

# Levantamento de raças do agente causador do míldio da alface no Estado de São Paulo em 2012 e 2013

Renata de Castro Nunes<sup>1\*</sup>, Renata Castoldi<sup>1</sup>, Rafaelle Fazzi Gomes<sup>1</sup>, Dora Enith Tobar-Tosse<sup>1</sup>, Leila Trevisan Braz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UNESP/FCAV - Departamento de Produção Vegetal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n – 14884900- Jaboticabal, SP.

Autor para correspondência: Renata de Castro Nunes (renatacastronunes@gmail.com)

Data de chegada: 14/11/2014. Aceito para publicação em: 26/05/2015.

10.1590/0100-5405/2057

## RESUMO

Nunes, R.C.; Castoldi, R.; Gomes, R.F.; Tobar-Tosse, D.E.; Braz, L.T. Levantamento de raças do agente causador do míldio da alface no Estado de São Paulo em 2012 e 2013. *Summa Phytopathologica*, v.42, n.1, p.53-58, 2016.

A alface é, entre as hortaliças folhosas, a mais importante economicamente para o Brasil. No inverno, com baixas temperaturas e com molhamento foliar, o míldio da alface, doença causada pelo agente etiológico *Bremia lactucae*, ocorre em praticamente todas as regiões de cultivo desta hortaliça, sendo considerada uma das doenças foliares mais severas da cultura. O objetivo deste trabalho foi identificar as raças de *B. lactucae* no ano de 2012 e 2013 que ocorreram nas principais regiões produtoras do Estado de São Paulo, como: Ribeirão Preto, Jaboticabal, Pirangi, Catanduva, São José do Rio Preto, Atibaia, Salesópolis, Biritiba Mirim, Mogi das Cruzes, Campinas, Itapira, Mogi Mirim, Cândido Mota, Presidente Prudente, Echaporã, Assis, Marília, Botucatu e Bauru. Durante o mês de julho/agosto de 2012 e 2013, coletaram-se amostras de folhas de alface com sintomas de míldio, sendo que, em cada amostra coletada, as estruturas do patógeno referiram-se a um isolado. Os

esporângios foram multiplicados na cultivar suscetível Solaris, com posterior inoculação nas cultivares diferenciadoras, realizando-se as avaliações no 12º dia do aparecimento da primeira esporulação na cultivar suscetível ‘Green Tower’ (Dm-0), conforme o código “Sextet”. Em 2012, foi determinado dois novos códigos, identificando duas novas raças, SPBI:10 (63/31/02/00) e SPBI:11 (63/63/18/00). Em 2013, uma nova codificação foi determinada (63/31/18/00), à qual propôs a denominação de SPBI:12. Os genes Dm-14 e Dm-15, e os fatores de resistência FR-17, FR-18, FR-36, FR-37 e FR-38 conferem resistência a essas novas raças identificadas. Recomenda-se, portanto, em programas de melhoramento genético de alface, a utilização dos fatores FR-17, FR-18 e FR-38 como fontes de resistência para novas cultivares desenvolvidas para cultivo no Estado de São Paulo, por conferirem resistência a todas as 12 raças já identificadas.

**Palavras-chave:** *Bremia lactucae*, genes Dm, *Lactuca sativa* L., resistência de plantas à doenças.

## ABSTRACT

Nunes, R.C.; Castoldi, R.; Gomes, R.F.; Tobar-Tosse, D.E.; Braz, L.T. Survey of races of the causal agent of downy mildew of lettuce in the state of São Paulo in 2012 and 2013. *Summa Phytopathologica*, v.42, n.1, p.53-58, 2016.

Lettuce is, among leafy vegetables, the most economically important one to Brazil. In the winter, at low temperatures and under leaf wetness, downy mildew of lettuce, a disease caused by the etiologic agent *Bremia lactucae*, occurs in almost all regions where this vegetable is grown and is considered one of the most severe foliar diseases for the culture. The aim of this study was to identify the races of *B. lactucae* in 2012 and 2013 that occurred in the main producing regions of São Paulo State, such as: Ribeirão Preto, Jaboticabal, Pirangi, Catanduva, São José do Rio Preto, Atibaia, Salesópolis, Biritiba Mirim, Mogi das Cruzes, Campinas, Itapira, Mogi Mirim, Cândido Mota, Presidente Prudente, Echaporã, Assis, Marília, Botucatu and Bauru. During the months of July / August 2012 and 2013, we collected samples of lettuce leaves showing symptoms of downy mildew, and in each collected sample the pathogen structures referred to an

isolate. The sporangia were multiplied on the susceptible cultivar Solaris, with subsequent inoculation in differential cultivars, performing evaluations on the 12<sup>th</sup> day from the appearance of the first sporulation in the susceptible cultivar ‘Green Tower’ (Dm-0), according to the code “Sextet”. In 2012, two new codes were determined, identifying two new races, SPBI:10 (63/31/02/00) and SPBI:11 (63/63/18/00). In 2013, a new codification was determined (63/31/18/00), to which the name SPBI:12 was proposed. The genes Dm-14 and Dm-15 and the resistance factors FR-17, FR-18, FR-36, FR-37 and FR-38 confer resistance to these new races that were identified. It is recommended, therefore, in breeding programs of lettuce, the use of factors FR-17, FR-18 and FR-38 as sources of resistance for new cultivars developed in the state of São Paulo, because they confer resistance to all 12 already identified races.

**Keywords:** *Bremia lactucae*, genes Dm, *Lactuca sativa* L., resistance of plants to disease.

A alface (*Lactuca sativa* L.) pertence à família Asteraceae e ao gênero *Lactuca*, no qual são descritas mais de 100 espécies. Esta hortaliça folhosa é considerada a mais popular do mundo, destacando-se pelo elevado teor de sais minerais e de vitaminas A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e C, além de conter cálcio e ferro.

Dados do Agrifolha (1), referente ao ano de 2013, mostram que foram comercializadas 52.408 toneladas de alface no Estado de São Paulo, destacando a região do Cinturão Verde como a área de maior

produção (6). No entanto, áreas menores dessa cultura distribuem-se por todo o Estado, ao redor das principais cidades, sendo que estas têm sido expandidas gradativamente com o decorrer dos anos (5).

A evolução de cultivares e sistemas de manejo, tratamentos culturais, irrigação, espaçamentos, técnicas de colheita, conservação pós-colheita e mudanças nos hábitos de alimentação impulsionaram o cultivo, tornando a alface a hortaliça folhosa mais consumida no país (10).

Apesar das extensas áreas de produção, o cultivo de alface apresenta

limitações, principalmente em virtude de sua sensibilidade às condições adversas de temperatura e umidade, acarretando na ocorrência de diversos fitopatógenos, dentre eles a *Bremia lactucae* Regel, causadora do míldio em alface.

O míldio é uma doença de distribuição mundial e é tido como uma das mais importantes e severas da cultura, devido seu alto poder destrutivo, tanto em casa de vegetação como em campo (15). O sintoma da doença inicia-se com a formação de pequenas manchas angulares, de coloração verde-clara a amarelada, na face superior da folha. Com o seu desenvolvimento, a coloração da parte infectada torna-se marrom e, sob condições de alta umidade, o fitopatógeno forma frutificações brancas na face inferior das folhas (9).

O ciclo da doença é do tipo policíclico, assim, a redução do inóculo inicial apresenta efeito limitado no desenvolvimento máximo da doença, uma vez que a progressão geométrica de multiplicação de novas infecções resulta em rápido aumento da doença em sua fase crítica (13).

Van Ettehoven & Van Der Arend (14), com o intuito de uniformizar o sistema de identificação de raças de míldio, utilizaram códigos para cada raça, denominados “Sextet Codes” evitando, dessa forma, que uma mesma raça recebesse denominações diferentes em distintas regiões do mundo.

Braz et al. (3) em estudos pioneiros de identificação de raças realizados no Estado de São Paulo, nos anos de 2003 e 2004, identificaram a primeira raça de *B. lactucae*, denominada SPBI:01. Souza et al. (11), nos anos de 2006 e 2007, identificaram três novas raças, sendo elas: SPBI:02, SPBI:03 e SPBI:04. Em 2008 e 2009, Castoldi et al. (4) verificaram o surgimento de outras duas novas raças, SPBI:05 e SPBI:06. Gallati et al. (5) identificaram três novas raças, nos anos de 2010 e 2011, sendo elas SPBI:07, SPBI:08 e SPBI:09.

Devido à ampla variabilidade genética de *B. lactucae*, a introdução ou a mutação de novos genes podem ocasionar o aparecimento de novas raças com todos os genes de virulência, capazes de vencer a resistência das cultivares comerciais resistentes. Sendo assim, o conhecimento das raças que ocorrem anualmente em diferentes regiões é de grande valia, pois pode auxiliar a escolha de cultivares resistentes para plantio, bem como direcionar os programas de melhoramento para a obtenção de cultivares com resistência a novas raças.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho identificar as raças de *B. lactucae*, de ocorrência nos principais municípios produtores de alface do Estado de São Paulo, nos anos de 2012 e 2013.

## MATERIAL E MÉTODOS

Durante os meses de julho e agosto dos anos de 2012 e 2013, foram coletadas, respectivamente, 49 e 45 amostras de folhas de alface com sintomas de míldio, sendo as estruturas do patógeno em cada amostra coletada referidas como um isolado (Figura 1).

As coletas foram realizadas em diferentes municípios produtores de alface: como: Ribeirão Preto, Jaboticabal, Pirangi, Catanduva, São José do Rio Preto, Atibaia, Salesópolis, Biritiba Mirim, Mogi das Cruzes, Campinas, Itapira, Mogi Mirim, Cândido Mota, Presidente Prudente, Echaporã, Assis, Marília, Botucatu e Bauru. Em 2012 não foram encontradas plantas com esporângios do fitopatógeno nos municípios de Pirangi, Cândido Mota e Salesópolis e em 2013, o mesmo ocorreu nos municípios de São José do Rio Preto, Salesópolis, Pirangi, Cândido Mota, Presidente Prudente, Assis, Marília e Echaporã.

As amostras foram armazenadas em recipientes plásticos de 50 mL, identificados com o município da coleta, nome do produtor, nome da propriedade e nome da cultivar, e acondicionadas em caixas térmicas



Figura 1. Folhas de alface com sintomas de *Bremia lactucae*.

para o transporte até o Laboratório de Genética e Melhoramento de Hortaliças, do Departamento de Produção Vegetal (UNESP-FCAV).

Ao término das coletas, realizou-se a multiplicação dos esporângios, para obtenção de quantidades suficientes de inóculo para utilização no teste de diferenciação. Neste procedimento, sementes da cultivar suscetível Solaris foram semeadas em caixas plásticas gerbox (11 x 11 x 3,5 cm), forradas com papel germitex umedecido, dividido em duas partes iguais, sendo que em cada parte foram semeadas aproximadamente 20 sementes, totalizando uma caixa por amostra. Estas foram mantidas por 15 dias em câmara de incubação tipo BOD (Biochemical Oxygen Demand) com temperatura de 13°C e fotoperíodo de 12 h. Transcorrido esse período, foi realizada a inoculação dos esporângios nas plântulas. Após 15 dias, foram utilizadas como fonte de inóculo para a próxima semeadura. Este procedimento repetiu-se por três vezes, seguindo ordem de semeadura e inoculação, até obter quantidades suficientes de esporângios.

Obtidas as quantidades suficientes de esporângios, sementes das 20 cultivares diferenciadoras de alface foram semeadas de forma equivalente ao procedimento de multiplicação, porém, o papel germitex foi dividido em quatro partes iguais. Em cada uma das partes foram semeadas aproximadamente 40 sementes de cada cultivar diferenciadora.

As cultivares diferenciadoras foram divididas em quatro grupos, sendo atribuídos valores de 1, 2, 4, 8, 16 e 32 a cada cultivar, dentro de cada grupo, segundo a metodologia de Van Ettehoven & Der Arend (14), como segue: Grupo I: Lendnicky (1); UCDm-2 (2); Dandie (4); R4T57D (8); Valmaine (16); Sabine (32); Grupo II: LSE 57/15 (1); UCDm-10 (2); Captan (4); Hilde II (8); Penlake (16); UCDm-14 (32); Grupo III: Num Dm 15 (1); CG Dm-16 (2); Num Dm 17 (4); Colorado (8); Ninja

**Tabela 1.** Resposta de resistência/suscetibilidade de cultivares diferenciadoras à *Bremia lactucae* para os isolados coletados durante o ano de 2012. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV.

Cultivares	G. Towers	Lednický	UC DM 2	Dandic	R4 T57 DM	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM 10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM 14	Num DM 15	CG DM 16	Num DM 17	Colorado	Ninja	Discovery	Argeles	Código "Sextet"	
Dm/FR		Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	FR	FR	FR	FR	FR		
Resistência	-	1	2	3	4	5	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18	36	37	38		
SextetN°	-	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19		
Valor	-	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1		
Grupos		1						2						3						4		
Isolados	Resposta de resistência - e suscetibilidade +																					
1 <sup>A</sup>	(+)	(+)	+	(+)	+	(+)	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/63/02/00	
2 <sup>A</sup>	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	-	+	(-)	-	-	(-)	(-)	63/63/02/00	
3 <sup>A</sup>	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00	
4 <sup>A</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/63/03/00	
5 <sup>B</sup>	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	+	+	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/63/19/00	
6 <sup>B</sup>	+	+	+	+	(+)	+	(+)	(+)	+	+	+	+	(-)	-	+	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00	
7 <sup>C</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	-	(-)	+	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00	
8 <sup>C</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/63/03/00	
9 <sup>D</sup>	+	+	(+)	(+)	+	+	(+)	+	+	(+)	+	+	-	(+)	+	-	-	(-)	(-)	-	63/31/03/00	
10 <sup>D</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/63/18/00	
11 <sup>D</sup>	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00	
12 <sup>D</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	+	(+)	(+)	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/63/03/00	
13 <sup>D</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/63/18/00	
14 <sup>E</sup>	(+)	+	(+)	+	+	+	(+)	(+)	+	(+)	+	+	-	(+)	+	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/31/19/00	
15 <sup>E</sup>	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/31/19/00	
16 <sup>F</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00	
17 <sup>F</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(-)	(+)	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/63/02/00	
18 <sup>F</sup>	+	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00	
19 <sup>F</sup>	(+)	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	(+)	+	+	(-)	(-)	(+)	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00	
20 <sup>G</sup>	+	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(-)	+	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/63/18/00	
21 <sup>G</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	-	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00	
22 <sup>H</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	-	+	(+)	-	(-)	(+)	(-)	(-)	63/31/19/00	
23 <sup>H</sup>	+	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	+	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/63/19/00	
24 <sup>H</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	(-)	(-)	+	-	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00	
25 <sup>H</sup>	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00	
26 <sup>H</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/63/19/00	
27 <sup>I</sup>	(+)	+	+	(+)	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00	
28 <sup>I</sup>	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	+	+	(+)	+	+	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00	
29 <sup>J</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	(-)	+	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00	
30 <sup>J</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	-	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00	
31 <sup>J</sup>	+	+	+	(+)	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/63/03/00	
32 <sup>J</sup>	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	(+)	+	+	(+)	(+)	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-	63/63/03/00	
33 <sup>K</sup>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	(-)	(+)	-	-	(-)	(-)	-	63/63/02/00	
34 <sup>K</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	-	(+)	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00	
35 <sup>K</sup>	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	+	(-)	-	(+)	(-)	(-)	63/63/19/00	
36 <sup>L</sup>	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	(-)	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00	
37 <sup>L</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	(+)	+	(-)	-	(+)	(-)	(-)	63/31/19/00	
38 <sup>L</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/31/19/00	
39 <sup>L</sup>	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/63/03/00	
40 <sup>M</sup>	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/63/19/00	
41 <sup>M</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00	
42 <sup>N</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/31/19/00	
43 <sup>N</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	(-)	+	(-)	-	(-)	(-)	-	63/31/02/00	
44 <sup>N</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	(-)	+	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00	
45 <sup>N</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	-	(-)	+	(+)	-	(+)	-	(-)	63/31/02/00	
46 <sup>N</sup>	+	+	+	(+)	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/31/19/00	
47 <sup>O</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/63/02/00	
48 <sup>O</sup>	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	+	(+)	-	-	(+)	(-)	(-)	63/31/19/00	
49 <sup>P</sup>	+	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/31/19/00	

Região de coleta dos isolados: A- Ribeirão Preto; B- Catanduva; C- São José do Rio Preto; D-Botucatu; E- Bauri; F- Jaboticabal; G- Mogi Mirim; H- Itapira; I- Atibaia; J- Campinas; K- Biritiba Mirim; L- Mogi das Cruzes; M- Presidente Prudente; N- Assis; O- Echaporã e P- Marília. **Azul:** raça SPBI:10 identificada em 2012. **Verde:** raça SPBI:11 identificada em 2012.

(16); Discovery (32); Grupo IV: Argeles (1).

Após semeadura das cultivares diferenciadoras, estas foram mantidas por 15 dias em câmara de incubação tipo BOD à temperatura de 13°C e fotoperíodo de 12 h. Após esse período, realizou-se a inoculação dos isolados de *B. lactucae* nas plântulas das cultivares diferenciadoras, de acordo com a metodologia de Iltott et al. (7), utilizando esporângios retirados de tecidos infestados do hospedeiro com auxílio de água destilada. A suspensão inoculada foi na concentração de  $5 \times 10^4$  esporângios mL<sup>-1</sup>, sendo pulverizada nas plântulas até o ponto de escorrimento.

Após a inoculação, as caixas foram recolocadas em BOD com temperatura de 13°C, sendo que durante as seis primeiras horas, permaneceram em câmara escura e, após esse tempo, o fotoperíodo foi ajustado para 12 horas.

O monitoramento ocorreu diariamente e quando houve aparecimento da primeira esporulação nas plântulas da cultivar suscetível 'Green Towers' (Dm-0) no 12º dia, iniciaram-se as avaliações. As cultivares diferenciadoras foram avaliadas individualmente, verificando-se a presença ou não de esporulação e de necrose, conforme metodologia proposta por Van Etteken & Der Arend (14). Essa metodologia baseia-se na escala de sinais +, (+), - ou (-), de acordo com a porcentagem de níveis de danos nos tecidos vegetais de alface, sendo identificado como '+' quando mais de 80% das plântulas apresentarem lesões esporulantes; (+): quando mais de 80% das plântulas apresentarem pontos necróticos e com muitas lesões esporulantes; -: quando menos de 5% das plântulas apresentarem lesões esporulantes; e (-): quando as plântulas apresentarem pontos necróticos e com poucas lesões esporulantes.

As diferenciadoras que se mostraram suscetíveis a determinado isolado coletado tiveram seus valores somados dentro de cada grupo (1

a 4). O somatório de cada grupo foi separado por uma barra, sendo essa sequência numérica chamada de "Código Sextet", o qual é comparado com sequências numéricas já determinadas. Caso esta seja diferente daquelas já conhecidas, significa tratar-se de uma nova raça.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 2012, foram determinadas duas novas codificações de *B. lactucae* nas regiões produtoras do Estado de São Paulo pelo código "Sextet" 63/31/02/00 e 63/63/18/00, originando duas novas raças do fitopatógeno, SPBI:10 e SPBI:11, respectivamente (Tabela 1).

Dos 49 isolados avaliados em 2012, foram determinadas cinco codificações de *B. lactucae* já verificadas anteriormente por Souza et al. (11), Castoldi et al. (4) e Galatti et al. (5), todos no Estado de São Paulo: 63/31/19/00, 63/63/19/00, 63/63/03/00, 63/63/02/00 e 63/31/03/00.

Avaliando-se os resultados, nota-se que o novo "Código Sextet" 63/31/02/00, referente à raça SPBI:10, ocorre em grande parte dos isolados de alface coletados no ano de 2012 (24,48%) (Tabela 2), com exceção de Atibaia, Bauru, Biritiba Mirim, Botucatu, Campinas, Echaporã, Marília e Presidente Prudente.

Apesar da grande ocorrência, esta nova raça não quebra a resistência dos genes Dm-14, Dm-15, FR-17, FR-18, FR-36, FR-37 e FR-38, diferindo das raças SPBI:01; SPBI:02; SPBI:03; SPBI:04; SPBI:05, SPBI:06, SPBI:07, SPBI:08 e SPBI:09 respectivamente, pela resistência dos genes Dm-14, Dm-15, FR-36 e FR-37; Dm-15 e FR-36; Dm-14, Dm-15 e FR-36; Dm-14 e Dm-15; Dm-14, Dm-15, Dm-16 e FR-37; Dm-14; Dm-15; Dm-6, Dm-14, Dm-15, FR-36 e FR-37; Dm-6, Dm-14, Dm-15 e FR-36.

**Tabela 2.** Porcentagem de ocorrência das raças de *Bremia lactucae* no ano de 2012 nos municípios produtores de alface do Estado de São Paulo. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV.

Raças identificadas Coleta 2012	Frequência (%)	Municípios da coleta
SPBI: 02 (63/31/19/00)	18,36	Bauru, Itapira, Assis, Echaporã, Marília e Mogi das Cruzes
SBPI: 03 (63/63/19/00)	10,20	Catanduva, Itapira, Biritiba Mirim e Presidente Prudente
SBPI: 04 (63/63/03/00)	12,24	Ribeirão Preto, São José do Rio Preto, Botucatu, Campinas e Mogi das Cruzes
SBPI: 06 (63/63/02/00)	10,20	Ribeirão Preto, Jaboticabal, Biritiba Mirim e Echaporã
SBPI: 07 (63/31/03/00)	18,36	Botucatu, Itapira, Atibaia, Campinas e Biritiba Mirim
SBPI: 10 (63/31/02/00) <sup>1</sup>	24,48	Ribeirão Preto, Itapira, Assis, Catanduva, São José do Rio Preto, Jaboticabal, Mogi Mirim e Mogi das Cruzes
SBPI: 11 (63/63/18/00) <sup>1</sup>	6,12	Mogi Mirim e Botucatu

<sup>1</sup> Raças identificadas em 2012.

**Tabela 3.** Porcentagem de ocorrência das raças de *Bremia lactucae* no ano de 2013 nos municípios produtores de alface do Estado de São Paulo. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV.

Raças identificadas Coleta 2013	Frequência (%)	Municípios da coleta
SPBI: 02 (63/31/19/00)	11,11	Botucatu, Bauru, Jaboticabal, Itapira, e Mogi das Cruzes
SBPI: 03 (63/63/19/00)	13,33	Ribeirão Preto, Catanduva, Itapira e Biritiba Mirim
SBPI: 04 (63/63/03/00)	13,33	Catanduva, Bauru, Campinas e Mogi das Cruzes
SBPI: 06 (63/63/02/00)	8,88	Ribeirão Preto e Jaboticabal
SBPI: 07 (63/31/03/00)	20,00	Catanduva, Botucatu, Bauru, Mogi Mirim, Atibaia e Campinas
SBPI: 10 (63/31/02/00)	15,55	Ribeirão Preto, Botucatu, Jaboticabal, Mogi Mirim, Itapira e Mogi das Cruzes
SBPI: 12 (63/31/18/00) <sup>1</sup>	17,77	Botucatu, Bauru, Mogi Mirim, Campinas e Mogi das Cruzes

<sup>1</sup> Raça identificadas em 2013.



**Tabela 4.** Resposta de resistência/suscetibilidade de cultivares diferenciadoras à *Bremia lactucae* para os isolados coletados durante o ano de 2013. Jaboticabal-SP, UNESP-FCAV.

Cultivares	G. Towers	Lednický	UC DM 2	Dandie	R4 T57 DM	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM 10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM 14	Num DM 15	CG DM 16	Num DM 17	Colorado	Ninja	Discovery	Argeles	Código "Sextet"
Dm/FR		Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	Dm	FR	FR	FR	FR	FR	
Resistência	-	1	2	3	4	5	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18	36	37	38	
SextetN°	-	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
Valor	-	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	
Grupos		1							2							3				4	
Isolados	Resposta de resistência - e suscetibilidade +																				
1 <sup>A</sup>	(+)	(+)	+	(+)	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	(+)	(-)	-	+	(-)	(-)	63/63/19/00
2 <sup>A</sup>	(+)	(+)	+	+	(+)	+	(+)	(+)	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	-	-	-	(-)	(-)	63/63/02/00
3 <sup>A</sup>	+	+	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	(+)	(+)	+	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00
4 <sup>A</sup>	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	(-)	(+)	-	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00
5 <sup>B</sup>	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	(+)	+	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/63/19/00
6 <sup>B</sup>	+	+	+	+	(+)	+	(+)	(+)	+	(+)	+	+	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00
7 <sup>B</sup>	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	+	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	63/63/19/00
8 <sup>B</sup>	(+)	+	+	+	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(-)	-	-	(-)	(-)	(-)	63/63/03/00
9 <sup>C</sup>	+	+	(+)	(+)	(+)	+	(+)	+	+	(+)	+	+	-	-	+	-	-	(+)	(-)	(-)	63/31/18/00
10 <sup>C</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	-	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00
11 <sup>C</sup>	+	+	+	+	(+)	+	+	+	(+)	+	+	+	(-)	(+)	(+)	-	(-)	-	(-)	(-)	63/31/03/00
12 <sup>C</sup>	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	+	+	-	+	+	-	(-)	(+)	(-)	(-)	63/31/19/00
13 <sup>C</sup>	(+)	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	(+)	+	+	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00
14 <sup>D</sup>	+	+	(+)	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/63/03/00
15 <sup>D</sup>	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	(-)	(-)	(-)	63/63/03/00
16 <sup>D</sup>	(+)	+	(+)	(+)	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	-	+	-	-	(+)	(-)	(-)	63/31/18/00
17 <sup>D</sup>	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	-	(+)	(+)	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00
18 <sup>D</sup>	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+	-	(-)	+	(-)	(-)	63/31/19/00
19 <sup>E</sup>	(+)	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	(+)	(+)	(+)	+	-	+	-	-	(-)	(-)	(-)	63/63/02/00
20 <sup>E</sup>	+	(+)	(+)	+	(+)	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	-	+	-	-	-	(-)	(-)	63/63/02/00
21 <sup>E</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	-	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00
22 <sup>E</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+	-	(-)	+	(-)	(-)	63/31/19/00
23 <sup>F</sup>	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	-	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00
24 <sup>F</sup>	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	+	+	-	-	+	-	-	(+)	(-)	(-)	63/31/18/00
25 <sup>F</sup>	+	(+)	(+)	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	+	+	(-)	(-)	+	-	-	+	(-)	(-)	63/31/18/00
26 <sup>F</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	-	+	+	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00
27 <sup>F</sup>	+	+	+	(+)	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00
28 <sup>G</sup>	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	+	+	(+)	(+)	+	(+)	+	(+)	-	-	+	(-)	(-)	63/63/19/00
29 <sup>G</sup>	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	-	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00
30 <sup>G</sup>	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	+	+	-	-	+	(-)	(-)	63/31/19/00
31 <sup>H</sup>	+	+	+	(+)	+	(+)	+	(+)	+	(+)	+	+	-	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00
32 <sup>H</sup>	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	(+)	+	(+)	(-)	+	(+)	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00
33 <sup>I</sup>	(+)	+	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	(-)	(-)	(-)	63/63/03/00
34 <sup>I</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	(-)	+	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	63/31/03/00
35 <sup>I</sup>	(+)	+	+	+	(+)	+	+	(+)	(+)	+	+	+	-	(-)	+	-	-	(+)	(-)	(-)	63/31/18/00
36 <sup>I</sup>	+	(+)	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	+	(+)	+	-	(-)	+	-	(-)	(+)	(-)	63/31/18/00
37 <sup>J</sup>	(+)	+	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	+	-	-	(-)	(-)	(-)	63/63/02/00
38 <sup>J</sup>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	-	(-)	+	(-)	(-)	63/63/19/00
39 <sup>J</sup>	(+)	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	+	(+)	+	+	+	+	(+)	-	-	+	(-)	(-)	63/63/19/00
40 <sup>K</sup>	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	+	(-)	+	+	(-)	-	+	(-)	(-)	63/31/19/00
41 <sup>K</sup>	(+)	(+)	+	+	+	(+)	+	(+)	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/63/03/00
42 <sup>K</sup>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	-	(-)	-	(-)	(-)	63/63/03/00
43 <sup>K</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	-	-	+	(-)	-	(+)	(-)	(-)	63/31/18/00
44 <sup>K</sup>	+	(+)	+	(+)	+	+	+	(+)	+	(+)	+	+	-	(-)	+	-	-	(+)	(-)	(-)	63/31/18/00
45 <sup>K</sup>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	(+)	+	(-)	(-)	(+)	(-)	-	(-)	(-)	(-)	63/31/02/00

Região de coleta dos isolados: A- Ribeirão Preto; B- Catanduva; C- Botucatu; D-Bauru; E- Jaboticabal; F- Mogi Mirim; G- Itapira; H- Atibaia; I- Campinas; J- Birituba Mirim e K- Mogi das Cruzes. Azul: raça SPBI:10 identificada em 2012. Vermelho: raça SPBI:12 identificada em 2013.

As novas raças SPBI:10 e SPBI:11 não diferem em relação aos genes de resistência da planta quando comparado as raças anteriormente identificadas, porém, diferem entre si com relação ao gene Dm-14 e ao fator de resistência FR- 36.

Em 2013, dos 45 isolados avaliados, foram encontrados sete códigos: 63/31/19/00, 63/63/19/00, 63/63/03/00, 63/63/02/00, 63/31/03/00, 63/31/02/00 e 63/31/18/00 com frequência, respectivamente, de 11,11%, 13,33%, 13,33%, 8,88%, 20,00%, 15,55% e 17,77% (Tabelas 3 e 4).

Avaliando os resultados, observa-se que o “Código Sextet” 63/31/18/00 ocorreu em grande parte dos municípios produtores de alface do Estado de São Paulo (Botucatu, Bauru, Mogi Mirim, Campinas e Mogi das Cruzes), podendo ser considerado uma nova raça, à qual se propõe a denominação de SPBI:12. Assim como as novas raças determinadas em 2012, esta nova raça não quebra a resistência dos genes, uma vez que, de acordo com os resultados de resposta de resistência/suscetibilidade, aos genes Dm-14 e 15, e aos fatores de resistência FR-17, 18, 37 e 38 conferem resistência à esta nova raça.

Além disso, nota-se que a raça SPBI:07 (63/31/03/00), assim como em 2012, apresentou ocorrência relativamente alta em 2013 (20,00%), indicando a permanência desta raça nos municípios produtores de alface do Estado de São Paulo e, conseqüentemente, a necessidade de controle.

Verifica-se também, que a raça SPBI:11, estabelecida pelo código 63/63/33/00 e detectada em 2012, não apareceu entre os isolados coletados em 2013. No entanto, nos municípios de ocorrência desta raça (Mogi Mirim e Botucatu) houve o surgimento da nova raça denominada SPBI:12 (63/31/18/00). Este fato evidencia a necessidade de monitoramento dos municípios produtores de alface, com o intuito de identificar a presença de novas raças e desenvolver cultivares com genes de resistência.

Segundo Borém e Miranda (2), é provável que o surgimento de novas raças ocorra devido a mecanismos criadores de novas combinações de genes, denominados mutações. Além disso, pode ocorrer recombinação gênica, ou seja, a troca de genes entre duas moléculas de DNA, aumentando a variabilidade genética de uma população, podendo ser a explicação do constante surgimento de novas raças no decorrer dos anos.

Na ausência de recombinação, a variabilidade genética é relativamente baixa, acarretando menor surgimento de raças, no entanto, esta baixa frequência torna-se suficiente para causar perdas econômicas, pois apesar do mildio ocorrer somente nas folhas, interferindo principalmente na fotossíntese, a doença pode tornar-se sistêmica, infectando internamente caule e colonizando até mesmo raízes. Lesões velhas tornam-se necróticas e os tecidos são invadidos por patógenos secundários, como, por exemplo, o fungo *Botrytis cinerea* Pers., o qual pode causar danos à cultura no campo e, conseqüentemente, na comercialização desta hortaliça folhosa (8).

Valade (12) estudando populações francesas de *B. lactucae*, observou condições reprodutivas do fitopatógeno semelhantes às condições do Brasil, ou seja, a forma assexuada de reprodução. No entanto, não é rejeitada a hipótese de que esteja ocorrendo eventos de recombinação sexual nas populações francesas, uma vez que constatou-se ambos tipos de reprodução, porém a forma sexuada apresentou menor taxa. No Brasil, este evento de recombinação sexual ainda não foi verificado, o que justifica o baixo número de raças identificadas no Estado de São Paulo quando comparado aos países europeus e norte-americanos.

Semelhante aos resultados encontrados em 2010 por Galatti et al. (5), as raças SPBI:02 (63/31/19/00) e SPBI:07 (63/31/03/00) apresentaram grandes ocorrências no ano de 2012, no entanto, as raças SPBI:01, SPBI:05, SPBI:08 e SPBI:09 identificadas por Braz et al. (3), Castoldi et al. (4) e Galatti et al. (5), embora tenha ocorrido em alta frequência

nos anos anteriores, não foram relatadas nos levantamentos de 2012 e 2013. Isso pode ser devido às diferentes pressões de seleção nos distintos anos de coletas, causada pelo uso intensivo de fungicidas que podem resultar na seleção de patógenos resistentes em curto período de tempo (5), bem como a alteração das cultivares utilizadas.

Além disso, variações climáticas ao longo dos anos podem influenciar na frequência de aparecimento das raças, uma vez que a temperatura e a umidade atmosférica estão entre os principais fatores ambientais que influenciam a esporulação do patógeno, podendo ser a causa das oscilações no decorrer dos anos.

## AGRADECIMENTOS

À FAPESP (Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo), pelo Auxílio Financeiro à Pesquisa Regular, processo nº 2012/09705-4 e pela bolsa concedida à primeira autora, processo nº 2012/15703-4.

## REFERÊNCIAS

1. AGRICULTURAL. Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP - Consultoria e Agroinformativo, São Paulo, v. 1, p.127, 2015.
2. Borém, A.; Miranda, G.V. **Melhoramento de plantas**. 6.ed. Viçosa: Editora UFV, 2013.
3. Braz, L.T.; Dalpian, T.; Pissardi, M.A. Identification of races of *Bremia lactucae* in São Paulo, Brazil. **Acta Horticulturae**, Seoul, v.760, p.317-321, 2007.
4. Castoldi, R.; Charlo, H.C.O.; Dalpian, T.; Melo, D.M.; Botelho, A.P.; Braz, L.T. Identification of new *Bremia lactucae* races in lettuce in São Paulo state. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v.30, p.209-213, 2012.
5. Galatti, F. D. S., Castoldi, R., Braz, L. T., & Panizzi, R. D. C. Monitoramento de raças de *Bremia lactucae* em 2010 e 2011 no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, SP, v.38: 271-279, 2012.
6. IEA. Instituto de Economia Agrícola. **Área e produção dos principais produtos da agropecuária**. São Paulo, 2012. Disponível em: <[http://ciagri.iea.sp.gov.br/bancoiea/subjectiva.aspx?cod\\_sis=1&idioma=1](http://ciagri.iea.sp.gov.br/bancoiea/subjectiva.aspx?cod_sis=1&idioma=1)>. Acesso em: 02/10/2014.
7. Iltot, T.W.; Durgan, M.E., Michelmore, R.W. Genetics of virulence in California populations of *Bremia lactucae* (Lettuce Downy Mildew). **Phytopathology**, Saint Paul, v.77, n.10, p.1381-1386, 1987.
8. Padgett-Johnson, M.; Laemmlen, F. Downy mildew of lettuce (*Bremia lactucae*): biology, disease symptoms and damage. Using the down mildew index model for disease management. Sacramento, CA: Department of Pesticide Regulation, 2009. Disponível em: <<http://ucce.ucdavis.edu/files/filelibrary/2028/23067.pdf>>. Acesso em: 02/10/2013
9. Pearsley, D. **Diseases of vegetable crops**. Queensland: Department of Primary Industries, p.164, 1994.
10. Resende, F.V.; Saminêz, T.C.O.; Vidal M.C.; Sousa, R.B.; Clemente, F.M.V. **Cultivo de alface em sistema orgânico de produção**. Brasília, DF: Embrapa (Circular Técnica 56), 2007.
11. Souza, J.O.; Dalpian, T.; Braz, L.T.; Camargo, M. Novas raças de *Bremia lactucae*, agente causador do mildio da alface, identificadas no estado de São Paulo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v.29, n.3, p.282-286, 2011.
12. Valade, R. **Potential évolutif et adaptation des populations de l'agent du mildiou de la laitue, *Bremia lactucae*, face aux pressions de sélection de la plante hôte, *Lactuca sativa***. 2012. 173f. Thèse (Docteur en Sciences) - Université Paris Sud, Paris.
13. Vale, F.X.R.; Jesus, W.C.; Liberato, J.R.; Souza, C.A. Natureza das epidemias. In: Vale, F.X.R.; Jesus, W.C.; Zambolim, L. **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. p. 21-46, 2004.
14. Van Ettekooven, K.; Van Der Arend, A. Identification and denomination of “new” races of *Bremia lactucae*. In: Eucarpia Meeting on Leafy Vegetables Genetics and Breeding, 1999, Olomuc. Proceeding. Olomuc: Palacky University, 1999. p. 105 - 107..
15. Zabolim, L.; Vale, F.X.R.; Costa, H. Controle de doenças de plantas-hortaliças. Viçosa: Editora UFV, 2000. v.1, 444p.