

# Resistência de linhagens de alface-crespa às raças de *Bremia lactucae* identificadas no Estado de São Paulo

Dora Enith Tobar-Tosse<sup>1</sup>, Willame dos Santos Candido<sup>1</sup>, Marcus Vinicius Marin<sup>1</sup>, Rita de Cassia Panizi<sup>2</sup>, Jose Carlos Barbosa<sup>3</sup>, Leila Trevisan Braz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual Paulista (UNESP), Departamento de Produção Vegetal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n Cep:14.884-900, Jaboticabal, SP, Brasil.. Autor para correspondência. <sup>2</sup>Departamento de Fitossanidade, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP, Brasil. <sup>3</sup>Departamento de Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP, Brasil.

Autor para correspondência: Dora Enith Tobar-Tosse (tobar30@gmail.com)

Data de chegada: 16/02/2016. Aceito para publicação em: 10/01/2017.

10.1590/0100-5405/2152

## RESUMO

Tobar-Tosse, D.E.; Candido, W.S.; Marin, M.V.; Panizi, R.C.; Barbosa, J.C.; Braz, L.T. Resistência de linhagens de alface-crespa às raças de *Bremia lactucae* identificadas no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica*, v.43, n.1, p.55-57, 2017.

Sob condições controladas em câmara tipo BOD, oito linhagens de alface crespa e a cultivar Solaris, foram avaliadas por meio de um índice de latência (IL) como medida da severidade do míldio, e a resposta de resistência por meio da porcentagem de plântulas com esporângios (PE), quando inoculadas com nove raças de *Bremia lactucae* isoladamente e com a única mistura de todas as raças. O IL e a PE nas linhagens foram inferiores aos apresentados na cultivar

Solaris utilizada como padrão de suscetibilidade. As linhagens L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> e L<sub>4</sub> foram altamente resistentes quando inoculadas (PE=0,0%) com às nove raças/mistura, as linhagens L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub>, L<sub>7</sub> e L<sub>8</sub>, dependendo da raça/mistura inoculada apresentaram alto nível de resistência (PE=0-4,6%), resistência incompleta (PE=6,0-15,1%), e a linhagem L<sub>5</sub> apresentou reação heterogênea de resistência e suscetibilidade à raça SPBI:07 (PE=27,9%).

**Palavras-chave:** esporângios, *Lactuca sativa*, míldio

## ABSTRACT

Tobar-Tosse, D.E.; Candido, W.S.; Marin, M.V.; Panizi, R.C.; Barbosa, J.C.; Braz, L.T. Resistance of green leaf lettuce lines to the *Bremia lactucae* races identified in São Paulo State. *Summa Phytopathologica*, v.43, n.1, p.55-57, 2017.

Under controlled conditions in a BOD chamber, eight lines of green leaf lettuce and the cultivar Solaris were evaluated by means of a latency index (IL) as a measure of downy mildew severity, while the resistance response was assessed based on the percentage of seedlings with sporangia (PE) when inoculated with nine races of *Bremia lactucae* alone and with one single mixture of all races. The IL and PE for the lines were inferior to those shown for the

cultivar Solaris, used as the susceptibility standard. The lines L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> and L<sub>4</sub> were highly resistant when inoculated (PE = 0.0%) with the nine races/mixture; the lines L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub>, L<sub>7</sub> and L<sub>8</sub>, depending on the inoculated race/mixture, showed high resistance level (PE = 0-4.6%) and incomplete resistance (PE = 6.0-15.1%), and the line L<sub>5</sub> presented a heterogeneous resistance and susceptibility reaction to race SPBI:07 (PE = 27.9%).

**Keywords:** sporangia, *Lactuca sativa*, downy mildew

O grupo de Pesquisa em Melhoramento Genético de Alface da UNESP-FCAV, tem obtido linhagens de alface crespa com resistência ao míldio causada pelo Oomyceto *Bremia lactucae* e identificado raças do patógeno no estado de São Paulo (3, 5, 6, 7, 10, 15, 17), e para avaliar a reação das linhagens a essas raças, os objetivos do presente estudo foram avaliar a severidade da doença e caracterizar a resposta de resistência em nove genótipos de alface crespa, compostos por oito linhagens possuidoras dos fatores de resistência R18 e R38 e a cultivar suscetível Solaris, quando inoculadas com nove raças de *B. lactucae* (SPBI:03, SPBI:04, SPBI:05, SPBI:06, SPBI:07, SPBI: 09, SPBI:10, SPBI:11 e SPBI:12) e a mistura dessas raças.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial de 10 X 9, constituído por nove raças de *B. lactucae* e a mistura delas, e pelos nove genótipos de alface-crespa, com quatro repetições, totalizando 360 parcelas.

Foram obtidas quantidades suficientes de esporângios das raças de *B. lactucae* por meio de sua multiplicação na cultivar comercial Solaris suscetível a todas as raças, e posteriormente foram inoculados os nove

genótipos.

Sementes dos nove genótipos sem nenhum tratamento químico foram semeadas separadamente em caixas plásticas gerbox previamente esterilizadas com uma solução de 1:1 de hipoclorito comercial e limpas com álcool ao 70%, forradas com papel germitex previamente autoclavado dividido em quatro partes iguais. Em cada uma das partes, semearam-se aproximadamente 20 sementes/ genótipo, sendo utilizada uma caixa gerbox para cada repetição.

As caixas foram mantidas por 15 dias em câmara tipo BOD, à temperatura de 13°C e fotoperíodo de 12h. Após esse período foram inoculadas as nove raças isoladamente e a mistura das nove raças (raças/mistura) de acordo com a técnica de Ilott et al. (12). Os esporângios foram lavados de tecidos infestados do hospedeiro e a suspensão foi agitada em água destilada. As plântulas foram pulverizadas com vaporizador de perfume da marca Boticario®, utilizando-se um para cada raça. Cada suspensão continha 1,5 x 10<sup>4</sup> esporângios mL<sup>-1</sup>, a concentração foi ajustada por meio da contagem de esporângios na câmara de Neubauer, e posteriormente utilizada para pulverizar as

plântulas até o ponto de escorrimento.

Após a inoculação das plântulas, as caixas foram recolocadas em câmara tipo BOD, com temperatura de 13°C, onde, durante as seis primeiras horas, foram deixadas em câmara escura, e depois o fotoperíodo foi ajustado para 12h.

Avaliaram-se 20 plântulas/ unidade experimental, a severidade da doença foi avaliada por meio de um índice de latência (IL) durante 15 dias após a inoculação, por meio de notas (0 a 12), dependendo do dia do aparecimento dos primeiros sinais do patógeno, baseada na escala proposta por Mesquita (13), com algumas modificações. Sendo que plântulas que apresentaram sinais da doença no 4º dia após a inoculação receberam nota 12; plântulas que apresentaram sinais da doença no 5º dia após a inoculação receberam nota 11, e assim sucessivamente, até nota 0 para plântulas que não apresentaram sinais da doença após a inoculação.

Quando houve aparecimento da primeira esporulação na cultivar suscetível sobre as folhas, após 15 dias da inoculação, nas quatro repetições, avaliaram-se as linhagens individualmente, fazendo a contagem do número de plântulas que apresentaram esporângios e se obtiveram dados em porcentagem (PE).

Os dados da PE foram transformados em arco-seno raiz (% esp./100),

e junto aos dados do IL foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Scott & Knott, através do programa AgroEstat (2), sendo o fator A, a inoculação de cada raça e a mistura delas, e o fator B, os nove genótipos avaliados.

Observou-se que os efeitos do fator A, do fator B e da interação dos fatores A X B, foram significativos a 1% de probabilidade pelo teste F, para o IL e para PE.

Na Tabela 1, são apresentados os resultados do desdobramento da interação dos efeitos do fator A dentro do fator B, e vice-versa. Destaca-se que para o caso do IL, só na cultivar suscetível se apresentaram diferenças significativas entre as raças e a mistura (fator A), e que existem diferenças de resposta entre os nove genótipos (fator B), quando inoculadas com todas as raças, exceto quando inoculadas com a raça SPBI:12 e a mistura das nove raças (fator A).

As linhagens apresentaram IL com nota 0, já que as plântulas não apresentaram sinais da doença após 15 dias das inoculações, enquanto que os maiores IL apresentados na cultivar Solaris permitiram verificar que as raças mais patogênicas são as raças SPBI:04 e SPBI:06.

As diferentes inoculações com raças/mistura de *B. lactucae* isoladamente, não induziram o aparecimento de esporângios nas plântulas das linhagens L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> e L<sub>4</sub>, após 15 dias da inoculação

**Tabela 1.** Desdobramento dos graus de liberdade para estudo da interação da inoculação raças de *B. lactucae* identificadas no Estado de São Paulo e a mistura das raças x linhagens e a cultivar Solaris de alface-crespa para Índice de latência e para Porcentagem de plântulas com esporângios

Raças de <i>B. lactucae</i> / mistura das raças (Fator A)	Linhagens/Cultivar Solaris (Fator B)									Média
	L <sub>1</sub> <sup>ns</sup>	L <sub>2</sub> <sup>ns</sup>	L <sub>3</sub> <sup>ns</sup>	L <sub>4</sub> <sup>ns</sup>	L <sub>5</sub> <sup>ns</sup>	L <sub>6</sub> <sup>ns</sup>	L <sub>7</sub> <sup>ns</sup>	L <sub>8</sub> <sup>ns</sup>	Solaris**	
	<b>Índice de latência</b>									
SPBI:03**	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Bb	0,0 Ba	0,1 Ba	0,0 Ba	2,0 Ac	0,2 b
SPBI:04**	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,1 Bb	0,2 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	3,9 Aa	0,5 a
SPBI:05**	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,1 Bb	0,0 Ba	0,0 Ba	0,1 Ba	2,0 Ac	0,2 b
SPBI:06**	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,2 Bb	0,5 Ba	0,2 Ba	0,0 Ba	4,3 Aa	0,6 a
SPBI:07**	0,0 Ca	0,0 Ca	0,0 Ca	0,0 Ca	1,0 Ba	0,2 Ca	0,1 Ca	0,1 Ca	2,6 Ab	0,5 a
SPBI:09**	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Bb	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	2,6 Ab	0,3 b
SPBI:10**	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Bb	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	1,8 Ac	0,2 b
SPBI:11**	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,1 Bb	0,1 Ba	0,2 Ba	0,0 Ba	2,0 Ac	0,3 b
SPBI:12 <sup>ns</sup>	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,1 Ab	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,1 Ad	0,0 b
Mistura das raças <sup>ns</sup>	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,1 Ab	0,0 Aa	0,2 Aa	0,1 Aa	0,8 Ad	0,1 b
Média	0,0 B	0,0 B	0,0 B	0,0 B	0,0 B	0,1 B	0,1 B	0,0 BA	2,2 A	
	L <sub>1</sub> <sup>ns</sup>	L <sub>2</sub> <sup>ns</sup>	L <sub>3</sub> <sup>ns</sup>	L <sub>4</sub> <sup>ns</sup>	L <sub>5</sub> **	L <sub>6</sub> *	L <sub>7</sub> *	L <sub>8</sub> <sup>ns</sup>	Solaris**	Média
	<b>Porcentagem de plântulas com esporângios</b>									
SPBI:03**	0,0 Ca	0,0 Ca	0,0 Ca	0,0 Ca	0,0 Cc	0,0 Cb	14,6 Ba	0,0 Ca	37,4 Ab	5,8 b
SPBI:04**	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	4,0 Bc	10,7 Ba	0,0 Bb	0,0 Ba	57,5 Aa	8,0 a
SPBI:05**	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	3,7 Bc	0,0 Bb	0,0 Bb	10,9 Ba	40,4 Ab	6,1 b
SPBI:06**	0,0 Ca	0,0 Ca	0,0 Ca	0,0 Ca	13,7 Bb	15,1 Ba	10,2 Ba	0,0 Ca	56,0 Aa	10,5 a
SPBI:07**	0,0 Da	0,0 Da	0,0 Da	0,0 Da	27,9 Ba	10,7 Ca	10,9 Ca	10,0 Ca	39,8 Ab	11,0 a
SPBI:09**	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Bc	0,0 Bb	0,0 Bb	0,0 Ba	46,0 Ab	5,1 b
SPBI:10**	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Bc	0,0 Bb	0,0 Bb	0,0 Ba	33,9 Ab	3,8 b
SPBI:11**	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	8,9 Bc	7,5 Ba	6,0 Ba	9,1 Ba	34,5 Ab	7,3 a
SPBI:12 <sup>ns</sup>	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	4,6 Ac	0,0 Ab	0,0 Ab	0,0 Aa	9,2 Ad	1,5 b
Mistura das raças <sup>ns</sup>	0,0 Ca	0,0 Ca	0,0 Ca	0,0 Ca	13,0 Bb	9,4 Ba	10,8 Ba	4,6 Ca	23,2Ac	6,8 b
Média	0,0 C	0,0 C	0,0 C	0,0 C	7,6 B	5,3 B	5,3 B	3,5 B	37,8 A	

Médias seguidas pela mesma letra, dentro da mesma linha (maiúscula) ou coluna (minúscula), constituem um grupo homogêneo, pelo critério de Scott & Knott : ns não significativo; \* e \*\* significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

quando apareceram na cultivar suscetível.

As linhagens L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub> e L<sub>7</sub> apresentaram diferenças entre elas, com limitadas PE para algumas raças, na linhagem L<sub>8</sub> não foi observado diferenças entre as raças, no entanto, também apresentaram quantidades pequenas para algumas raças.

As linhagens avaliadas e a cultivar Solaris foram diferentes quanto à PE, dentro de todas as raças avaliadas exceto, quando inoculadas com a raça SPBI:12 e a mistura das nove raças.

Assim, as linhagens L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub>, L<sub>7</sub> e L<sub>8</sub> apresentaram variação na resposta de resistência ao serem inoculadas com as raças/mistura de *B. lactucae*. Destaca-se, por exemplo, que a linhagem L<sub>5</sub> não foi resistente para a raça SPBI:07, uma vez que apresentou PE de 27,9 maior e diferente de maneira significativa da PE apresentada nas outras linhagens. Segundo Crute & Dickson(9), esta resposta heterogênea de resistência e suscetibilidade, devida a mistura de plântulas completamente suscetíveis e algumas resistentes, pode ser consequência da segregação ou impureza da semente usada, ou da heterogeneidade de um isolado. Pode-se destacar que quando as linhagens L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub>, L<sub>4</sub> e L<sub>5</sub> foram inoculadas com a mistura das raças, apresentaram alto nível de resistência, enquanto as outras linhagens apresentaram resistência incompleta.

Baseados em estudos semelhantes realizados em *Lactuca* spp (1, 4, 7, 10, 11,16), as linhagens que apresentaram PE≤5 foram caracterizadas como altamente resistentes, e àquelas que apresentaram 5>PE<20, foram caracterizadas com resistência incompleta. Dessa maneira quando as linhagens foram inoculadas com a raça/mistura de *B. lactucae*, as linhagens L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub>, L<sub>4</sub> foram altamente resistentes (PE=0), as linhagens L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub>, L<sub>7</sub>, L<sub>8</sub> dependendo da linhagem e da raça/mistura inoculada, apresentaram alto nível de resistência (0-4,6% de PE), resistência incompleta (6,0-15,1% de PE), e a linhagem L<sub>5</sub> apresentou resposta heterogênea de resistência e suscetibilidade à raça SPBI:07 (27,9% de PE).

Possivelmente, a resistência incompleta, identificada nestas linhagens, esteja relacionada com o fato de que um gene de efeito principal possa, sob certas condições ambientais e/ou genéticas, ter seu efeito reduzido, tornando-se de efeito secundário, como se tem identificado no caso dos genes Dm6, Dm7 e R18, cuja expressão tem sido incompleta em certas cultivares de alface (8, 14).

#### AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo Auxílio à Pesquisa concedido (Processo Nº 2012/09705-4).

#### REFERÊNCIAS

1. Araújo, J.C.; Gomez, L.A.G.; Fiorini, A.C.V.; Dutra, T.D.O. Reação de resistência ao mildio e seleção de genótipos nacionais resistentes em população F2 de alface americana. *Revista Agrogeoambiental*, Pouso Alegre, v.6, n.2, p.11-19, 2014.
2. Barbosa, J.C.; Maldonado, J.R.W. *AgroEstat: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos*. Versão 1.1.0.711. Jaboticabal-São Paulo: Editora Unesp, 2014.
3. Braz, L.T.; Dalpian, T.; Pissardi, M.A. Identification of races of *Bremia lactucae* in São Paulo, Brazil. *Acta Horticulturae*, Seoul, v.760, p.317-321, 2007.
4. Braz, L.T.; Souza, J.O.; Dalpian, T. Reação de genótipos de alface crespa a raças de mildio (*Bremia lactucae* R). In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 49., 2009, Águas de Lindóia. Resumo. Brasília, DF: ABH, 2010. 1 CD-ROM
5. Braz, L.T.; Nunes, R.C.; Castoldi, R.; Gomes, R.F.; Tosse, D.T. Levantamento de raças do agente causador do mildio da alface no Estado de São Paulo em 2013. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v.31, n.2, p.S1924-S1931, 2014. (Anais).
6. Castoldi, R.; Charlo, H.C.O.; Dalpian, T.; Melo, D.M.; Botelho, A.P.; Braz, L.T. Identification of new *Bremia lactucae* races in lettuce in São Paulo State. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v.30, n.2, p.209-213, 2012.
7. Castoldi, R.; Charlo, H.C.O.; Melo, D.M.; Candido, W.S.; Vargas, P.F.; Dalpian, T.; Braz, L.T. Obtaining resistant lettuce progenies to downy mildew. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v.32, n.1, p.69-73, 2014.
8. Crute, I.R. The role of resistance breeding in the intergrated control of downy mildew (*Bremia lactucae*) in protected lettuce. *Euphytica*, Dordrecht, v.63, n.1/2, p.95-102, 1992.
9. Crute, I.R.; Dickinson, C.N. The behaviour of *Bremia lactucae* on cultivars of *Lactuca sativa* and on other composites. *Annals of Applied Biology*, Warwick, v.82, p.433-450, 1976. Disponível em: <<http://www.readcube.com/articles/10.1111%2Fj.1744-7348.1976.tb00581.x?>>. Acesso em: 15 nov. 2015.
10. Galatti, F. S.; Castoldi, R.; Braz, L.T.; Panizzi, R.D.C. Monitoramento de raças de *Bremia lactucae* em 2010 e 2011 no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v.38, n.4, p.271-279, 2012.
11. Lebeda, A.; Zinkernagel, V. Characterization of new highly virulent german isolates of *Bremia lactucae* and efficiency of resistance in wild *Lactuca* spp. *Germplasm. Journal of Phytopathology*, Berlin, v.151, n.5, p.274-282, 2003.
12. Ilott, T.W.; Durgan, M.E.; Michelmore, R.W. Genetics of virulence in California populations of *Bremia lactucae* (Lettuce Downy Mildew). *Phytopathology*, Saint Paul, v.77, n.10, p.1381- 1386, 1987.
13. Mesquita, P. G. *Biologia, Epidemiologia e controle do mildio (*Bremia lactucae*) da alface (*Lactuca sativa*) em viveiro*. 2008. 145f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.
14. Michelmore, R.; Wong, J. Classical and molecular genetics of *Bremia lactucae*, cause of lettuce downy mildew. *European Journal of Plant Pathology*, Dordrecht, v.122, n.1, p.19-30, 2008.
15. Nunes, R.C.; Castoldi, R.; Gomes, R. F.; Tobar-Tosse, D.E.; Braz, L.T. Levantamento de raças do agente causador do mildio da alface no Estado de São Paulo em 2012 e 2013. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v.42, n.1, p.53-58, 2016.
16. Petrželová, I.; Lebeda, A.; Beharav, A. Resistance to *Bremia lactucae* in natural populations of *Lactuca saligna* from some Middle Eastern countries and France. *Annals of Applied Biology*, Wellesborne, v.159, n.3, p.442-455, 2011.
17. Souza, J.O.; Dalpian, T.; Braz, L.T.; Camargo, M. Novas raças de *Bremia lactucae*, agente causador do mildio da alface, identificadas no estado de São Paulo. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v.29, n.3, p.282-286, 2011.