotípica ( $\hat{\sigma}_{F_2}^2$ ), da herdabilidade no sentido amplo ( $h^2$ ) e do grau médio de dominância (GMD) (Ramalho, Santos & Zimmermann, 1993).

As estimativas de  $\hat{\sigma}_G^2$ ,  $\hat{\sigma}_E^2$  e  $\hat{\sigma}_{F_2}^2$ , e da herdabilidade no sentido amplo ( $h^2$ ) foram obtidas como:

$$\hat{\sigma}_E^2 = \left[ \hat{\sigma}_{P_1}^2 \times \hat{\sigma}_{P_2}^2 \right]^{(1/2)}$$

$$\hat{\sigma}_{F_2}^2 = \hat{\sigma}_E^2 + \hat{\sigma}_G^2$$

$$\hat{\sigma}_G^2 = \hat{\sigma}_{F_2}^2 - \hat{\sigma}_E^2$$

$$h^2 = \frac{\hat{\sigma}_G^2}{\hat{\sigma}_{F_2}^2}$$

onde:

$\hat{\sigma}_{P_1}^2$  : estimativa da variância entre plantas dentro do cultivar P<sub>1</sub> (=Regina-71);

$\hat{\sigma}_{P_2}^2$  : estimativa da variância entre plantas dentro do cultivar P<sub>2</sub> (=Grand Rapids);

$\hat{\sigma}_{F_2}^2$  : estimativa da variância entre plantas dentro da geração F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids).

Os efeitos: aditivo [a] e não-aditivo [d], do(s) gene(s), que controla(m) o caráter, foram estimados a partir das médias de gerações, conforme indicado por Mather & Jinks (1977):

$$\overline{P}_1 = m + [a];$$

$$\overline{P}_2 = m - [a];$$

$$\overline{F}_2 = m + \frac{1}{2} [d];$$

onde:  $\overline{P}_1$ ,  $\overline{P}_2$ ,  $\overline{F}_2$  são as médias estimadas de:  $P_1$ ,  $P_2$  e  $F_2$ , respectivamente.

O grau médio de dominância foi obtido como  $GMD = [d] / [a]$ .

### **3.4.1.3 Distribuições de frequências e testes da hipótese de herança monogênica**

As distribuições de frequências de plantas, com base no número de galhas e no número de massas de ovos foram obtidas para os cultivares parentais: Regina-71(= $P_1$ ) e Grand Rapids (=  $P_2$ ), bem como da geração  $F_2$ . Houveram classes fenotípicas, que se fizeram representar (embora com diferentes frequências) em ambas as linhagens parentais. Determinou-se então, para cada característica avaliada, um ponto de truncagem abaixo do qual se situasse a maior percentagem de plantas do cultivar parental resistente (Grand Rapids) e acima da qual se situasse a maior proporção de plantas do cultivar suscetível (Regina-71). Nas condições desse experimento, esse ponto de truncagem foi de 40 galhas e 1 massa de ovos por planta.

Em razão da natureza contínua das variáveis número de galhas e número de massas de ovos, onde a variância é proporcional à média (Wilson Roberto

Maluf, informação pessoal), a classificação de fenótipos em classes discretas (resistente/ suscetível) não foi utilizada nesse estudo. Dados de médias e variâncias em  $P_1$  e  $P_2$  foram usados para simular frequências esperadas de plantas abaixo do ponto de truncagem, nessas populações, bem como na população  $F_2$ , sob a hipótese de herança monogênica e diferentes graus de dominância presumidos.

Para número de galhas, cada simulação — relativa a um diferente grau médio de dominância presumido — foi baseada nas seguintes premissas e procedimentos:

- a) o caráter é sujeito a uma distribuição, onde a média é proporcional à variância;
- b) 10000 fenótipos foram simulados para cada uma das gerações parentais  $P_1$  e  $P_2$ , assumindo para cada uma delas, uma distribuição normal, com média e variância iguais às respectivas estimativas obtidas a partir dos dados experimentais. As frequências de plantas com número de galhas  $\leq 40$  em  $P_1$  e  $P_2$  foram obtidas a partir das populações simuladas e assumidas como sendo as frequências esperadas sob o modelo proposto;
- c) a média da população  $F_1$  foi admitida como sendo  $\overline{F_1} = (\overline{P_1} + \overline{P_2})/2 + \text{GMD} \cdot (\overline{P_1} - \overline{P_2})/2$ , onde  $\overline{P_1}$  e  $\overline{P_2}$  são as médias parentais, e GMD é o grau de dominância sob consideração. A variância de  $F_1$  foi admitida como sendo  $\hat{\sigma}_{F_1}^2 = \overline{F_1} \cdot k$ , onde  $k$  = média das razões *média/variância* das populações  $P_1$  e  $P_2$ ;
- d) 10000 fenótipos foram simulados para a geração  $F_1$ , admitindo-se para esta, uma média e variância iguais às indicadas em (c). A frequência de indivíduos  $F_1$  com número de galhas  $\leq 40$  foi calculada e assumida como sendo a verdadeira frequência (frequência esperada) sob o modelo;

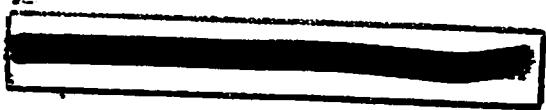
- e) sob a hipótese de herança monogênica, a frequência esperada de plantas em  $F_2$ , com número de galhas  $\leq 40$ , foi calculada como a média ponderada das frequências esperadas em  $P_1$ ,  $F_1$  e  $P_2$  (com pesos 1, 2 e 1, respectivamente);
- f) os números esperados de plantas, com número de galhas  $\leq 40$  em  $P_1$ ,  $P_2$  e  $F_2$  foram calculados, multiplicando-se as frequências esperadas dessas plantas, obtidas em (b), (d) e (e), respectivamente, pelo número total de plantas testado para cada geração;
- g) os números esperados de plantas, com número de galhas  $\leq 40$  em  $P_1$ ,  $P_2$  e  $F_2$ , foram comparadas com os números efetivamente encontrados para cada geração e a significância dos desvios foi verificada pelo teste de  $\chi^2$ . A frequência de plantas esperadas por classe em  $P_1$  foi somada à frequência de  $P_2$ , para evitar a existência de valores esperados nulos, de modo que, o número de graus de liberdade para o  $\chi^2$  foi 1;
- h) a significância do  $\chi^2$  levará à rejeição da hipótese de herança monogênica sob o grau de dominância considerado. Por outro lado, valor não significativo de  $\chi^2$  levará à aceitação da hipótese de herança monogênica sob o grau de dominância considerado.

As mesmas suposições e procedimentos foram adotados para número de massas de ovos por sistema radicular, tomando-se, como ponto de truncagem, o número de plantas com número de massas de ovos  $\leq 1$ .

### **3.5 Herança da resistência em alface ao isolado da raça 1 de *Meloidogyne incognita***

#### **3.5.1 Avaliações de plantas individuais nas gerações parentais, $F_1$ e $F_2$**

##### **3.5.1.1 Delineamento experimental e condições do experimento**



Este experimento teve um delineamento experimental semelhante ao do experimento preliminar (3.4.1), diferindo, basicamente, pela inclusão também da geração  $F_1$ (Regina-71 x Grand Rapids) nos testes. Sementes de alface do cultivar parental suscetível Regina-71 ( $P_1$ ), do cultivar resistente Grand Rapids ( $P_2$ ) e das gerações  $F_1$ (Regina-71 x Grand Rapids) e  $F_2$ (Regina-71 x Grand Rapids) foram semeadas, em bandejas de semeadura, no estádio de aparecimento da primeira folha definitiva, estas foram repicadas para bandejas tipo 'speedling' com substrato pré-infestado, em 24/05/97, conforme descrito em 3.2.2.

Foram utilizadas 3, 3, 3 e 32 parcelas de 8 plantas cada para  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$  e  $F_2$ , totalizando, respectivamente, 24, 24, 24 e 256 plantas. As parcelas (fileiras de 8 células cada) foram distribuídas pelas bandejas tipo 'speedling', de acordo com o delineamento inteiramente casualizado. O inóculo constituiu-se de um isolado de *Meloidogyne incognita*, raça 1, previamente multiplicado, em plantas de tomateiro, e misturado ao substrato de maneira a constituir uma concentração de 30 ovos/ml substrato, da maneira descrita em 3.2.1 e 3.2.2. As plantas foram avaliadas, quanto à resistência a nematóides, 94 dias após a repicagem, tendo sido efetuadas, para cada planta, as contagens do número de galhas, número de massas de ovos, tamanho médio de galhas e índice de galhas (item 3.2.3). Durante o decurso do experimento, as bandejas com as plantas de alface foram mantidas em estufa plástica tipo capela. As temperaturas, máxima e mínima, foram em média 26,5°C e 11,2 °C, respectivamente, durante o período da inoculação à avaliação.

### 3.5.1.2 Estimativa de parâmetros genéticos

Médias e variâncias obtidas das populações  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$  e  $F_2$  para as características estudadas foram utilizadas, para a obtenção de estimativas das variâncias genética ( $\hat{\sigma}_G^2$ ), ambiental ( $\hat{\sigma}_E^2$ ) e fenotípica ( $\hat{\sigma}_{F_2}^2$ ), da herdabilidade

no sentido amplo ( $h^2$ ) e do grau médio de dominância (GMD) , conforme Ramalho, Santos & Zimmermann (1993).

As estimativas de  $\hat{\sigma}_G^2$ ,  $\hat{\sigma}_E^2$  e  $\hat{\sigma}_{F_2}^2$  , e da herdabilidade ( $h^2$ ) foram obtidas a partir das expressões:

$$\hat{\sigma}_E^2 = \left[ \hat{\sigma}_{P_1}^2 \times \hat{\sigma}_{P_2}^2 \times \hat{\sigma}_{F_1}^2 \right]^{(1/3)}$$

$$\hat{\sigma}_{F_2}^2 = \hat{\sigma}_E^2 + \hat{\sigma}_G^2$$

$$\hat{\sigma}_G^2 = \hat{\sigma}_{F_2}^2 - \hat{\sigma}_E^2$$

$$h^2 = \frac{\hat{\sigma}_G^2}{\hat{\sigma}_{F_2}^2}$$

onde:

$\hat{\sigma}_{P_1}^2$  : estimativa da variância entre plantas dentro do cultivar P<sub>1</sub> (=Regina-71);

$\hat{\sigma}_{P_2}^2$  : estimativa da variância entre plantas dentro do cultivar P<sub>2</sub> (=Grand Rapids);

$\hat{\sigma}_{F_1}^2$  : estimativa da variância entre plantas dentro da geração F<sub>1</sub>(Regina-71 x Grand Rapids);

$\hat{\sigma}_{F_2}^2$  : estimativa da variância entre plantas dentro da geração F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids).

Os efeitos aditivo [a] e não-aditivo [d] do(s) gene(s), que controla(m) o caráter foram estimados a partir das médias de gerações, pelo método dos quadrados mínimos ponderados, conforme indicado por Mather & Jinks (1977) e Rowe & Alexander (1980):

$$\bar{P}_1 = m + [a];$$

$$\overline{P}_2 = m - [a];$$

$$\overline{F}_1 = m + [d];$$

$$\overline{F}_2 = m + \frac{1}{2} [d];$$

onde:  $\overline{P}_1$ ,  $\overline{P}_2$ ,  $\overline{F}_1$ ,  $\overline{F}_2$  são as médias estimadas de:  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$  e  $F_2$ , respectivamente.

O grau médio de dominância foi obtido como  $GMD = [d] / [a]$ .

### 3.5.1.3 Distribuições de frequências e testes da hipótese de herança monogênica

As distribuições de frequência de plantas, com base no número de galhas, no número de massas de ovos, no tamanho médio de galhas e no índice de galhas foram obtidas para os cultivares parentais Regina-71(= $P_1$ ) e Grand Rapids (= $P_2$ ), bem como das gerações  $F_1$  e  $F_2$ . Em virtude da existência de classes fenotípicas, que se fizeram representar — embora com diferentes frequências — em ambas as linhagens parentais, determinou-se então, para cada característica avaliada, um ponto de truncagem, abaixo do qual se situasse a maior percentagem de plantas do cultivar parental resistente (Grand Rapids) e acima da qual se situasse a maior proporção de plantas do cultivar suscetível (Regina-71). Nas condições desse experimento, esse ponto de truncagem foi de 60 galhas, 1 massa de ovos, tamanho médio de galhas igual a 2 e índice de galhas igual a 100.

Em razão da natureza contínua das variáveis estudadas, onde a variância é proporcional à média, dados de médias e variâncias no  $P_1$  e  $P_2$  foram usados

para simular frequências esperadas de plantas abaixo do ponto de truncagem, nessas populações, bem como nas populações  $F_1$  e  $F_2$ , sob a hipótese de herança monogênica e diferentes graus de dominância presumidos.

Cada simulação — relativa a um diferente grau médio de dominância presumido — foi baseada nas premissas e procedimentos semelhantes aos indicados em 3.4.1.3, obedecendo-se aos pontos de truncagem, previamente definidos, para cada uma das características estudadas. Devido à inclusão nesse experimento de dados obtidos para a geração  $F_1$ , foram feitas as seguintes adaptações:

- a variância de  $F_1$  usada nas simulações foi admitida, como sendo:

$\hat{\sigma}_{F_1}^2 = \overline{F_1} * k$ , onde  $k$  = média das razões *média/variância* das estimativas efetivamente obtidas para as populações  $P_1$ ,  $P_2$  e  $F_1$ .

- Devido à inclusão da geração  $F_1$ , o número de graus de liberdade disponíveis do  $\chi^2$  foi 2.

### **3.6 Herança da resistência em alface, à mistura de isolados das raças 1, 2 e 4 de *Meloidogyne incognita***

#### **3.6.1 Avaliações de plantas individuais nas gerações parentais e $F_2$**

##### **3.6.1.1 Delineamento experimental e condições do experimento**

Esse experimento teve um delineamento, semelhante ao do experimento preliminar (3.4.1.1), diferindo, basicamente deste pela utilização de misturas de isolados de *Meloidogyne incognita* raças 1, 2 e 4 nos testes. Sementes de alface do cultivar parental suscetível Regina-71 ( $P_1$ ), do cultivar resistente Grand Rapids ( $P_2$ ) e da geração  $F_2$ (Regina-71 x Grand Rapids) foram semeadas em bandejas de semeadura, no estágio de aparecimento da primeira folha definitiva,

repicadas para bandejas tipo 'speedling', com substrato pré-infestado, em 27/10/97, conforme descrito em 3.2.2. Foram utilizadas 9, 11 e 55 parcelas de 8 plantas cada para  $P_1$ ,  $P_2$  e  $F_2$ , totalizando respectivamente 72, 88 e 440 plantas inoculadas. As parcelas — fileiras de 8 células cada — foram distribuídas pelas bandejas, tipo 'speedling', de acordo com o delineamento inteiramente casualizado. O inóculo constituiu-se de mistura de isolados de *Meloidogyne incognita*, das raças 1, 2 e 4, previamente multiplicados, em plantas de tomateiro e misturados ao substrato, de maneira a constituir uma concentração de 10 ovos de cada raça, por ml substrato (total de 30 ovos/ml de substrato), da maneira descrita em 3.2.1 e 3.2.2. As plantas foram avaliadas quanto à resistência aos nematóides, 87 dias após a repicagem, tendo sido efetuadas, para cada planta, as contagens do número de galhas, número de massas de ovos, tamanho médio de galhas e índice de galhas (item 3.2.3). Durante o decurso do experimento, as bandejas com plantas inoculadas foram mantidas em estufa plástica tipo capela. As temperaturas máxima e mínima foram em média 28,8°C e 18,7°C, respectivamente, durante o período da inoculação à avaliação.

### 3.6.1.2 Estimativa de parâmetros genéticos

Médias e variâncias obtidas de cada população para as características estudadas foram utilizadas para a obtenção de estimativas dos componentes genético ( $\hat{\sigma}_G^2$ ) e ambiental ( $\hat{\sigma}_E^2$ ), da variância fenotípica ( $\hat{\sigma}_{F_2}^2$ ), da herdabilidade no sentido amplo ( $h^2$ ) e do grau médio de dominância (GMD), da maneira indicada em 3.4.1.2

### **3.6.1.3 Distribuições de frequências e testes da hipótese de herança monogênica**

As distribuições de frequência de plantas, com base no número de galhas, no número de massas de ovos, no tamanho médio de galhas e no índice de galhas foram obtidas para os cultivares parentais, Regina-71(=P<sub>1</sub>) e Grand Rapids (=P<sub>2</sub>), bem como para a geração F<sub>2</sub>. De modo análogo ao efetuado em 3.4.1.3, dados de médias e variâncias, no P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>, foram usados para simular frequências esperadas de plantas abaixo do ponto de truncagem, nessas populações, bem como nas populações F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>, sob a hipótese de herança monogênica e diferentes graus de dominância presumidos. Cada simulação (relativa a um diferente grau médio de dominância presumido) foi baseada nas premissas e procedimentos semelhantes aos indicados em 3.4.3, obedecendo-se aos pontos de truncagem previamente definidos para cada uma das características estudadas. Nas condições desse experimento, esse ponto de truncagem foi de 50 galhas, 10 massas de ovos, tamanho médio de galhas igual a 2 e índice de galhas igual a 120.

### **3.6.2 Avaliação de famílias F<sub>2,3</sub> e teste da hipótese de herança monogênica**

Uma amostra de 47 famílias F<sub>2,3</sub>, provenientes de 47 plantas aleatoriamente tomadas da população F<sub>2</sub> (Regina-71 x Grand Rapids), sem prévia avaliação da resistência aos nematóides, foi submetida a testes de progênie, para determinação de sua resistência à mistura de isolados das raças 1, 2 e 4 de *M. incognita*. Estes testes de progênies foram realizados simultaneamente ao ensaio com plantas individuais das gerações parentais e F<sub>2</sub>, indicado em 3.6.1, sob as mesmas condições experimentais ali indicadas. Foram inoculadas para os testes, 32 plantas de cada uma das 47 famílias F<sub>2,3</sub>, que foram avaliadas quanto à resistência ao nematóide na mesma data do ensaio indicado, em 3.6.1, tendo sido efetuadas para cada planta individualmente, as contagens do número de galhas, tamanho médio de galhas e índice de galhas.

As frequências de plantas com índices de galhas (IG)  $\leq 120$  e  $> 120$  de cada família  $F_{2,3}$  foram comparadas através do teste de  $\chi^2$ , com as frequências correspondentes encontradas em Regina-71, Grand Rapids e  $F_2$ (Regina-71 x Grand Rapids):

- A significância do  $\chi^2$  ( $\alpha=0.01$ , com 1 g.l.), relativa às comparações com Grand Rapids e com a população  $F_2$  e a não significância do  $\chi^2$ , relativo à comparação com Regina-71 levou à caracterização da família  $F_{2,3}$ , como portadora dos alelos para suscetibilidade em homozigose (*suscetível*).
- Já a significância do  $\chi^2$  ( $\alpha=0.01$ , com 1 g.l.), relativa às comparações com Regina-71 e com a população  $F_2$  e a não significância do  $\chi^2$ , relativo à comparação com Grand Rapids levou à caracterização da família  $F_{2,3}$ , como portadora dos alelos para resistência em homozigose (*resistente*).
- Analogamente, a significância das comparações com Regina-71 e Grand Rapids e não significância relativa à comparação com a população  $F_2$  levou à caracterização da família  $F_{2,3}$ , como portadora de ambos os alelos, ou seja, em heterozigose (*segregante*).

Na eventualidade de haver significância do  $\chi^2$ , tanto para as comparações com Regina-71 e Grand Rapids, como para o  $F_2$ , a família  $F_{2,3}$  foi considerada de *reação inconclusiva* e seu verdadeiro status ficaria sujeito a um novo teste posterior, com maior número de plantas.

As razões esperadas para as frequências de famílias  $F_{2,3}$ , com reações resistente, segregante e suscetível são, respectivamente, de 1:2:1, sob a hipótese de herança monogênica. As frequências efetivamente obtidas de famílias  $F_{2,3}$ , com reações resistente, segregante e suscetível foram comparadas às respectivas frequências esperadas através de um teste de  $\chi^2$  com 2 g.l. A não significância do valor de  $\chi^2$  indicaria a validade da hipótese de herança monogênica.

### **3.7 Herança da resistência em alface ao *M. incognita* raça 3**

#### **3.7.1 Avaliações de plantas individuais nas gerações parentais e F<sub>2</sub>**

##### **3.7.1.1 Delineamento experimental e condições do experimento**

Esse experimento teve um delineamento experimental semelhante ao do experimento preliminar (3.4.1). As sementes de alface do cultivar parental suscetível Regina-71(P<sub>1</sub>), do cultivar resistente Grand Rapids (P<sub>2</sub>) e da geração F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) foram semeadas em bandejas de sementeira e no estádio de aparecimento da primeira folha definitiva, repicadas para bandejas tipo 'speedling', com substrato pré-infestado, em 27/12/97, conforme descrito em 3.2.2.

Foram utilizadas 7, 10 e 27 parcelas de 8 plantas cada, para as gerações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> e F<sub>2</sub>, totalizando respectivamente 56, 80 e 216 plantas inoculadas. As parcelas — fileiras de 8 células cada — foram distribuídas pelas bandejas tipo 'speedling', de acordo com o delineamento inteiramente casualizado. O inóculo constituiu-se de isolado de *Meloidogyne incognita* da raça 3 (o mesmo utilizado em 3.4.1), previamente multiplicado em plantas de tomateiro, misturado ao substrato de maneira a constituir uma concentração de 30 ovos/ml substrato, da maneira descrita em 3.2.1 e 3.2.2.

As plantas foram avaliadas quanto à resistência aos nematóides, 76 dias após a repicagem, tendo sido efetuadas para cada planta, as contagens do número de galhas, número de massas de ovos, tamanho médio de galhas e índice de galhas (item 3.2.3). Durante o decurso do experimento, as bandejas com plantas inoculadas foram mantidas em estufa plástica tipo capela. As temperaturas máxima e mínima foram em média 30,1°C e 19,1°C, respectivamente, durante o período da inoculação à avaliação.

### 3.7.1.2 Estimativa de parâmetros genéticos

As médias e as variâncias obtidas de cada população para os caracteres estudados foram utilizadas para a obtenção de estimativas das variâncias: genética ( $\hat{\sigma}_G^2$ ), ambiental ( $\hat{\sigma}_E^2$ ) e fenotípica ( $\hat{\sigma}_{F_2}^2$ ), da herdabilidade no sentido amplo ( $h^2$ ) e do grau médio de dominância (GMD), da maneira indicada em 3.4.1.2

### 3.7.1.3 Distribuições de frequências e testes da hipótese de herança monogênica

A distribuição de frequências de plantas com base no número de galhas, no número de massas de ovos, no tamanho médio de galhas e no índice de galhas foram obtidas para os cultivares parentais Regina-71(=P<sub>1</sub>) e Grand Rapids (=P<sub>2</sub>), bem como da geração F<sub>2</sub>. De modo análogo ao efetuado em 3.4.1.3, dados de médias e variâncias em P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub> foram usados para simular frequências esperadas de plantas abaixo do ponto de truncagem, nessas populações, bem como nas populações F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>, sob a hipótese de herança monogênica e diferentes graus de dominância presumidos. Cada simulação — relativa a um diferente grau médio de dominância presumido — foi baseada nas premissas e procedimentos semelhantes aos indicados em 3.4.3, obedecendo-se os pontos de truncagem, previamente definidos para cada uma das características estudadas. Nas condições desse experimento, esse ponto de truncagem foi de 50 galhas, 15 massas de ovos, tamanho médio de galhas igual a 3 e índice de galhas igual a 120.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos

No ensaio preliminar de resistência, realizado com a raça 3, de *M. incognita* (item 3.4.1), ficou evidente que, uma porção substancial da variância fenotípica ( $\hat{\sigma}_{F_2}^2$ ) foi de natureza genética ( $\hat{\sigma}_G^2$ ) (Tabela 1). O valor estimado, para herdabilidade no sentido amplo, foi moderado para o número de galhas por planta ( $h^2 = 0,327$ ) e alto para número de massas de ovos ( $h^2 = 0,732$ ). Em todos os outros ensaios realizados, os valores estimados para a herdabilidade, para as características relacionadas à resistência ao *M. incognita*, foram da ordem de 0,5 ou superior ( $h^2 > 0,7$ ).

No ensaio envolvendo a raça 1 (item 3.5), as herdabilidades estimadas (Tabela 2) foram de 0,683, 0,725, 0,761 e 0,921 para número de galhas, número de massas de ovos, tamanho médio de galhas e índice de galhas, respectivamente; no ensaio com mistura de raças 1, 2 e 4 (item 3.6.1), as estimativas foram respectivamente, 0,851, 0,663, 0,610 e 0,848 (Tabela 3); no segundo ensaio com a raça 3 (item 3.7) foram respectivamente, 0,529, 0,744, 0,510 e 0,752 (Tabela 4).

Independentemente da variável utilizada para avaliação da resistência, as estimativas de herdabilidade foram, em geral, muito altas, indicando que a variância genética ( $\hat{\sigma}_G^2$ ) foi, em geral, bastante superior à ambiental ( $\hat{\sigma}_E^2$ ) e que a resistência aos nematóides foi pouco influenciada pelo ambiente, sob as condições experimentais utilizadas.

Já, as estimativas dos graus médios de dominância (GMD) apontam, em geral, para a dominância incompleta, ou mesmo ausência de dominância, com exceção do número de massas de ovos, no ensaio com mistura de raças 1, 2 e 4 (Tabela 3) e no segundo ensaio, com a raça 3 (Tabela 4), onde se

TABELA 1. Estimativas das variâncias fenotípica ( $\hat{\sigma}_{F_2}^2$ ), genética ( $\hat{\sigma}_G^2$ ) e ambiental ( $\hat{\sigma}_E^2$ ); da herdabilidade no sentido amplo ( $h^2$ ) e do grau médio de dominância (GMD), para número de galhas e número de massas de ovos por sistema radicular, em alface inoculado com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 3.

Parâmetro	Número de Galhas	Número de massas de ovos
$\overline{P_1}$	64,417	12,542
$\overline{P_2}$	17,563	0,625
$\overline{F_2}$	36,915	5,042
$\hat{\sigma}_{P_1}^2$	385,906	39,042
$\hat{\sigma}_{P_2}^2$	64,396	0,917
$\hat{\sigma}_{F_2}^2$	234,287	22,363
$\hat{\sigma}_G^2$	76,646	16,380
$\hat{\sigma}_E^2$	157,641	5,983
$h^2$	0,327	0,732
M	40,990	6,584
[a]	23,427	5,959
[d]	-8,150	-3,083
GMD	-0,348	-0,517

TABELA 2. Estimativas das variâncias fenotípica ( $\hat{\sigma}_{F_2}^2$ ), genética ( $\hat{\sigma}_G^2$ ) e ambiental ( $\hat{\sigma}_E^2$ ); da herdabilidade no sentido amplo ( $h^2$ ) e do grau médio de dominância (GMD), para número de galhas, número de massas de ovos, tamanho médio de galhas e índice de galhas, por sistema radicular, em alface inoculado com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 1.

Parâmetro	Número de Galhas	Número de massas de ovos	Tamanho médio de galhas	Índice de galhas
$\overline{P_1}$	102,667	3,429	4,769	458,923
$\overline{P_2}$	24,318	0,318	1,067	25,333
$\overline{F_1}$	76,363	2,818	2,929	206,786
$\overline{F_2}$	60,647	3,345	2,917	198,833
$\hat{\sigma}_{P_1}^2$	407,533	7,457	0,192	12356,240
$\hat{\sigma}_{P_2}^2$	118,227	0,703	0,067	97,524
$\hat{\sigma}_{F_1}^2$	621,195	9,584	0,533	4470,489
$\hat{\sigma}_{F_2}^2$	978,950	13,438	0,794	22064,940
$\hat{\sigma}_G^2$	668,468	9,748	0,604	20311,930
$\hat{\sigma}_E^2$	310,482	3,690	0,190	1753,010
$h^2$	0,683	0,725	0,761	0,921
m	63,374 ± 1,886 <sup>(*)</sup>	1,907 ± 0,258 <sup>(*)</sup>	2,918 ± 0,001 <sup>(*)</sup>	241,067 ± 6,398 <sup>(*)</sup>
[ a ]	39,091 ± 1,888 <sup>(*)</sup>	1,588 ± 0,258 <sup>(*)</sup>	1,851 ± 0,001 <sup>(*)</sup>	215,734 ± 6,398 <sup>(*)</sup>
[ d ]	11,315 ± 5,671 <sup>(*)</sup>	1,133 ± 0,689 <sup>(*)</sup>	0,009 ± 0,004 <sup>(*)</sup>	-35,040 ± 7,958 <sup>(*)</sup>
GMD	0,285	0,724	0,005	-0,185

<sup>(\*)</sup> Estimativa ± erro padrão

TABELA 3 Estimativas das variâncias fenotípica ( $\hat{\sigma}_{F_2}^2$ ), genética ( $\hat{\sigma}_G^2$ ) e ambiental ( $\hat{\sigma}_E^2$ ); da herdabilidade no sentido amplo ( $h^2$ ) e do grau médio de dominância (GMD), para número de galhas, número de massas de ovos, tamanho médio de galhas e índice de galhas, por sistema radicular, em alface inoculado com misturas de isolados de *Meloidogyne incognita* das raças 1, 2 e 4.

Parâmetro	Número de Galhas	Número de massas de ovos	Tamanho médio de galhas	Índice de galhas
$\overline{P_1}$	106,491	21,214	4,529	492,000
$\overline{P_2}$	19,402	7,293	1,390	29,244
$\overline{F_2}$	75,536	22,030	3,491	230,150
$\hat{\sigma}_{P_1}^2$	780,866	120,287	0,340	20308,435
$\hat{\sigma}_{P_2}^2$	118,441	39,642	0,266	542,804
$\hat{\sigma}_{F_2}^2$	1364,174	204,841	0,775	21901,8351
$\hat{\sigma}_G^2$	1160,927	135,787	0,473	18581,669
$\hat{\sigma}_E^2$	203,243	69,054	0,302	3320,166
$h^2$	0,851	0,663	0,610	0,848
m	62,947	14,254	2,960	260,622
[a]	45,545	6,961	1,570	231,378
[d]	25,179	15,553	-0,251	-60,944
GMD	0,577	2,234	-0,160	-0,263

TABELA 4. . Estimativas das variâncias fenotípica ( $\hat{\sigma}_{F_2}^2$ ), genética ( $\hat{\sigma}_G^2$ ) e ambiental ( $\hat{\sigma}_E^2$ ); da herdabilidade no sentido amplo ( $h^2$ ) e do grau médio de dominância (GMD), para número de galhas, número de massas de ovos, tamanho médio de galhas e índice de galhas, por sistema radicular, em alface inoculado com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 3.

Parâmetro	Número de Galhas	Número de massas de ovos	Tamanho médio de galhas	Índice de galhas
$\bar{P}_1$	119,635	15,212	4,058	507,212
$\bar{P}_2$	27,282	5,962	1,564	45,141
$\bar{F}_2$	77,916	17,635	2,743	233,991
$\hat{\sigma}_{P_1}^2$	3560,119	139,229	0,880	97212,445
$\hat{\sigma}_{P_2}^2$	286,673	28,609	0,327	1292,720
$\hat{\sigma}_{F_2}^2$	2081,84	246,543	1,093	45118,270
$\hat{\sigma}_G^2$	1100,384	183,430	0,557	33908,075
$\hat{\sigma}_E^2$	981,456	63,112	0,536	11210,195
$h^2$	0,529	0,744	0,510	0,752
m	73,459	10,587	2,811	276,177
[ a ]	46,177	4,625	1,247	231,036
[ d ]	8,915	14,096	-0,136	-84,371
GMD	0,193	3,048	-0,109	-0,365

obtiveram valores anômalos (GMD= 2,234 e 3,048, respectivamente, indicativos de sobredominância). Para número de galhas, o GMD apresentou estimativas, que variaram nos diversos ensaios de -0,348 (Tabela 1) a +0,577 (Tabela 3), passando por +0,285 e +0,193 (Tabela 4). Excetuando-se os resultados anômalos já citados, os valores do GMD obtidos para número de massas de ovos variaram de -0,517 (Tabela 1) a +0,724 (Tabela 2). Para tamanho médio de galhas, as estimativas de GMD variaram de -0,160 (Tabela 3) a +0,005 (Tabela 2). Para o índice de galhas, o GMD obteve estimativas de -0,365 (Tabela 4) a -0,185 (Tabela 2). Valores negativos de GMD acima de -1 seriam indicativos de dominância incompleta, no sentido de maior resistência ao nematóide, enquanto que valores positivos abaixo de 1 indicariam dominância incompleta no sentido de maior suscetibilidade. Como as estimativas dos erros associados a [a] e [d], nos ensaios dos itens 3.4, 3.6 e 3.7 não puderam ser obtidas — uma vez que não eram disponíveis graus de liberdade para teste — as estimativas correspondentes dos erros associados aos GMD, nestes ensaios, também não puderam ser determinadas. De qualquer maneira, as estimativas de GMD, para as características mensuradas, parecem oscilar em torno do valor 0 (zero), o que indicaria baixo grau de dominância e, portanto, ação gênica predominantemente aditiva, para a resistência aos nematóides. Nos casos em que os maiores valores de herdabilidade foram estimados (índice de galhas= 0,921, no experimento com raça 1, e índice de galhas= 0,848, no experimento com raças 1, 2 e 4) e, portanto, onde menores foram as influências ambientais, os valores de GMD foram negativos, porém, bem próximos de zero (Tabelas 2 e 3).

**TABELA 5.** Classificação das famílias F<sub>2,3</sub> oriundas do cruzamento Regina-71 x Grand Rapids quanto à resistência a nematóides (mistura de isolados de *M. incognita* das raças 1, 2 e 4), baseada na frequência de plantas com índice de galhas (IG) ≤ 120 na família comparativamente à frequência observada nas linhagens parentais:

Valores de chi-quadrado (com 1 g.l.)  
para comparações ( $\alpha=0,01$ ) da  
frequência de plantas com índice de  
galhas (IG) ≤ 120 com:

Nº da família F <sub>2,3</sub>	cv. Grand Rapids	cv. Regina-71	F <sub>2</sub> (Regina-71 x Grand Rapids)	Classificação
#01	ns	*	*	Homozigota Resistente
#03	*	*	ns	Segregante
#06	*	*	ns	Segregante
#07	*	*	*	Reação inconclusiva
#08	*	*	*	Reação inconclusiva
#11	ns	*	*	Homozigota Resistente
#12	*	*	ns	Segregante
#13	ns	*	*	Homozigota Resistente
#14	ns	*	*	Homozigota Resistente
#15	*	ns	*	Homozigota Suscetível
#17	*	*	ns	Segregante
#18	ns	*	*	Homozigota Resistente
#21	*	*	*	Reação inconclusiva
#22	ns	*	*	Homozigota Resistente
#23	*	ns	*	Homozigota Suscetível
#24	ns	*	*	Homozigota Resistente
#27	*	*	ns	Segregante
#28	ns	*	*	Homozigota Resistente
#29	ns	*	*	Homozigota Resistente
#31	*	*	ns	Segregante
#32	*	*	ns	Segregante
#34	*	*	ns	Segregante
#38	*	*	ns	Segregante
#40	*	*	ns	Segregante
#41	*	*	ns	Segregante
#42	*	*	ns	Segregante

Continua.....

..... continuação

#44	*	ns	*	Homozigota Suscetível
#45	*	*	*	Reação inconclusiva
#46	ns	*	*	Homozigota Resistente
#47	*	ns	*	Homozigota Suscetível
#48	*	ns	*	Homozigota Suscetível
#50	*	ns	*	Homozigota Suscetível
#52	*	*	ns	Segregante
#54	ns	*	*	Homozigota Resistente
#58	ns	*	*	Homozigota Resistente
#59	*	*	ns	Segregante
#61	*	*	ns	Segregante
#62	ns	*	*	Homozigota Resistente
#64	ns	*	*	Homozigota Resistente
#67	*	ns	*	Homozigota Suscetível
#68	*	*	ns	Segregante
#69	*	*	ns	Segregante
#70	*	*	*	Reação inconclusiva
#71	*	*	ns	Segregante
#72	*	*	ns	Segregante
#73	*	*	ns	Segregante
#74	*	*	ns	Segregante

TABELA 6. Teste das hipóteses de herança monogênica e digênica da reação de resistência a mistura de isolados de *M. incognita* das raças 1, 2 e 4 em alface, baseado na classificação de famílias F<sub>3</sub> do cruzamento Regina-71 x Grand Rapids.

Famílias F <sub>2,3</sub>	Hipótese: Herança monogênica		Hipótese: Herança digênica	
	Nº Observado	Nº Esperado	Nº Esperado	
Homozigotas resistentes	14	10,5	2,625	
Segregantes	21	21,0	36,75	
Homozigotas suscetíveis	7	10,5	2,625	
		$\chi^2 = 2,33$ ns	$\chi^2 = 397,34^{**}$	

Todas as características estudadas podem ser consideradas indicadoras adequadas da reação de resistência ao *M. incognita*, como o demonstram os altos valores de herdabilidade no sentido amplo encontrados. O número de galhas é facilmente mensurável, mas não distingue entre os vários tamanhos possíveis de galhas, pois, no caso de plantas com grande número de galhas muito pequenas, o grau de resistência da planta poderia ser subestimado.

O número de massas de ovos requer processo de tratamento com Floxina B, para fácil visualização, o que pode ser inconveniente, quando um grande número de plantas for testado. O tamanho médio de galhas é também facilmente avaliado, através da escala proposta, mas desconsidera o número das galhas. Já o índice de galhas leva em conta, tanto o número, quanto o tamanho médio das galhas, além de ser de fácil mensuração e de, a ele, estarem associadas as maiores estimativas obtidas de herdabilidade (Tabelas 2, 3 e 4), portanto, esse caráter mostra-se o mais apropriado, para a avaliação da resistência ao *M. incognita* em alface.

#### **4.2 Testes da hipótese de herança monogênica da resistência do cultivar Grand Rapids de alface ao *M. incognita* nas gerações parentais, F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>**

Os altos valores obtidos para as herdabilidades estimadas (Tabelas 1, 2, 3, 4), que em alguns casos se aproximam de 1 (Tabela 2), podem ser indicativos de que a resistência a *M. incognita*, presente no cultivar de alface Grand Rapids, seja controlada por apenas um loco gênico. Contudo, para nenhuma das raças, ou misturas de raças estudadas, as distribuições de frequências do número de galhas, do número de massas de ovos, do tamanho de galhas e do índice de galhas não evidenciam, *per se*, a presença de um único loco gênico, no controle da resistência ao nematóide (Figuras 1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16 e 17), embora demonstrem claramente, as diferenças existentes entre as linhagens parentais quanto à reação de resistência. A classificação de fenótipos, em classes

discretas (resistente/ suscetível) não pode ser claramente feita, em virtude da natureza contínua dos caracteres estudados. Em muitos casos, houve classes fenotípicas comuns, tanto ao cultivar suscetível Regina-71, quanto ao cultivar resistente Grand Rapids (Figuras 1, 2, 5, 10, 11, 12, 14, 15, 16 e 17), embora em todos esses casos as frequências correspondentes tenham sido contrastantes. A ação gênica, predominantemente aditiva, em adição à natureza contínua dos caracteres estudados, também contribui para dificultar a classificação das plantas em classes discretas.

As distribuições fenotípicas encontradas podem, no entanto, ser explicadas pela presença de um único loco gênico, no controle da resistência ao nematóide. Nas simulações aplicadas aos dados do ensaio preliminar, com a raça 3 de *M. incognita* (Figura 3), as distribuições do número de galhas são coerentes com a segregação de um loco gênico, dentro da faixa de graus médios de dominância (GMD), entre  $-0,50$  e  $-0,10$  aproximadamente, uma vez que, dentro destes, limites o valor de  $\chi^2$  encontrado após as simulações foi inferior ao do nível  $\alpha=0,05$ . De modo análogo, a presença de um único loco gênico, no controle do caráter, pode também ser constatada para o número de massas de ovos, dentro da faixa de graus médios de dominância, que vai de  $-0,60$  a  $+0,10$ , aproximadamente. Resultados semelhantes foram encontrados, para as inoculações feitas com a raça 1 (Figura 8): a hipótese de herança monogênica é aceita dentro da faixa de graus médios de dominância, entre  $-0,20$  e  $+0,10$ , aproximadamente, para o número de galhas, entre  $0,00$  e  $>+1,00$ , para o número de massas de ovos, entre  $-0,25$  e  $-0,05$ , para o tamanho médio de galhas e entre  $-0,50$  e  $+0,20$  para o índice de galhas. Similarmente, com inóculo correspondente à mistura de raças 1, 2 e 4, a hipótese de herança monogênica foi aceita (Figura 13) dentro da faixa de graus médios de dominância entre, aproximadamente  $+0,20$  e  $>+1,00$ , para o número de galhas, entre  $-0,30$  e  $+0,10$ , para o tamanho médio de galhas e entre  $-0,25$  e  $>+1,00$ , para o índice de galhas.

Apenas para o número de massas de ovos, a faixa de aceitação da hipótese de herança monogênica compreendeu valores superiores de grau médio de dominância ( $>1,00$ ). No segundo ensaio com a raça 3 (item 3.7), a hipótese de herança monogênica foi aceita dentro da faixa de graus médios de dominância, entre aproximadamente  $+0,50$  e  $>+1,00$ , para o número de galhas, entre  $+0,70$  e  $>+1,00$ , para o número de massas de ovos, entre  $<-1,00$  e  $-0,60$ , para o tamanho médio de galhas e entre  $-0,30$  e  $+0,70$  para o índice de galhas.

Na maioria dos casos, as estimativas pontuais dos graus médios de dominância (Tabelas 1, 2, 3 e 4) estiveram compreendidos dentro da faixa de aceitação, da hipótese de controle monogênico da resistência (Figuras 3, 8, 13 e 18), exceção feita, no segundo experimento com a raça 3 (Figura 18), no tocante ao número de galhas e tamanho médio de galhas. Também, na maioria dos casos — exceção feita para massas de ovos, no experimento com mistura de raças 1, 2 e 4 e no segundo experimento com a raça 3 — as faixas de GMD, onde a herança monogênica é capaz de explicar os dados obtidos, incluem sempre valores de GMD, inferiores a 1,00 (e frequentemente inferiores a 0,50) em valor absoluto, indicativos de dominância incompleta. Na característica índice de galhas — considerada a mais adequada para a avaliação da resistência — as faixas de GMD, dentro das quais, a hipótese de herança monogênica é aceita, incluem sempre valores próximos de 0,00 (Figuras 8, 13 e 18). Esses resultados reforçam a hipótese de que a resistência a *M. incognita*, encontrada na alface cv. Grand Rapids, é controlada por um loco gênico apenas, com ação gênica predominantemente aditiva.

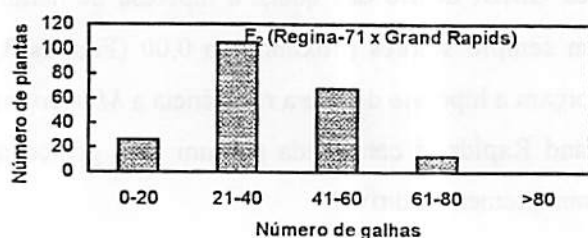
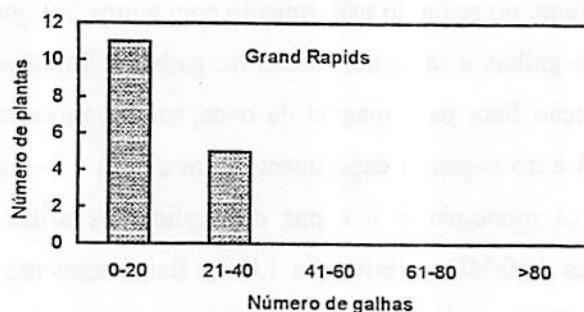
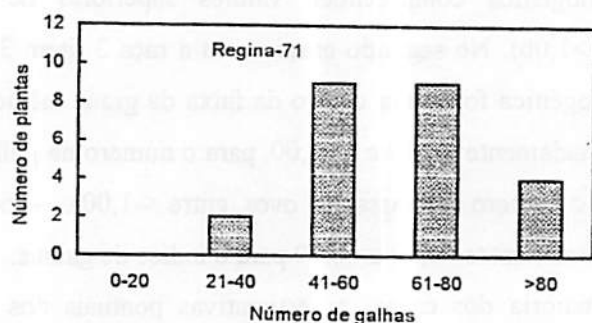


FIGURA 1. Distribuições de frequências do número de galhas por sistema radicular em plantas de alface das cultivares Regina-71, Grand Rapids e na população F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 3 (ensaio preliminar).

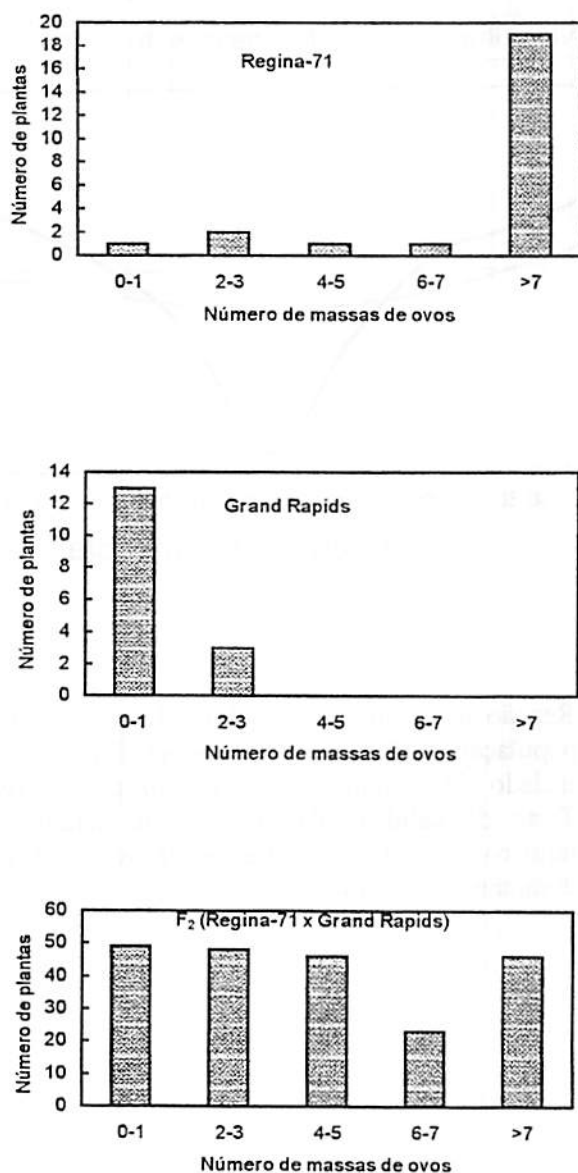


FIGURA 2. Distribuições de frequências do número de massas de ovos por sistema radicular em plantas de alface das cultivares Regina-71, Grand Rapids e na população F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 3 (ensaio preliminar).



### Reação ao *Meloidogyne incognita* raça 3

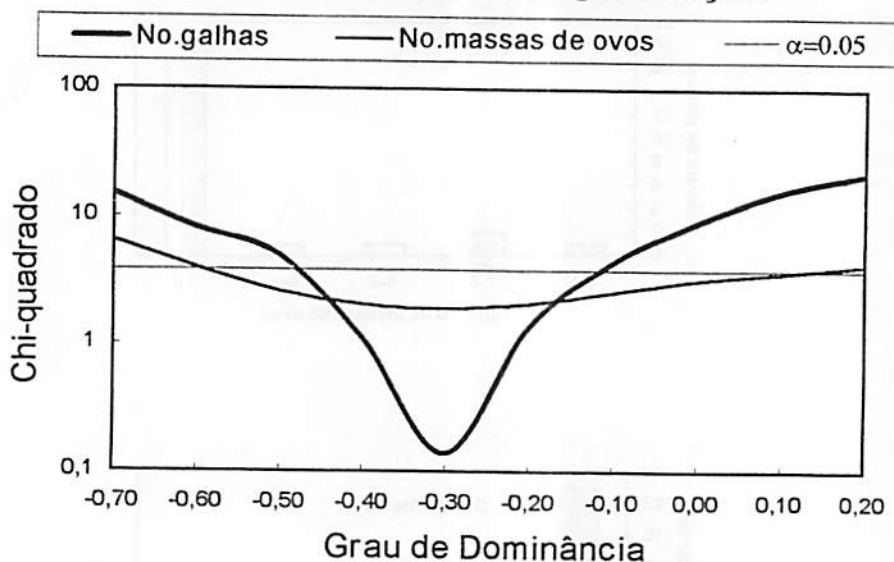


FIGURA 3. Reação das cultivares de alface Regina-71, Grand Rapids e da população  $F_2$ (Regina-71 x Grand Rapids) à inoculação com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 3 (ensaio preliminar): Teste de validade da hipótese de herança monogênica para número de galhas e de massas de ovos, sob diferentes graus de dominância presumidos.

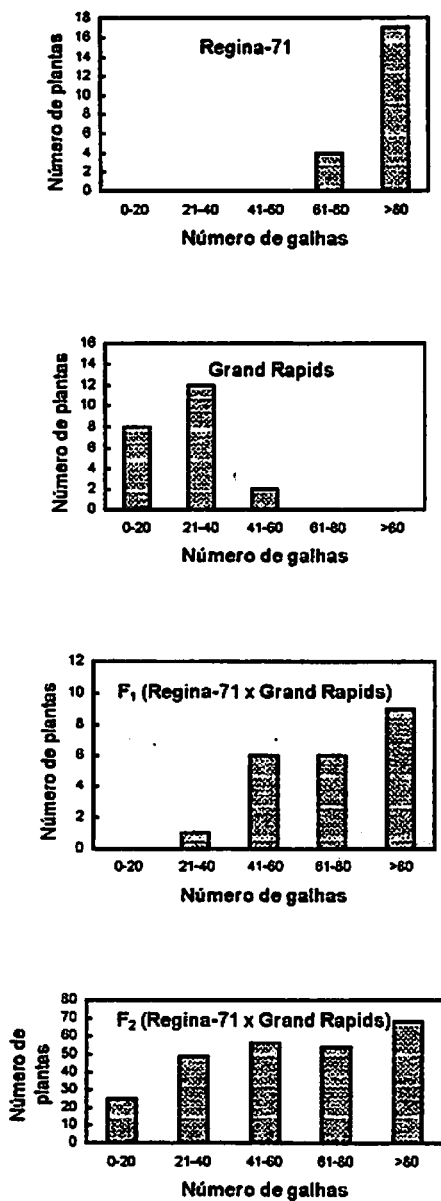


FIGURA 4. Distribuições de frequências do número de galhas por sistema radicular em plantas de alfaca das cultivares Regina-71, Grand Rapids e nas populações F<sub>1</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) e F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 1.

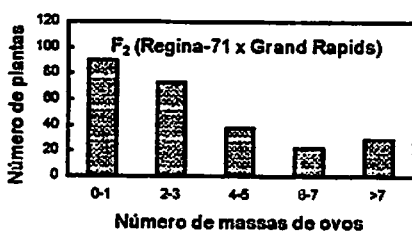
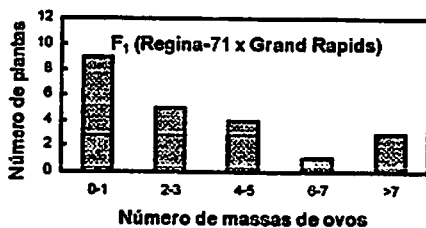
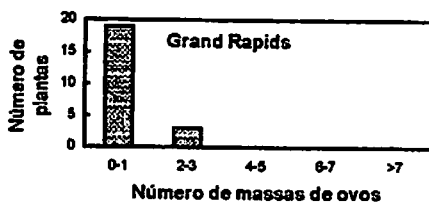
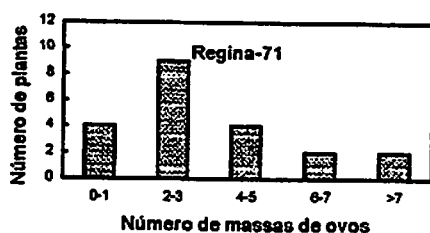


FIGURA 5. Distribuições de frequências do número de massas de ovos por sistema radicular em plantas de alface das cultivares Regina-71, Grand Rapids e nas populações F<sub>1</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) e F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 1.

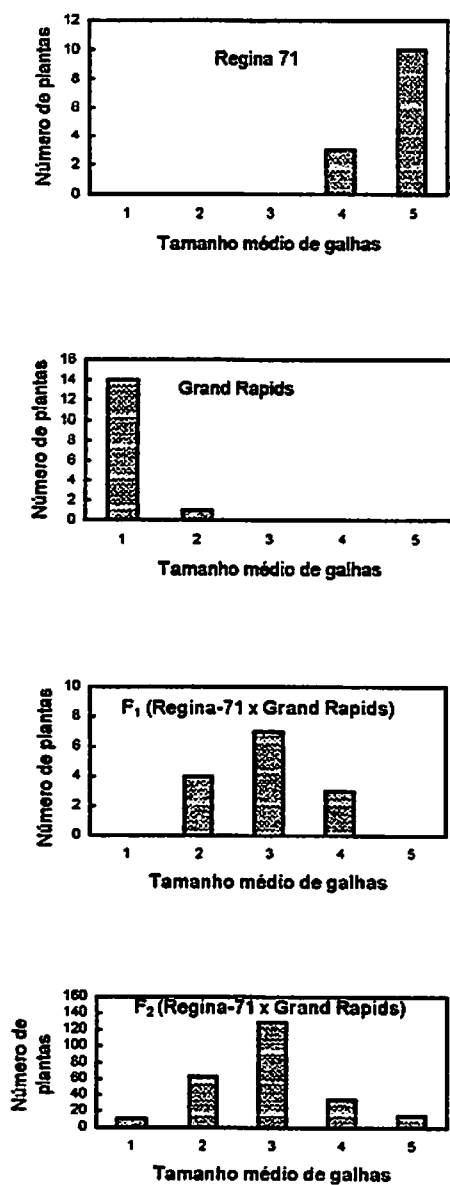


FIGURA 6. Distribuições de frequências das notas referentes ao tamanho médio de galhas em plantas de alface das cultivares Regina-71, Grand Rapids e nas populações F<sub>1</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) e F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 1.

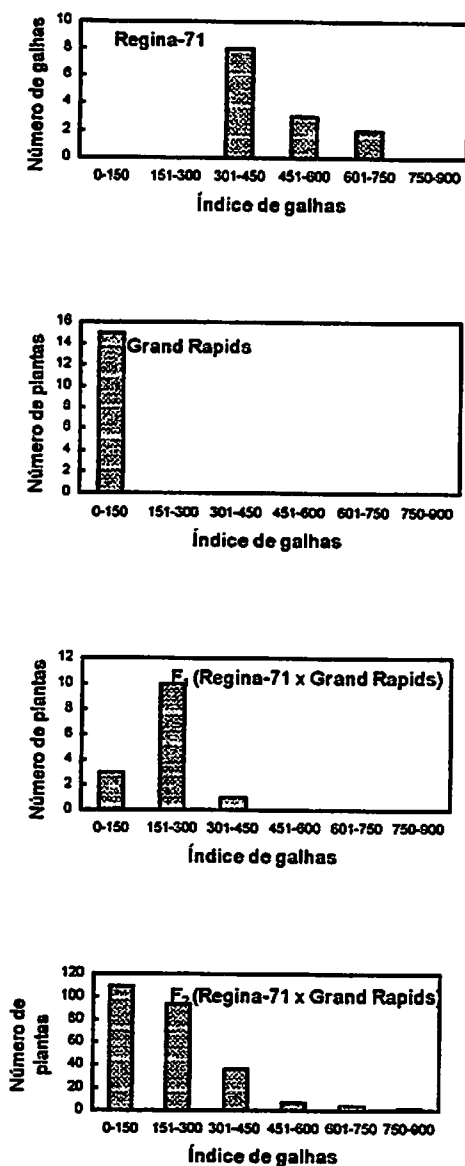
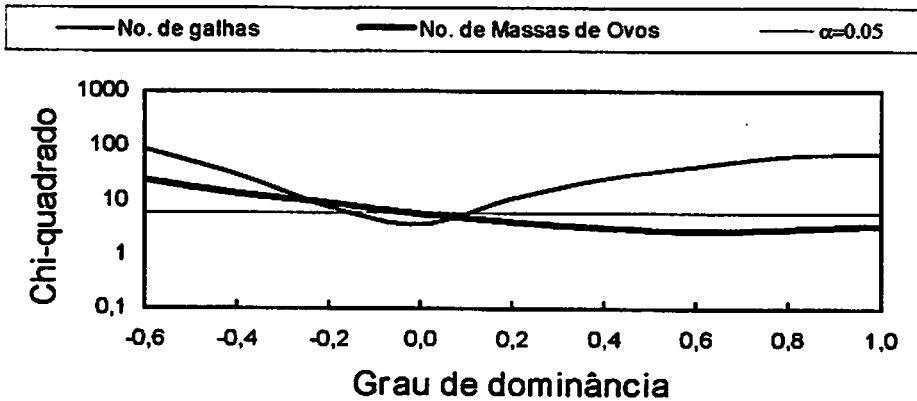


FIGURA 7. Distribuições de frequências dos índices de galhas (IG) em plantas de alfaca das cultivares Regina-71, Grand Rapids e nas populações F<sub>1</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) e F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 1.

### Reação ao *Meloidogyne incognita* raça 1



### Reação ao *Meloidogyne incognita* raça 1

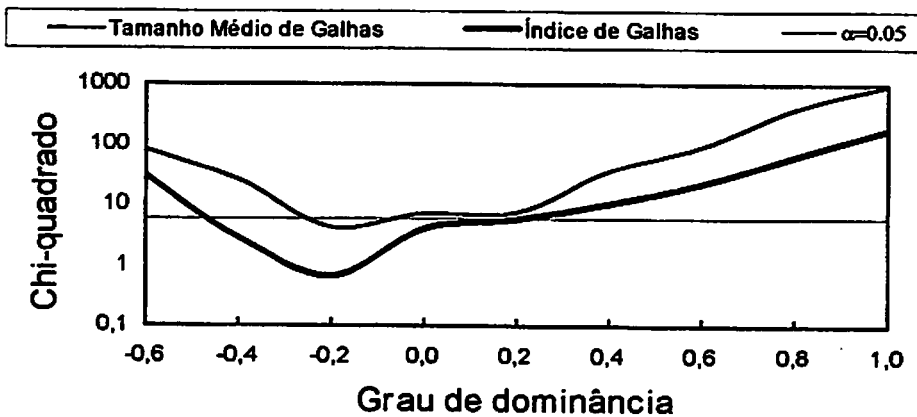


FIGURA 8. Reação das cultivares de alface Regina-71, Grand Rapids e das populações  $F_1$ (Regina-71 x Grand Rapids) e  $F_2$ (Regina-71 x Grand Rapids) à inoculação com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 1: Teste de validade da hipótese de herança monogênica, sob diferentes graus de dominância presumidos, para número de galhas, número de massas de ovos, tamanho médio de galhas e índice de galhas.

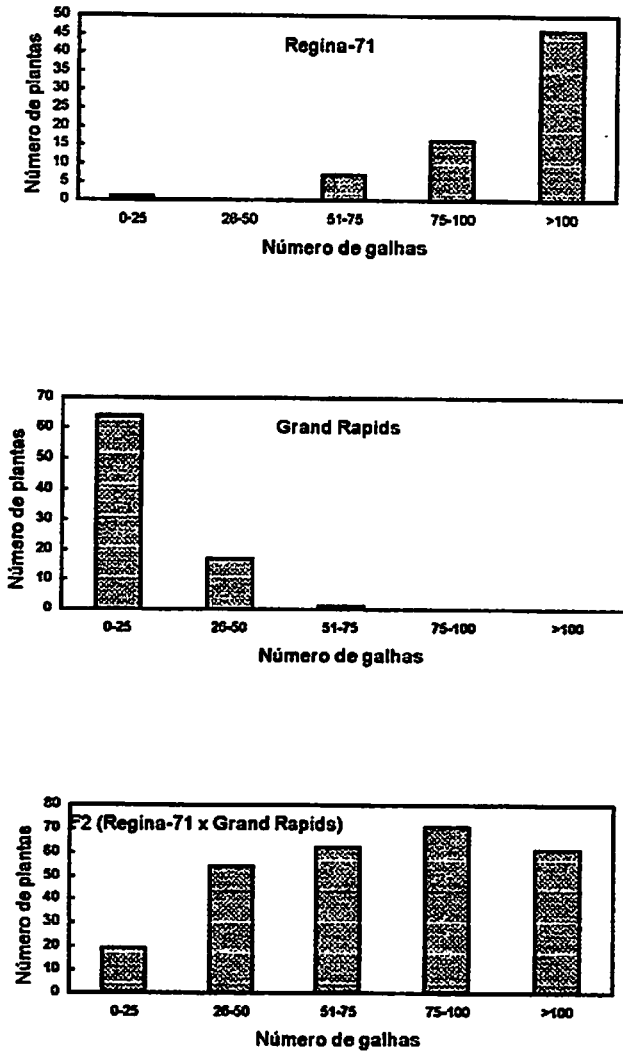


FIGURA 9. Distribuições de frequências do número de galhas por sistema radicular em plantas de alface das cultivares Regina-71, Grand Rapids e na população F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com misturas de isolados de *Meloidogyne incognita* das raças 1, 2 e 4.

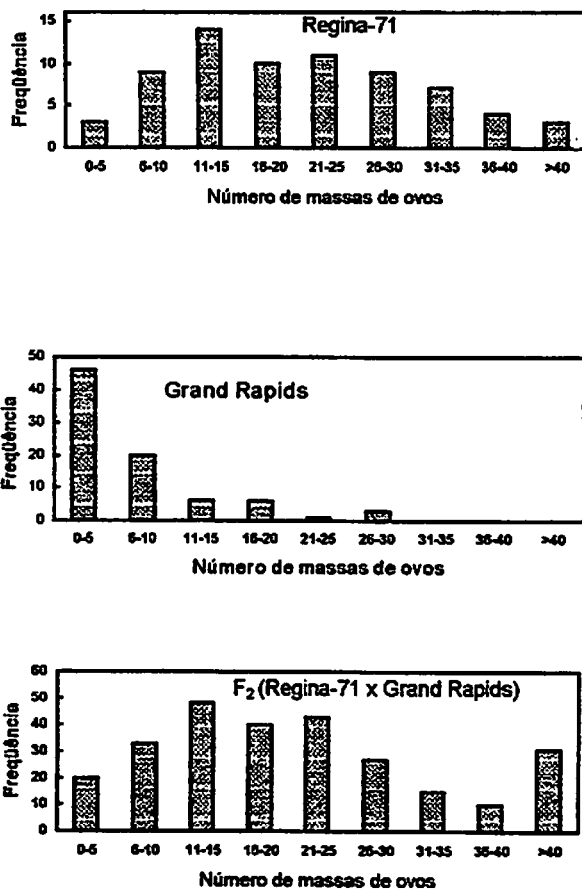


FIGURA 10. Distribuições de frequências do número de massas de ovos por sistema radicular em plantas de alface das cultivares Regina-71, Grand Rapids e na população F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com misturas de isolados de *Meloidogyne incognita* das raças 1, 2 e 4.

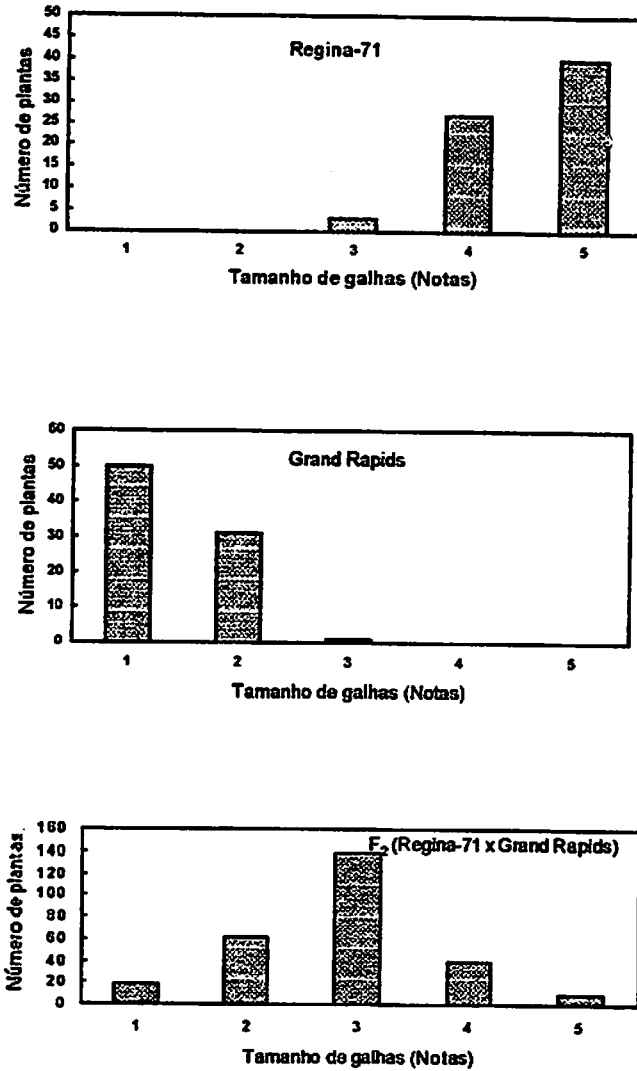


FIGURA 11. Distribuições de frequências das notas referentes ao tamanho médio de galhas em plantas de alface das cultivares Regina-71, Grand Rapids e na população F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com misturas de isolados de *Meloidogyne incognita* das raças 1, 2 e 4.

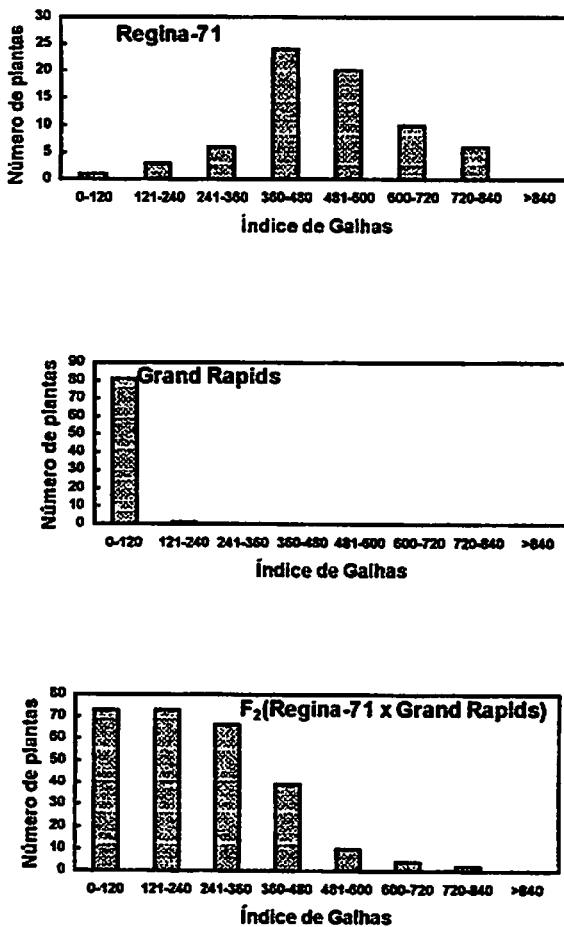
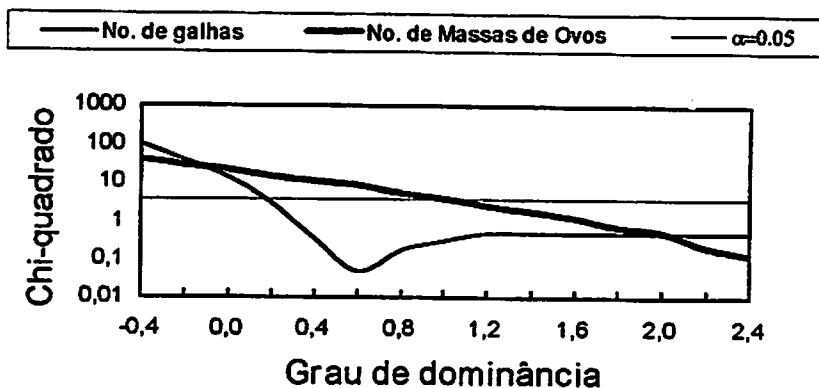


FIGURA 12. Distribuições de frequências dos índices de galhas (IG) em plantas de alface das cultivares Regina-71, Grand Rapids e na população F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com misturas de isolados de *Meloidogyne incognita* das raças 1, 2 e 4.

Resistência a *Meloidogyne incognita*  
raças 1, 2 e 4



Resistência a *Meloidogyne incognita*  
raças 1, 2 e 4

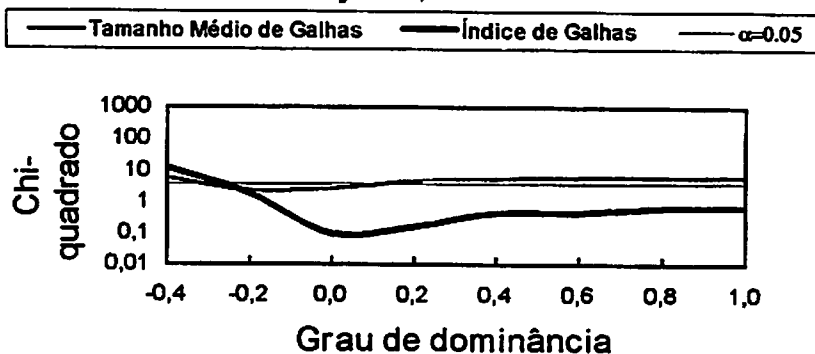


FIGURA 13. Reação das cultivares de alface Regina-71, Grand Rapids e na população  $F_2$  (Regina-71 x Grand Rapids) à inoculação com misturas de isolados de *Meloidogyne incognita* das raças 1, 2 e 4: Teste de validade da hipótese de herança monogênica, sob diferentes graus de dominância presumidos, para número de galhas, número de massas de ovos, tamanho médio de galhas e índice de galhas.

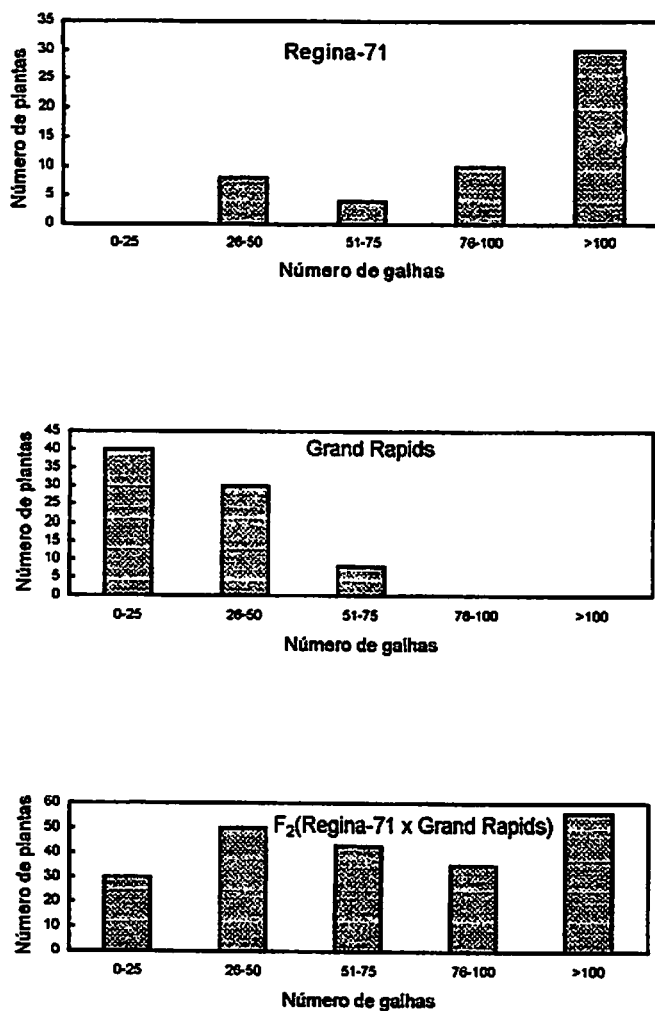


FIGURA 14. Distribuições de frequências do número de galhas por sistema radicular em plantas de alface das cultivares Regina-71, Grand Rapids e na população F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 3.

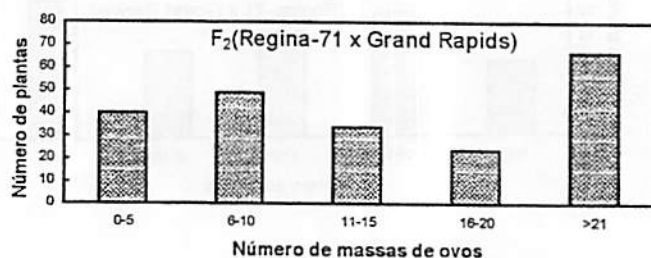
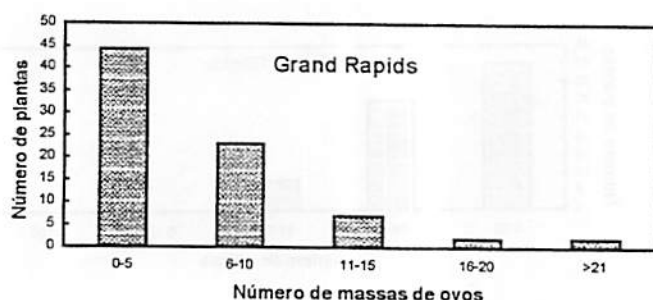
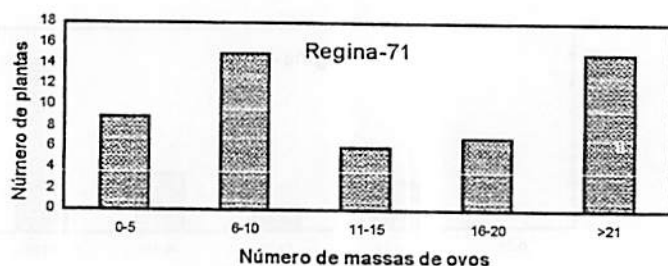


FIGURA 15. Distribuições de frequências do número de massas de ovos por sistema radicular em plantas de alface das cultivares Regina-71, Grand Rapids e na população F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 3.

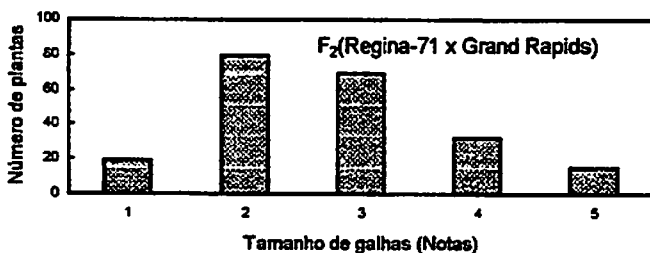
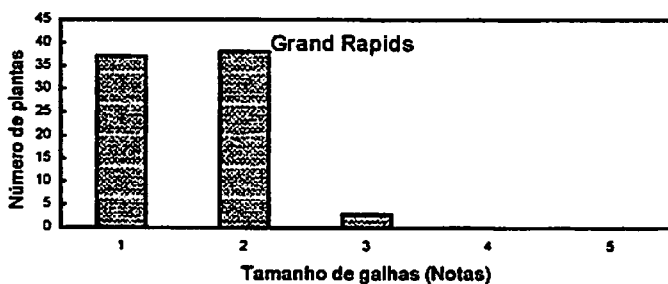
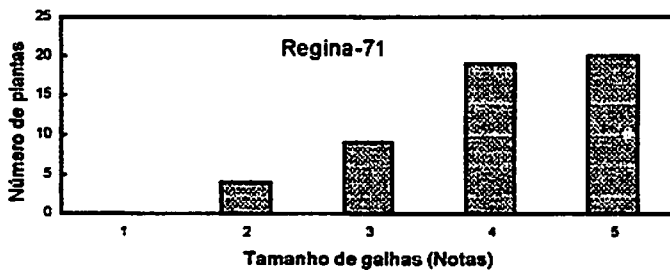


FIGURA 16. Distribuições de frequências das notas referentes ao tamanho médio de galhas em plantas de alface das cultivares Regina-71, Grand Rapids e na população F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 3.

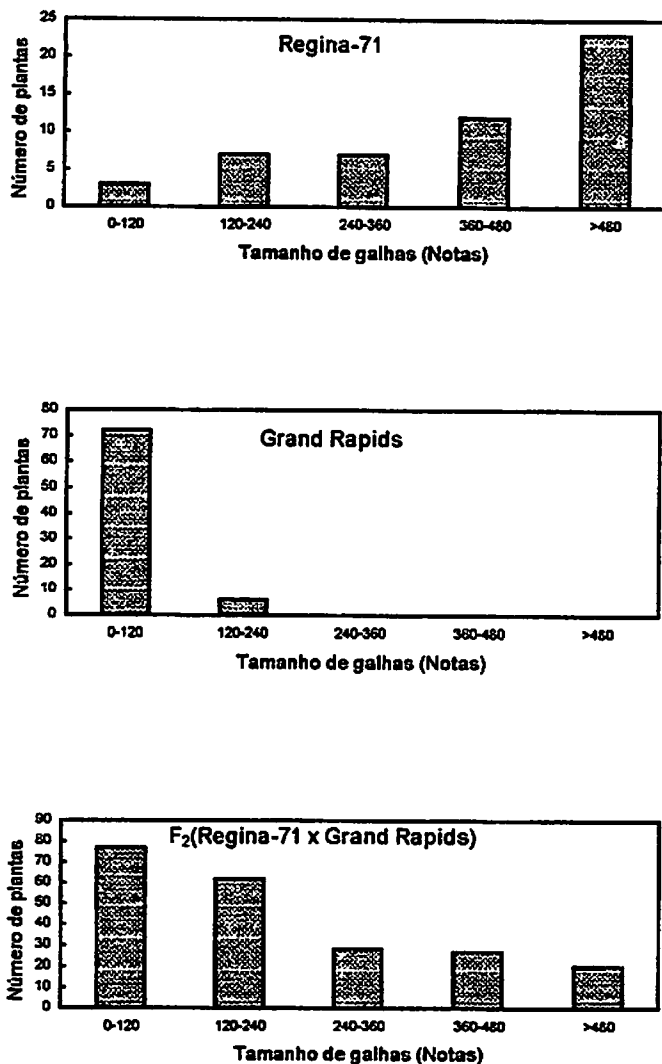
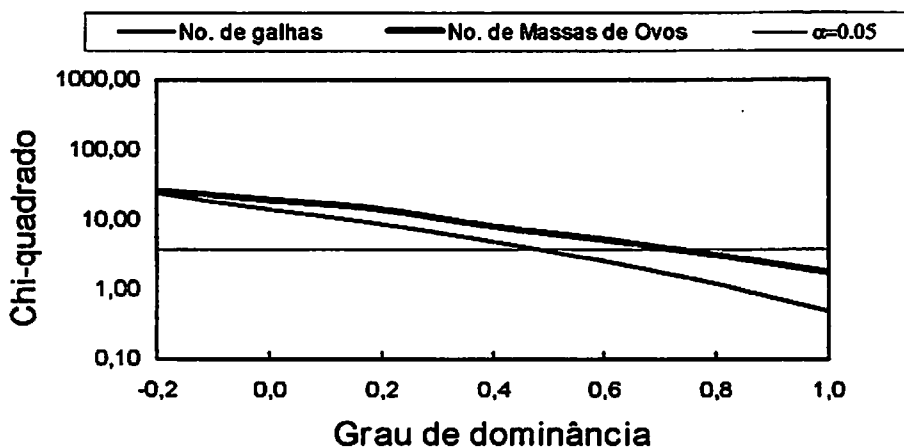


FIGURA 17. Distribuições de frequências dos índices de galhas (IG) em plantas de alface das cultivares Regina-71, Grand Rapids e na população F<sub>2</sub>(Regina-71 x Grand Rapids) inoculadas com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 3.

### Resistência a *Meloidogyne incognita* raça 3



### Resistência a *Meloidogyne incognita* raça 3

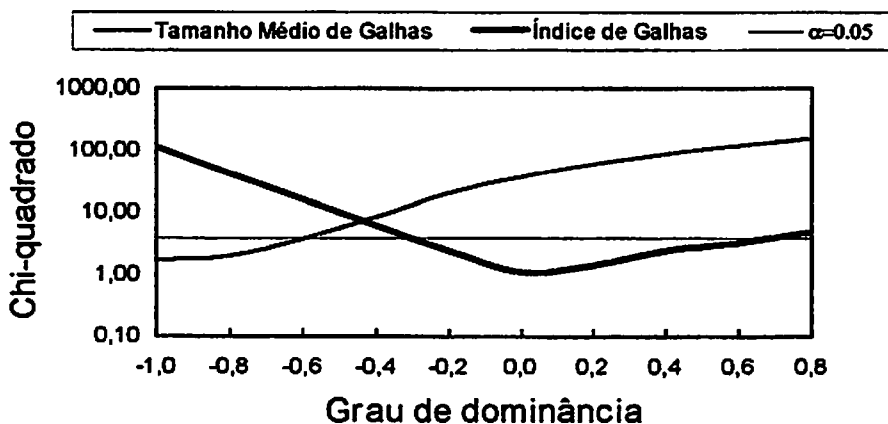


FIGURA 18. Reação das cultivares de alface Regina-71, Grand Rapids e na população  $F_2$ (Regina-71 x Grand Rapids) à inoculação com isolado de *Meloidogyne incognita* raça 3: Teste de validade da hipótese de herança monogênica, sob diferentes graus de dominância presumidos, para número de galhas, número de massas de ovos, tamanho médio de galhas e índice de galhas.

Os experimentos realizados evidenciam que, um único loco gênico, ou pelo menos um único segmento cromossômico, seja responsável pela resistência às diferentes raças de *M. incognita* aqui testadas. Se tal fato não fosse verdadeiro, uma vez que a herança monogênica foi aceita, para a resistência à raça 1, os resultados encontrados para a mistura de raças 1, 2 e 4, não deveriam ser compatíveis com esta hipótese, ao contrário do que aconteceu. Fica, no entanto, por ser demonstrado que o gene envolvido na resistência à raça 3 é o mesmo envolvido no controle da resistência às raças 1, 2 e 4.

#### 4.3 Avaliação de famílias F<sub>3</sub> e teste da hipótese de herança monogênica

Das 47 famílias F<sub>3</sub> avaliadas quanto à resistência à mistura de isolados das raças 1, 2 e 4 de *M. incognita*, 5 tiveram reações consideradas inconclusivas, por não se poder identificar com precisão, em qual das três classes (Homozigota Resistente/ Homozigota Suscetível/ Segregante) poderiam ser incluídas (Tabela 5). Das demais 42 famílias, 21, foram classificadas como segregantes; 14, como homozigotas resistentes e 7, como homozigotas suscetíveis (Tabelas 5 e 6). Tal proporção de genótipos homozigotos, somente pode ser explicada pela existência de um único loco gênico, no controle da resistência, conforme demonstra o valor não significativo do  $\chi^2$ , obtido no teste da hipótese correspondente (Tabela 6): as proporções não podem ser explicadas pela presença de mais de um loco gênico.

A avaliação das reações de resistência aos nematóides, encontradas no conjunto de famílias F<sub>3</sub>, confirmam as conclusões dos experimentos, onde foram estudadas as distribuições de classes fenotípicas das gerações parentais P<sub>1</sub> (=Regina-71), P<sub>2</sub> (=Grand Rapids), F<sub>1</sub> (Regina-71 x Grand Rapids) e F<sub>2</sub> (Regina-71 x Grand Rapids). Em todos os casos, foram constatadas fortes evidências da presença de um único loco gênico, no controle da reação de resistência aos nematóides do cultivar Grand Rapids.

#### 4.4. Considerações gerais

Os experimentos demonstram a existência de um loco gênico, responsável pelo controle da resistência ao nematóide de galhas *M. incognita*, do cultivar de alface Grand Rapids. O alelo responsável pela reação de resistência tem ação gênica predominantemente aditiva. Sua penetrância, nem sempre é completa para as variáveis estudadas e esse fato pode resultar em classes fenotípicas comuns, tanto ao cultivar suscetível Regina-71, quanto ao cultivar resistente Grand Rapids (Figuras 1, 2, 5, 10, 11, 12). Igualmente, a expressividade do caráter, pode variar para algumas características, o que resulta em várias classes fenotípicas diferentes, para plantas de mesmo genótipo dentro de cada cultivar parental.

As altas herdabilidades no sentido amplo obtidas, e a presumível predominância dos efeitos gênicos aditivos indicam que a herdabilidade no sentido restrito, para as características estudadas também é alta — uma situação extremamente favorável para seleção, a despeito da penetrância incompleta dessas características. A alface é uma espécie autógama por excelência onde a tecnologia para obtenção de sementes híbridas, em escala comercial, não é disponível, de maneira que, o objetivo último do melhoramento genético é a obtenção de linhas puras. As altas herdabilidades e a ação gênica devem, pois, favorecer a seleção de plantas resistentes homozigóticas, que deverão apresentar valores bem baixos de número de galhas, massas de ovos, tamanho e índice de galhas, contrastando com as plantas heterozigotas (com valores intermediários) e com as homozigotas suscetíveis (com valores altos para essas características).

Tem sido raro na literatura, relatos de resistência aos nematóides do gênero *Meloidogyne* em alface. Ryder (1986), num trabalho bastante exaustivo sobre a genética e o melhoramento da alface, nada relata sobre fontes de resistência aos nematóides de galhas. Kaloo (1988), numa extensa revisão sobre fontes de resistência a *Meloidogyne* em espécies de hortaliças, não faz referência

à sua existência em alface. Uma avaliação recente (McGuire *et al.*, 1993) das coleções de germoplasma de alface, do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) e da Universidade da Califórnia, igualmente não faz referência a fontes de resistência ao *Meloidogyne*. Aparentemente, um dos poucos trabalhos relatados sobre fontes de resistência aos nematóides em alface é o de Charchar (1991), posteriormente, confirmado por Gomes *et al.* (1996), Charchar e Moita (1996), e mais recentemente por Mendes (1998), onde ficou clara a resistência encontrada no cultivar Grand Rapids. Não foram estudados nesses trabalhos, no entanto, o modo de herança da resistência aos nematóides nesse cultivar.

O presente trabalho representa, pois, o primeiro relato do modo de herança da resistência a nematóides na cultura da alface. Em virtude disso, propõe-se preliminarmente, a denominação *Me*, para o alelo, que confere ao cultivar Grand Rapids sua resistência a *M. incognita*.

## 5 CONCLUSÕES

- 1) O cultivar Grand Rapids de alface é resistente a uma gama de raças (1, 2, 3 e 4) do nematóide de galhas *Meloidogyne incognita*, as quais o cultivar Regina-71, por sua vez, é suscetível.
- 2) As herdabilidades das características relacionadas à resistência à *M. incognita* — número de galhas, número de massas de ovos, tamanho de galhas e índice de galhas — foram em geral altas, da ordem de 0,50 ou superior para todas as raças e/ou combinações de raças de nematóides avaliadas.
- 3) A resistência do cultivar Grand Rapids às várias raças de *M. incognita* é controlada por um loco gênico, onde o alelo que controla a resistência tem ação gênica predominantemente aditiva e pode ter penetrância incompleta e expressividade variável.
- 4) Ao alelo, que controla a resistência do cv. Grand Rapids de alface ao *M. incognita* foi atribuída a denominação *Me*.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 3. ed. San Diego: Academic Press, 1988. 803p.
- AZEVEDO, S.M. **Avaliação de famílias de meio-irmãos de batata-doce (*Ipomoea batata* L. LAM.) quanto à resistência aos nematóides do gênero *Meloidogyne* e insetos do solo**. Lavras: UFLA, 1995. 61p. (Dissertação – Mestrado em Fitotecnia)
- BAILEY, D.M. **The seedling test method for root knot nematode resistance**. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*. Alexandria, v. 38, p.573-575, 1941.
- BONETI, S.I. da S. **Inter-relacionamento de micronutrientes como parasitismo de *Meloidogyne exigua* em mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. Viçosa: UFV, 1981. 74p. (Tese – Mestrado em Fitopatologia)
- BRAHAM, W.S.; WINSTEAD, N.N. **Inheritance of resistance to root-knot nematodes**. *Report of the Tomato Genetics Cooperative*, W. Lafayette, v.7, p.3, 1957.
- CAMPOS, V.P. **Doenças causadas por nematóides em alcachofra, alface, chicória, morango e quiabo**. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.17, n.182, p.21-28, fev. 1985.

CARVALHO, J. W. A. **Obtenção de linhagens de tomateiro de crescimento determinado com resistência combinada a nematóides de galhas e a tospovirus.** Lavras: UFLA, 1996. 45p. (Dissertação – Mestrado em Fitossanidade).

CHARCHAR, J.M. Comportamento de cultivares de alface à infecção por nematóides de galhas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.9, n.1,p. 35, 1991.

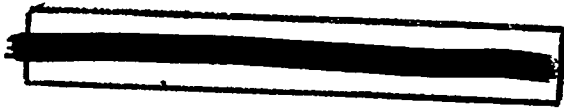
CHARCHAR, J.M.; MOITA, A.W. Reação de cultivares de alface à infecção por misturas populacionais de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em condições de campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.14, n.2, p.185-189, nov., 1996.

COSTA, C.P.; SILVA, N.D.A. Melhoramento da alface para resistência múltipla ao calor e ao mosaico. **Revista de Olericultura**, v.15, p.26-27, 1976.

DIAS, M.S. Melhoramento de alface. In: **Curso de Hortaliças**. Viçosa: Universidade Rural do Estado de Minas Gerais, v. 10, n.3, p.454-458, 1969.

FILGUEIRA, F.A.R. **Manual de Olericultura: cultura e comercialização de hortaliças**, 2. ed. São Paulo: Ceres, 1982.

GILBERT, J.C.; McGUIRE, D.C. Inheritance of resistance to severe root-knot from *Meloidogyne incognita* in commercial type tomatoes. **Proceedings of the American Society Horticultural Science**, Ithaca, v.68, p.437-442, 1956.

- 
- GOMES, L.A.A.; MENDES, W.P.; MALUF, W.R.; AZEVEDO, S.M.; FREITAS, J.A. & MORETTO, P. Resistência de cultivares de alface à infecção por *Meloidogyne incognita* (raças 1, 2 e 3). **Horticultura Brasileira**, v.14, n.1, p.87, 1996.
- HARE, W.W. Resistance in pepper to *Meloidogyne incognita* acrita. **Phytopathology**, St. Paul, v.46, p.98-100, 1956.
- HARE, W.W. Inheritance of resistance to root-knot nematodes in pepper. **Phytopathology**, St. Paul, v.47, p.455-459, 1957.
- HENDY, H.; POCHARD, E.; DALMASSO, A. Identification de deux nouvelles souches de resistência aux nématodes du genre *Meloidogyne* chez le piment, *Capsicum annum* L. **Comptes Rendus des Séances de l'Académie d'Agriculture de France**, Antibes, v.69, n.11, p.817-822, 1983.
- HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. A comparison of methods collecting inocula of *Meloidogyne* spp including a new technique. **Plant Disease Report**, Washington, v.57, n.12, p.1025-1028, Dec. 1973.
- JAEHN, A. Efeito da temperatura na biologia de três raças de *Meloidogyne incognita* em cafeeiro (*Coffea arabica* L.) e estimativas do número de gerações para o Estado de São Paulo. Piracicaba: ESALQ, 1989. 101p. (Tese - Doutorado em Entomologia)
- KALOO, D. **Vegetable breeding -volume II**. CRC Press, Boca Raton, 213p. 1988.

KUROSAWA, C. Controle integrado de doenças em culturas de importância econômica. *Summa Phytopathologica*, v.21, n.1, p.62-4, 1995.

LORDELLO, L.G.E. *Nematóides das plantas cultivadas*. 8. ed. São Paulo: Nobel, 1988. 314p.

LORDELLO, L.G.E. Contribuição ao conhecimento dos nematóides que causam galhas em raízes de plantas em São Paulo e Estados vizinhos. *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"*, Piracicaba, v.21, p.181-218, 1964.

MALUF, W.R. Resistência a nematóides de galhas *Meloidogyne* spp. em espécies olerícolas. In: ZAMBOLIN, L.; RIBEIRO-DO-VALE, F.X. (eds.). *Resistência de Plantas a Doenças. Fitopatologia Brasileira / Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 30., Palestras*. p.57-63. 1997.

MATHER, K. & JINKS, J. L. *Introduction to Biometrical Genetics*. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY. 1977. 237p.

McGUIRE, P.E.; RYDER, E.C.; MICHELMORE, R.W.; CLARK, R.L.; ANTLE, R.; EMERY, G.; HANNAN, R.M.; KESSELI, R.V.; KURTZ, E.A.; OCHOA, O.; RUBATZKY, V.E.; WAYCOTT, W. Genetic resources of lettuce and *Lactuca* species in California- an assessment of the USDA and UC collections and recommendations for long-term security. *Genetic Resources Conservation Program, Division of Agriculture and Natural Resources, University of California, Davis, California. Report No. 12*. 40 p. 1993.

- MENDES, W.P. Hospedabilidade e resistência de cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.) aos nematóides das galhas *Meloidogyne incognita* (raças 1, 3 e 4) e *Meloidogyne javanica*. Lavras: UFLA, 1998. 43p. (Dissertação – Mestrado em Fitotecnia).
- NAGAI, H. Alface tipo manteiga. In: FURLANI, A.M.C.; VIÉGAS, G.P. (eds.). **O melhoramento de plantas no Instituto Agronômico**. Campinas: Instituto Agronômico, p.204-221, 1993.
- NAGAI, H. Obtenção de novas cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.) resistentes ao mosaico e ao calor. Brasil 303 e 311. **Revista de Olericultura**, v.18, p.14-21, 1980.
- NAGAI, H. Obtenção de novas cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.) resistentes ao mosaico e ao calor. **Revista de Olericultura**, v.13, p.27-28, 1979.
- NAGAI, H.; LISBÃO, R.S. Observação sobre resistência ao calor em alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista de Olericultura**, v.18, p.7-13, 1980.
- RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; ZIMMERMANN, M.G. **Genética Quantitativa em plantas autógamas; aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: UFG, 1993.271p.
- ROBINSON, R.W.; McCREIGHT, J.D.; RYDER, E.W. The genes of lettuce and closely related species. **Plant Breeding Reviews**, New York, Vol. 1, p.267-293, 1983.

- ROWE, K.E.; ALEXANDER, W.L. Computation for estimating the genetic parameters in joint-scoling tests. *Crop Science*, Madison, n.1, v.20 p.109-110, jan. 1980
- RYDER, E.J. Lettuce breeding. In: BASSET, M. (ed.). *Breeding Vegetable Crops*. AVI Publishing Co., Westport, p. 433- 474, 1986.
- RYDER, J.E. Linkage and inheritance in Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of the American Society Horticultural Science*, Alexandria, n.100, v.4, p.346-349, 1975.
- SANTOS, H.S. Efeito de sistemas de manejo do solo e de métodos de plantio na produção de alface (*Lactuca sativa* L.) em abrigo com solo naturalmente infestado com *Meloidogyne javanica*. Lavras: UFLA, 1995. 88p. (Tese – Doutorado em Fitotecnia).
- SASSER, J.N. Economic importance of *Meloidogyne* in tropical countries. In: LAMBERTI, F.; TAYLOR, C.E. (eds.) *Root-knot nematode (Meloidogyne species). Systematics, biology and control*. New York, Academic, 1979. p.359-374.
- SASSER, J.N.; FRECKMAN, D.W. A world perspective on nematology: The role of the Society. In: VEEDH, J.A.; DICKSON, W.D. (eds.). *Vistas on nematology*, Maryland: Society of Nematologists, 1987. p.7-14.
- SMITH, P.G. Embryoculture of a tomato species hybrid. *Proceeding of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.44, p.413-416, 1944.

- SOUZA SOBRINHO, F.D.E. Herança da reação de resistência à raça 2 de *Meloidogyne incognita* na pimenta *Capsicum annuum* L. cv. Carolina Cayenne. Lavras: UFLA, 1998. 57p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de plantas).
- TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp). Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1978, 111p.
- THOMPSON, R.C. Lettuce varieties an culture. Washington: USDA. Farmer's Bulletin, n.1953, 38p. 1944.
- VIDA, J.B. Manejo de doenças em cultivo protegido. In: Encontro de Hortaliça, 9, Encontro de Plasticultura da Região Sul, 6, 1994, Maringá. Anais... Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 1995. p.25-34.
- VIGGIANO, J. Produção de sementes de alface. In: CASTELLANE, P.D. (ed.). Produção de sementes de hortaliça. Jaboticabal FCAV/FUNEP, 1990. p.1-15.
- WHITAKER, T.W.; RYDER, E.J. Lettuce production in the United States. USDA, Washington Agriculture Handbook, n.221, 43p. 1974.
- ZAMORA, E.; BOSLAND, P.W.; THOMAS, S. 'Carolina Cayenne' as a source of resistance to *Meloidogyne incognita* races 1, 2, 3 and 4. HortScience, Alexandria, v.29, n.10, p.1184-1185, 1994.