

Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Reação de alface (*Lactuca sativa* L.) a *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Broome)

Ferraris

Fernando Cesar Sala

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia**

Piracicaba

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Fernando Cesar Sala
Engenheiro Agrônomo

Reação de alface (*Lactuca sativa* L.) a *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Broome) Ferraris

Orientador:
Prof. Dr. CYRO PAULINO DA COSTA

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia**

Piracicaba
2006

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Sala, Fernando Cesar

Reação de alface (*Lactuca sativa* L.) a *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Broome)
Ferraris / Fernando Cesar Sala. - - Piracicaba, 2006.
96 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.
Bibliografia.

1. Alface 2. Hereditariedade 3. Murcha – Doença de planta 4. Podridão – Doença
de planta 4. Resistência genética vegetal 5. Seleção genética I. Título

CDD 635.52

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Aos meus pais Maria e Darsi José
À minha irmã Evandra e ao meu
irmão Delcir, que apesar de tantas
dificuldades sempre me apoiaram
em minhas conquistas

Dedico

À Eliane pelo companheirismo, carinho e amor

Ofereço

Minha homenagem

Ao Prof. Dr. Cyro Paulino da Costa pelo notável exemplo de vida dedicada ao melhoramento de hortaliças. Com empenho e competência, destacou-se com brilhantismo no desenvolvimento e lançamento de um grande número de cultivares de hortaliças.

Ao alfacicultor, Sr. Antônio Nakagawa, pela valiosa colaboração durante a execução dos experimentos. Parceiro principal deste trabalho demonstrou humildade, conhecimentos e dedicação desde o início. Sua ajuda foi fundamental para a realização desta pesquisa.



Alface americana ‘Gloriosa’

**Dedicada à centenária, ESALQ,
cuja comunidade esalqueana carinhosamente a denomina, Gloriosa.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade da vida;

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pela oportunidade da formação profissional;

Ao Prof. Dr. Cyro Paulino da Costa pela grande amizade e dedicada orientação ao longo destes nove anos. Notável pesquisador e insubstituível no cenário de melhoramento de hortaliças do país;

Ao Sr. Antônio Nakagawa, melhor alfacultor da região de Campinas – SP, pela valiosa colaboração na execução dos experimentos e por sempre estar disposto a colaborar;

À FAPESP e ao CNPq pela concessão das bolsas de estudo;

Aos membros do conselho do programa de pós-graduação Fitotecnia da ESALQ/USP, Prof. Dr. Pedro J. Christoffoleti, Francisco de A. A. Mourão Filho e Marcos Bernardes por terem permitido meu Doutorado Direto;

À grande amiga Dra. Liliane de Diana Teixeira, pela amizade, convívio, colaboração na instalação dos experimentos e valiosas sugestões no texto;

Ao Prof. Paulo C. Tavares de Melo pelas inúmeras oportunidades oferecidas quando monitor de suas disciplinas;

Aos Profs. Dr. Roland Vencovsky e Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias, pelo auxílio nas análises estatísticas;

Aos amigos (as) de pós-graduação, em especial Marcelo Bregagnoli (Brega), Marcelo Garcia (Circo), Sérgio, Cecília, Patrícia Favoreto, Patrícia Lyra, Sally, Silvana, Ivan Fischer, Alexandre Furtado Melo e Andressa pela amizade e convívio ao longo destes anos;

Aos amigos Antônio (Nenê) e Luis pela amizade e convivência na república;

A todos aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal, especialmente aos da Horta, Rogério, Gerson, Galdêncio, Nivaldo e Carlinhos, pelo convívio diário, respeito e auxílio nos experimentos;

À Secretária da PPG Fitotecnia, Luciane, pelo profissionalismo e por sempre estar disponível para ajudar;

Ao Eng. Agr. Carlos Alberto M. Tavares pelo relato da sua experiência com o desenvolvimento da alface americana no país e pela ajuda no processo de seleção das linhagens;

À minha irmã Evandra e a inesquecível professora de português Sra. Lurdes Massari, pelas correções e sugestões no texto;

Às funcionárias da biblioteca central, pelo atendimento e atenção dispensada;

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Reação de alface (*Lactuca sativa* L.) a *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Broome) Ferraris.

A alface é a principal hortaliça folhosa do Brasil. A podridão negra das raízes causada pelo fungo *Thielaviopsis basicola* vem limitando o cultivo da alface americana 'Lucy Brown'. Os objetivos desta pesquisa foram: determinar a reação das cultivares comerciais de alface à *T. basicola*; elucidar a herança da resistência de alface ao patógeno e selecionar alface americana resistente ao patógeno a partir de variantes da 'Lucy Brown'. Inocularam-se 37 cultivares de alface usando o isolado patogênico L₁ de *T. basicola*, na fase juvenil. Para todos os ensaios a avaliação foi feita na fase juvenil através de uma escala de notas de acordo com a severidade da doença de 1 (ausência de sintomas) a 5 (mais de 90% das raízes severamente afetadas). A seleção de progênies resistentes ao patógeno foi feita a partir de variantes da 'Lucy Brown' pelo método genealógico usando um critério qualitativo para uniformidade, qualidade da cabeça e adaptação para o cultivo nas condições de verão. As cultivares do tipo crespa e batávia foram resistentes ao patógeno. As do tipo lisa e americana apresentaram variação inter-varietal quanto à reação a *T. basicola*. A herança da reação de alface a *T. basicola* foi devido a um gene dominante, designado de *Tb*. As progênies elites S4 derivadas da alface 'Lucy Brown' foram resistentes ao patógeno, uniformes e estáveis para o mérito hortícola no cultivo de verão.

Palavras-chave: *Chalara elegans*; Resistência genética; Seleção de variantes; Herança

ABSTRACT

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) reaction to *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Broome) Ferraris.

Lettuce is the major leafy crop in Brazil. Lettuce black root rot (LBRR) caused by *Thielaviopsis basicola* is one the most limiting disease for the crisphead lettuce cv. Lucy Brown. Research focuses were: cultivars reaction to the pathogen; resistance inheritance elucidation and selections of LBRR resistant variants from cv. Lucy Brown. About 37 cultivars were screened using L₁ pathogenic strain of *T. basicola* at juvenile stage. The reaction reading was made for all trials at juvenile stage using a severity disease scale from 1 (absence of symptoms) to 5 (with more than 90% of root rots). Selection of LBRR variants derived from Lucy Brown was made by pedigree selection and using selective criteria of line uniformity, heading qualities and adaptation for summer season slotting planting. Leaf lettuce Grand Rapids and Batavia types were resistant. There was inter-varietal occurrence of crisphead and butterhead resistance and other susceptible to LBRR. The inheritance to LBRR resistance in lettuce was due to a dominant gene designated as *Tb*. Elite LBRR resistant S4 lines derived from the crisphead cv. Lucy Brown were identified by their uniformity and stability for summer crop adaptation.

Keywords: *Chalara elegans*; Genetic resistance; Variant selection; Inheritance

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS	13
1 INTRODUÇÃO	14
2 DESENVOLVIMENTO	15
2.1 Revisão bibliográfica	15
2.2 Cronologia da origem da alface americana	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 Local	28
3.2 Obtenção e conservação do isolado de <i>Thielaviopsis basicola</i>	28
3.3 Reação de cultivares de alface a <i>Thielaviopsis basicola</i>	28
3.3.1 Preparo do inoculo, produção de mudas, inoculação e avaliação	29
3.4 Herança da reação de alface a <i>Thielaviopsis basicola</i>	31
3.4.1 Produção de mudas, preparo do inóculo e inoculação das populações F2 e progenitores	32
3.4.2 Critério de avaliação e classificação quanto à categoria de reação a <i>Thielaviopsis basicola</i> nas populações F2	33
3.5 Seleção de variantes resistentes a <i>Thielaviopsis basicola</i> na cultivar de alface americana Lucy Brown	34
3.6 Reação das progênies S1 dos variantes da alface americana ‘Lucy Brown` a <i>Thielaviopsis basicola</i>	36
3.7 Avaliação do mérito hortícola e seleção das progênies S2, S3 e S4 da alface ‘Lucy Brown` resistentes a <i>Thielaviopsis basicola</i>	37
3.7.1 Progênies S2	37
3.7.2 Progênies S3	38
3.7.3 Progênies S4	41

3.7.4 Reação das progênes S4 dos variantes da alface americana Lucy Brown a <i>Thielaviopsis basicola</i>	41
4 RESULTADO E DISCUSSÃO	43
4.1 Reação de cultivares de alface a <i>Thielaviopsis basicola</i>	43
4.2 Herança da reação de alface a <i>Thielaviopsis basicola</i>	47
4.3 Reação das progênes S1 dos variantes da alface americana Lucy Brown` a <i>Thielaviopsis basicola</i>	55
4.4 Avaliação do mérito hortícola e seleção das progênes S2 e S3 da alface Lucy Brown` resistentes a <i>Thielaviopsis basicola</i>	63
4.5 Avaliação do mérito hortícola e seleção das progênes S4 da alface Lucy Brown` resistentes a <i>Thielaviopsis basicola</i>	67
4.6 Reação das progênes S4 dos variantes da alface americana Lucy Brown` a <i>Thielaviopsis basicola</i>	69
5 CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS	73
ANEXOS	80

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Representação da escala de notas utilizadas para avaliação da severidade da podridão negra da raiz da alface. Da esquerda para a direita: nota 1 (ausência de sintomas), nota 2 (traços de necrose nas radículas), nota 3 (menos de 50% das raízes necrosadas), nota 4 (mais de 50% e menos de 90% das raízes necrosadas) e 5 (mais de 90% das raízes severamente afetadas).....30
- Figura 2 - Variante S0 da alface americana 'Lucy Brown' resistente a *Thielaviopsis basicola* em condições naturais de forte incidência da murchadeira. Propriedade do Sr. Antônio Nakagawa, Paulínia – SP. Dezembro de 2001.....35
- Figura 3 - Histogramas de distribuição de frequência de plantas em cada classe de notas nas gerações PS, PR e F2 (Luisa x B. P. Benite).....51
- Figura 4 - Histogramas de distribuição de frequência de plantas em cada classe de notas nas gerações PS, PR e F2 (Luisa x Ninja).....52
- Figura 5 - Histogramas de distribuição de frequência de plantas em cada classe de notas nas gerações PS, PR e F2 (Elisa x Tinto).....53
- Figura 6 - Histogramas de distribuição de frequência de plantas em cada classe de notas nas gerações PS, PR e F2 (Luisa x La Brillante).....54
- Figura 7 - Reação das progênies S1 da Lucy Brown a *Thielaviopsis basicola*. Da esquerda para a direita: 'Lucy Brown', LB # 1, LB # 2, LB # 4, LB # 6 e LB # 8 inoculadas com o patógeno.....56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Relação das populações segregantes de F2 de alface.....	31
Tabela 2 – Número de plantas de alface das populações F2 e progenitores avaliados quanto à reação a <i>Thielaviopsis basicola</i>	33
Tabela 3 - Categoria para classificação das populações F2 de alface quanto à reação a <i>Thielaviopsis basicola</i> , baseado na frequência de notas obtidas.....	33
Tabela 4 – Escala de notas para avaliação do mérito hortícola das progênes da alface americana ‘Lucy Brown` em condições de cultivo no campo.....	40
Tabela 5 – Reação de cultivares de alface a <i>Thielaviopsis basicola</i> . Piracicaba, 2003.....	44
Tabela 6 - Número de plantas de alface em cada classe, de acordo com a escala de notas para resistência a <i>Thielaviopsis basicola</i>	48
Tabela 7 - Frequência observada das populações F2 de alface e respectivos progenitores na reação a <i>Thielaviopsis basicola</i> e resultados do teste do qui-quadrado (X^2).....	48
Tabela 8 - Reação das progênes S1 da cultivar de alface americana Lucy Brown a <i>Thielaviopsis basicola</i> . Piracicaba, 2003.....	55
Tabela 9 - Mérito hortícola das progênes S3 da alface ‘Lucy Brown`.....	64
Tabela 10 - Mérito hortícola das progênes S4 da alface ‘Lucy Brown`.....	68
Tabela 11 - Reação das progênes S4 da cultivar Lucy Brown a <i>Thielaviopsis basicola</i>	70

1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa de maior importância no Brasil com uma área plantada de 35.000 ha. Seu cultivo é realizado de maneira intensiva e geralmente praticado pela agricultura familiar, responsável pela geração de cinco empregos diretos por hectare (COSTA; SALA, 2005).

Até meados da década de 80 o padrão da alface consumida no país era alface lisa, tipo 'White Boston', que atualmente corresponde a 10% do mercado. Posteriormente, houve uma mudança da preferência de alface lisa para o segmento crespo, tipo 'Grand Rapids' que representa 70%. A alface americana vem demonstrando grande crescimento no Brasil, ocupando atualmente, 15% do mercado brasileiro (COSTA; SALA, 2005).

Em consequência de cultivos sucessivos de alface em áreas sem a rotação com outras hortaliças, inúmeras doenças ocasionadas por patógenos habitantes do solo têm surgido. Uma das doenças que vêm limitando o cultivo da alface americana e lisa no cultivo de verão tem sido a murchadeira, causada pelo fungo *Thielaviopsis basicola* (Berk & Broome) Ferraris.

Pesquisas sobre a resistência de alface a *T. basicola* é bastante restrita, pois não é uma doença comum na Europa e EUA. No Brasil, o fungo do gênero *Thielaviopsis* já foi relatado, ocasionando problemas em plântulas de alface (SILVA et al., 1999). Pesquisas visando o controle desse patógeno têm sido realizadas para as condições brasileiras (TEIXEIRA-YAÑEZ, 2005).

No Estado de São Paulo, esse patógeno limita o cultivo da alface americana 'Lucy Brown' no cultivo de verão, considerada a líder do mercado nacional nos últimos 13 anos. A cultivar Lucy Brown apresenta variabilidade com problemas como ausência de formação de cabeça e foi constatada a ocorrência de variantes resistentes a *T. basicola* em plantios comerciais com forte incidência do patógeno (SALA et al., 2004a). A limitação das cultivares líderes de alface, como Lucy Brown e Elisa pela murchadeira, motivaram a presente pesquisa visando seu controle através de cultivares resistentes.

A elucidação da herança da resistência ao patógeno, ainda desconhecida da literatura, poderá contribuir para futuros programas de melhoramento, visando resistência a *T. basicola*. A presente pesquisa teve como objetivos: determinar a reação das cultivares comerciais de alface a *T. basicola*, selecionar alface americana resistente ao patógeno a partir de variantes da 'Lucy Brown' e determinar a herança da resistência de alface a *T. basicola*.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão bibliográfica

A podridão negra das raízes, causada pelo fungo *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Broome) Ferraris (sinamorfo: *Chalara elegans* Nag Raj & Kendrick), tem causado grandes prejuízos à cultura da alface na Austrália (O'BRIEN; DAVIS, 1994), Canadá (PUNJA; CHITTARANJAN, 1994) e, mais recentemente, no Brasil (TEIXEIRA-YAÑEZ, 2005).

As plantas de alface infectadas pelo patógeno apresentam, num estágio inicial, lesões amarronzadas no sistema radicular das plantas. Com o passar do tempo, as lesões aumentam em tamanho e tornam-se de coloração enegrecida. Normalmente, as raízes laterais são destruídas e as plantas passam a emitir novas raízes com conseqüente redução do desenvolvimento da planta (O'BRIEN; DAVIS, 2002). No Brasil, essa doença é conhecida entre os produtores como murchadeira, pois induz sintoma de murcha da parte aérea em conseqüência do apodrecimento do sistema radicular.

T. basicola é um fungo mitospórico da classe dos Hyphomycetes que não apresenta estágio sexual (teleomorfo ou cleistotecial) conhecido. O patógeno produz dois tipos de esporos: clamidósporo e conídio (ou endoconídio). O clamidósporo é maior em tamanho, mais resistente, podendo permanecer dormente no solo ou sobre superfícies secas (vasos, bancadas, bandejas, maquinários e ferramentas) por pelo menos de três a cinco anos. Já o conídio é produzido mais facilmente que o clamidósporo é menor em tamanho e menos resistente. Conídios podem ser transportados pelo vento a distâncias curtas, sendo recuperados a partir de poeira e água de drenagem de viveiros contaminados (TREBILCO et al., 2002).

Existe uma forte suspeita que *T. basicola* foi introduzido no Brasil através de turfa importada e contaminada, usada na formulação de substrato para produção de mudas. Segundo a literatura, vários trabalhos demonstram a importância da turfa como fonte de inóculo e disseminação do patógeno em outros países. Na Flórida (EUA), constatou-se que a infecção de mudas de *Citrus* por *T. basicola* deu-se através de substrato à base de turfa contaminada (GRAHAM; TIMMER, 1991). A ampla distribuição e alta severidade da podridão negra das raízes em alface, na Austrália, no início da década de 90, também tem sido atribuídas ao uso de substrato contaminado com o patógeno (O'BRIEN; DAVIS, 1994), numa situação similar a que

vem acontecendo no Brasil. A maior parte da alface cultivada no país é feita com o uso de transplante de mudas produzidas com substrato. Em constantes visitas a produtores de folhosas e viveiristas de mudas, a incidência da doença já era observada na fase de muda, antes de ser transplantada para o campo.

No Brasil, um fungo do gênero *Thielaviopsis* foi relatado pela primeira vez, ocasionando problemas em mudas de alface (SILVA et al., 1999). Recentemente, Teixeira-Yañez (2005), avaliando a incidência do patógeno em plantios comerciais de alface no Estado de São Paulo, constatou que, dos 14 isolados de *T. basicola* obtidos, três foram provenientes de mudas de alface contaminadas e produzidas com o uso de substrato. Este resultado obtido pela autora reforça a hipótese da importância do uso de substrato contaminado na disseminação do patógeno.

Nos EUA a ocorrência de *T. basicola* em cultivo comercial de alface não tem sido constatada, devido principalmente, à prática da semeadura direta eliminando o problema de contaminação das mudas com eventual uso de substrato colonizado.

T. basicola é um fungo que, além de alface, pode também infectar várias espécies de plantas como algodão (KING; PRESLEY, 1942), citros (TSAO; GUNDY, 1962), amendoim (HSI, 1967), chicória (PRINSLOO, 1986), quiabo (SILVA et al., 1999), grão-de-bico (BOWDEN et al., 1985), pêssego, roseira, petúnia (TREBILCO et al., 2002), soja (MONDAL; NEHL; ALLEN, 2004), fumo (YARWOOD, 1981), cenoura, ervilha, feijão e pepino (O'BRIEN; DAVIS, 1994, 2002). O patógeno afeta mais de 33 famílias de plantas, sendo relatado em mais de 46 países. Apesar das gramíneas não serem hospedeiras comuns do patógeno, o fungo pode como saprófita, desenvolver-se e multiplicar-se com a decomposição de sua palhada (O'BRIEN; DAVIS, 2002).

A severidade da podridão negra das raízes é influenciada por vários fatores como: temperatura (LLOYD; LOCKWOOD, 1963; BHATTI; KRAFT, 1992; O'BRIEN; DAVIS, 1994; TEIXEIRA-YAÑEZ, 2005), umidade (BHATTI; KRAFT, 1992), propriedades químicas do solo (COPES; HENDRIX, 1996; MEYER; SHEW; HARRISON, 1994; MEYER; SHEW, 1991) e resistência genética do hospedeiro ao patógeno (MEYER; SHEW, 1991; HOOD; SHEW, 1996; O'BRIEN; DAVIS, 1994, 2002; TABACHNICK et al., 1979; TEIXEIRA-YAÑEZ, 2005). Todos esses fatores devem ser considerados na estratégia a ser adotada para o manejo da doença.

As estratégias de controle do patógeno baseiam-se em promover uma perfeita sanidade da produção de mudas através da utilização de substrato isento do patógeno, uso de fungicidas, solarização do solo e cultivares resistentes.

A utilização da técnica de solarização do solo associada à incorporação de cama de frango e torta de mamona foi eficiente no controle de *T. basicola* em alface (TEIXEIRA-YAÑEZ, 2005).

Segundo O'Brien e Davis (1994), houve redução na podridão negra das raízes da alface com a rega de benomil (500 mg/mL) e propiconazole (125 mg/mL), após o transplante das mudas em casa de vegetação. Regas com carbendazin (350 mg/L de i.a.), tiofanato metílico (490 mg/L de i.a.), cyproconazole (15 mg/L de i.a.), tebuconazole (200 mg/L de i.a.), triadimenol (125 mg/L de i.a.) e hexaconazole + chlorothalonil (94,5 mg/L de i.a.) foram efetivas no controle de *T. basicola* em alface (TEIXEIRA-YAÑEZ, 2005). Apesar do uso de fungicidas reduzir os problemas com a murchadeira, não existem ainda, produtos registrados para o controle do patógeno na cultura da alface.

A melhor maneira de controle da podridão negra das raízes da alface é através do uso de cultivares resistentes. O'Brien e Davis (1994) avaliaram a reação de cultivares de alface a *T. basicola* e concluíram que as cultivares Monaro, Kirralee, Centenário, NKX030 foram resistentes ao patógeno enquanto que Classic, NKX029, Yatesdale e Buffalo foram suscetíveis. Mais tarde os autores relataram outras fontes de resistência a *T. basicola* nas cultivares SPS761, Elliot, Salinas, Warrior, Fraser, Target e Sally e de suscetibilidade para as cultivares Sea Green, Bamboo, Winguard, Black Velvet e Fame (O'BRIEN; DAVIS, 2002). A cultivar de alface americana Great Lakes foi altamente suscetível a dois isolados de *T. basicola*, obtidos a partir de alface (O'BRIEN; DAVIS, 1994).

Teixeira-Yañez (2005) examinou a reação de cultivares de alface a *T. basicola* e verificou grande variabilidade entre os tipos varietais testados. As cultivares do tipo lisa (Luisa, Elisa e Regina) foram suscetíveis, enquanto as do tipo crespa (Locarno, Vera e Banchu New Red Fire) foram resistentes, exceto 'Verônica'. Das cultivares do tipo americana, Invader, Classic e Lucy Brown foram suscetíveis ao fungo e Warrior, Raider e Mohawk foram resistentes. De acordo com a autora, 'Classic' e 'Warrior' comportaram-se como suscetível e resistente a *T. basicola*, respectivamente, concordando com O'Brien e Davis (1994). Este resultado indica que a resistência de 'Warrior' é efetiva para os isolados australiano e brasileiro do patógeno.

No Brasil, a alface é produzida durante o ano todo e exige cultivares com adaptabilidade de cultivo para determinada região produtora, principalmente com relação à reação as principais doenças. Determinar a reação das cultivares de alface a *T. basicola*, nos diferentes segmentos varietais, é extremamente importante para permitir recomendação de plantio em áreas infestadas com o patógeno. Atualmente, existem várias dezenas de cultivares comerciais de alface no mercado nacional, cujas reações ao patógeno são desconhecidas.

Estudos sobre a herança da resistência à podridão negra das raízes têm sido relatados em várias espécies de plantas.

Wilkinson; Ruft e Shew (1991) estudaram a herança da resistência de fumo (*Nicotiana tabacum* L.) a *T. basicola* e verificaram que a resistência foi condicionada por um gene dominante. Segundo Hood e Shew (1996), a resistência genética ao fungo em *N. tabacum* é regulada por um gene dominante derivada de *N. debneyi* Domin. Esta espécie tem sido muito usada em programas de melhoramento de fumo visando resistência ao patógeno, desde a década de 50, nos EUA. Apesar dos genes de *N. debneyi* conferirem alta resistência a várias raças do fungo, seu uso no melhoramento do fumo tem sido limitado devido a efeitos negativos sobre os parâmetros físicos e químicos das folhas de fumo (LEGG; LITTON; COLLINS, 1981). A hibridação interespecífica entre *N. glauca*, uma espécie selvagem do gênero *Nicotiana* resistente a *T. basicola*, possibilitou a incorporação da resistência ao patógeno em fumo além de características agrônômicas favoráveis (TROJAK-GOLUCH; BERBEC', 2005).

Em feijão, Hassan; Wilkinson e Wallace (1971a) pesquisaram que a resistência ao patógeno foi controlada por aproximadamente três genes recessivos de ação aditiva. Hassan; Wilkinson e Wallace (1971b) estudaram se a resistência a *Fusarium* e *Thielaviopsis* em feijão era conferida pelos mesmos genes. Entretanto verificaram que os genes que conferiam resistência a ambos os patógenos eram diferentes e não ligados. A herança da reação a *T. basicola* em *Lactuca sativa* é um fato ainda desconhecido na literatura. Sua elucidação poderá contribuir para futuros programas de melhoramento, visando a seleção para resistência ao patógeno em alface.

A tecnologia de produção e melhoramento genético de alface americana foi desenvolvida para as condições de clima árido, na Califórnia e Arizona, EUA, sob baixa pressão de doenças. A experiência dos últimos anos da alface americana nas condições tropicais mostrou que existem outras doenças que limitam o cultivo e a expansão da alface americana no Brasil, tais como míldio (*Bremia lactucae*), mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *vitians*

(Brown) Dye) e viroses como LMV (Lettuce Mosaic Vírus) e *Tospovirus*, causando perdas durante todo ano. Nos EUA, a ocorrência de *T. basicola* não tem sido constatada, pois se adota, principalmente, a prática de semeadura direta, eliminando o problema de contaminação das mudas com o eventual uso de substrato colonizado pelo fungo.

No Brasil, a podridão negra das raízes vem sendo fator limitante para o cultivo e expansão da alface lisa e americana em regiões com incidência do patógeno. A cultivar de alface americana Lucy Brown é líder do mercado nacional, desse segmento, nos últimos 13 anos consecutivos. Sua suscetibilidade ao patógeno em condições de campo vem sendo fator limitante para sua expansão. Além da suscetibilidade, a *T. basicola*, 'Lucy Brown' vem apresentando uma marcante variabilidade fenotípica/genotípica com diferenças quanto ao tipo de folha, ausência de formação de cabeça e a presença de variantes, aparentemente, resistentes ao patógeno em áreas com forte incidência da murchadeira da alface. Estas observações foram feitas em constantes visitas aos campos de produção de alface durante o verão de 2001/2002, na região de Campinas, SP.

O fenômeno de variabilidade e instabilidade na alface americana é conhecido na literatura. Pearson (1956) descreveu a ocorrência de variantes na cultivar de alface americana 'Imperial 456' (sinônimo 'Cornell 456'). Esses variantes não apresentavam formação de cabeça, suas folhas eram mais grossas, largas e as plantas vigorosas. O autor descreveu três tipos de fenótipos segregantes nas populações de 'Imperial 456' identificados como *KK* (ausência de formação de cabeça, folhas de bordos lisos, estreita e coloração verde escuro), *Kk* (cabeça levemente compacta, folhas de crescência superficial e variável) e *kk* (cabeça muito compacta, folhas largas, crespas e de coloração verde clara, considerada o tipo padrão da cultivar Imperial 456). Das progênies obtidas a partir do tipo *kk*, aproximadamente 1% segregava para o variante heterozigoto devido a mutação do gene recessivo para formação de cabeça para seu alelo dominante.

Em estudo posterior, Pearson (1968) descreveu um comportamento de instabilidade na formação de cabeça das alfaces americanas 'Great Lakes' e 'Imperial 456'. Este autor determinou que os variantes que não apresentavam cabeça era devido a mutações para genes dominantes ou possíveis deleções cromossômicas. Entretanto os variantes ocorriam na proporção de 0,1% e produziam de cinco a oito vezes mais sementes quando comparados com as plantas normais.

Smith (1977) relatou a ocorrência de variantes na cultivar de alface lisa Valentine. Os variantes ocorriam na proporção de 0,4% a partir de semente genética e 0,68% para semente básica e apresentavam folhas verde-escuras, maturação tardia e não formação de cabeça. A partir de testes de progênes destes variantes, constatou que sua origem resultou de uma mutação de um único gene para uma condição dominante incompleta. ‘Dandie’, cultivar de alface lisa do qual tem ‘Valentine’ como um de seus progenitores produziu variantes similares e na mesma frequência que os variantes de ‘Valentine’. Demonstrou que a produção de variantes, uma vez estabelecida, passa a ser altamente hereditária.

O fenômeno de instabilidade genética não é um fato isolado de alface, mas relatado em outras importantes espécies de plantas cultivadas como arroz, sorgo, tomate, feijão, milho, ervilha e abóbora (PEARSON, 1968).

O crescimento da alface americana, num estágio inicial, ocorre com a formação das folhas em forma de roseta. O processo de formação de cabeça inicia-se com o desenvolvimento das folhas num processo gradual de embricamento foliar que começa com uma curvatura das nervuras centrais, começando nas folhas mais novas (centro) e prosseguindo para as folhas mais velhas (externas). Esse processo é contínuo, portanto a tendência do encabeçamento pode ser observada num estágio inicial de desenvolvimento da planta (LINDQVIST, 1960). As primeiras vinte folhas de uma alface americana são eretas ou levemente curvas e seu conjunto tem a forma de roseta. As folhas que se sucedem imbricam-se umas sobre as outras, formando uma cabeça compacta (WHITAKER et al., 1974), mas para isso, internódios curtos são necessários para formação de cabeça compacta. Alguns fatores estimulam a alongação do caule, o que prejudica a formação da cabeça (LINDQVIST, 1960).

O processo de formação de cabeça em alface é um fenômeno complexo afetado por vários fatores genéticos e ambientais (LINDQVIST, 1960; RYDER, 1999).

Para LINDQVIST (1960) a formação de cabeça em alface deve-se a uma herança de caráter poligênico. Bremer e Grana¹ (1935 apud RYDER, 1999) identificaram um único gene controlando ausência de formação de cabeça e nomearam de *Kopfbildung* (*K*), com relação ao seu gene recessivo *k* que produz a planta com cabeça. Posteriormente, isso foi confirmado por Pearson (1956) estudando os variantes sem formação de cabeça na alface americana ‘Imperial

¹ BREMER, A.H.; GRANA, J. Genetische untersuchungen mit salat. **II Gartenbauwissenschaft**, Bereich, n. 9, p. 231-245, 1935.

456'. Bassett (1975) cruzando a cultivar Gallega com 'Minetto' verificou que três a cinco genes contribuíram para a formação de cabeça com diferença entre linhas quanto a este caráter.

Segundo Whitaker et al. (1974), a temperatura é o fator ambiental que mais influencia na formação de cabeça da alface americana. Temperatura elevada induz ao pendoamento precoce e, conseqüentemente, perda da qualidade. A alface, devido sua origem Mediterrânea requer temperaturas amenas que oscilam entre 10°C e 20°C (LINDQVIST, 1960).

Trabalho realizado por Thompson e Knott (1934) com três variações de temperatura, alta (22 a 27°C), média (17 a 22°C) e baixa (12 a 17°C) para as cultivares White Boston, Ithaca e New York, verificou que os melhores resultados para formação de cabeça foram obtidos em condições de temperatura média. Temperaturas elevadas aceleram o processo de pendoamento da alface, interrompendo o desenvolvimento vegetativo das plantas potencialmente capazes de formar cabeça com qualidade (LINDQVIST, 1960).

O efeito da temperatura é dependente do fotoperíodo para formação de cabeça. Sob dias longos, há um efeito positivo sobre a largura foliar com aumento da temperatura e negativo sob dias curtos. Quanto ao comprimento da folha o efeito é o oposto, suprimindo o comprimento foliar sob dias longos e estimulando, sob dias curtos, com o aumento da temperatura (RYDER, 1999). O fotoperíodo também influi no pendoamento da alface, cuja resposta das cultivares é variável conforme o comprimento do dia. Segundo Waycott (1995) as cultivares reagem diferentemente ao pendoamento conforme as combinações de fotoperiodismo e temperatura. Concluiu que a temperatura, isoladamente, não foi suficiente para induzir o pendoamento. Quanto ao fotoperiodismo ocorrem respostas varietal ao pendoamento. Entretanto, nas condições brasileiras, o fotoperíodo praticamente não tem influência, porque estão adaptadas aos dias mais longos e são cultivadas em condições tropicais e subtropicais de dias curtos.

2.2 Cronologia da origem da alface americana

Existem fortes evidências de que a alface (*Lactuca sativa* L.) foi domesticada a partir da espécie selvagem *L. serriola* L. (JAGGER et al., 1941). Com a sua introdução na Europa Ocidental a partir do século XV, alguns tipos de alface tais como lisa, romana e batávia já tinham sido descritas. Com as expedições de Cristóvão Colombo para o Novo Mundo, a alface, possivelmente, foi introduzida na América em 1494 (RYDER, 2002).

As origens de muitas cultivares desta folhosa utilizadas desde o século XIX e início do século XX ainda são relativamente desconhecidas. As cultivares plantadas ao longo deste período surgiram a partir de seleções praticadas pelo homem (RYDER, 1999).

Ryder (1999) relata que os tipos varietais de alface conhecidos na espécie *L. sativa* são romana, celuce ou “asparagus lettuce”, batávia, lisa, mimosa, crespa e americana, variando em importância e preferência conforme o país e sua cultura culinária.

Nos EUA, até início do século XX, o consumo da alface foi distribuído principalmente entre o segmento liso, crespo e batávia. A alface americana, possivelmente, originou a partir de uma seleção com tipo distinto da batávia com formação de cabeça, com folhas grossas e crocantes, características que a diferenciavam do tipo comum da batávia da Europa (TRACY², 1904 apud RYDER, 2002).

Duas décadas mais tarde, a principal cultivar plantada nos EUA era New York, alface batávia cuja principal característica era cabeça mais compacta e de maior porte, seguida de ‘Big Boston’ (lisa), ‘Grand Rapids’ (crespa), ‘Salamander’ (lisa) e ‘Hanson’ (batávia americana) (MORSE, 1930).

A cultivar New York passou a ser plantada durante todo ano na região oeste dos EUA (Califórnia e Arizona). O clima ameno e árido dessa região possibilitou a ampla adaptabilidade do cultivo de ‘New York’. Com isso, houve a redução do cultivo dos outros tipos de alface nas regiões leste e sudeste dos EUA. Com a migração da alficultura para o oeste deu-se início o processo de industrialização desse setor para atender à demanda de consumo de outras regiões (RYDER, 2002).

Em 1922, no Vale Imperial da Califórnia (EUA), uma doença conhecida como *brown blight* passou a limitar o cultivo dessa cultivar em áreas de ocorrência dessa doença. Em razão

² TRACY Jr., W.W. American varieties of lettuce. Bul. 69. U.S. Dept. Agr., Washinton, D.C. 1904.

disso, o fitopatologista J.C. Jagger foi contratado pelo USDA (United States Department of Agriculture) de San Diego, Califórnia (EUA), para desenvolver cultivares resistentes, dando início às primeiras pesquisas com o melhoramento da alface americana.

Em 1924, plantas sobreviventes e resistentes a *brown blight* foram encontradas em um campo de produção da cultivar New York com alta incidência desta doença. A partir da seleção, dentro de progênies, dessas plantas resistentes, resultou no lançamento das cultivares Imperial 2, Imperial 3 e Imperial 6, no ano de 1926. Mais tarde, incorporou-se a resistência à raça de míldio de ocorrência na época, causada pelo fungo *Bremia lactucae*, a partir do cruzamento entre 'New York' x 'Blonde Lente a Monter', tipo romana e resistente ao míldio. Seleções posteriores resultaram em uma segunda série do tipo Imperial, como as cultivares Imperial D, Imperial F, Imperial 615, Imperial 152, Imperial 847 e Imperial 850, resistentes ao míldio e *brown blight* e que logo substituíram 'New York'. Entretanto, em 1932, no Vale Salinas, surgiu uma nova raça de *B. lactucae*, denominada raça cinco (RYDER, 1986), e todos as cultivares anteriores resistentes ao patógeno tornaram-se suscetíveis (JAGGER et al., 1941). Apesar disso, as cultivares do segmento Imperial dominaram a produção de alface americana nos EUA durante as décadas de 30 até 50 (RYDER, 1999).

O cultivo da alface americana restringia-se às áreas semi-áridas da Califórnia e Arizona devido às ótimas condições climáticas para o seu cultivo. Nessas regiões, muitas cultivares do segmento Imperial, particularmente Imperial 615 e Imperial 847, foram as mais utilizadas. De modo geral, 'Imperial' apresentava como características plantas de porte grande, coloração verde-clara, com folhas finas, de bordos levemente lobulados e enrugada. Formava cabeça com imbricamento foliar com compacidade intermediária.

Em 1941, um novo segmento de alface americana surgiu com o lançamento da cultivar Great Lakes pelo USDA (BARRONS; WHITAKER³, 1943 apud RYDER, 1999). As linhas obtidas a partir do cruzamento entre 'Brittle Ice' x 'Imperial 152' foram cruzadas com 'Imperial 615', dando origem a cultivar Great Lakes (KNOTT; TAVERNETTI, 1944). Como características, apresentava folhas de coloração verde-escura, elevado grau de crespicidade nas bordas foliares e cabeça extremamente compacta quando comparada com o segmento Imperial,

³ BARROS, K.C.; WHITAKER, T.W. Great Lakes, a new summer head lettuce adapted to summer conditions. Michigan Agricultural Research Station Quarterly Bulletin, v. 25, p. 1-3, 1943.

além de tolerância ao *tip burn*, desordem fisiológica ocasionada pela deficiência de cálcio (KNOTT; TAVERNETTI, 1944).

‘Great Lakes’ é considerada a primeira cultivar moderna de alface americana, por possuir maior adaptabilidade que o segmento Imperial, o que contribuiu para o crescimento e expansão da alface americana nas regiões semi-áridas da Califórnia (RYDER, 1999), sendo também amplamente cultivada em outros países. Sua ampla adaptabilidade de cultivo e compacidade de cabeça fez dela a primeira cultivar referencial a apresentar essa característica. Com isso, cerca de 60 cultivares foram desenvolvidos a partir de ‘Great Lakes’ tornando-se o padrão de alface americana cultivada até meados dos anos 70, nos EUA. As principais cultivares utilizadas foram: Great Lakes 118, Great Lakes 366, Great Lakes R-200, Great Lakes 65, Great Lakes 659, Great Lakes 66 e Great Lakes 407. Segundo Ryder (1999), a maioria das cultivares modernas de alface americana que derivam de ‘Great Lakes’, foi obtida pelo método de retrocruzamento.

Devido à suscetibilidade de ‘Great Lakes’ a *B. lactucae*, as cultivares Valverde e Calmar foram lançadas em 1959 e 1960, respectivamente, para atender à demanda por cultivares resistentes ao patógeno. Além da resistência ao míldio, ‘Calmar’ apresentava resistência ao *tip burn* e tolerância a virose, conhecida como *big vein*, sendo muito plantada no Vale Salinas, Califórnia, EUA, no período de inverno. Sua resistência ao míldio durou até o surgimento de uma nova raça em 1974 (RYDER, 1986).

No final da década de 50, o programa de melhoramento de alface do USDA lançou as cultivares como Empire, Merit, Clímax e Vanguard para produção nas áreas de deserto, originando um terceiro segmento de alface americana. ‘Empire’ foi lançada em 1956 e logo se tornou a cultivar mais amplamente cultivada. Apresenta folhas de coloração verde-clara, bordos foliares bem serrilhados, crocantes, formato cônico de cabeça e com sua parte basal achatada. Outra cultivar lançada em 1957 foi ‘Merit’, tolerante ao *big vein*, a qual foi plantada num curto período de tempo após ‘Empire’.

No ano de 1958, ‘Vanguard’ foi lançada tornando-se a principal cultivar plantada no oeste dos EUA durante o período de primavera e verão na Califórnia e Arizona, permanecendo como líder durante os anos de 1960 a 1970 (RYDER, 1999). ‘Vanguard’ foi a primeira cultivar de alface americana, originada a partir do cruzamento interespecífico entre *L. sativa* com a espécie selvagem *L. virosa*. Essa cultivar apresentava uma série de características diferentes

daquelas anteriormente descritas, devido ao seu cruzamento com *L. virosa*, tais como: sistema radicular mais vigoroso, maior retenção foliar, coloração verde-escura e opaca, folhas com bordos lisos e de textura foliar grossa, boa proteção foliar de cabeça, tolerante ao *tip burn* e de pendoamento lento. Apesar de 'Vanguard' ter sido desenvolvida para as regiões de deserto, sob condições de temperatura elevada, apresentava formação de cabeça menos compacta. 'Climax', também lançada em 1958, assemelhava-se a cultivar Vanguard, porém apresentava folhas levemente onduladas e era recomendada para o cultivo de inverno. Ambas as cultivares apresentavam coloração de semente preta (THOMPSON; RYDER, 1961).

Segundo Ryder (1986) na história moderna do melhoramento da alface dos EUA existem quatro grupos de alface americana: 'Imperial', 'Great Lakes', 'Vanguard' e 'Empire', cuja origem e principais características foram descritas anteriormente. Por um período de 10 a 20 anos após o lançamento de novas cultivares de alface americana, os melhoristas mantiveram o padrão varietal 'Vanguard' inclusive incorporando resistência às principais doenças que ocorriam na Califórnia.

Através de cruzamentos entre as melhores linhas da cultivar Vanguard com a cultivar Calmar chegou-se ao desenvolvimento de 'Salinas' pela pesquisa do USDA em 1975. 'Salinas' é considerada uma cultivar do tipo Vanguard (RYDER, 1979). Neste mesmo ano, 'Vanguard 75' foi lançada como a primeira cultivar de alface americana resistente ao vírus do mosaico da alface causado pelo vírus *Lettuce Mosaic Virus* (LMV). Segundo Ryder (1999), desde então, o padrão Vanguard-Salinas tem dominado a produção de alface americana em todo o mundo. Na Europa, Salinas é conhecido como Saladin. Caracteriza-se por apresentar cabeça compacta e uma só camada de folhas externas e cabeça bem compacta.

A alface americana é produzida durante o ano todo, em muitas localidades diferentes, nos EUA. Pequenas variações na temperatura em períodos críticos do desenvolvimento da planta podem afetar a qualidade do produto e comportamento varietal. Com isso, inúmeras cultivares de alface têm sido lançadas para atender à demanda do mercado por materiais mais adaptados. Muitas dessas cultivares têm surgido, principalmente, a partir de programas de melhoramento privado, tornando sua origem e características muitas vezes não disponíveis na literatura.

Atualmente, a alface americana corresponde ao principal tipo comercializado nos EUA, com mais de 60% do mercado consumidor (RYDER, 2002).

No Brasil, o cultivo da alface americana é bastante recente, quando comparado com o do EUA, onde seu cultivo data desde a década de 70.

Os primeiros relatos de seu cultivo no Brasil são entre o final da década de 60 e início de 70 com ensaios varietais utilizando as cultivares Great Lakes Mesa 659 e New York, descritos nos trabalhos realizados no Instituto Agrônomo de Campinas - SP (BERNARDI, 1969; BERNARDI; IGUI, 1973).

De acordo com Tavares⁴ (informação verbal) até início da década de 80 esse grupo de alface era desconhecido da maioria do público consumidor. Sua produção era concentrada numa determinada época do ano e em algumas áreas do cinturão verde de São Paulo.

Nesse mesmo período, começaram a surgir no país as redes de lanchonete *fast food* como o Mc Donald`s, com o objetivo de servir lanches de qualidade e rapidez.

A principal cultivar produzida na época era Great Lakes Mesa 659 caracterizada por apresentar plantas com cabeça pequena quando comparada com as cultivares atuais. Apesar de não apresentar adaptabilidade às condições tropicais de cultivo, permaneceu como referência até 1990.

A partir do início dos anos 90, a demanda e o mercado da alface americana no país começaram a aumentar por dois motivos: pela preferência da classe média alta que já conhecia o produto através de suas viagens ao exterior e, aumento das lanchonetes de *fast foods*. Inicialmente, importou-se a matéria prima utilizada pelas redes de lanchonetes porque o cultivo local não atendia à demanda do mercado durante todas as épocas do ano.

Em 1991 os dirigentes americanos da rede Mc Donald`s em contato com as empresas de sementes, introduziram no Brasil cultivares líderes das principais regiões produtoras da Califórnia. Desse modo, inúmeras cultivares foram trazidas e avaliadas, até que foi escolhida uma cultivar com plantas de cabeça grande, compacta e superior a 'Great Lakes Mesa 659', denominada 'Lorca'. Entretanto apesar de ser muito mais produtiva que as demais existentes na época, seu cultivo limitava-se ao período de temperaturas amenas (abril a agosto), na região de Piedade, Ibiúna e Mogi das Cruzes. O grande desafio daquela época foi de encontrar uma cultivar mais adaptada aos meses de temperaturas e pluviosidade elevadas.

⁴ TAVARES, C.A.M. Eng. Agônomo da empresa Tecnoseed.

O melhoramento da alface americana foi feito para as condições de clima semi-árido e mediterrâneo da Califórnia, EUA. Seu cultivo nas condições tropicais do Brasil apresenta limitações devido às condições ambientais inadequadas.

Em 1993, surgiram duas cultivares que se distinguiam das anteriores por apresentarem plantas com cabeça maiores. A cultivar Raider mostrou melhor adaptação ao cultivo nas épocas de temperaturas amenas, apresenta cabeça compacta o que possibilita seu processamento para atender as redes de *fast food*. A culinária americana tem o hábito de consumir alface americana picada o que explica a exigência de cabeça compacta que permite seu corte com mais facilidade. Atualmente, a 'Raider' é uma das líderes de mercado para atender ao segmento de *fast food*. Seu cultivo concentra-se, principalmente, nas regiões serranas do Estado de São Paulo, como Ibiúna, Piedade e Mogi das Cruzes.

A cultivar Lucy Brown mostrou-se adaptada às condições de alta temperatura e pluviosidade durante o cultivo de verão. Apresenta tolerância à mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *vitians* (Brown) Dye), cabeça não muito compacta, com boa cobertura foliar e precocidade. É adaptada ao cultivo no verão, sem grandes problemas com o apodrecimento da cabeça e danos provocados pela exposição ao sol. A cobertura externa foliar que protege a cabeça, garante seu transporte e manuseio durante a comercialização. Convém destacar que a culinária brasileira, diferentemente da americana, tem preferência pelo consumo das folhas da alface na forma destacada e não picada. Por apresentar cabeça não compacta, 'Lucy Brown' tornou um padrão particular no Brasil, tornando a cultivar líder deste segmento do mercado brasileiro por 13 anos consecutivos e responsável por dar sustentabilidade do cultivo da produção anual de alface americana (COSTA; SALA, 2005).

Atualmente, o surgimento da murchadeira causada pelo fungo *T. basicola*, tem limitado o cultivo da 'Lucy Brown' no verão. Em constantes visitas aos campos de produção de folhosas no verão de 2001/2002, verificamos a ocorrência de variantes da 'Lucy Brown' aparentemente resistentes a *T. basicola* em um área com forte incidência da doença. Através da seleção dentro de progênies obtidas a partir dessas plantas, desenvolveram-se linhas resistentes ao patógeno, descritas na presente pesquisa.

A seleção para o mérito hortícola associada à resistência a *T. basicola* possibilitará o desenvolvimento de uma nova cultivar de alface americana tropicalizada e superior a 'Lucy Brown' disponibilizada ao mercado nacional, cuja designação proposta será 'Gloriosa'.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

Os experimentos foram conduzidos na área experimental do Departamento de Produção Vegetal, da USP/ESALQ, em Piracicaba – SP, que está a uma latitude de 22° 42' 30" sul, longitude 47° 38' 00" oeste e uma altitude de 546 m (KUABARA, 1984) e no município de Paulínia – SP, latitude de 22° 45' 40" sul, longitude 47° 09' 15" oeste e altitude de 590 m.

3.2 Obtenção e conservação do isolado de *Thielaviopsis basicola*

O isolado de *Thielaviopsis basicola* utilizado nas conduções dos experimentos foi o isolado L₁ considerado como agressivo nos testes de patogenicidade, *in vitro*, para a cultivar suscetível de alface Elisa (TEIXEIRA-YAÑEZ, 2005).

O isolado foi obtido a partir de plantas de alface lisa, apresentando sintomas de podridão negra da raiz, proveniente do município de Paulínia – SP, em janeiro de 2002. Para a realização do isolamento, fragmentos radiculares de aproximadamente dois centímetros de comprimento lavados em água de torneira corrente por cinco minutos, foram depositados na superfície de discos de cenoura de um centímetro de espessura, desinfestados superficialmente e acondicionados em placas de Petri ou placas Gerbox, em temperatura ambiente. Após três ou quatro dias, estruturas típicas do fungo (conídios e clamidósporos) foram transferidas do tecido da raiz de cenoura para o meio de cultura BCA (20 g de batata, 20 g de cenoura, 20 g de ágar e 1.000 mL de água destilada) (TEIXEIRA-YAÑEZ, 2005). A conservação dos isolados obtidos foi feita através do método de Castellani (FIGUEIREDO, 1967).

3.3 Reação de cultivares de alface a *Thielaviopsis basicola*

Para determinar a reação das cultivares de alface à *T. basicola*, utilizaram-se 37 cultivares, pertencentes a quatro segmentos varietais: 1) americana (Tainá, Empire, Invader, Lady, Lorca, Lucy Brown, Sonoma, Stinger, Salinas 88, Niner, Rubete, Mohawk, Raider, Yuri, SVR1778, PRS113, PRS115 e PRS261), crespa (Vera, Simpson Elite, Mariane, Brisa, Verônica,

Korean Leaf, Locarno, Banchu New Red Fire e Green Day), lisa (Elisa, Luisa, EX2622, Letícia, Ninja e Tinto) e batávia (Gorga, Batávia Pierre Benite, Batávia 301397 e La Brillante).

3.3.1 Preparo do inóculo, produção de mudas, inoculação e avaliação

A multiplicação do inóculo do isolado L₁ de *T. basicola* foi feito em meio de cultura BCA. Discos de micélio de 5mm de diâmetro do isolado foram transferidos para placas de Petry, contendo o meio BCA e incubadas a 25°C sob escuro contínuo, durante 15 dias. Foram adicionados 10 mL de água destilada e esterilizada e com o auxílio de uma alça de Drigalsky, a superfície do meio foi raspada e a suspensão filtrada através de uma dupla camada de gaze. A concentração de conídios foi verificada e calibrada com auxílio de um hemacitômetro. O preparo do inóculo foi realizado no laboratório do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da USP/ESALQ.

O experimento foi conduzido no período de 20 de janeiro a 12 de março de 2003. Mudas das cultivares de alface foram produzidas em bandejas de poliestireno expandido de 200 células, preenchidas com substrato Plantmax® HA. As mudas com trinta dias foram transplantadas para bandejas de 128 células, preenchidas com um terço de substrato (Plantmax® HA) colonizado com o isolado na concentração de $7,5 \times 10^5$ conídios/g/substrato. Após o transplante, adicionou-se 3 mL de uma suspensão de 2×10^6 conídios/mL próximo a região do colo de cada planta, com auxílio de uma micropipeta. Ambos substratos utilizados para a produção das mudas e para ser colonizado, foram previamente solarizados durante 72 horas em coletor solar (GHINI, 1997). As mudas não inoculadas (testemunha) foram transplantadas para bandejas de 128 células preenchidas com substrato não colonizado pelo patógeno.

As irrigações feitas através de um sistema intermitente de aspersão, foram acionadas eletronicamente por um temporizador, reguladas para atender o tempo de irrigação necessário pelas mudas. Realizou-se a avaliação aos 22 dias após a inoculação através do critério de severidade da doença, numa adaptação à escala de O'Brien e Davis (1994): 1 – ausência de sintomas, 2 – traços de necrose nas radículas, 3 – menos de 50% das raízes necrosadas, 4 – mais de 50% e menos de 90% das raízes necrosadas e 5 – mais de 90% das raízes severamente afetadas (Figura 1).



Figura 1 – Representação da escala de notas utilizadas para avaliação da severidade da podridão negra da raiz da alface. Da esquerda para a direita: nota 1 (ausência de sintomas), nota 2 (traços de necrose nas radículas), nota 3 (menos de 50% das raízes necrosadas), nota 4 (mais de 50% e menos de 90% das raízes necrosadas) e 5 (mais de 90% das raízes severamente afetadas)

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 37 x 2 (trinta e sete cultivares de alface, com e sem inoculação). Cada cultivar foi testada com três repetições e cada repetição constituída por seis plantas. A análise estatística dos dados foi feita através da comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando-se o programa estatístico SAS (SAS Institute, 1999) (Anexo A). O fato das plantas não inoculadas apresentarem nota 1 (ausência de sintomas), procedeu-se a análise estatística apenas com as notas das plantas inoculadas, para destacar as reais diferenças na reação das cultivares. A análise estatística dos dados de todos os experimentos foi feita com auxílio do Prof. Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias, do Departamento de Ciências Exatas da USP/ESALQ.

Histogramas de frequência (%) das notas obtidas na reação ao patógeno para cada cultivar de alface foram feitos para melhor visualização do comportamento varietal (Anexos B, C, D, E, F, G e H).

3.4 Herança da reação de alface a *Thielaviopsis basicola*

Visando determinar a herança da reação de alface a *Thielaviopsis basicola*, identificaram-se e selecionaram-se, das populações F2 do programa de melhoramento de alface da USP/ESALQ, quatro cruzamentos originados a partir de cultivares resistentes x suscetíveis ao patógeno. O critério de escolha das populações F2 levou em consideração a reação dos respectivos cultivares progenitores de alface a *T. basicola* descritas na presente pesquisa. As populações F2 de alface utilizadas para o estudo da herança ao patógeno constam da Tabela 1.

Tabela 1 – Relação das populações segregantes de F2 de alface

População	Cruzamento
F2	Luisa x Batávia Pierre Benite
F2	Luisa x Ninja
F2	Elisa x Tinto
F2	Luisa x La Brillante

As populações F2 que foram utilizadas para determinar o modo de herança ao patógeno apresentam progenitores diferentes quanto a sua reação a *T. basicola* e características das quais, são descritas a seguir.

‘Luisa’ - alface lisa derivada da cultivar Regina e que apresenta pendoamento lento. É recomendada para o cultivo de verão e resistente ao LMV II (*Lettuce Mosaic Virus*). ‘Luisa’ é uma das líderes do mercado nacional de alface do segmento lisa, pertencente à empresa Horticeres. É suscetível a *T. basicola*.

‘Ninja’ - originária do cruzamento entre *Lactuca saligna* com uma alface lisa de origem italiana. ‘Ninja’ é do tipo lisa, apresenta formação de cabeça e folha de coloração verde-escura. Possui resistência ao patótipo de míldio (*Bremia lactucae*) de ocorrência no Brasil, conferido pelo fator de resistência R36 e possui resistência para os patótipos da Califórnia (EUA) dos grupos 1 a 6 (COSTA et al., 2003). É resistente a *T. basicola*.

‘Elisa’ - lisa e adaptada ao cultivo de verão. É resistente ao LMV II e considerada uma das líderes do mercado brasileiro deste segmento e pertencente à empresa Sakata. É suscetível a *T. basicola*.

'Batávia Pierre Benite' - batávia de origem européia. Apresenta folhas de bordos crespas de coloração verde-clara. Apresenta boa adaptabilidade ao cultivo de primavera em condições de temperatura amena. Apresenta resistência ao míldio para alguns patótipos da Europa. Sensível ao *tip burn* e resistente a *T. basicola*.

'Tinto' - lisa com presença de antocianina nas folhas. Apresenta porte pequeno, tolerância a *Tospovirus* e a LMV, em condições de campo. É resistente ao pendoamento precoce e a *T. basicola*.

'La Brilliante' - batávia desenvolvida em 1936 na Europa. Apresenta folhas de coloração verde clara brilhante com formação de cabeça. Apresenta resistência a *Verticillium*. É resistente a *T. basicola*.

3.4.1 Produção de mudas, preparo do inóculo e inoculação das populações F2 e progenitores

O experimento foi realizado no período de 20 de dezembro de 2003 a 15 de fevereiro de 2004. As mudas das populações F2 e progenitores foram obtidas usando bandejas de poliestireno expandido (200 células), preenchidas com substrato Plantmax® HA. Mudas com 30 dias foram transplantadas para bandejas de 128 células, preenchidas com um terço de substrato (Plantmax® HA) colonizado com o patógeno na concentração de $1,3 \times 10^6$ conídios/g/substrato. Após o transplante, inoculou-se cada planta com 3 mL de suspensão de 2×10^6 conídios/mL, próximo à região do colo de cada muda, com auxílio de uma micropipeta. O isolado do patógeno utilizado foi o mesmo descrito no item 3.2.

O substrato utilizado para produção de mudas e colonização com *T. basicola* foram previamente solarizados por 72 horas em coletor solar (GHINI, 1997). O procedimento adotado para o preparo do inóculo foi do mesmo modo descrito no item 3.3.1.

As bandejas com as plantas inoculadas foram mantidas em casa de vegetação sendo irrigadas através de um sistema intermitente por aspersão. O experimento foi inteiramente casualizado e o número de plantas adotadas para cada população F2 e progenitores consta da Tabela 2.

Tabela 2 – Número de plantas de alface das populações F2 e progenitores avaliados quanto à reação à *Thielaviopsis basicola*

Geração	Nº de plantas
F2 (Luisa x Batávia Pierre Benite)	200
PS Luisa	47
PR Batávia Pierre Benite	16
F2 (Luisa x Ninja)	200
PS Luisa	47
PR Ninja	16
F2 (Elisa x Tinto)	223
PS Elisa	40
PR Tinto	32
F2 (Luisa x La Brilliante)	224
PS Luisa	40
PR La Brilliante	40

PR – parental resistente e PS – parental suscetível.

3.4.2 Critério de avaliação e classificação quanto a categoria de reação a *Thielaviopsis basicola* nas populações F2

A avaliação da reação das populações F2 e progenitores foi realizada 26 dias após a inoculação com base na severidade da doença, utilizando método descrito no item 3.3.1.

Para classificar a reação das populações F2 em categorias de resistência e suscetibilidade ao patógeno, adotaram-se três grupos de classificação quanto à reação do hospedeiro a *T. basicola*. Plantas que apresentaram notas 1 e 2 foram consideradas como resistentes ao patógeno. Nota 3 como de reação intermediária enquanto que as plantas com notas 4 e 5 foram consideradas suscetíveis (Tabela 3). Este parâmetro foi adotado para o estudo da herança e para o avanço das progênes selecionadas como resistentes ao patógeno. As plantas classificadas como resistentes (notas 1 e 2) foram transplantadas para vasos de 5 L preenchidos com substrato para o realizar o avanço das progênes F3, através do método genealógico.

Tabela 3 - Categoria para classificação das populações F2 de alface quanto à reação a *Thielaviopsis basicola*, baseada na frequência de notas obtidas

Categoria	Frequência de notas (1 a 5)
Resistente	1 – 2
Intermediário	3
Suscetível	4 – 5

Para o estudo do modo de herança da reação de alface a *T. basicola* assumiu-se a hipótese de segregação mendeliana 3:1 para resistência ao patógeno. As plantas que obtiveram nota 3 para reação do hospedeiro ao patógeno foram consideradas como um desvio accidental de avaliação em função de problemas ambientais e/ou devido a erros durante a avaliação. Com isso, para determinar o modo de herança adotaram-se dois critérios de avaliação, assumindo a hipótese de segregação mendeliana: a) considerando para análise apenas o número de plantas classificadas como resistentes (notas 1 e 2) e suscetíveis (notas 4 e 5). Plantas que obtiveram nota 3 para reação do hospedeiro ao patógeno não foram utilizadas para análise da herança e b) das plantas que obtiveram nota 3, $\frac{3}{4}$ foram consideradas como sendo resistentes ao patógeno e $\frac{1}{4}$ como suscetíveis, sendo essas notas distribuídas para as categorias de resistência e suscetibilidade, respectivamente. Os dados obtidos para análise genética foram avaliados pelo teste de qui-quadrado (RAMALHO; SANTOS; PINTO, 1990).

Histogramas de frequência (%) das notas obtidas na reação ao patógeno pelas populações F2 e seus progenitores foram feitos para melhor visualização do comportamento das plantas em relação ao fungo. As análises foram feitas com o auxílio do Prof. Dr. Roland Vencovsky do Departamento de Genética da USP/ESALQ.

3.5 Seleção de variantes resistentes à *Thielaviopsis basicola* na cultivar de alface americana Lucy Brown

A alface americana 'Lucy Brown' tem sido líder do mercado brasileiro deste setor, por 13 anos consecutivos. Entretanto, sua produção tem sido limitada pela suscetibilidade à murchadeira. Em constantes visitas aos campos de produção de folhosas, de dezembro de 2001 a fevereiro de 2002, na região de Campinas – SP, verificamos a ocorrência de variantes da 'Lucy Brown' aparentemente resistentes a *T. basicola* em uma área com forte incidência da murchadeira (Figura 2).

Um total de 17 variantes S0, aparentemente resistentes, foram cuidadosamente transplantados e cultivados em vasos de plástico e mantidos em casa de vegetação. Foi possível obter sementes de oito plantas sobreviventes.

Os variantes S0 da cultivar Lucy Brown coletados do campo apresentavam características diferentes quanto ao tipo de folha, ausência na formação de cabeça e diferenças na

coloração da semente. A semente da 'Lucy Brown` é de coloração preta, enquanto que a cor da semente de cinco variantes S0 da cultivar Lucy Brown é branca. A designação dos variantes S0 e sua coloração das sementes é: LB # 1 (preta), LB # 2 (preta), LB # 4 (preta), LB # 5 (branca), LB # 6 (preta), LB # 7 (branca), LB # 8 (branca) e LB # 9 (branca).



Figura 2 - Variante S0 da alface americana 'Lucy Brown` resistente a *Thielaviopsis basicola* em condições naturais de incidência da murchadeira. Propriedade do Sr. Antônio Nakagawa, Paulínia – SP. Dezembro de 2001

3.6 Reação das progênies S1 dos variantes da alface americana 'Lucy Brown' a *Thielaviopsis basicola*

O experimento foi conduzido no período de 20 de fevereiro a 5 de abril de 2003. Mudanças das oito progênies S1 foram obtidas a partir dos variantes da 'Lucy Brown' e produzidas em bandejas de poliestireno expandido de 200 células, preenchidas com substrato Plantmax® HA. Transplantaram mudas com 30 dias para bandejas de 128 células, preenchidas com um terço de substrato (Plantmax® HA) colonizado com o isolado do patógeno na concentração de $1,1 \times 10^6$ conídios/g/substrato. Logo após o transplante, 3 mL de uma suspensão de 2×10^6 conídios/mL foi adicionada à região do colo de cada planta, com auxílio de uma micropipeta. Ambos substratos utilizados para a produção das mudas e o colonizado, foram previamente solarizados durante 72 horas em coletor solar (GHINI, 1997). A cultivar Lucy Brown foi utilizada como testemunha referencial de suscetibilidade.

A metodologia de produção do inóculo, condução do experimento e avaliação foi similar a descrita no item 3.3.1.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada repetição composta por sete plantas de cada progênie S1. Para análise, considerou cada planta uma repetição. As análises estatísticas dos dados foram feitas através da comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SAS (SAS Institute, 1999) (Anexo I).

Histogramas de frequência (%) das notas da reação ao patógeno para cada progênie S1 foram feitas para melhor visualizar o seu comportamento do fungo (Anexos J e K).

As plantas das progênies S1 da alface 'Lucy Brown' foram avaliadas. Adotou-se o critério de resistente para as que obtiveram nota 1 (ausência de sintomas) e 2 (traços de necrose nas radículas). Posteriormente as mudas selecionadas foram transplantadas para vasos de 5 L, preenchidos com substrato formulado pela Multiplanta® e mantidas em casa de vegetação para obtenção de sementes. A fertirrigação foi feita através de um sistema fechado de gotejamento no sistema intermitente, sendo acionado eletronicamente por um temporizador, regulado para atender o tempo de irrigação necessário pelas plantas.

Quando as plantas apresentavam maturidade das sementes em torno de 60%, realizava-se o corte da haste floral para secagem das sementes e posterior beneficiamento. Cada planta foi

colhida individualmente para o avanço das progênes. O método de melhoramento utilizado para o avanço e seleção das progênes foi o genealógico. Foi possível obter cerca de 120 progênes S2 resistentes ao patógeno.

3.7 Avaliação do mérito hortícola e seleção das progênes S2, S3 e S4 da alface 'Lucy Brown' resistentes a *Thielaviopsis basicola*

3.7.1 Progênes S2

As progênes S2 derivadas dos variantes da cultivar Lucy Brown e resistentes a *Thielaviopsis basicola* foram avaliadas e selecionadas quanto ao mérito hortícola das progênes em condições de cultivo no campo.

O primeiro ensaio foi conduzido nos meses de setembro a novembro de 2003, no campo do alfacicultor Sr. Antonio Nakagawa, em Paulínia – SP, local com histórico de alta incidência de murchadeira.

As mudas das progênes S2 foram obtidas em bandejas de poliestireno expandido de 200 células e transplantadas para o campo, dispostas em três fileiras/canteiro, espaçadas 0,3 m entre plantas, totalizando 54 plantas para cada progênie S2. O manejo cultural e os tratamentos fitossanitários foram feitos conforme o estipulado para a cultura para todas as progênes.

Devido ao grande número de progênes S2 resistentes ao patógeno (120 progênes), a seleção das progênes foi feita 54 dias após o transplante, utilizando um critério qualitativo para a uniformidade, qualidade da cabeça, boa formação de saia e, principalmente, adaptabilidade ao cultivo de verão. Para a seleção foi dada ênfase para preferência do mercado consumidor, varejista e atacadista. Portanto, muitas destas características avaliadas foram adotadas para avançar as melhores progênes. A avaliação das progênes S2 quanto aos seus méritos hortícolas, possibilitou identificar as progênes LB # 4, LB # 7 e LB # 9 como as mais promissoras. As progênes S2 restantes foram descartadas por apresentarem alto grau de variabilidade e ausência de formação de cabeça. A cultivar comercial 'Lucy Brown' serviu como testemunha referencial no processo de avaliação das melhores progênes S2.

Devido a grande variabilidade das progênes S1 e S2 com relação ao tipo 'Lucy Brown' e 'Vanguard', qualidade de cabeça, coloração de semente e adaptabilidade ao cultivo de verão,

foram avançadas gerações. Assim, foi possível obter maior homozigidade para as características hortícolas e testar sua adaptabilidade para o cultivo no verão em termos de comportamento similar a 'Lucy Brown'. O local de instalação dos experimentos apresentava histórico de alta incidência de murchadeira, permitindo avaliar o comportamento das progênies ao patógeno em condições naturais de ocorrência.

As progênies S2 eleitas mais uniformes e com maior potencial hortícola (LB # 4, LB # 7 e LB # 9) foram escolhidas. Posteriormente selecionaram-se 50 melhores plantas com boa compacidade de formação de cabeça e com três camadas de folhas externas. As cabeças das melhores plantas foram cortadas transversalmente com auxílio de um canivete e as folhas internas retiradas, mantendo preservada a gema apical. Após a retirada das folhas adicionaram-se cerca de 50 g de gesso agrícola sobre as folhas cortadas. Essa técnica teve a finalidade de proteção contra podridões bacterianas. Cinco dias após aplicação do gesso, transplantaram-se as plantas selecionadas para vasos de 5 L visando obtenção das sementes, numa adaptação à metodologia de Honma e Vriesenga (1972). As plantas foram mantidas em casa de vegetação para obter a geração S3 e fixar as características hortícolas ideais de uma alface americana tropicalizada com resistência ao patógeno. A técnica de transplantar plantas elites permitiu uma maior eficiência seletiva.

As plantas com mais de 60% de maturidade das sementes foram colhidas individualmente para obtenção das progênies S3. Adotou-se o método genealógico para o avanço das progênies elites selecionadas.

3.7.2 Progênies S3

Das progênies S2 selecionadas no campo, conforme descrito no item 3.7.1., foi possível obter sementes de 18 progênies S3, sendo doze progênies do variante LB # 4 e seis do variante LB # 7.

O segundo ensaio foi conduzido no período de março a maio de 2004 no campo do alficultor Sr. Antônio Nakagawa, em Paulínia – SP, onde o patógeno está instalado, fato constatado com as cultivares suscetíveis.

Mudas das progênies S3 foram obtidas em bandejas de poliestireno expandido de 200 células. Após trinta dias, mudas de cada progênie foram transplantadas para canteiros,

previamente preparados, constituídos pela dimensão de 4m de comprimento por 1,2m de largura. As mudas de alface foram dispostas em três fileiras/canteiro e espaçadas 0,3m entre plantas, totalizando aproximadamente, 54 plantas/parcela. A área útil da parcela avaliada foi formada por 18 plantas competitivas na linha central do canteiro, desconsiderando as linhas externas devido o efeito de bordadura. A cultivar Lucy Brown foi utilizada como testemunha referencial. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com três repetições para cada progênie S3.

Cinquenta dias após o transplante, avaliou-se o mérito hortícola das progênies S3 da 'Lucy Brown' através de uma escala de notas qualitativas para uniformidade de progênie, compacidade de cabeça e número de folhas externas. Adotou-se o critério de somatório total das características avaliadas para eleger e selecionar as melhores progênies (Tabela 4).

Durante a avaliação e seleção das progênies S2, observou-se que na progênie LB # 4, havia ocorrência de plantas fenotipicamente distintas do padrão com plantas de coloração verde-escuro, folhas de bordos lisos e textura grossa. Essas plantas apresentavam uma maturação tardia e assemelhavam-se a cultivar Vanguard. Por apresentar características distintas do padrão da 'Lucy Brown', selecionaram-se plantas elites dentro desta progênie para obtenção da geração S3. A seleção pelo método genealógico de plantas individuais dentro e entre as progênies possibilitou a seleção de dois tipos varietais: a) tipo 'Lucy Brown' e b) tipo 'Vanguard' que foram avançadas com relação as progênies LB # 4.

Avaliou-se a uniformidade das progênies através de uma adaptação da escala de notas proposta por Rubatzky (1999). Adotou o critério na qual a maturidade precoce seria semelhante ao padrão da cultivar Lucy Brown. A maturidade da alface pode ser classificada em precoce e tardia. As alfases do segmento crespo e liso são consideradas precoces, pois atingem seu ponto comercial com aproximadamente 30 a 40 dias após o transplante. A alface americana tem maturidade mais tardia, porém, dentro deste segmento varietal temos a maturidade de precoce ou tardio. 'Lucy Brown' é uma cultivar precoce, normalmente colhida com 40 a 50 dias. A maioria das cultivares de alface americana apresenta um ciclo tardio chegando ao ponto de colheita com mais de 60 dias.

Tabela 4 – Escala de notas para avaliação do mérito hortícola das progênes da alface americana ‘Lucy Brown’ em condições de cultivo no campo

Uniformidade (1)	Compacidade (2)	Número de folhas (3)
1–muito variável (menos de 30%)	1–Fofa, sem compacidade	1–uma camada de folhas
2–variável (mais de 30% e menos de 50%)	2–Razoavelmente firme	2–duas camadas de folhas
3–regular (mais de 50% e menos de 70%)	3–Compacta e firme	3–acima de três camadas de folhas
4–bom (mais de 70% e menos de 90%)	4–Alta firmeza, compacta	
5–ótimo (mais de 90%)	5–Extra-firme, com nervuras rompidas	

(1) Expressa pelo número de plantas (%) que apresentaram formação de cabeça dentro de cada progênie.
 (2) Grau de compacidade da cabeça da alface americana.
 (3) Número de camadas de folhas externas das plantas de alface.

No Brasil, a cultivar Lucy Brown é preferida devido a sua precocidade. Conforme a demanda do alficultor, colhe-se a planta logo após sua formação da cabeça, nem sempre, com a compacidade necessária. Este padrão é particular no Brasil, porque a maioria da alface americana é consumida na forma de salada com a folha destacada e não picada, da maneira usual nos EUA.

A compacidade das progênes foi avaliada com um toque e apalpando a cabeça da alface com a mão. Para isso utilizou-se a escala proposta por Kader; Lipton e Morris (1973).

Para avaliar o número de folhas externas das progênes utilizou a escala proposta por Rubatzky (1999). Como critério, selecionamos as progênes com maior número de folhas externas para permitir uma boa cobertura e proteção da cabeça e transporte para comercialização.

A seleção e a escolha das progênes elites foi baseada no critério do somatório das notas das características avaliadas como uniformidade, compacidade e número de folhas externas. Este critério, adotado segundo o proposto por Rubatzky (1999), permitiu avançar as gerações das progênes de alface americana selecionadas e conduzidas pelo método genealógico.

As irrigações foram feitas diariamente, sendo a cultura conduzida sob ‘mulching’ de bagacilho de cana. O manejo cultural foi feito de acordo com o protocolo do alficultor Sr. Antônio Nakagawa.

As progênes S3 que apresentavam os melhores méritos hortícolas foram escolhidas e através das plantas elites obteve-se a geração S4. Os procedimentos para transplante das plantas do campo para vasos, condução e colheita das sementes foram realizados de forma similar ao item 3.7.1.

As análises estatísticas dos dados do mérito hortícola foram feitas através da comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o programa SAS (SAS Institute, 1999) (Anexos L, M e N). Escolheram-se as melhores progênes S3 elites com base na soma total dos méritos hortícolas.

3.7.3 Progênes S4

A partir das progênes S3 selecionadas no campo, conforme descrito no item 3.7.2., obtiveram-se sementes de 21 progênes S4 do variante LB # 4, classificadas e selecionadas como as melhores do ensaio anterior.

O terceiro ensaio foi conduzido de setembro a novembro de 2004 no campo do alficultor Sr. Antônio Nakagawa, em Paulínia – SP, onde o patógeno está instalado, fato constatado por sintomas em cultivares suscetíveis.

A instalação do experimento, condução, avaliação e seleção das progênes S4 em condições de campo para o mérito hortícola foram realizadas de forma similar aos itens 3.7.1 e 3.7.2.

As progênes S4 eleitas como as mais uniformes e com maior potencial de mérito hortícola foram selecionadas. A partir dessa geração foi possível observar e constatar maior homozigosidade dentro das progênes, para características hortícolas e avaliar suas adaptabilidade no cultivo de verão, similar a 'Lucy Brown'. Elegeram-se as oito melhores progênes S4 para serem avaliadas quanto à reação a *T. basicola*.

3.7.4 Reação das progênes S4 dos variantes da alface americana 'Lucy Brown' a *Thielaviopsis basicola*

Para avaliar as progênes S4 quanto à reação ao patógeno, utilizaram-se as sementes remanescentes das progênes S4, eleitas como elites no teste de progênie para mérito hortícola (item 3.7.3.). O experimento foi conduzido de 28 de outubro a 20 de dezembro de 2004. Obtiveram-se as mudas das progênes em bandejas de poliestireno expandido de 200 células, preenchidas com substrato Plantmax® HA. Mudas com 28 dias foram transplantadas para bandejas de 128 células, preenchidas com um terço de substrato (Plantmax® HA) colonizado

com o isolado do patógeno na concentração de 1×10^6 conídios/g/substrato. Logo após o transplante, 3 mL de uma suspensão de 2×10^6 conídios/mL foi adicionada a região do colo de cada planta, com auxílio de uma micropipeta. Ambos os substratos utilizados para a produção das mudas e o colonizado, foram previamente solarizados durante 72 horas em coletor solar (GHINI, 1997). A cultivar Lucy Brown foi utilizada como testemunha referencial de suscetibilidade.

A metodologia de produção do inóculo, condução do experimento e avaliação foram similares à descrita no item 3.3.1.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições, sendo cada repetição composta por oito plantas de cada progênie S4. Para análise considerou cada planta como uma repetição. As análises estatísticas dos dados foram feitas através da comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando-se o programa estatístico SAS (SAS Institute, 1999) (Anexos O, P e Q).

Histogramas de frequência (%) das notas obtidas na reação ao patógeno para cada progênie S4 foram feitas para visualizar melhor o comportamento do hospedeiro (Anexos S e T).

As plantas das progênies S4, que obtiveram nota 1 (ausência de sintomas) e 2 (traços de necrose nas radículas), foram consideradas resistentes ao patógeno, sendo transplantadas para vasos de 5 L para obtenção de sementes das progênies S5, pelo método genealógico e posterior testes de validação.

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1 Reação de cultivares de alface a *Thielaviopsis basicola*

A reação das cultivares de alface a *Thielaviopsis basicola* foi bastante contrastante quanto ao segmento varietal (Tabela 5, Anexo A).

De acordo com os dados apresentados na Tabela 5 as cultivares Elisa, Tainá, Empire, Invader, Luisa, Lady, SVR 1778, Lorca e Lucy Brown foram suscetíveis ao patógeno com notas para severidade variando de 5 a 4,16 e não diferindo estatisticamente entre si.

A cultivar Sonoma apresentou nota 2,16 para severidade da doença sendo estatisticamente semelhante as cultivares Stinger, Vera e Salinas 88, classificadas como resistentes ao patógeno. As demais cultivares testadas para reação ao patógeno, mostraram-se resistentes. ‘Locarno’, ‘Letícia’, ‘Batávia 301397’, ‘La Brilliante’, ‘Banchu New Red Fire’, ‘Green Day’ e ‘Tinto’ não apresentaram nenhum sintoma de podridão no sistema radicular. Resultado semelhante foi obtido por Teixeira–Yañes (2005), para a cultivar Banchu New Red Fire.

Todas as cultivares do segmento crespo e batávia foram resistentes ao patógeno. No Brasil, a alface crespa representa 70% do mercado desta folhosa (COSTA; SALA, 2005), sendo que ‘Vera’ e ‘Verônica’ são as cultivares mais cultivadas e líder de vendas. Convém destacar que para Teixeira–Yañez (2005) as cultivares do tipo crespa foram resistentes, com exceção da ‘Verônica’ que se comportou como suscetível, o que não foi observado no presente trabalho, pois a mesma mostrou-se resistente.

A resistência das cultivares crespas tem sido observada nas principais lavouras desta folhosa na região de Campinas – SP e com incidência da murchadeira, o que evidencia e destaca a validade do controle genético.

Tabela 5 – Reação de cultivares de alface a *Thielaviopsis basicola*. Piracicaba, 2003

Cultivares	Notas ¹
Elisa ^L	5,00 a
Tainá ^A	4,94 a
Empire ^A	4,77 a
Invader ^A	4,66 a
Luisa ^L	4,55 a
Lady ^A	4,55 a
SVR 1778 ^A	4,44 a
Lorca ^A	4,21 a
Lucy Brown ^A	4,16 a
Sonoma ^A	2,16 b
Stinger ^A	1,73 bc
Vera ^C	1,55 bcd
Salinas 88 ^A	1,44 bcde
Niner ^A	1,37 cde
Rubete ^A	1,32 cde
Mohawk ^A	1,27 cde
PRS 113 ^A	1,27 cde
PRS 115 ^A	1,22 cde
Raider ^A	1,16 cde
Yuri ^A	1,16 cde
EX2622 ^L	1,16 cde
Simpson Elite ^C	1,16 cde
Gorga ^B	1,10 de
Batávia Pierre Benite ^B	1,10 de
PRS 261 ^A	1,05 de
Mariane ^C	1,05 de
Brisa ^C	1,05 de
Ninja ^L	1,05 de
Verônica ^C	1,05 de
Korean Leaf ^C	1,05 de
Locarno ^C	1,00 e
Letícia ^L	1,00 e
Batávia 301397 ^B	1,00 e
La Brillante ^B	1,00 e
Banchu New Red Fire ^C	1,00 e
Green Day ^C	1,00 e
Tinto ^L	1,00 e
CV (%)	25,41

^A segmento americana.

^C segmento crespa.

^L segmento lisa.

^B segmento batávia.

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05.

¹Dados originais. Para efeito de análise os dados foram transformados em log de x na base 10.

A maior parte da área produtiva de alface é destinada ao cultivo de alface crespa que mostrou-se resistente a *T. basicola* (Tabela 5). Segundo relatos do produtor de folhosas Sr. Antônio Nakagawa de Paulínia - SP, área com alta incidência da murchadeira, após ser cultivada por três ciclos sucessivos com alface crespa, reduz a incidência da doença ao ser cultivada com a cultivar suscetível Lucy Brown. Isto indica que o uso de variedades resistentes poderá ser uma alternativa para reduzir o potencial de inóculo. É possível que pelo fato dos produtores de alface cultivarem diferentes segmentos varietais de alface (americana, lisa, crespa, mimosa, etc) resistentes e/ou suscetíveis a *T. basicola*, numa sucessão de rotação de cultivo, promova a redução do potencial de inóculo. Esta prática poderá minimizar a incidência do patógeno. O emprego de cultivares resistente é o meio mais prático, eficaz e econômico de controle da podridão negra da raiz ocasionada por *T. basicola* (TEIXEIRA-YAÑEZ, 2005).

Das cultivares de chicória avaliada por Prinsloo; Baard e Ferreira (1993) quanto à reação a *T. basicola* apenas as pertencentes ao segmento crespo, também conhecida como “*frisée*”, foram resistentes. Resultados semelhantes foram observados por Sala et al. (2004b) para chicória crespa ‘Dorana’ e ‘Tasos’. Como todas as cultivares de alface crespa foram resistentes ao patógeno, é possível que o gene que confere resistência a *T. basicola*, poderá estar ligado ao gene que confere crespecidade foliar nas cultivares de alface e chicória. Todavia, esta hipótese deve ser melhor estudada para verificar eventual ligação genética entre resistência ao patógeno com o caráter de crespecidade.

De modo geral, as cultivares lisa e americana apresentaram maior variação inter-varietal quanto à reação ao patógeno. Entre as cultivares do segmento liso, Elisa e Luisa foram suscetíveis a *T. basicola*, concordando com Teixeira–Yañez (2005). ‘EX2622’, ‘Ninja’, ‘Letícia’ e ‘Tinto’ foram resistentes. Segundo Teixeira–Yañez (2005), a cultivar Regina foi altamente suscetível a *T. basicola*. As mais importantes cultivares comerciais de alface lisa são Elisa, Luisa e Regina. Convém ressaltar que as cultivares Elisa e Luisa foram selecionadas a partir da cultivar Regina do programa de melhoramento de alface da USP/ESALQ. Estes resultados mostram e confirmam a limitação dessas cultivares em áreas contaminadas com o patógeno.

As cultivares de alface americana Stinger, Salinas 88, Niner, Rubete, Mohawk, PRS113, PRS115, Raider e Yuri foram resistentes ao patógeno, enquanto que Tainá, Empire, Invader, Lady, SVR1778, Lorca e Lucy Brown foram suscetíveis (Tabela 5).

Os resultados com relação à reação de alface a *T. basicola* são escassos na literatura. O'Brien e Davis (1994) ao examinarem a reação de diversos cultivares de alface ao patógeno constataram que as cultivares Classic, NKX029, Yatesdale e Buffalo foram suscetíveis, enquanto que Monaro, Kirralee, Centenário e NKX030 foram resistentes. O'Brien e Davis (2002) relataram outras fontes de resistência a *T. basicola* nas cultivares SPS761, Elliot, Salinas, Warrior, Fraser, Target e Sally e de suscetibilidade para as cultivares Sea Green, Bamboo, Wanguard, Black Velvet e Fame. Segundo Teixeira-Yañez (2005), 'Classic' e 'Warrior' comportaram-se como suscetível e resistente, respectivamente, concordando com O'Brien e Davis (1994). Este resultado indica que a resistência de 'Warrior' é efetiva para o isolado do patógeno australiano e brasileiro. A cultivar Salinas 88, isogênica da 'Salinas' original, comportou-se como resistente ao patógeno, concordando com O'Brien e Davis (2002).

A reação das cultivares Mohawk e Raider como resistentes e Lucy Brown como suscetível ao patógeno foram semelhantes aos obtidos por Teixeira-Yañez (2005). A cultivar Lucy Brown é a alface americana mais plantada no Brasil por 13 anos consecutivos, graças a sua extraordinária adaptabilidade de cultivo no verão (COSTA; SALA, 2005). Entretanto seu cultivo em áreas com incidência de *T. basicola*, vem sendo limitado, devido à sua suscetibilidade. Assim, existe demanda de uma cultivar de alface americana adaptada ao cultivo de verão e com resistência a *T. basicola*.

Teixeira-Yañez (2005) demonstrou que, de modo geral, os isolados de *T. basicola* ocasionaram sintomas mais drásticos de podridão negra da raiz de alface, na temperatura de 27°C, quando comparado a 21°C. Diversos autores relataram a maior agressividade de *T. basicola* sob condições de temperatura adversas ao desenvolvimento do hospedeiro (MAUK; HINE, 1988; LLOYD; LOCKWOOD, 1963; BHATTI; KRAFT, 1992). Nas principais regiões produtoras de alface do Estado de São Paulo, as observações da ocorrência da murchadeira têm demonstrado ser esta doença mais problemática no período compreendido de agosto a março, ou seja, no período de verão. Entretanto essas observações têm-se limitado às regiões cuja temperatura média durante este período oscila em torno de média de 25°C, como é o caso da região produtora de Campinas – SP. A murchadeira não tem sido observada na região produtora de Piedade, Ibiúna e Mogi das Cruzes, importante pólo produtivo desta folhosa. Uma hipótese seria a temperatura média inferior a 20°C existente nessa região, que inibe a manifestação e expressão da doença, permitindo o uso de cultivares suscetível.

A podridão negra das raízes é relatada como limitante ao cultivo da alface na Austrália (O'BRIEN; DAVIS, 1994, 2002) e de chicória na África do Sul (PRINSLOO, 1986). No Brasil, a murchadeira tem sido relatado mais no cultivo da alface e chicória, principalmente no Estado de São Paulo. Convém destacar que os locais de ocorrência da podridão negra das raízes na Austrália e África do Sul situam-se na mesma latitude de São Paulo. É possível que as características climáticas dessa região subtropical sejam favoráveis à incidência da doença. Nos EUA a ocorrência de *T. basicola* em alface não tem sido constatada, pois se adota, principalmente, a prática de semeadura direta eliminando o problema da contaminação das mudas com o eventual uso de substrato contaminado.

4.2 Herança da reação de alface a *Thielaviopsis basicola*

Os progenitores confirmaram suas respectivas reações já apresentados no item anterior (item 4.1). As cultivares de alface Luisa e Elisa comportaram-se como suscetíveis ao patógeno, enquanto que Batávia Pierre Benite, Ninja, Tinto e La Brillante foram resistentes (Tabelas 6 e 7). Resultados semelhantes foram obtidos por Teixeira–Yañez (2005) para as cultivares Luisa e Elisa. Tanto a cultivar Luisa quanto Elisa é derivada da seleção de linhagens da cultivar Regina, que segundo Teixeira–Yañez (2005), foi suscetível a *T. basicola*.

Observando-se as Tabela 6 e 7, nas quais é apresentada a distribuição de indivíduos F2 dentro das diferentes categorias (resistente e suscetível) para todos os cruzamentos, verifica-se que o maior número de plantas está na categoria resistente. O número de plantas resistentes ao patógeno nos cruzamentos F2 Luisa x Batávia Pierre Benite, Luisa x Ninja, Elisa x Tinto e Luisa x La Brillante foram 144, 134, 150 e 159, respectivamente.

A análise do teste do qui-quadrado de todas as populações F2 a *T. basicola* testadas mostrou-se não significativa ($X^2 < 0,05$) para a hipótese de 3:1 (resistente x suscetível) (Tabela 7). A resistência da alface a *T. basicola* é controlada por um gene dominante. Portanto a seleção de plantas F2 resistentes permitirão em testes de progênies F3 determinar progênies resistentes homozigotas no segmento de alface lisa. Outra alternativa seria avançar as progênies F3 em testes de mérito hortícola por um a dois ciclos de seleção e depois identificar aquelas homozigotas.

Tabela 6 - Número de plantas de alface em cada classe, de acordo com a escala de notas para resistência a *Thielaviopsis basicola*

Gerações ¹	Resistente		Intermediário	Suscetível	
	Nota 1	Nota 2	Nota 3	Nota 4	Nota 5
F2 (Luisa x B.P.Benite)	129	15	10	11	35
PS	0	0	0	3	44
PR	16	0	0	0	0
F2 (Luisa x Ninja)	126	8	7	27	32
PS	0	0	0	3	44
PR	16	0	0	0	0
F2 (Elisa x Tinto)	146	4	15	0	58
PS	0	0	0	0	40
PR	32	0	0	0	0
F2 (Luisa x La Brillante)	158	1	10	5	50
PS	0	0	0	0	40
PR	40	0	0	0	0

¹ PS – progenitor suscetível e PR – progenitor resistente.

Tabela 7 - Frequência observada das populações F2 de alface e respectivos progenitores na reação a *Thielaviopsis basicola* e resultados do teste do qui-quadrado (χ^2)

Progenitores e populações ¹	Nº de plantas*		Proporção**	χ^2	P
	R	S	(R:S)		
F2 (Luisa x Batávia Pierre Benite)	144	46	3:1	0,063	0,7-0,8
PS Luisa	0	44	-	-	-
PR Batávia Pierre Benite	16	0	-	-	-
F2 (Luisa x Ninja)	134	59	3:1	3,193	0,05-0,1
PS Luisa	0	44	-	-	-
PR Ninja	16	0	-	-	-
F2 (Elisa x Tinto)	150	58	3:1	0,923	0,3-0,5
PS Elisa	0	40	-	-	-
PR Tinto	32	0	-	-	-
F2 (Luisa x La Brillante)	159	55	3:1	0,056	0,5-0,7
PS Luisa	0	40	-	-	-
PR La Brillante	40	0	-	-	-

¹ PS - progenitor suscetível e PR – progenitor resistente.

* plantas que obtiveram nota 3 (intermediária) não foram consideradas para análise da herança.

** Hipótese de segregação, proporção de plantas resistentes (R) para suscetíveis (S).

Resultados semelhantes de segregação 3:1 foram obtidos quando se distribuíram $\frac{3}{4}$ das notas das plantas que obtiveram nota 3 para a categoria de resistência e $\frac{1}{4}$ das notas das plantas que obtiveram nota 3 para a categoria de suscetibilidade (dados não apresentados).

Para verificar se a classificação das plantas como intermediária (nota 3) foi devido ao desvio acidental durante a avaliação, seria necessário sua autofecundação e posterior avaliação da reação ao patógeno de suas progênies. Caso houvesse segregação, apenas para plantas resistentes (nota 1 e 2) ou suscetíveis (nota 4 e 5) poderíamos afirmar que a reação do hospedeiro foi devido ao desvio acidental durante a avaliação. Entretanto se houvesse segregação para outras categorias de reação do hospedeiro ao patógeno outros fatores genéticos poderiam estar envolvidos.

Os progenitores utilizados na obtenção das populações F2 foram obtidos a partir de sementes comerciais. Apesar da alface ser uma planta autógama é possível que as cultivares utilizadas não se apresentavam puras e, com isso, ocorreu a segregação para plantas com nota 3. Fatores como mutação espontânea (PEARSON, 1956, 1968; SMITH, 1977) e cruzamentos naturais entre plantas adjacentes (THOMPSON et al., 1958) tem sido relatados em alface.

Outra hipótese para o aparecimento de plantas classificadas como intermediária (nota 3) seria a de segregação de genes menores para resistência e/ou suscetibilidade. O gene que confere resistência a *T. basicola* pode não ser totalmente efetivo e a presença de genes menores influencia na reação do hospedeiro ao patógeno. Ortega e Español (1983), estudando o patossistema *Phytophthora capsici* e pimentões concluíram que uma maior pressão de seleção da doença pode mascarar a contribuição do efeito de genes menores na sobrevivência das plantas.

Convém destacar que a hipótese adotada de segregação 3:1 (resistente:suscetível) aplicada na presente pesquisa foi adequada para a demonstração dos resultados não prejudicando a hipótese do gene maior.

A herança da reação a *T. basicola* foi muito estudada para a cultura do fumo e feijão, além de outras culturas.

Clayton (1969) descreveu três tipos de resistência à *T. basicola* em fumo. O primeiro tipo, imunidade ao patógeno, foi encontrada em *Nicotiana debneyi* Domin e controlada por um gene dominante. O segundo tipo, alto nível de resistência, foi encontrado no acesso TI 89 de fumo de origem oriental, teve sua resistência, de natureza epistática controlada pela combinação de um gene dominante e recessivo. Já o terceiro tipo de resistência, nível moderado foi devido a um grupo de genes recessivos e foi encontrado na espécie *N. tabacum*.

Segundo Hood e Shew (1996) dois tipos de resistência genética têm sido utilizados para o controle da doença na cultura do fumo. Uma resistência parcial derivada de *N. tabacum* e uma resistência completa, regulada por apenas um gene, derivada de *N. debneyi*. Essa resistência completa durável é utilizada na cultura do fumo desde a década de 50 nos EUA e ainda não foi superada por isolados mais patogênicos.

Wilkinson; Ruft e Shew (1991) estudaram a herança da resistência de fumo a *T. basicola* e verificaram que a resistência foi condicionada por um gene dominante. Segundo Hassan; Wilkinson e Wallace (1971a) a resistência a *T. basicola* em feijão foi controlada por aproximadamente três genes recessivos. Hassan; Wilkinson e Wallace (1971b) estudaram se a resistência a *Fusarium* e *Thielaviopsis* em feijão era conferida pelos mesmos genes. Entretanto verificaram que os genes que conferiam resistência aos patógenos eram diferentes e não ligados.

Pelos resultados obtidos na presente pesquisa, a herança da resistência de alface à *T. basicola* é controlada por um gene dominante. É o primeiro relato sobre a herança da reação de alface a esse patógeno. Este gene dominante será designado de *Tb* em futuras publicações, de acordo com as normas para novos genes.

As progênies F3 de alface selecionadas como resistentes ao patógeno foram colhidas para uso em futuros programas de melhoramento de alface visando associar resistência à *T. basicola*, ao patótipo II de LMV, a tospovirus e a raça brasileira de míldio. No caso do cruzamento entre Elisa x Tinto, o foco e objetivo seria selecionar linhagens com resistência a murcheadeira e tospovirus no segmento de alface lisa. Como ambos parentais são resistentes ao patótipo de LMV II, as futuras linhagens deverão ser homozigotas resistentes portadoras do gene *gg*, que confere resistência a LMV II. No caso das populações Ninja x Batavia Pierre Benite o critério seletivo das plantas F2 resistentes à murcheadeira seria focado para o tipo de alface lisa desejável para o mercado brasileiro e com pendoamento lento. A partir das progênies F3 serão testadas para homozigosidade a *T. basicola* e, paralelamente em outros ensaios, para reação ao patótipo de LMV II e ao míldio. Convém destacar que existe uma demanda de alface lisa com resistência a estes patógenos para o mercado brasileiro.

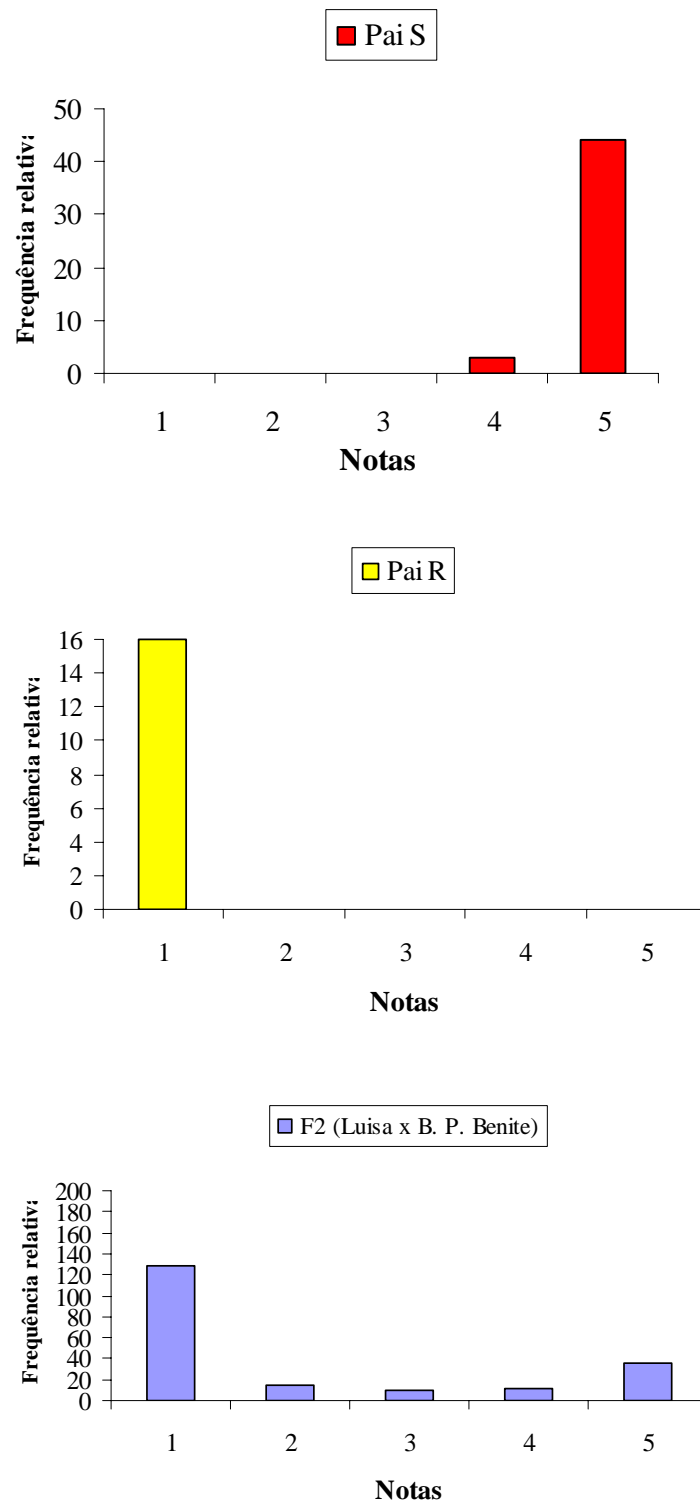


Figura 3 - Histogramas de distribuição de frequência de plantas em cada classe de notas nas gerações PS, PR e F2 (Luisa x B. P. Benite)

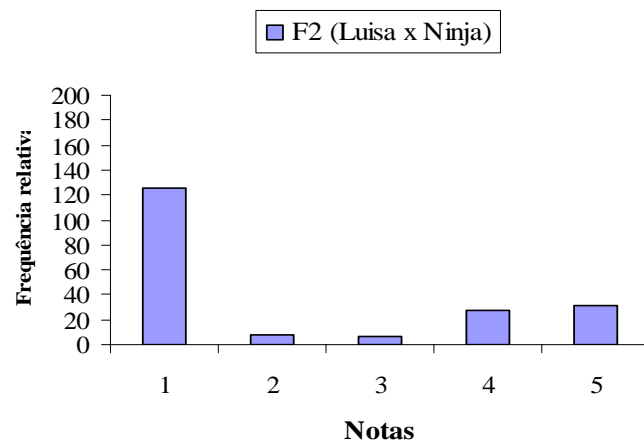
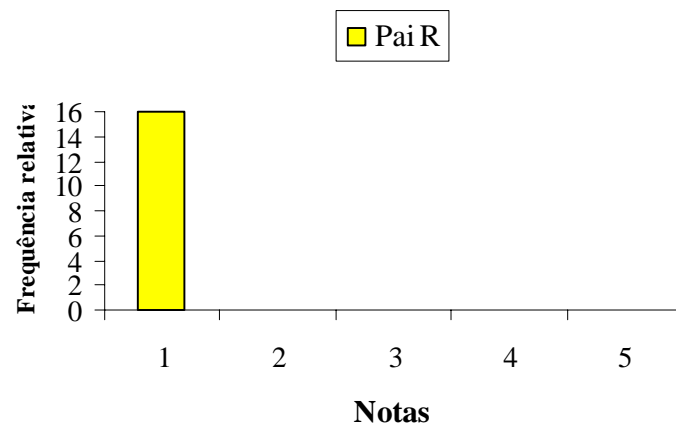
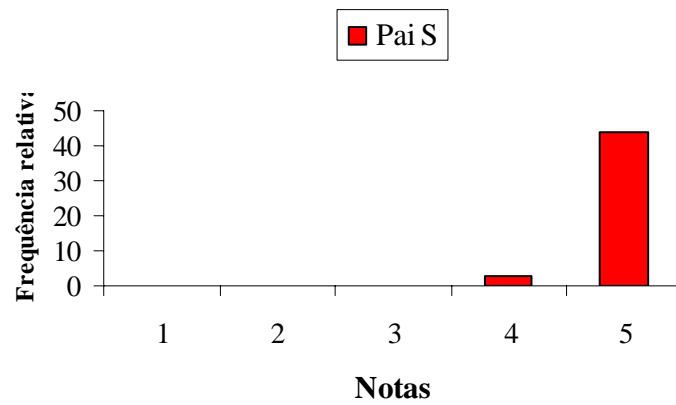


Figura 4 - Histogramas de distribuição de frequência de plantas em cada classe de notas nas gerações PS, PR e F2 (Luisa x Ninja)

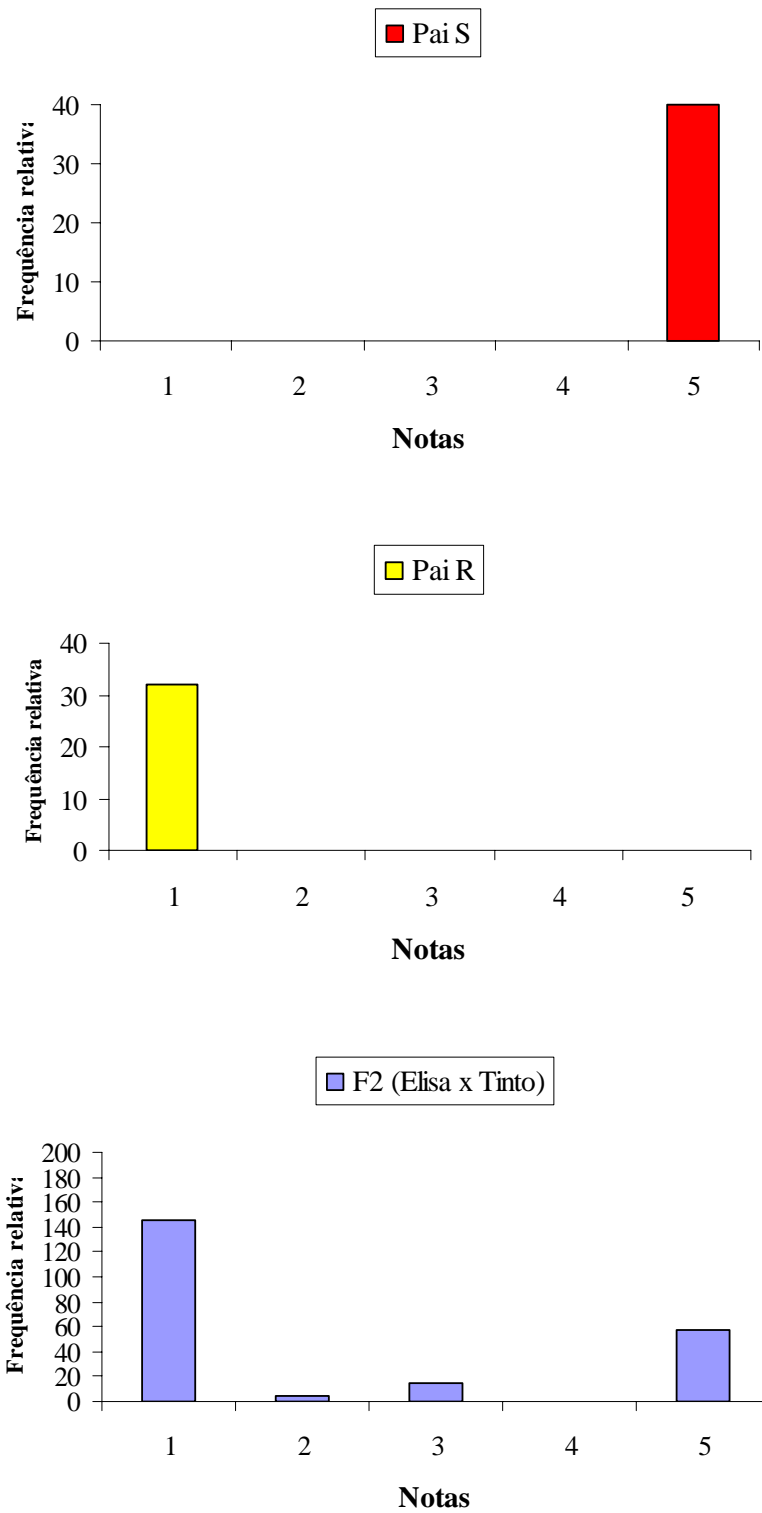


Figura 5 - Histogramas de distribuição de frequência de plantas em cada classe de notas nas gerações PS, PR e F2 (Elisa x Tinto)

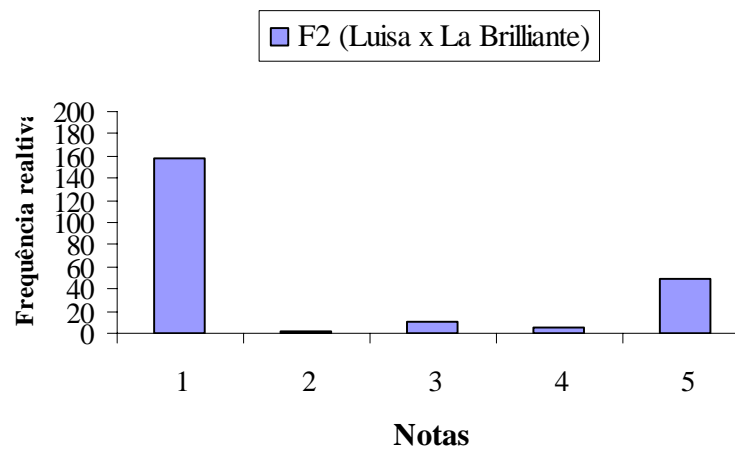
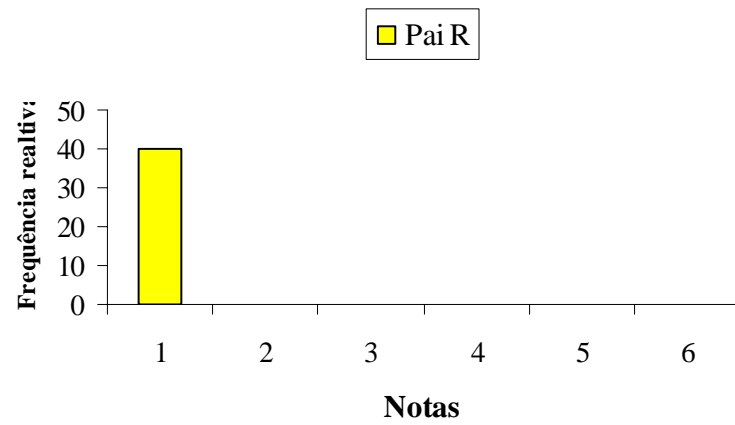
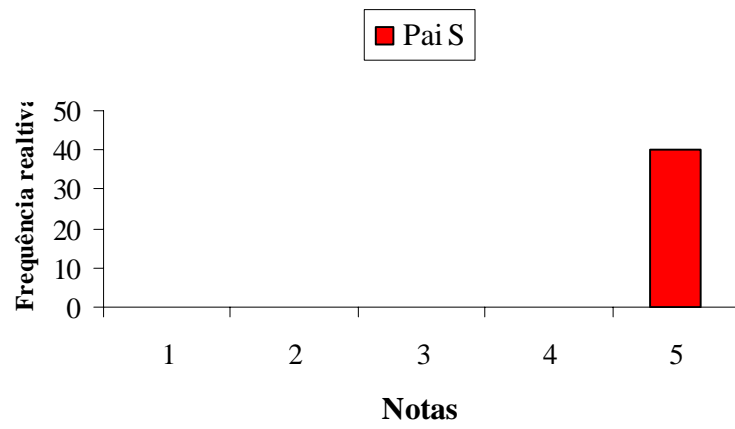


Figura 6 - Histogramas de distribuição de frequência de plantas em cada classe de notas nas gerações PS, PR e F2 (Luisa x La Brillante)

4.3 Reação das progênies S1 dos variantes da alface americana 'Lucy Brown' a *Thielaviopsis basicola*

A reação a *Thielaviopsis basicola* foi bastante contrastante com relação às progênies S1 derivada dos variantes da cultivar Lucy Brown (Tabela 8, Anexo I).

As progênies S1 LB # 6, LB # 8, LB # 1, LB # 4, LB # 5 e LB # 7 foram resistentes ao patógeno, não diferindo estatisticamente entre si, com notas para severidade da doença variando de 1 a 1,78. Destaque para a progênie LB # 6 que não exibiu nenhum sintoma da doença nas raízes. A progênie LB # 9 apresentou nota de severidade de 2,32, não diferindo das progênies LB # 1, LB # 4, LB # 5 e LB # 7 classificadas como resistentes ao patógeno. A progênie LB # 2 e a cultivar de alface Lucy Brown comportaram-se como suscetíveis a *T. basicola*, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 8). A figura 7 mostra a reação de algumas das progênies S1 dos variantes da alface 'Lucy Brown' ao patógeno.

Os resultados obtidos na fase juvenil demonstram a resistência ao patógeno das progênies S1, obtidas a partir dos variantes S0 da alface 'Lucy Brown'.

A progênie LB # 2 comportou-se como suscetível ao patógeno e pode ter sido um escape no campo, quando foi selecionada. A cultivar Lucy Brown comportou-se com marcante suscetibilidade ao patógeno, obtendo nota média para severidade de 4,71. Este resultado está de acordo com os dados apresentados anteriormente (Tabela 5) e com Sala et al. (2004a).

Tabela 8 - Reação das progênies S1 da cultivar de alface americana Lucy Brown a *Thielaviopsis basicola*. Piracicaba, 2003

Progênie S1	Notas ¹
LB # 6	1,00 a
LB # 8	1,03 a
LB # 1	1,39 ab
LB # 4	1,85 ab
LB # 5	1,71 ab
LB # 7	1,78 ab
LB # 9	2,32 b
LB # 2	4,53 c
Lucy Brown	4,71 c
CV (%)	18,05

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05.

¹Dados originais. Para análise os dados foram transformados em 1/raiz quadrada da nota.

A sustentabilidade do cultivo da alface americana no Brasil foi viabilizada graças à adaptabilidade da cultivar Lucy Brown no período de verão, considerado crítico para seu cultivo. Entretanto, devido sua suscetibilidade a *T. basicola*, a expansão de seu cultivo é limitado em áreas de ocorrência do patógeno (COSTA; SALA, 2005).



Figura 7 - Reação das progênes S1 da Lucy Brown a *Thielaviopsis basicola*. Da esquerda para a direita: 'Lucy Brown', LB # 1, LB # 2, LB # 4, LB # 6 e LB # 8 inoculadas com o patógeno

Através de visitas às principais regiões produtoras de folhosas, têm sido observada uma marcante variabilidade fenotípica/genotípica em cultivos comerciais da 'Lucy Brown'. Os variantes apresentavam bordos foliares variáveis, folhas de coloração verde-escura e de maior espessura. Dependendo da região produtora e estágio de desenvolvimento das plantas, observava-se até 50% de plantas da cultivar Lucy Brown sem formação de cabeça.

Posteriormente, com a coleta de variantes da 'Lucy Brown' de um campo com alta incidência do patógeno, observaram-se diferenças quanto à coloração da semente. A semente comercial da alface 'Lucy Brown' é de coloração preta, enquanto que a coloração de quatro variantes S0 era branca.

O fenômeno de variabilidade e instabilidade na espécie *Lactuca sativa* tem sido relatado na alface americana (PEARSON, 1956, 1968) e lisa (SMITH, 1977).

Pearson (1956) relatou a ocorrência de variantes na cultivar de alface americana Imperial 456 (sinônimo 'Cornell 456'). Esses variantes apresentavam coloração verde-escura,

plantas vigorosas e ausência de formação de cabeça. Segundo o autor, os variantes ocorriam em aproximadamente 1% e era devido a um gene dominante incompleto. Posteriormente, Pearson (1968), descreveu um comportamento similar de instabilidade nas cultivares de alface americana Great Lakes e Imperial 456. O autor determinou que estes variantes surgiam em função de mutações para genes dominantes ou possíveis deleções cromossômicas. Entretanto os variantes ocorriam na proporção de 0,1% e produziam cerca de 5 a 8 vezes mais de sementes quando comparados com as plantas normais.

Smith (1977) relatou que a ocorrência de variantes nas cultivares de alface lisa Valentine e Dandie era devida a uma mutação de um único gene para uma condição dominante incompleta. Os variantes apresentavam folhas verde-escuras, maturação tardia e a não formação de cabeça na proporção de 0,4% a 0,68%.

Pearson (1956, 1968) e Smith (1977) não descreveram a mudança na coloração de sementes dos cultivares de alface americana e lisa, fato este que foi observado nos variantes da 'Lucy Brown'. Um variante com coloração de semente branca denominada PAG 02-023 selecionado a partir da cultivar de alface americana Raider foi utilizado como um dos progenitores para obtenção da cultivar de alface 'Sun Devil'. O variante PAG02-023 apresentava como principal característica, tolerância ao pendoamento precoce quando comparado com a cultivar Raider no cultivo na Califórnia e Arizona, nos EUA (OLIVAS; OLIVAS, 2005). 'Raider' é uma cultivar de alface americana muito utilizada no Brasil e apresenta semente de coloração preta.

A hipótese de mistura mecânica com sementes de outras cultivares no processo de beneficiamento de sementes é pouco provável, pois o controle de qualidade de pureza é extremamente rigoroso nas empresas idôneas de sementes de hortaliças.

Outra hipótese seria a de que a fonte desses variantes tenha sido originada de cruzamentos naturais em cultivos anteriores em áreas comerciais de produção de sementes da 'Lucy Brown'. A alface é uma planta com estrutura de flor que promove a autogamia, mas cruzamentos naturais podem ocorrer. Segundo Thompson et al. (1958) mais de 17% de cruzamento têm sido registrados entre duas plantas adjacentes, embora a média do cruzamento no campo observada foi menos de 1%, o suficiente para causar considerável perda na uniformidade de uma cultivar durante várias gerações.

O eventual cruzamento natural entre plantas adjacentes da cultivar Lucy Brown com outra cultivar poderia ter gerado elevada variabilidade. Entretanto através do avanço das progênes S0 derivadas da alface 'Lucy Brown' podemos observar a presença predominante de plantas típicas da cultivar Lucy Brown porém com coloração de semente branca. A segregação para coloração da semente não ocorre depois do cruzamento de plantas de semente preta x branca, mas sim a partir da produção de plantas F2. Além disso, convém destacar que plantas fenotipicamente diferentes poderiam ser facilmente reconhecidas e eliminadas durante o processo de *roguing* na produção de sementes.

Cultivares multilinha, obtidos a partir de misturas mecânicas de linhas isogênicas, têm sido muito utilizados visando a redução na ocorrência de doença causadas por fitopatógenos. Uma cultivar multilinha é uma população de plantas com características agronômicas uniformes, porém com genes diferentes e responsáveis por reações diferenciadas do hospedeiro a determinadas raças do patógeno. Assim, a ocorrência de doenças é minimizada e a resistência mais duradoura (FREY; BROWNING, 1971; WOOD; RAWAL; WOOD, 1983; VOSE; BLIXT, 1984).

É possível que a 'Lucy Brown' seja uma cultivar multilinha. Por ser a mais tropicalizada de todas as alfaces americanas cultivadas no país nas diferentes regiões produtoras, pode ser que a mistura de linhas isogênicas seja um dos fatores que tenha conferido a essa cultivar a característica de tropicalização e adaptação ao cultivo sobre diferentes condições climáticas. O surgimento de variantes resistentes a *T. basicola* e com coloração branca de semente poderia ser devido a mistura com linhas heterozigotas para coloração de semente.

A hipótese mais provável da ocorrência de variantes na alface americana 'Lucy Brown' deve ser devida à mutação espontânea. Esse fenômeno é conhecido na literatura, ocorre em baixa frequência e de maneira constante e recorrente (PEARSON, 1956, 1968; SMITH, 1977).

Segundo Pearson (1956, 1968) a ocorrência dos variantes nas cultivares de alface americana 'Imperial 456' e 'Great Lakes' era regular e sua aparência uniforme de geração para geração. A frequência baixa e relativamente constante tem sido atribuída a uma condição induzida por mutação. Resultados semelhantes foram observados nas cultivares de alface lisa 'Valentine' e 'Dandie' (SMITH, 1977).

Pearson (1956) verificou que a frequência de variantes variou de 0,34% a 0,59% para dois lotes de semente básica e de 0,65% a 1,16% para lotes de sementes comerciais da cultivar

Imperial 456`. Smith (1977) avaliou por três anos a ocorrência de variantes em semente genética e básica da alface `Valentine` e as frequências médias de variantes foram de 0,40% e 0,68%, respectivamente. Ambos os autores relataram que os variantes são de ocorrência regular.

O fenômeno de instabilidade genética ocorre em outras importantes espécies de plantas como sorgo, arroz, tomate, feijão, milho, ervilha, abóbora (PEARSON, 1956; HARTEN, 1998), cevada, fumo, citrus, maçã e ornamentais (HARTEN, 1998), não sendo um fenômeno isolado da espécie *Lactuca sativa*. Sua explicação deve-se a uma maior taxa de mutabilidade e uma maior vantagem no sistema reprodutivo relacionado com maior produtividade de sementes dos variantes nas gerações de multiplicação comercial sem o uso de sementes básicas. Além do mais a falta de um rigoroso processo de *roguing*, pode levar a aumento da frequência de variantes.

Mutação pode ser definida como uma mudança hereditária repentina no DNA de uma célula, não provocada por um fenômeno comum de segregação ou recombinação genética, sendo de fundamental importância no processo evolutivo do vegetal. Parte das variações genéticas é derivada de mutações espontâneas que ocorrem sem a intervenção do homem, sendo na maioria dos casos, de origem desconhecida. Vários trabalhos sugerem que a mutação espontânea pode resultar, freqüentemente, da atividade de elementos móveis genéticos chamados de transposons. Sua mobilidade no genoma é demonstrada pela manifestação de instabilidade fenotípica (HARTEN, 1998).

Segundo Harten (1998), a mutação espontânea pode resultar de eventos internos (endógenos) ou de fatores externos (exógenos) das células. As causas mais comuns são: erro na replicação do DNA; recombinação e reparo; deleções espontâneas; ação dos transposons e/ou gene mutador; danos no DNA por partículas cósmicas ou radiação ultravioleta; choques de temperatura; geomagnetismo; preservação de semente por longo prazo; radioatividade (presença de isótopos radioativos no solo); mudanças químicas nas plantas ou em partes das plantas (semente, pólen) causada por estresse.

A mutação espontânea ocorre geralmente em baixa frequência, entre a frequência de 10^{-5} a 10^{-8} por gene. É essencial que se desenvolvam técnicas eficientes de seleção, pois mutantes potencialmente proveitosos podem ser descartados antes que sejam explorados (HARTEN, 1998). Embora a mutação espontânea ocorra em baixa frequência, é de grande importância, pois muitas variedades originaram-se a partir de variantes de valor e mérito hortícola.

Ao analisarmos a genealogia das cultivares de alface com relatos de ocorrência de variantes percebe-se que a tendência da produção de variantes é transmitida pelos progenitores e uma vez estabelecida é altamente hereditária.

As cultivares Imperial 2, Imperial 3 e Imperial 6 foram selecionadas para resistência a *brown blight* a partir da cultivar New York Especial e as linhagens 69, AA e B foram similarmemente selecionadas a partir de New York. O cruzamento entre 'New York' x 'Blonde de Chavigne' (sinônimo 'White Chavigne') que deu origem a 'Imperial 13', foi feito para incorporação da resistência a *brown blight* das cultivares Blonde de Chavigne (JAGGER et al., 1941). A partir daí, todo o padrão 'Imperial' subsequente ('Imperial D', 'Imperial F', 'Imperial 152', 'Imperial 615', 'Imperial 850', 'Imperial 847') que incorporou resistência ao míldio, a partir de 'Blonde Lente a Monter', tem a cultivar 'New York' ou uma de suas linhagens na sua genealogia.

O cruzamento entre 'Brittle Ice' x 'Imperial 152' deu origem a cultivar de alface americana Great Lakes e Imperial 456 (KNOTT; TAVERNETTI, 1944). Para Pearson (1968) a ocorrência regular de um mesmo tipo de variante nas cultivares Great Lakes e Imperial 456 está associada a utilização da cultivar Brittle Ice, como um de seus progenitores. 'New York' e suas derivações deram origem a uma série de tipo 'Imperial'. É possível que a produção de variantes na cultivar Imperial 456 esteja associada com seu progenitor. Jagger et al. (1941) ao descreverem as características da cultivar New York, relataram que suas progênies apresentavam uma formação de cabeça variável quanto à compacidade de cabeça. Entretanto não mencionaram a presença de variantes. 'Dandie' cultivar de alface lisa do qual tem 'Valentine' como um de seus progenitores produziu variantes similares que ocorriam na mesma frequência dos variantes de 'Valentine'. 'Brittle Ice' tem mais de 230 anos e apesar da mutação e ocorrência de variantes, tem mantido sua identidade varietal tem sido mantida ao longo deste período (SMITH, 1977).

Por causa da hereditariedade da propensão de ocorrência de variantes, muitas das cultivares modernas de alface americana devem ser consideradas como potenciais geradoras de variantes se a prática seletiva da boa semente genética não for obedecida.

A cultivar de alface americana Great Lakes é considerada a primeira cultivar moderna de alface americana. Por apresentar maior adaptabilidade foi amplamente cultivada em vários países e muito utilizada em programas de melhoramento genético de alface americana. Várias cultivares de alface americana tem sido desenvolvidas a partir de 'Great Lakes' e 'Imperial 456' e

existem relatos do surgimento de variantes (SMITH, 1977). Segundo O'Brien e Davis (1994) a cultivar de alface americana Great Lakes foi suscetível a *T. basicola*.

A genealogia da alface americana 'Lucy Brown' não foi relatada na literatura. Portanto, não há possibilidade de verificar se a ocorrência dos variantes em cultivos comerciais tenha sido devido aos seus progenitores com histórico de instabilidade.

Em visitas ao campo de produção de alface do Sr. Antônio Nakagawa em Paulínia, SP, no verão de 2001/2002 verificou-se a ocorrência de variantes da 'Lucy Brown' aparentemente resistentes à *T. basicola* em uma área infestada com o patógeno. Dentre aproximadamente 3.000 plantas da 'Lucy Brown' observou-se cerca de 17 variantes, aparentemente, resistentes que corresponde a uma frequência aproximada de 0,56%. Esse valor observado na cultivar Lucy Brown está muito próximo dos observados na cultivar Imperial 456 (PEARSON, 1956) e Valentine (SMITH, 1977), de 0,5 a 1% e 0,42%, respectivamente. A ocorrência de variantes em cultivo comercial da cultivar Lucy Brown reforça a hipótese de mutação espontânea.

A alface americana 'Lucy Brown' foi desenvolvida na década de 80 pelo melhorista de alface da empresa Asgrow Dr. Keneth Dubas (COSTA⁵ informação verbal). Desde então, pode ter ocorrido um menor rigor na manutenção da semente básica, havendo acúmulo de um grande número de variantes. Segundo Pearson (1968) os variantes das cultivares de alface americana 'Great Lakes' e 'Imperial 456' produziam cerca de 5 a 8 vezes mais sementes, quando comparados com o tipo padrão. Um sistema reprodutivo com maior produtividade de sementes nas gerações de multiplicação de semente comercial pode ter provocado um aumento na frequência de variantes na cultivar comercial Lucy Brown. Smith (1977) não verificou diferenças no potencial de produção de sementes entre os variantes e o tipo padrão da cultivar de alface lisa Valentine.

Apesar dos caracteres observados nos variantes da alface americana 'Lucy Brown' serem facilmente reconhecida no processo de *roguing*, muitos não podem ser completamente eliminados. É o caso da reação a *T. basicola*, que na ausência do patógeno não se expressa. A ocorrência de semente branca em baixa frequência pode ter passado despercebida e o uso de sementes peletizadas mascarou esta variação. Além disso, fotoperíodo, temperatura, umidade e condições do solo podem afetar a frequência de variantes em alface americana.

⁵ COSTA, C.P. Prof. Titular do Departamento de Produção Vegetal da USP/ESALQ.

A elevada compacidade da cabeça da alface americana pode prejudicar sua fase reprodutiva, forçando o caule a alongar de maneira circular dentro da cabeça até seu rompimento pelo pendão floral. Para produção de semente de alface americana é necessário fazer um corte da cabeça para facilitar a alongação do caule (RYDER, 1999). Se a abertura da cabeça for realizada antes de completar sua fase vegetativa, pode ocorrer que os variantes sem formação de cabeça não sejam reconhecidos e eliminados durante o *roguing*. A aplicação de ácido giberélico em plantas de alface promove o alongamento do caule sem que ocorra a formação de cabeça, mascarando a presença de variantes.

O Brasil tem tecnologia de produção de sementes com uma experiência de décadas na região do Nordeste, principalmente para alface lisa e crespa. O mesmo não ocorre para o segmento da americana cuja produção tem sido feita principalmente no Chile e na Califórnia, nos EUA.

Locais como Califórnia e Chile apresentam temperaturas amenas que favorecem o embricamento foliar e, mascara a ocorrência dos variantes de cabeça menos compacta. Nas condições tropicais com temperatura elevada, a expressão dos variantes poderia ser mais intensa e visível. Uma das regras para o melhoramento genético de hortaliças é a seleção de cultivares nas condições do agricultor. A 'Lucy Brown' nas condições de cultivo no verão chega a apresentar mais de 30% de plantas que não formam cabeça. Possivelmente, este nível de expressão de variantes da 'Lucy Brown' pode não ter sido percebida na fase de *roguing* durante a produção de sementes. É fundamental a manutenção de linhas genéticas individuais e sempre avaliadas nas condições tropicais para eliminar variantes indesejáveis.

Pelo fato da produção de sementes ser feita por empresas privadas e terceirizadas, há grande escassez de informações sobre a tecnologia de produção e critérios de *roguing* as quais não são disponíveis para domínio público.

Cultivares de dia longo, apesar de produzirem boa cabeça quando cultivadas durante a primavera e inverno, são induzidas diretamente ao pendoamento sem formação de cabeça, no verão. Períodos de seca e condições de solo desfavoráveis podem também induzir precocemente a emissão do pendão e interromper o desenvolvimento vegetativo das plantas potencialmente capazes de formar cabeça (LINDQVIST, 1960). A variabilidade ambiental em condições de campo aumenta as dificuldades de identificar e eliminar os variantes. O ideal é que a produção de

semente básica seja feita em condições ambientais mais uniformes possíveis e com maior rigor seletivo.

4.4 Avaliação do mérito hortícola e seleção das progênes S2 e S3 da alface 'Lucy Brown' resistentes a *Thielaviopsis basicola*

A maior parte das progênes S2, derivadas dos variantes da cultivar de alface 'Lucy Brown' foram descartadas, após avaliação do seus méritos hortícolas, por apresentarem alto grau de variabilidade de plantas e principalmente ausência na formação de cabeça. Apenas as progênes S2 LB # 4, LB # 7 e LB # 9 foram avançadas por serem as mais promissoras quanto à formação de cabeça e adaptabilidade ao cultivo de verão (dados não apresentados).

Pearson (1956) constatou que as progênes derivadas dos variantes da cultivar Imperial 456 e caracterizadas pela ausência de formação de cabeça (identificados como *KK*), não apresentavam segregação fenotípica originando 100% de plantas sem formação de cabeça. Durante três gerações de autofecundação, plantas do tipo *KK* não mostraram nenhuma variação em direção ao tipo recessivo ou heterozigoto. Segundo Harten (1998), as mutações em genes dominantes são de ocorrência mais rara, sendo mais comum em genes recessivos.

Segundo a análise estatística dos resultados, houve diferenças significativas com relação aos méritos hortícolas no comportamento das progênes S3 derivadas da alface 'Lucy Brown' (Tabela 9, Anexos L, M e N).

Tabela 9 - Mérito hortícola das progênes S3 da alface 'Lucy Brown'

Progênie	Uniformidade	Compacidade ¹	Nº de folhas	Total
LB # 4-10	4,00 a	4,00 a	3,00 a	11,00 a
LB # 4-14	4,00 a	3,33 ab	3,00 a	10,33 ab
LB # 4-4	3,66 a	3,33 ab	3,00 a	10,00 abc
LB # 4-15	3,66 a	3,00 abc	3,00 a	9,66 abcd
LB # 7-1	3,33 ab	2,33 bc	3,00 a	8,66 bcdef
LB # 4-2	3,33 ab	3,00 abc	3,00 a	9,33 abcde
LB # 4-8	2,33 bc	3,00 abc	3,00 a	8,33 cdef
LB # 7-4	2,33 bc	2,00 c	3,00 a	7,33 f
LB # 4-12**	2,00 cd	3,00 abc	3,00 a	8,00 def
Lucy Brown	2,00 cd	2,33 bc	3,00 a	7,33 f
LB # 4-11**	2,00 cd	2,66 abc	3,00 a	7,66 ef
LB # 7-3	2,00 cd	2,00 c	3,00 a	7,00 fg
LB # 4-7	1,33 cd	1,00 d	3,00 a	5,33 gh
LB # 4-13**	1,33 cd	1,00 d	3,00 a	5,33 gh
LB # 4-3	1,00 d	1,00 d	3,00 a	5,00 h
LB # 7-2	1,00 d	1,00 d	3,00 a	5,00 h
LB # 7-5	1,00 d	1,00 d	3,00 a	5,00 h
LB # 4-9	1,00 d	1,00 d	3,00 a	5,00 h
LB # 7-6	1,00 d	1,33 d	3,00 a	5,33 gh
CV (%)	17,21	21,40	-	7,53

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 0,05.

¹ Dados originais. Para análise, os dados foram transformados em log de x na base 10.

** Progênes do tipo Vanguard.

As progênes LB # 4-10, LB # 4-14, LB # 4-4, LB # 4-15, LB # 7-1 e LB # 4-2 apresentaram uniformidade semelhante, não diferindo estatisticamente entre si, com notas média variando de 4 a 3,33. A cultivar 'Lucy Brown' apresentou nota média 2 para uniformidade, não diferindo estatisticamente das progênes LB # 4-8, LB # 7-4, LB # 4-12, LB # 4-11, LB # 7-3, LB # 4-7 e LB # 4-13 as quais também não foram estatisticamente diferentes das progênes LB # 4-3, LB # 7-2, LB # 7-5, LB # 4-9 e LB # 7-6 (Tabela 9).

Para compacidade de cabeça, as progênes da alface 'Lucy Brown' LB # 4-10, LB # 4-14, LB # 4-4, LB # 4-15, LB # 4-2, LB # 4-8, LB # 4-12 e LB # 4-11 foram estatisticamente semelhantes entre si, com nota média variando de 4 a 2,66. A cultivar Lucy Brown apresentou nota média 2,33 para compacidade sendo semelhante estatisticamente as progênes LB # 4-14, LB # 4-4, LB # 4-15, LB # 7-1, LB # 4-2, LB # 4-8, LB # 4-12 e LB # 4-11. Não houve diferenças entre as progênes S3 da 'Lucy Brown' para o número de folhas externas (Tabela 9).

O ponto de colheita da alface é determinado quando a planta atinge sua maturidade fisiológica conforme o seu segmento varietal. Para a alface americana, uma das maneiras de se determinar o ponto de colheita consiste em fazer um leve toque na cabeça com a mão para verificar seu grau de compactidade. O mercado consumidor dos EUA exige alface americana de cabeça compacta (RYDER, 1999).

Na região oeste dos EUA, por apresentar condições climáticas amenas e de solo relativamente uniformes, o ponto de colheita da alface é em torno de 60-65 dias na maior parte do ano. No verão, a maturidade é mais rápida, chegando a 55-60 dias, enquanto no inverno pode chegar a 110-120 dias (RYDER, 1999).

No Brasil, o cultivo da alface americana apresenta certas particularidades que a diferencia do mercado americano, principalmente com relação ao ponto de colheita e sua forma de consumo.

O mercado brasileiro de alface americana demanda por dois padrões: um com cabeça compacta e outro com formação de cabeça não tão compacta.

As cultivares que apresentam cabeça compacta têm melhor desempenho de cultivo nas regiões de clima ameno e visam atender, principalmente, as lanchonetes de *fast food* que demandam por alface americana na forma de folhas picada. O tipo com cabeça não compacta é uma situação particular de uso da alface americana no Brasil por ser consumida na forma de folha destacada e não picada. Com isso, a cultivar Lucy Brown tornou-se um padrão particular de preferência no país sendo a líder do mercado nacional.

No Brasil, o maior desafio é o cultivo da alface americana no período do verão, devido às elevadas temperaturas e precipitação. A cultivar Lucy Brown vem mostrando ser adaptada nas condições de cultivo de verão, por apresentar tolerância a mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *vitians*), cabeça não muito compacta e com boa cobertura foliar, não sofrendo grandes danos provocados pela queima do sol, comum nas cultivares de cabeça compacta. Além disso, seu transporte e manuseio durante a comercialização são facilitados pelas três camadas de folhas externas que protegem a cabeça. Essas características tornam a 'Lucy Brown' a alface americana mais adequada e tropicalizada cultivada no país.

A cultivar Lucy Brown apresentou nota média de 7,33 para o somatório dos méritos hortícolas, ficando com seu valor inferior a das progênes selecionadas. 'Lucy Brown' é altamente desejável para o plantio de verão, por ser precoce. No verão seu ciclo é de 45-50 dias

após o transplante, mas requer 60-70 dias para obter uma cabeça com maior compacidade no cultivo no período de temperaturas amenas. Os alfacicultores adotam um critério pragmático com relação ao tipo 'Lucy Brown'. No Brasil, para o padrão 'Lucy Brown', basta apresentar formação de cabeça e se houver bom preço no mercado consumidor o produtor simplesmente realiza a colheita precoce.

Observando-se os dados da Tabela 9, verifica-se que houve diferenças significativas entre as progênies S3 da 'Lucy Brown' para o somatório dos méritos hortícolas.

As progênies LB # 4-10, LB # 4-14, LB # 4-4, LB # 4-15 e LB # 4-2 foram as que apresentaram os maiores valores totais com média variando de 11 a 9,33, não havendo diferenças significativas entre si, no teste de avaliação no campo do produtor em Paulínia-SP selecionaram dentro destas progênies as plantas elites para obtenção da geração S4. As demais progênies S3 foram descartadas por apresentarem um somatório total de mérito hortícola inferiores e diferentes estatisticamente das progênies escolhidas como elites.

O somatório do mérito hortícola das progênies S3 validadas quanto adaptabilidade no cultivo de verão indicam a grande potencialidade hortícola, quando comparadas com a testemunha 'Lucy Brown'. Convém destacar que o local de instalação dos experimentos apresentava histórico de incidência da *murchadeira*. Nos ensaios de campo para avaliação do mérito hortícola e adaptabilidade no cultivo de verão, a testemunha 'Lucy Brown' mostrou ser altamente suscetível, enquanto que as progênies S3 apresentavam resistência a *T. basicola* em condições de campo.

O variante S0 LB # 4 apresentava coloração de semente preta. Pelos resultados observados com o avanço de suas progênies, na geração S3, observou-se a ocorrência e segregação mendeliana para coloração da semente. A cor da semente em alface é condicionada por um gene dominante para coloração preta e, recessivo, para coloração branca (RYDER, 1999). Possivelmente, o variante LB # 4 era heterozigoto para coloração de semente.

As progênies do tipo Vanguard (LB # 4-11, LB # 4-12 e LB # 4-13) selecionadas na geração S2, apresentavam como principal característica folhas com textura mais grossa quando comparada à 'Lucy Brown'. Essa característica conferia a estas progênies excelente desempenho no cultivo de verão, por suportar chuvas intensas neste período. Além disso, a maior espessura das folhas permitia um melhor desempenho pós-colheita, segundo informações do produtor Sr.

Antônio Nakagawa. Entretanto essas progênies foram descartadas por serem tardias e com cabeças pequenas.

Segundo Thompson e Ryder (1961) a cultivar de alface americana Vanguard foi originada do cruzamento interespecífico entre a espécie *L. sativa* e *L. virosa*. Apresentava como principais características: sistema radicular mais vigoroso, maior retenção foliar, coloração verde-escuro e sem brilho, folhas com bordos lisos e de textura grossa, boa proteção foliar de cabeça, tolerância ao *tip burn* e ao pendoamento precoce.

As progênies S3 LB # 4-11, LB # 4-12 e LB # 4-13 apresentaram segregação para coloração de semente branca. Segundo Thompson e Ryder (1961) 'Vanguard' apresenta coloração de semente preta.

A maioria das cultivares comerciais de alface americana cultivadas no Brasil tem semente preta. Para o avanço das progênies S4, selecionaram-se apenas as progênies que apresentavam sementes brancas. Essas progênies resistentes a *T. basicola* com semente branca constituirão uma marca genética importante para destacar o desenvolvimento varietal em andamento.

4.5 Avaliação do mérito hortícola e seleção das progênies S4 da alface 'Lucy Brown' resistentes a *Thielaviopsis basicola*

Observando a Tabela 10, verifica-se que houve diferença entre as progênies S4 da alface 'Lucy Brown' para o mérito hortícola (Anexos O, P e Q).

Das 21 progênies S4 avaliadas para as características hortícolas, aproximadamente 80% apresentaram valores de uniformidade estatisticamente semelhante entre si, com notas médias variando de 5 a 3,66. Destaque para as progênies LB # 4-10-1, LB # 4-10-6 e LB # 4-2-2 que apresentaram nota média 5 para maturidade com mais de 90% de plantas com formação de cabeça. A cultivar Lucy Brown apresentou nota média 3 para uniformidade (Tabela 10).

Tabela 10 - Mérito para o mérito hortícola das progênes S4 da alface 'Lucy Brown'

Progênie	Uniformidade	Compacidade	Nº de folhas	Total
LB# 4-10-1	5,00 a	4,66 a	3,00 a	12,66 a
LB# 4-10-6	5,00 a	4,33 a	3,00 a	12,33 ab
LB# 4-2-2	5,00 a	4,66 a	3,00 a	12,66 a
LB# 4-10-2	4,66 ab	4,66 a	3,00 a	12,33 ab
LB# 4-14-1	4,66 ab	4,33 a	3,00 a	12,00 abc
LB# 4-10-4	4,33 abc	4,00 a	3,00 a	11,33 abcde
LB# 4-2-3	4,33 abc	4,00 a	3,00 a	11,33 abcde
LB# 4-4-4	4,33 abc	4,66 a	3,00 a	12,00 abc
LB# 4-2-1	4,33 abc	4,00 a	3,00 a	11,33 abcde
LB# 4-15-1	4,33 abc	4,00 a	3,00 a	11,33 abcde
LB# 4-14-3	4,33 abc	4,00 a	3,00 a	11,33 abcde
LB# 4-4-1	4,00 abc	4,66 a	3,00 a	11,66 abcd
LB# 4-15-2	4,00 abc	4,00 a	3,00 a	11,00 abcde
LB# 4-4-2	4,00 abc	3,66 ab	3,00 a	10,66 abcde
LB# 4-14-2	4,00 abc	3,66 ab	3,00 a	10,66 abcde
LB# 4-15-3	3,66 abc	3,66 ab	3,00 a	10,33 bcde
LB# 4-4-3	3,66 abc	3,66 ab	3,00 a	10,33 bcde
LB# 4-13-4	3,33 bcd	3,33 ab	3,00 a	9,66 de
LB# 4-4-5	3,33 bcd	3,66 ab	3,00 a	10,00 cde
LB# 4-10-5	3,33 bcd	3,66 ab	3,00 a	10,00 cde
LB# 4-2-4	3,00 cd	3,33 ab	3,00 a	9,33 ef
Lucy Brown	3,00 cd	2,33 b	3,00 a	8,33 f
CV (%)	11,13	12,52	-	5,99

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 0,05.

Todas as progênes S4 foram estatisticamente semelhantes quanto a compacidade de cabeça, sendo estatisticamente diferentes da cultivar Lucy Brown que apresentou nota média de 2,33 para compacidade. Não houve diferença significativa entre o número de folhas externas das progênes e da cultivar Lucy Brown.

Segundo Ryder (1986), uma das características a ser selecionada em alface americana é a uniformidade de maturidade em condições de campo. A cultivar de alface que não apresenta maturidade uniforme requer colheitas múltiplas acarretando aumento do custo de produção. Além disso, dependendo do preço da alface no mercado isso pode representar perdas econômicas para o produtor. A seleção praticada nas progênes S4 para maturidade, considerando como ponto de colheita da cultivar Lucy Brown com cabeça não compacta, possibilitou obtenção a de progênes

com alto grau de uniformidade, quando comparado à alface 'Lucy Brown', nas condições de campo com ocorrência da murchadeira.

Comparando as progênies selecionadas na geração S3 com suas respectivas progênies S4 verificou-se que houve um visível ganho nas características avaliadas para o mérito hortícola.

Das progênies S4 avaliadas quanto ao mérito hortícola e resistência a murchadeira em condições de campo, constata-se que aproximadamente 71% das progênies foram estatisticamente semelhantes para os valores totais das progênies, com média variando de 12,66 a 10,66 (Tabela 10).

Esses resultados demonstram que essas progênies escolhidas apresentam elevado grau de uniformidade e estabilidade quando comparadas a cultivar Lucy Brown. A seleção pelo método genealógico permitiu um eficiente ganho e progresso na fixação de características desejáveis. Observou-se uma elevada homoziguidade das progênies S4 para as características avaliadas, associada à resistência à murchadeira.

4.6 Reação das progênies S4 dos variantes da alface americana 'Lucy Brown' a *Thielaviopsis basicola*

A reação das progênies S4 da cultivar de alface americana Lucy Brown a *Thielaviopsis basicola* foi bastante contrastante (Tabela 11, Anexo R).

As progênies S4 LB # 4-2-2, LB # 4-2-3, LB # 4-10-1 LB # 4-10-4 e LB # 4-10-2 comportaram-se como resistentes ao patógeno, não diferindo estatisticamente entre si e com notas para severidade da doença variando de 1,04 a 1,08. As progênies S4 LB # 4-4-2, LB # 4-4-1, LB # 4-14-1 e a cultivar Lucy Brown foram suscetíveis a *T. basicola*, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 11).

'Lucy Brown' comportou-se com elevada suscetibilidade ao patógeno obtendo nota média para severidade de 4,91. Este resultado está de acordo com os dados apresentados anteriormente.

Tabela 11 - Reação das progênies S4 da cultivar Lucy Brown a *Thielaviopsis basicola*

Progênie S4	Notas ¹
LB # 4-2-2	1,04 a
LB # 4-2-3	1,08 a
LB # 4-10-1	1,08 a
LB # 4-10-4	1,08 a
LB # 4-10-2	1,08 a
LB # 4-4-2	3,45 b
LB # 4-4-1	4,04 b
LB # 4-14-1	4,08 b
Lucy Brown	4,91 b
CV (%)	11,74

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05.

¹Dados originais. Para efeito de análise os dados foram transformados em 1 sobre raiz quadrada da nota.

A herança da reação de resistência de alface a *T. basicola* é devido a um gene dominante, conforme resultado apresentado na presente pesquisa (item 4.2). Observando os dados da Tabela 11 verifica-se que as progênies S4 LB # 4-2-2, LB # 4-2-3, LB 4-10-1, LB # 4-10-4 e LB # 4-10-2 foram resistentes ao patógeno demonstrando que as progênies são homocigotas para resistência. As progênies LB # 4-4-2, LB # 4-4-1 e LB # 4-14-1 foram suscetíveis ao patógeno. A seleção praticada em condições de campo com incidência da murchadeira não foi eficiente.

A prática da seleção baseada em condições naturais de ocorrência da murchadeira no campo não é eficiente, pois permite a ocorrência de escapes, ou seja, de plantas suscetíveis. Pelos resultados apresentados na Tabela 11 pode-se concluir que o processo seletivo visando resistência a *T. basicola* deve ser feito através de inoculação artificial e sob condições controladas.

A explicação da menor eficiência seletiva em condições de campo pode estar relacionada com menor densidade de inóculo resultante da rotação de cultivo de cultivo com cultivares resistentes do segmento de alface crespa. Observações em área de produção desta folhosa, com alta incidência do patógeno e após ser cultivada por três ciclos sucessivos com alface crespa, verificou-se redução na incidência da doença ao plantar a cultivar suscetível Lucy Brown. A população de *T. basicola* aumenta somente com a presença de plantas hospedeiras e decresce em solos cultivados com plantas não hospedeiras ou em repouso (BATEMAN, 1963; MEYER; SHEW; SHOEMAKER, 1989; REDDY; PATRICK, 1989). Apesar da alface ser

hospedeira do patógeno, o uso de cultivares resistentes, numa sucessão de cultivo, poderia reduzir o potencial de inoculo do solo.

Em condições de campo devido a variabilidade ambiental torna difícil se padronizar as mesmas condições no processo seletivo visando resistência ao patógeno.

Existe uma forte correlação entre densidade de *T. basicola* no solo e a severidade da podridão negra da raiz em diversas culturas (BHATTI; KRAFT, 1992; MEYER; SHEW 1991; TABACHNIK et al., 1979).

A maioria dos trabalhos relacionados com a concentração de *T. basicola* mostra que a concentração do inóculo utilizada para avaliar a severidade da podridão negra da raiz é elevada. Tabachnik et al. (1979) estudando diferentes densidades de inóculo de *T. basicola* sobre vários hospedeiros verificaram que a maior severidade da doença ocorreu adicionando-se 10^4 conídios/g/solo, 10 a 14 dias antes do plantio. Prinsloo; Baard e Ferreira (1993) avaliaram a severidade da podridão negra da raiz em chicória e endívia utilizando $1,5 \times 10^5$ conídios/g/solo. O'Brien e Davis (1994) inocularam raízes de mudas de alface mediante imersão do sistema radicular em uma suspensão de 1×10^6 conídios/mL e Silva et al. (1999) em suspensão de 10^8 conídios/mL.

Para avaliar a reação das progênies S4 da alface Lucy Brown ao patógeno adotou-se elevadas concentrações de inóculo. A adição de 10^6 conídios/g/substrato utilizado para o transplante das mudas além da inoculação com 3 mL da suspensão de concentração 2×10^6 conídios/mL para cada planta evidenciou que as elevadas quantidades de inóculo são necessárias para avaliar a expressão da doença em condições controladas. A metodologia para estabelecer a doença mostrou ser adequada para caracterizar a reação do hospedeiro ao patógeno na fase juvenil e conseqüentemente na sua fase adulta.

A seleção praticada a partir das linhas S4 resistentes a *T. basicola* possibilitará o desenvolvimento de uma nova cultivar de alface americana, tropicalizada, com uniformidade, estabilidade e resistente ao patógeno. Trabalhos de seleção a partir de linhas S5 tem sido feito em condições de campo no verão de 2004/2005 visando disponibilizar para o mercado nacional uma nova cultivar de alface americana cuja denominação proposta será 'Gloriosa`.

5 CONCLUSÕES

- As cultivares de alface do tipo crespa e batávia foram resistentes a *Thielaviopsis basicola*. As cultivares do tipo lisa e americana apresentaram variação inter-varietal quanto à reação do hospedeiro ao patógeno.
- A herança da reação de alface a *T. basicola* é devida a um gene dominante, designado de *Tb*.
- Obtiveram-se progênies elites derivadas de variantes da ‘Lucy Brown’ com resistência a *T. basicola*, mérito hortícola, uniformidade e estabilidade.

REFERÊNCIAS

- BASSETT, M.J. The role of leaf shape in the inheritance of heading in lettuce (*Lactuca sativa* L.) **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 100, n. 2, p. 104-105, 1975.
- BATEMAN, D.F. Effect of host and nonhost plants upon populations of *Thielaviopsis basicola* in soil. **Phytopathology**, Lancaster, PA, v. 53, n. 3, p. 1174-1177, 1963.
- BERNARDI, J.B. Comportamento de variedades de alface na região de Campinas – Parte II. **Bragantia**, Campinas, v. 28, n. 11, p. 149-154, 1969.
- BERNARDI, J.B.; IGUE, T. Comportamento de cultivares de alface na região de Campinas. **Revista de Olericultura**, Viçosa, v. 13, n. 1, p. 29-31, 1973.
- BHATTI, M.A.; KRAFT, J.M. Effects of inoculum density and temperature on root rot and wilt of chickpea. **Plant Disease**, St. Paul, v. 76, n. 1, p. 50-54, jan. 1992.
- BOWDEN, R.L.; WIESE, M.V.; CROCK, J.E.; AULD, D.L. Root rot of chickpeas and lentils caused by *Thielaviopsis basicola*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 69, n. 12, p. 1089-1091, 1985.
- CLAYTON, E.E. The study of resistance to the black root rot disease of tobacco. **Tobacco Science**, Raleigh, North Carolina, v. 13, n. 1, p. 30-37, 1969.
- COPEL, W.E.; HENDRIX, F.F. Influence of NO₃/NH₄ ratio, N, K, and pH on root rot of *Viola x wittrockiana* caused by *Thielaviopsis basicola*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 80, n. 8, p. 879-884, aug. 1996.
- COSTA, C.P.; SALA, F.C. A evolução da alfavicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, jan./mar. 2005 (artigo de capa).
- COSTA, C.P.; SILVA, N.; SALA, F.C.; BLAT, S.F. Patótipo de míldio de alface no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43., 2003, Recife. **Horticultura Brasileira 21: trabalhos...** Brasília: SOB; 2003. 1 CD-ROM.

FIGUEIREDO, M.B. Estudos sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos em plantas. **O Biológico**, Campinas, v. 33, n. 1, p. 9-13, 1967.

FREY, K.J.; BROWNING, J.A. Breeding crop plants for disease resistance. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 1971, **Anais ...** Vienna Austria. p. 45-54.

GHINI, R. **Desinfestação do solo com o uso de energia solar**: solarização e coletor solar. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1997. 29 p. (Circular Técnica, 1).

GRAHAN, J.H.; TIMMER, N.H. Peat-based media as a source of *Thielaviopsis basicola* causing black root rot on citrus seedlings. **Plant Disease**, St. Paul, v. 75, n. 12, p. 1246-1249, dec. 1991.

HARTEN, A.M. van **Mutation Breeding**: Theory and practical applications. Cambridge University Press, 1998. 353 p.

HASSAN, A.A.; WILKINSON, R.E.; WALLACE, D.H. Genetics and heritability of resistance to *Thielaviopsis basicola* in beans. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 96, n. 5, p. 628-630, 1971a.

HASSAN, A.A.; WILKINSON, R.E.; WALLACE, D.H. Relationship between genes controlling resistance to *Fusarium* and *Thielaviopsis* root rots in beans. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 96, n. 5, p. 631-632, 1971b.

HIS, D.C.H. Relationship between crop sequences and several diseases of Valencia peanuts. **Phytopathology**, Lancaster, PA, v. 57, n. 5, p. 461, 1967. Abstract

HONMA, S.; VRIESENGA, J.D. Transplanting matured head type lettuce for seed production. **Euphytica**, Wageningen, NL, v. 21, n. 3, p. 543-546, 1972.

HOOD, M.E.; SHEW, H.D. Pathogenesis of *Thielaviopsis basicola* on a susceptible and a resistant cultivar of burley tobacco. **Phytopathology**, Lancaster, PA, v. 86, n. 1, p. 38-44, 1996.

JAGGER, I.C.; WHITAKER, T.W.; USELMAN, J.J.; OWEN, W.M. **The Imperial strains of lettuce**. United States Department of Agriculture, Washington, 1941. 15 p. (Circular, 596).

KADER, A.A.; LIPTON, W.J.; MORRIS, L.L. Systems for scoring quality of harvested lettuce. **HortScience**, St. Joseph, Mich, v. 8, n. 5, p. 408-409, oct. 1973.

KING, C.J.; PRESLEY, J.T. A root rot of cotton caused by *Thielaviopsis basicola*. **Phytopathology**, Lancaster, PA, v. 32, n. 2, p. 752-761, 1942.

KNOTT, J.E.; TAVERNETTI, A.A. **Production of head lettuce in California**. Berkeley, CA., 1944. 51 p. (Circular, 128).

KUABARA, M.Y. **Reação de abobrinha (*Cucurbita moschata* Duchesne) ao vírus do mosaico da melancia raça-1 (WMV-1)**. 1984. 69 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1984.

LEGG, P.D.; LITTON, C.C.; COLLINS, G.B. Effect on *Nicotiana debneyi* black root rot resistance factor on agronomic and chemical traits in burley tobacco. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 60, n. 6, p. 365-368, 1981.

LINDQVIST, K. Inheritance studies in lettuce. **Hereditas**, Lund, v. 46, n. 3, p. 387-470, 1960.

LLOYD, A.B.; LOCKWOOD, J.L. Effect of soil temperature, host variety, and fungus strains on *Thielaviopsis* root rot of peas. **Phytopathology**, Lancaster, PA, v. 53, n. 3, p. 329-331, 1963.

MAUK, P.A.; HINE, R.B. Infection, colonization of *Gossypium hirsutum* and *G. barbadense*, and development of black root rot caused by *Thielaviopsis basicola*. **Phytopathology**, Lancaster, PA, v. 78, n. 12, p. 1662-1667, 1988.

MEYER, J.R.; SHEW, H.D. Development of black root rot on burley tobacco as influenced by inoculum density of *Thielaviopsis basicola*, host resistance, and soil chemistry. **Plant Disease**, St. Paul, v. 75, n. 6, p. 601-605, june. 1991.

MEYER, J.R.; SHEW, H.D.; HARRISON, U.J. Inhibition of germination and growth of *Thielaviopsis basicola* by aluminum. **Phytopathology**, Lancaster, PA, v. 84, n. 6, p. 598-602, 1994.

MEYER, J.; SHEW, H.D.; SHOEMAKER, P.B. Populations of *Thielaviopsis basicola* and occurrence of black root rot on burley tobacco in western North-Carolina. **Plant Disease**, St. Paul, v. 73, n. 3, p. 239-242, mar. 1989.

MONDAL, A.H.; NEHL, D.B.; ALLEN, S.J. First report of *Thielaviopsis basicola* on soybean in Australia. **Australasian Plant Pathology**, Queensland, v. 33, n. 3, p. 451-452, 2004.

MORSE, L.L. Field notes on lettuce. 3rd ed. Sunset Press, 1930. 88 p.

O'BRIEN, R.G.; DAVIS, R.D. Lettuce black root rot – a disease caused by *Chalara elegans*. **Australasian Plant Pathology**, Queensland, v. 23, n. 3, p. 106-111, 1994.

O'BRIEN, R.G.; DAVIS, R.D. **Black root rot of lettuce – dpi note**. Disponível em: <<http://www.dpi.qld.gov.au/horticulture/4759.html>>. Acesso em: 20 mar. 2002.

OLIVAS, N.K.; OLIVAS, N.J. **Sun Devil lettuce variety**. Disponível em: <<http://www.patentstorn.us/patnts/6495744.html>>. Acesso em: 19 dez. 2005.

ORTEGA, R.G.; ESPAÑOL, C.P. A hipótesis to work on pepper breeding for *Phytophthora capsici* resistance. In: MEETING GENETICS AND BREEDING ON CAPSICUM AND EGGPLANT, 1983, Plovdiv, **Anais ...** Plovdiv, 1983. p. 165-170.

PEARSON, O.H. The nature of the rogue in 456 lettuce. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 68, n. 1, p. 270-278, 1956.

PEARSON, O.H. Unstable gene systems in vegetable crops and implications for selection. **HortScience**, St. Joseph, Mich, v. 3, n. 4, p. 271-274, 1968.

PRINSLOO, G.C. Black root rot of chicory in South Africa. **Phytophylactica**, Pretoria, v. 18, n. 4, p. 225-226, dez. 1986.

PRINSLOO, G.C.; BAARD, S.W.; FERREIRA, J.F. Resistance of chicory and endive to black root rot and the effect of their exudates on *Thielaviopsis basicola*. **Phytophylactica**, Preoria, v. 25, n. 2, p. 107-114, jun. 1993.

PUNJA, Z.K.; CHITTARANJAN, S. Prevalence and inoculum density of *Chalara elegans* in soils in the Fraser Valley of British Columbia. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Guelph, CA, v. 16, n. 1, p. 21-24, 1994.

RAMALHO, M.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.B. **Genética na agropecuária**. 2 nd ed. São Paulo: Globo, 1990. 359 p.

REDDY, M.S.; PATRICK, Z.A. Effect of host, nonhost, and fallow soil on populations of *Thielaviopsis basicola* and severity of black root rot. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Guelph, CA, v. 11, n. 1, p. 68-74, mar. 1989.

RUBATZKY, V.E. Crisphead lettuce cultivar field performance trials and demonstrations. In: **CALIFORNIA LETTUCE RESEARCH BOARD**. Annual Report, p. 93-109, 1999.

RYDER, E.J. 'Salinas' lettuce. **HortScience**, St. Joseph, Mich, v. 14, n. 3, p. 283-284, 1979.

RYDER, E.J. Lettuce breeding. In: BASSET, M.J. (Ed.). **Breeding vegetable crops**, Gainesville, Florida: AVI Publishing, 1986. chap. 12, p. 433-473.

RYDER, E.J. **Lettuce, endive and chicory**. Oxon, UK: CABI Publishing; New York, EUA: CABI Publishing, 1999. 208 p.

RYDER, E.J. The new salad crop revolution. <<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/ncnu02/v5-408.html>>. Acesso em: 20 fev. 2004.

SALA, F.C.; COSTA, C.P.; TEIXEIRA-YAÑEZ, L.D.D.; BLAT, S.F. Seleção de variantes resistentes a *Thielaviopsis basicola* na alface 'Lucy Brown'. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 44., 2004a, Campo Grande. **Horticultura Brasileira 22**: trabalhos... Brasília: SOB; 2004. 1 CD-ROM.

SALA, F.C.; COSTA, C.P.; TEIXEIRA-YAÑEZ, L.D.D.; BLAT, S.F. Reação de chicória a murchadeira (*Thielaviopsis basicola*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 1, p. 78, 2004b. Resumo.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT User's guide**, Version 6, Cary, 1999.

SILVA, A.M.S.; AKIBA, F.; CARVALHO, A.O.; RIBEIRO, R.L.D.; ARAÚJO, J.S.P. Podridão negra de raízes de quiabeiro e alface incitada por *Thielaviopsis* sp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, p. 328, 1999. Suplemento. Apresentado no 32º CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 4., 1999, Curitiba.

SMITH, J.W.M. Recurring off-types in lettuce: Their significance in plant breeding and seed production. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 50, n. 2, p. 79-87, 1977.

TABACHNIK, M.; VAY, J.E.; GARBER, R.H.; WAKEMAN, R.J. Influence of soil inoculum concentrations on host range and disease reactions caused by isolates of *Thielaviopsis basicola* and comparison of soil assay methods. **Phytopathology**, Lancaster, PA, v. 69, n. 9, p. 974-977, 1979.

TEIXEIRA-YAÑEZ, L.D.D. **Resistência genética, fungicidas e solarização para o controle de *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Broome) Ferraris na cultura de alface (*Lactuca sativa* L.)**. 2005. 103 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

THOMPSON, R.C.; KNOTT, J.E. The effect of temperature and photoperiod on the growth of lettuce. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 30, n. 1, p. 507-509, 1934.

THOMPSON, R.C.; RYDER, E.J. **Descriptions and pedigrees of nine varieties of lettuce**. Washington, 1961. 19 p. (Technical Bulletin, 1244).

THOMPSON, R.C.; WHITAKER, T.W.; BOHN, G.W.; Van HORN, C.W. Natural cross pollination in lettuce. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 72, n. 1, p. 403-409, 1958.

TREBILCO, E.; HOWELL, J.; FORSBERG, L.; BODMAN, K. **Beware of *Chalara elegans* black root rot**. <http://www.ngia.com.au/np/99_13/99_13.html>. Acesso em: 25 mar. 2002.

TROJAK-GOLUCH, A.; BERBEC', A. Potential of *Nicotiana glauca* (Grah.) as a source of resistance to black root rot *Thielaviopsis basicola* (Berk. and Broome) Ferr. in tobacco improvement. **Plant Breeding**, Oxon, England, v. 124, n. 5, p. 507-510, oct. 2005.

TSAO, P.H.; GUNDY, S.D. van *Thielaviopsis basicola* as a citrus root pathogen. **Phytopathology**, Lancaster, PA, v. 52, n. 8, p. 781-786, 1962.

VOSE, P.B.; BLIXT, S.G. **Crop Breeding: A contemporary basis**. New York: Pergamon Press, 1984. 443 p.

WAYCOTT, W. Photoperiodic response of genetically diverse lettuce accessions. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 120, n. 3, p. 460-467, 1995.

WHITAKER, T.W.; RYDER, E.J.; RUBATSKY, V.E.; VAIL, P.V. **Lettuce production in the United States**. Washington, 1974. 43 p. (Agriculture Handbook, 221).

WILKINSON, C.A.; RUFTY, R.C.; SHEW, H.D. Inheritance of partial resistance to black root rot in burley tobacco. **Plant Disease**, St. Paul, v. 75, n. 9, p. 889-892, sept. 1991.

WOOD, D.R.; RAWAL, K.M.; WOOD, M.N. **Crop breeding**. Madison: Crop Science Society of America, 1983. 294 p.

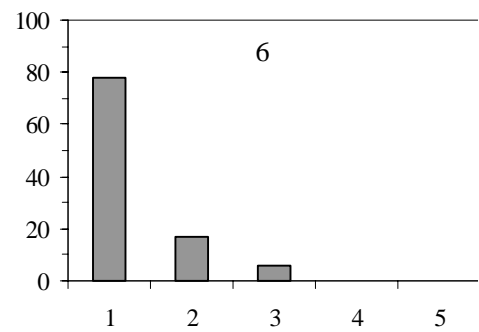
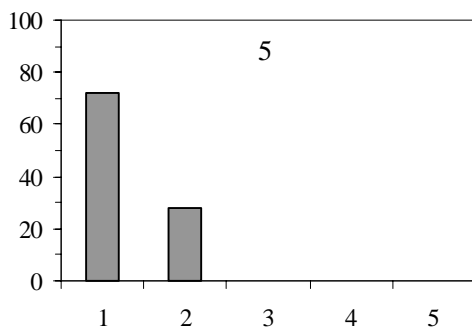
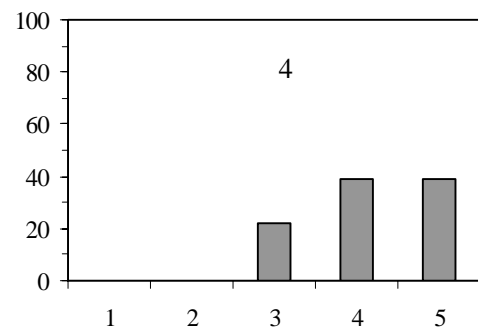
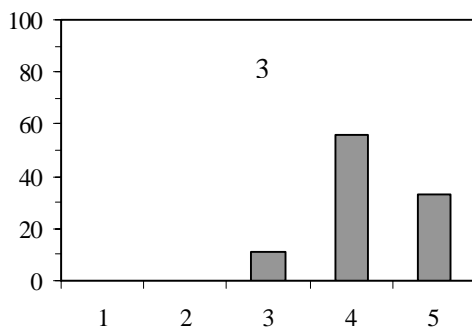
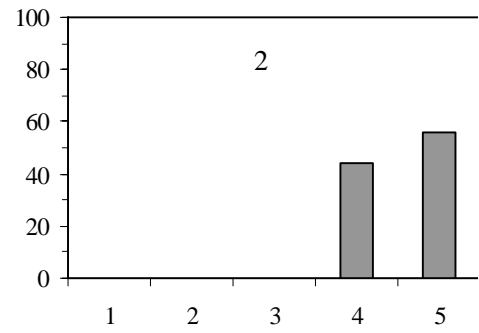
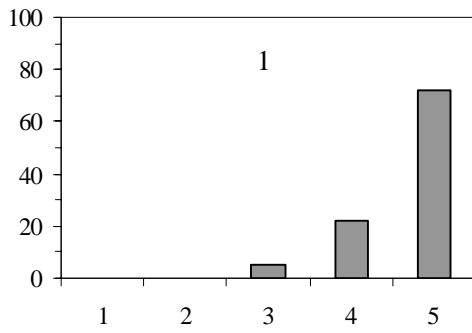
YARWOOD, C.E. Occurrence of *Chalara elegans*. **Mycologia**, Lancaster, v. 73, n. 3, p. 524-530, 1981.

ANEXOS

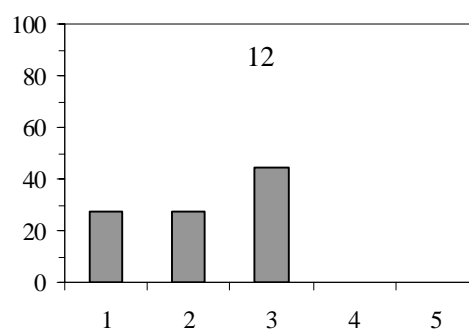
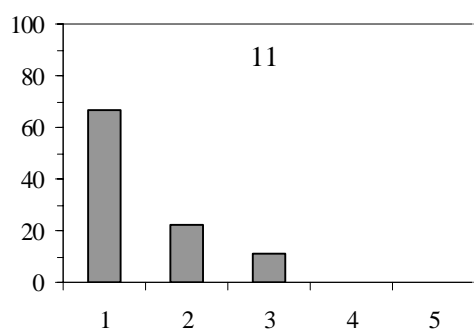
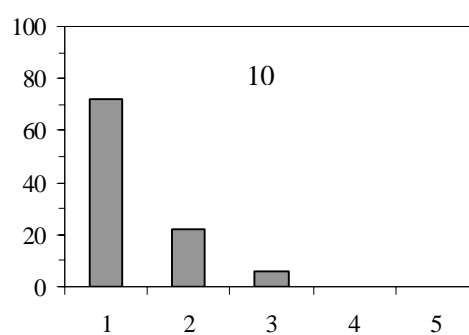
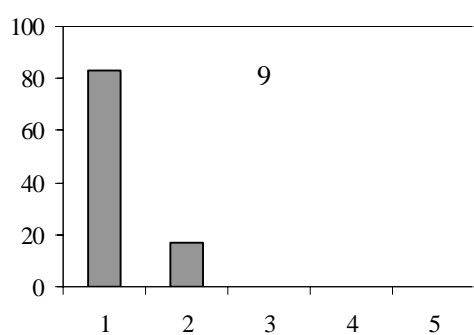
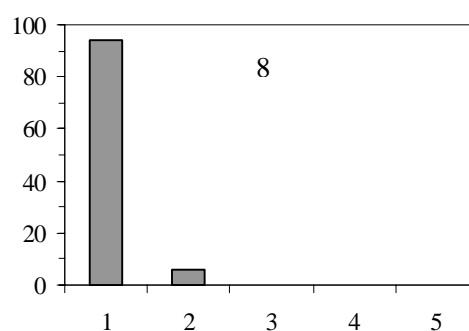
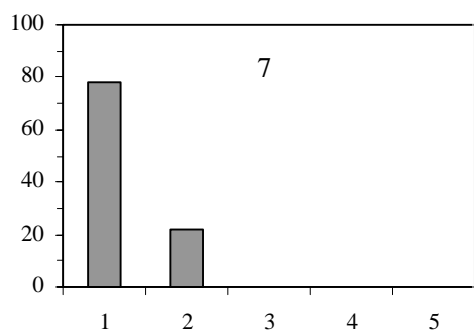
ANEXO A - Resumo da análise de variância da reação de cultivares de alface a *Thielaviopsis basicola* para o parâmetro nota. Piracicaba, 2003

Causas da variação	G.L.	QM	F
Cultivares	36	0,21400160	73,93**
Resíduo	74	0,00289464	
Total	110		

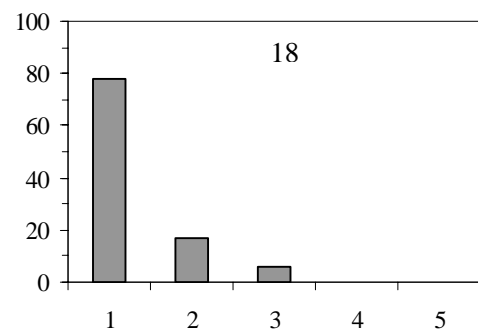
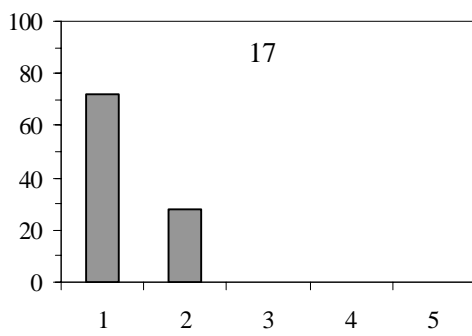
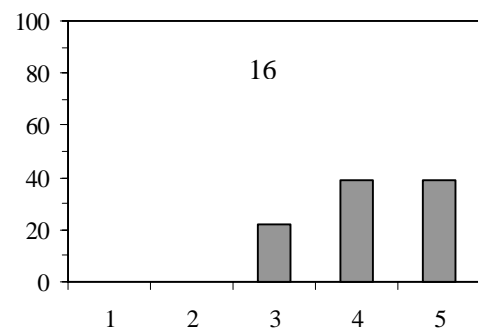
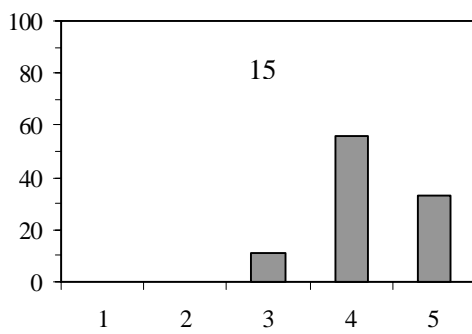
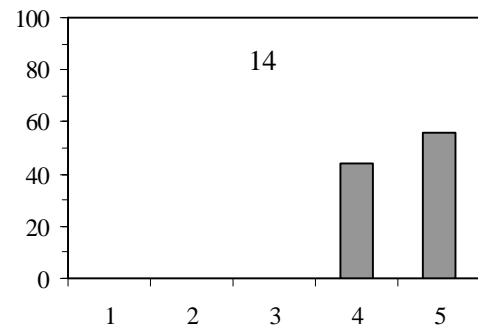
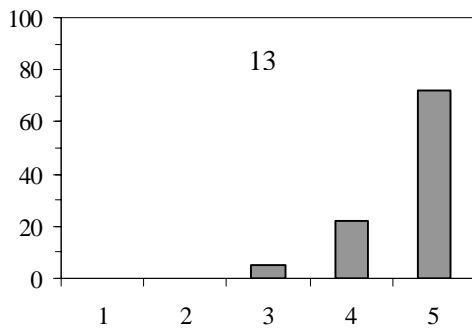
** Significativo ao nível de significância de $\alpha = 0,01$.



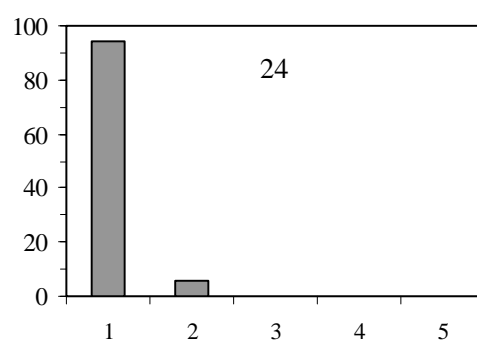
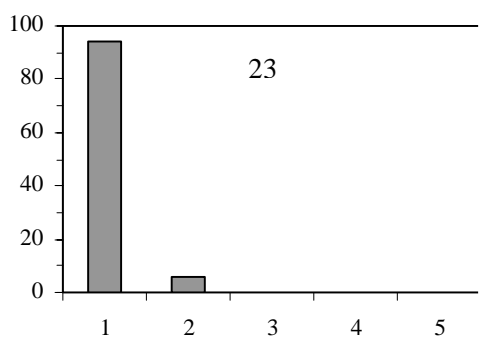
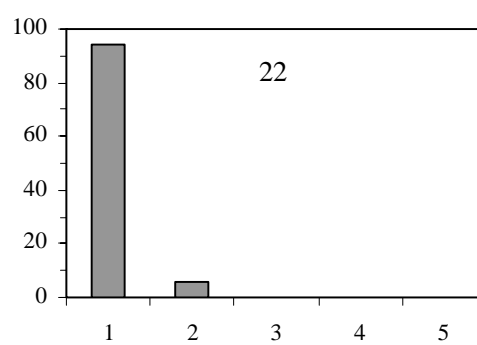
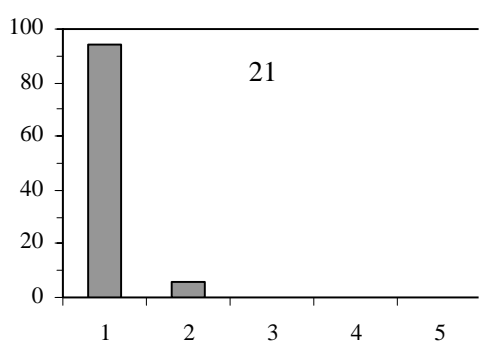
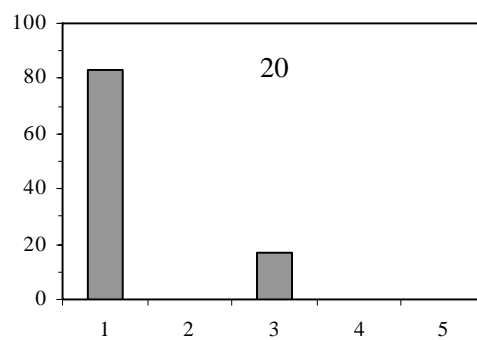
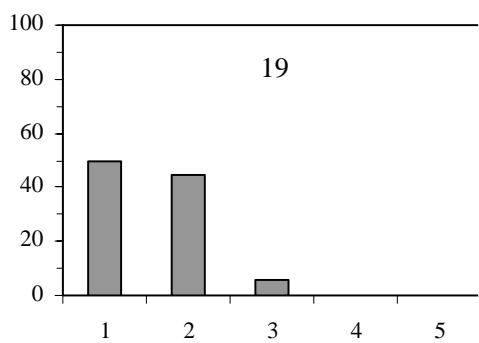
ANEXO B - Frequência das notas da reação de alfaca americana a *Thielaviopsis basicola*. 1) Invader, 2) Lady, 3) Lorca, 4) Lucy Brown, 5) Mohawk e 6) PRS113



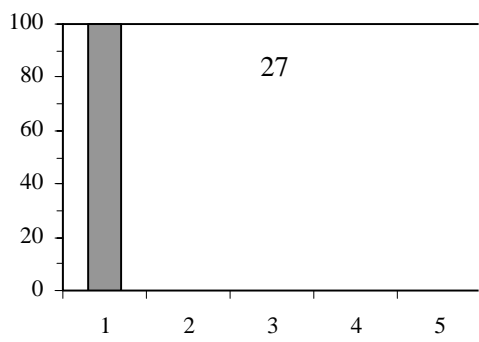
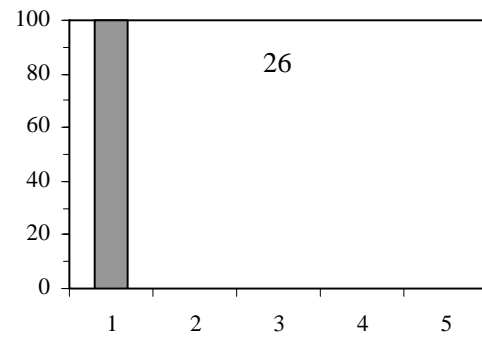
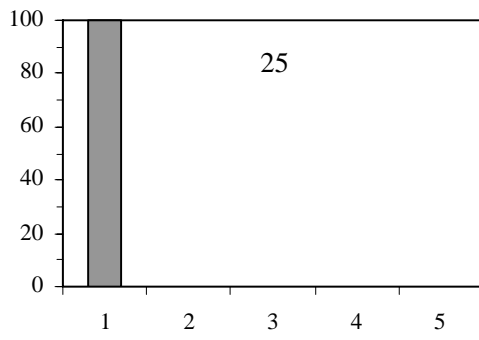
ANEXO C - Frequência das notas da reação de alfaca americana a *Thielaviopsis basicola*. 7) PRS115, 8) PRS261, 9) Raider, 10) Rubete, 11) Salinas 88 e 12) Sonoma



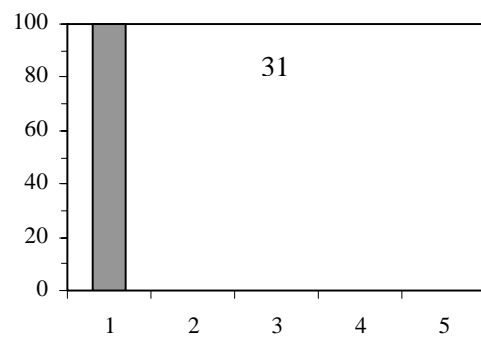
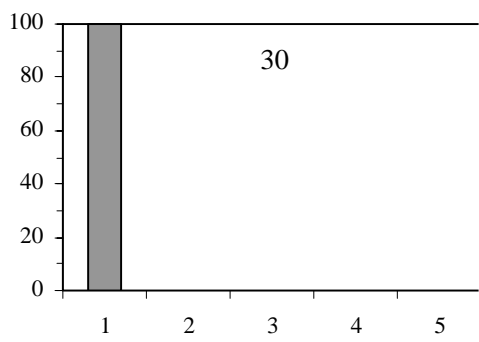
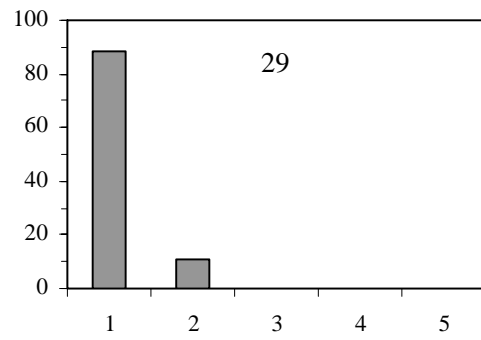
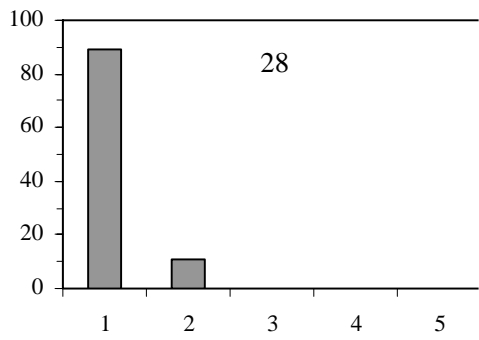
ANEXO D - Frequência das notas da reação de alface americana a *Thielaviopsis basicola*. 13) Stinger, 14) Tainá, 15) Yuri, 16) Niner, 17) SVR1778 e 18) Empire



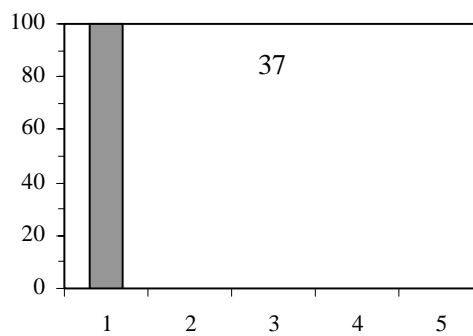
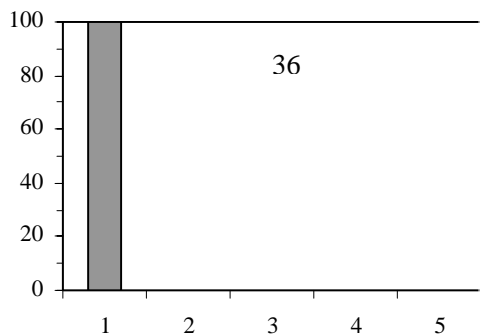
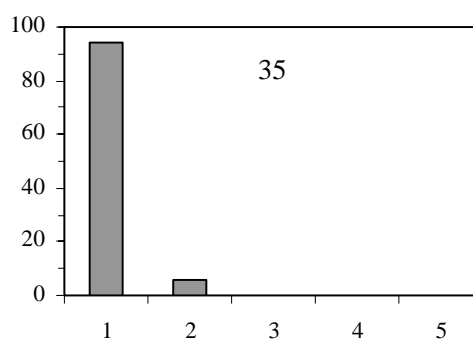
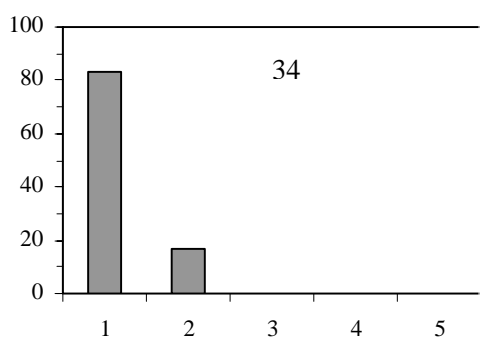
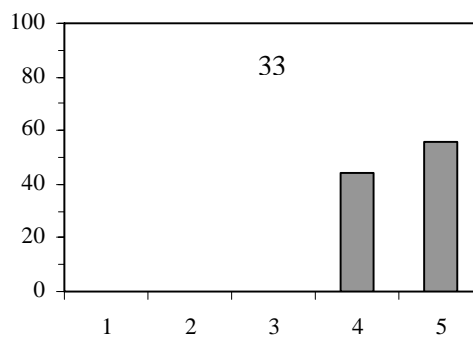
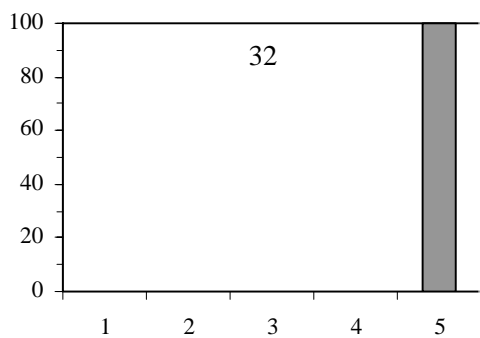
ANEXO E - Frequência das notas da reação de alface crespa a *Thielaviopsis basicola*. 19) Vera, 20) Simpson Elite 21) Mariane, 22) Brisa, 23) Verônica e 24) Korean Leaf



ANEXO F - Frequência das notas da reação de alface crespa a *Thielaviopsis basicola*. 25) Locarno, 26) Banchu New Red Fire e 27) Green Day



ANEXO G - Frequência das notas da reação de alfaca do tipo batávia a *Thielaviopsis basicola*. 28) Gorga, 29) Batávia Pierre Benite, 30) Batávia 301397 e 31) La Brillante

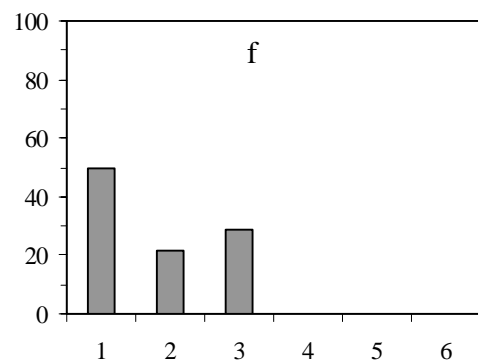
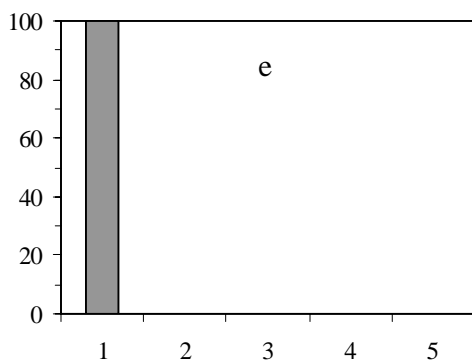
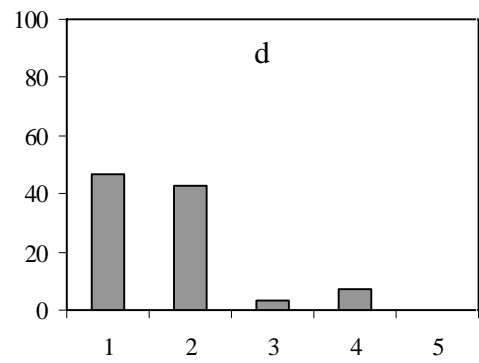
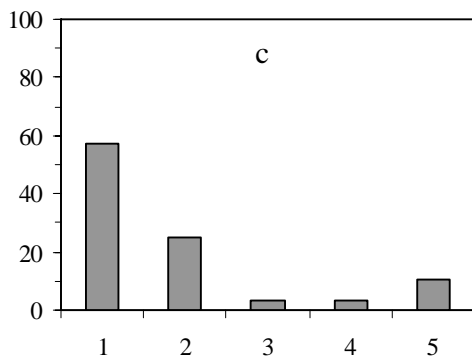
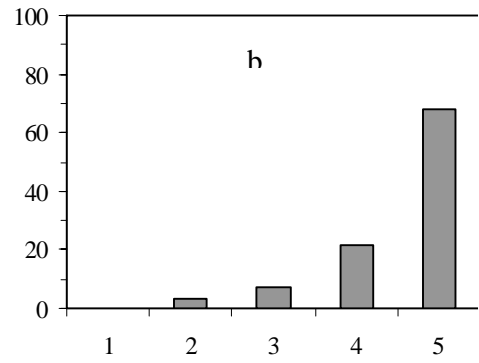
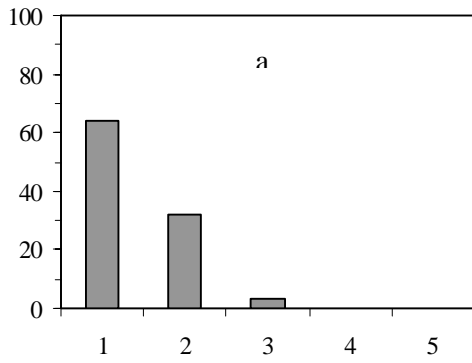


ANEXO H - Frequência das notas da reação de alface do tipo lisa a *Thielaviopsis basicola*. 32) Elisa, 33) Luisa, 34) EX2622, 35) Ninja, 36) Letícia e 37) Tinto

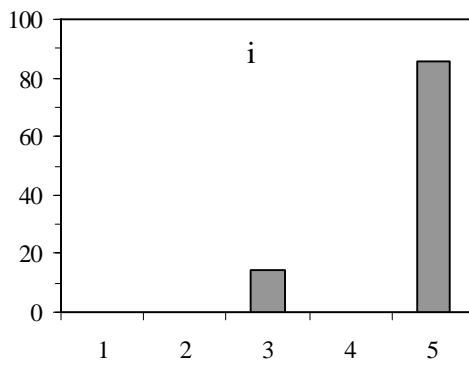
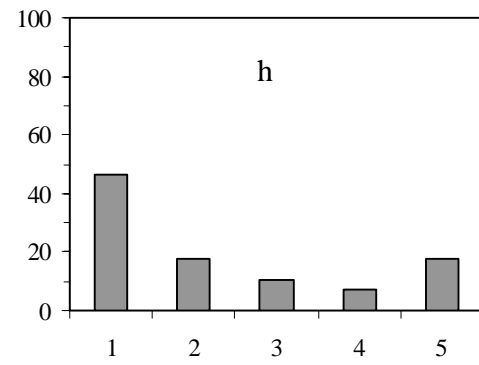
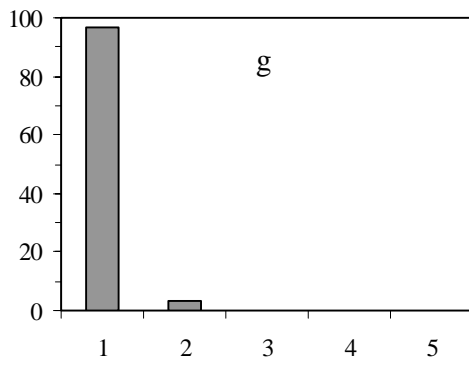
ANEXO I - Resumo da análise de variância da reação das progênes S1 da alfaca 'Lucy Brown' a *Thielaviopsis basicola* do parâmetro nota. Piracicaba, 2003

Causas da variação	G.L.	QM	F
Amostra	3	0,00938974	0,47
Progênie	8	1,05409084	52,48**
Resíduo	24	0,04114810	2,05
Erro amostral	216	0,02008453	
Total	251		

** Significativo ao nível de significância de $\alpha = 0,01$.



ANEXO J - Frequência relativa das notas dos variantes S1 da alfaca americana 'Lucy Brown' a *Thielaviopsis basicola*. a) LB # 1, b) LB # 2, c) LB # 4, d) LB # 5, e) LB # 6 e f) LB # 7



ANEXO K - Frequência relativa das notas dos variantes S1 da alface americana 'Lucy Brown' a *Thielaviopsis basicola*. g) LB # 8, h) LB # 9 e i) 'Lucy Brown'

ANEXO L - Resumo da análise de variância das progênie S3 da alface 'Lucy Brown` para o mérito hortícola uniformidade. Piracicaba, 2004

Causas da variação	G.L.	QM	F
Bloco	2	0,01754386	0,12
Progênie	18	3,70565302	25,18**
Resíduo	36	0,14717349	
Total	56		

** Significativo ao nível de significância de $\alpha = 0,01$.

ANEXO M - Resumo da análise de variância das progênie S3 da alface 'Lucy Brown` para o mérito hortícola compacidade. Piracicaba, 2004

Causas da variação	G.L.	QM	F
Bloco	2	0,00531343	1,44
Progênie	18	0,15139313	41,10**
Resíduo	36	0,00368375	
Total	56		

** Significativo ao nível de significância de $\alpha = 0,01$.

ANEXO N - Resumo da análise de variância das progênie S3 da alface 'Lucy Brown` para o mérito hortícola total. Piracicaba, 2004

Causas da variação	G.L.	QM	F
Bloco	2	0,0701754	0,23
Progênie	18	12,6881092	40,81**
Resíduo	36	0,3109162	
Total	56		

** Significativo ao nível de significância de $\alpha = 0,01$.

ANEXO O - Resumo da análise de variância das progênes S4 da alface 'Lucy Brown` para o mérito hortícola uniformidade. Piracicaba, 2004

Causas da variação	G.L.	QM	F
Bloco	2	0,10606061	0,53
Progênie	21	1,58441558	7,87**
Resíduo	42	0,20129870	
Total	65		

** Significativo ao nível de significância de $\alpha = 0,01$.

APÊNDICE P - Resumo da análise de variância das progênes S4 da alface Lucy Brown para o mérito hortícola compacidade. Piracicaba, 2004

Causas da variação	G.L.	QM	F
Bloco	2	0,18181818	0,74
Progênie	21	0,96176046	3,92**
Resíduo	42	0,24531025	
Total	65		

** Significativo ao nível de significância de $\alpha = 0,01$.

ANEXO Q - Resumo da análise de variância das progênes S4 da alface 'Lucy Brown` para o mérito hortícola total. Piracicaba, 2004

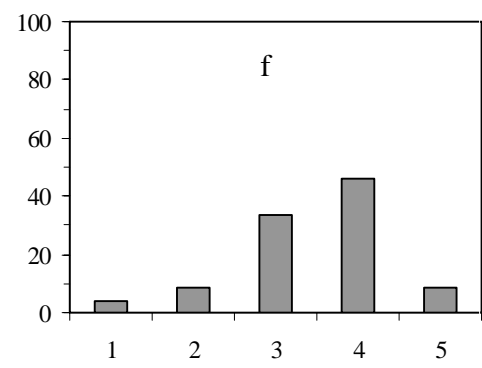
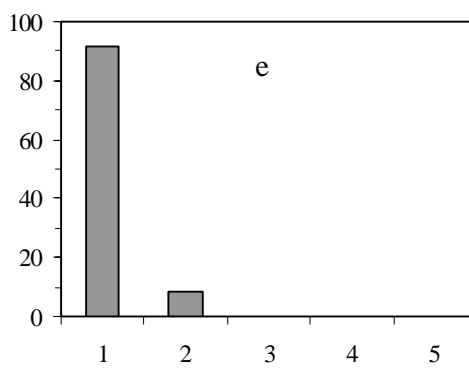
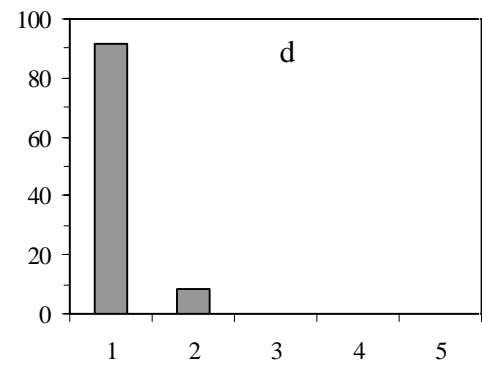
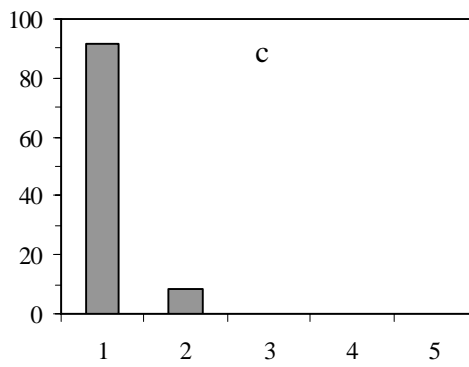
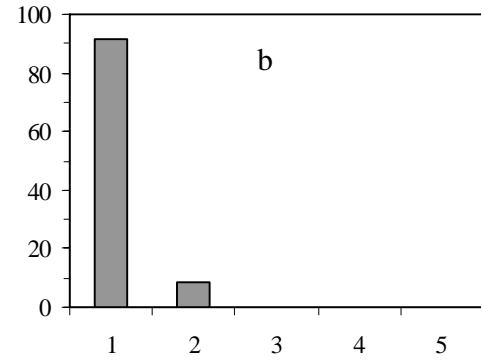
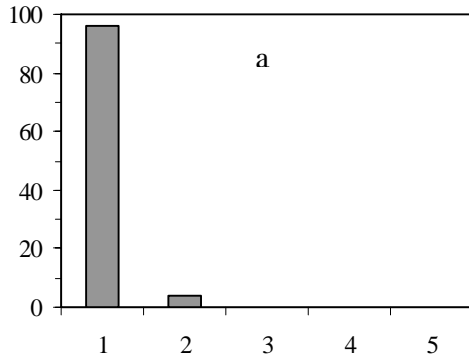
Causas da variação	G.L.	QM	F
Bloco	2	0,56060606	1,29
Progênie	21	4,74531025	10,94**
Resíduo	42	0,4336219	
Total	65		

** Significativo ao nível de significância de $\alpha = 0,01$.

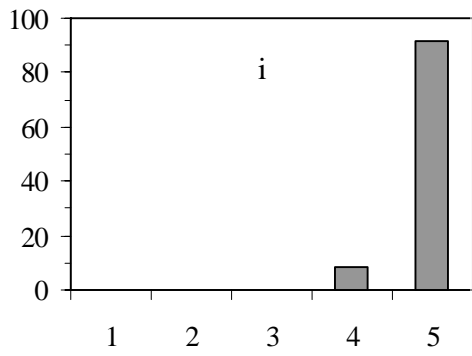
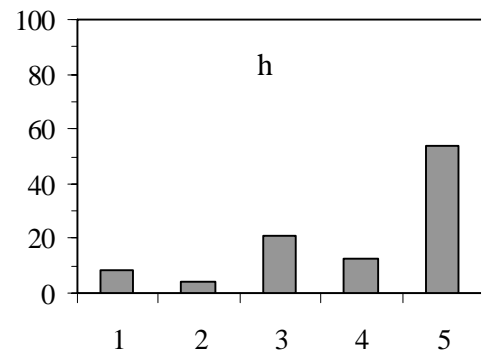
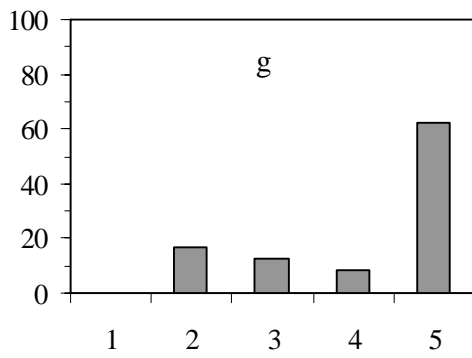
ANEXO R - Resumo da análise de variância da reação das progênes S4 da alface 'Lucy Brown' a *Thielaviopsis basicola* para o parâmetro nota. Piracicaba, 2004

Causas da variação	G.L.	QM	F
Amostra	2	0,02375233	2,88
Progênie	8	1,43011270	173,32**
Resíduo	16	0,02600697	3,15
Erro amostral	189	0,00825112	
Total	215		

** Significativo ao nível de significância de $\alpha = 0,01$.



ANEXO S - Frequência relativa das notas dos variantes S4 da alfaca americana 'Lucy Brown' a *Thielaviopsis basicola*. a) LB # 4-2-2, b) LB # 4-2-3, c) LB # 4-10-1, d) LB # 4-10-4, e) LB # 4-10-2 e f) LB # 4-4-2



ANEXO T - Frequência relativa das notas dos variantes S4 da alface americana 'Lucy Brown' a *Thielaviopsis basicola*. g) LB # 4-4-1, h) LB # 4-14-1 e i) 'Lucy Brown'

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)