

AVALIAÇÃO DA REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ALFACE (*LACTUCA SATIVA* L.) AO LETTUCE MOSAIC VIRUS (LMV) ⁽¹⁾

ROSA MARIA CHUNG ⁽²⁾; JOAQUIM ADELINO DE AZEVEDO FILHO ⁽³⁾; ADDOLORATA COLARICCIO ⁽⁴⁾

RESUMO

O trabalho teve como meta avaliar a reação de 18 linhagens superiores do programa de melhoramento de alface (*Lactuca sativa* L.) do IAC e de seis cultivares comerciais, ao *Lettuce mosaic virus* (LMV). Em condições de campo, na região de Atibaia (SP), foram observados sintomas de mosaico, nanismo e necrose em plantas das cultivares Rider, 'Karla H25' e Hortência. O vírus presente nos isolados foi identificado por meio de inoculação mecânica em plantas indicadoras e diferenciadoras e de testes sorológicos de *Plate Trapped Antigen-Enzyme linked-immunosorbent assay* (PTA-ELISA). Nas amostras avaliadas, identificou-se a espécie LMV pelo PTA-ELISA e do patotipo IV pela reação nas hospedeiras diferenciais. Para a avaliação do comportamento dos genótipos de alface, foi empregado o LMV isolado 'Karla H25'. Foram submetidos à inoculação 24 genótipos de alface empregando-se, como controle positivo, a alface 'White Boston' por sua suscetibilidade ao LMV. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso e analisado pelo teste do qui-quadrado. Detectaram-se genótipos com comportamento de suscetibilidade e de tolerância. Nos genótipos 3 e 4, foram observadas plantas com comportamento de tolerância ao LMV isolado 'Karla H25', enquanto nos demais genótipos, constataram-se plantas com comportamento suscetível. O plantio de cultivares tolerantes pode ser uma alternativa aos prejuízos causados pela infecção pelo LMV com conseqüente diminuição do uso de produtos químicos para o controle dos afídeos vetores.

Palavras-chave: hortaliças, vírus, LMV patotipo IV, melhoramento.

ABSTRACT

REACTION OF *LACTUCA SATIVA* L. LINES TO *LETTUCE MOSAIC VIRUS* (LMV)

Reactions to one isolate from diseased lettuce plants collected in 2003 in Atibaia, SP, were studied in six varieties and 18 selected lettuce (*Lactuca sativa* L.) lines. Underdeveloped, malformed leaves with mosaic symptoms and also necrotic leaves were found under field conditions in Raider, 'Karla H25' and Hortência lettuce cultivars. These symptomatic plants were sampled and the virus etiology studied by PTA-ELISA and by means of mechanical inoculation on test plants and on differential lettuce cultivars resistant to *Lettuce mosaic virus*, LMV pathotypes I, II and III. LMV pathotype IV was identified in all cultivars studied by the reaction in the differential hosts. 'Karla H25' isolate was selected to screen the best lines of the breeding as well as lettuce program and commercial varieties. Twenty-four best lines of the program were inoculated with this isolate and the evaluations were based on symptoms. Symptomless lettuce plants were additionally tested for LMV presence, in PTA-ELISA, and by retro-inoculation to *Chenopodium amaranticolor*. The results indicated lines with varied degrees of susceptibility and tolerance. Lines 3 and 4 showed tolerance and this suggests that they can provide a good alternative for disease control and also that they might contribute in the reduction of chemical control.

Key words: vegetable, virus, LMV pathotype IV; breeding.

⁽¹⁾ Recebido para publicação em 4 de fevereiro de 2005 e aceito em 5 de outubro de 2006.

⁽²⁾ Takii do Brasil Ltda., Rua Luís Góes, 111, 04043 São Paulo (SP). E-mail: rosa.chung@takii.com.br

⁽³⁾ Pólo Regional do Leste Paulista, Caixa postal 01, 13910-000 Monte Alegre do Sul (SP). E-mail: pololestepaulista@aptaregional.sp.gov.br

⁽⁴⁾ Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, Laboratório de Fitovirologia, Instituto Biológico, Caixa postal 7119, 01064-970 São Paulo (SP). *Autora correspondente. E-mail: colariccio@biologico.sp.gov.br

1. INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa*) é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil. O consumo *per capita* anual no Estado de São Paulo, em 2003, foi de 0,67 kg (IBGE, 2004). Em 2004, a área cultivada foi de 7.500 hectares com produção de cerca de 5 milhões de engradados contendo nove dúzias cada um, de acordo com o banco de dados do Instituto de Economia Agrícola de São Paulo (IEA), em 2004 (www.iea.sp.gov.br).

Um dos principais problemas fitossanitários que interferem diretamente na produção da alface são as viroses, pois levam à perda da qualidade e queda na produção. Dentre os vírus que infectam a alface, o *Lettuce mosaic virus* (LMV) é o mais importante e ocorre em todas as regiões produtoras de alface no Brasil.

A epidemiologia do LMV está associada à transmissão por sementes de plantas infectadas, à rápida disseminação pelos afídeos vetores e à ocorrência de grande número de espécies da vegetação espontânea como hospedeiras naturais do vírus. Além disso, a prática de plantios consecutivos propicia perdas até 100% na cultura (ZERBINI, 1995, DINANT e LOT, 1992).

O LMV pertencente ao gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae* (VAN REGENMORTEL et al., 2000), de acordo com ZERBINI (1995), no Brasil, o LMV é o vírus mais danoso para a produção de alface justificando, portanto, a adoção de medidas de controle. Dentre essas medidas de controle, a mais eficiente é o uso de cultivares tolerantes ao vírus. A primeira cultivar lançada no Brasil com tolerância ao LMV foi a 'Brasil 48', do IAC, cuja fonte de resistência foi proveniente de 'Galega de Inverno' (NAGAI, 1979).

Os pares de genes recessivos *gg* (mol^1) e *momo* (mol^2), responsáveis pela resistência, estão ligados ao comportamento de tolerância das plantas ao vírus. As plantas infectadas não manifestam sintomas e aparentam não ter o crescimento afetado, mas permitem a multiplicação do vírus, que pode atingir altas concentrações (RAYDER, 1970).

Em levantamentos realizados em 1994 por STANGARLIN (1995), foram observadas plantas com sintomas de infecção pelo LMV em cultivares comerciais contendo genes de resistência. Nesses isolados foi identificado o patotipo IV do LMV, sabidamente capaz de superar os genes de resistência presente nessas cultivares. No Brasil, além do patotipo IV, já foram identificados em alface, o patotipo II (STANGARLIN, 2000) e o patotipo III (COSSA et al., 2000).

A identificação dos isolados do LMV que ocorrem no Brasil é de fundamental importância para o direcionamento dos programas de melhoramento de

alface, visando à resistência ao LMV e conseqüente diminuição da incidência desse vírus, uma vez que, em nosso país, a incidência foi diminuída pelo uso de variedades tolerantes. São necessários, porém, estudos visando à identificação de novos genes que confirmem resistência múltipla ou específica ao LMV, especialmente pela constatação da ocorrência de diferentes isolados do vírus, com características biológicas e moleculares divergentes. Essa constatação levou à proposição da divisão desses isolados em dois grandes subgrupos denominados LMV-Common e LMV-Most. No LMV-Common estão os isolados que não são capazes de "quebrar" a resistência conferida pelos genes mol^1 e mol^2 e, no subgrupo LMV-Most, os isolados que superam a resistência conferida pelos genes mol^1 e mol^2 (REVERS et al., 1997; KRAUZE-SAKATE et al., 2002).

Estudos realizados por JADÃO et al. (2002), avaliando o comportamento de cultivares de alface plantadas no Brasil, evidenciaram a habilidade do patotipo IV ou LMV-Most de superar os genes que conferem resistência, levando à transmissão do patógeno pelas sementes, tanto de genótipos suscetíveis quanto de genótipos tolerantes. Entretanto, novas perspectivas devem ser consideradas a partir da ocorrência em alface, no Brasil, de isolados de LMV, com recombinação entre LMV-Most e LMV-Common (KRAUZE-SAKATE et al., 2004).

No presente trabalho, avaliou-se a reação de linhagens superiores do programa de melhoramento de alface do IAC e de cultivares comerciais de alface, ao LMV, isolado 'Karla H25', coletado na região produtora de Atibaia (SP).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação do Laboratório de Fitovirologia e Fisiopatologia (LFF) do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal (CPDSV) do Instituto Biológico (IB), São Paulo e na Estação Experimental Hortec Tecnologia de Sementes LTDA (EEH), em Jarinu (SP). Os testes biológicos e sorológicos foram realizados no LFF, em 2003 e 2004. O inóculo foi obtido pela trituração de folhas de alface em tampão PB 0,05 M pH 7,4 na proporção de 1:10 (g/mL).

O trabalho iniciou-se com a coleta, em 2003, de 50 amostras de alface, das cultivares Raider, tipo americana, Karla, tipo lisa e Hortência, tipo crespa, com sintomas de mosaico, redução no porte da planta, má-formação da "cabeça" e necrose foliar, em campos de produção comercial de alface na região de Atibaia (SP).

2.1 Identificação do vírus

Para a identificação do agente causal, as amostras foram submetidas à inoculação mecânica em plantas hospedeiras de *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *C. murale*, *Datura stramonium*, *Lactuca sativa* 'White Boston', *N. benthamiana*, *N. debneyi*, *N. glutinosa*, *N. tabacum* 'Samsun', *N. tabacum* 'White Burley' e *Petúnia hybrida*, para a determinação parcial do círculo de hospedeiras e, em hospedeiras diferenciadoras de *L. sativa* 'Calona', 'Ithaca', 'Malika', 'Salinas 88' e 'Vanguard 75', para a identificação do patotipo.

Cinco plantas indicadoras de cada espécie e seis plantas de cada hospedeira diferencial foram submetidas à inoculação no estádio de 4 a 5 folhas verdadeiras. Para cada espécie indicadora e diferenciadora, foi mantida uma planta não inoculada, como controle. Após a manifestação dos sintomas, foi retirada a folha apical de cada planta, indicadora e diferenciadora, para a recuperação do vírus em *C. amaranticolor* e *L. sativa* 'White Boston'.

Para a identificação da espécie do vírus, as amostras foram observadas ao microscópio eletrônico em preparações de contrastação negativa e submetidas a testes sorológicos de PTA-ELISA com os anti-soros para *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Dandelion yellow mosaic virus* (DaYMV), *Lettuce mosaic virus* (LMV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV), *Groundnut ringspot virus* (GRSV), *Chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV) e *Impatiens necrotic spot virus* (INSV).

A infectividade original dos isolados 'Raider', 'Karla H25' e 'Hortência' foi mantida armazenando-se o material foliar em cloreto de cálcio a -20 °C (BARRADAS 1978). O isolado 'Karla H25' foi mantido *in vivo* pela inoculação mecânica em plantas de *C. amaranticolor*, *C. murale*, *L. sativa* 'White Boston', após a identificação nas hospedeiras diferenciadoras, para ser empregado na avaliação do comportamento das linhagens de alface em estudo.

2.2 Genótipos de alface (*L. sativa*)

Foram utilizadas 18 linhagens de alface selecionadas por suas boas características agrônomicas e por manifestarem sintomas brandos de mosaico, comportamento verificado nas seleções realizadas no campo (Tabela 1). As linhagens originaram-se do cruzamento entre a cultivar Regina X PI 342517 (Âncora), cujo genitor 'Regina' possui o gene recessivo *mol*¹ (anteriormente denominado *g*), e que foi incorporado em 'Brasil 48' (Figura 1). Foram incluídas, ainda, seis cultivares comerciais

representando os grupos de alface crespa, lisa e americana, com padrão de comportamento de suscetibilidade e resistência para o patotipo II (Tabela 1).

Tabela 1. Genótipos utilizados na avaliação do comportamento ao LMV isolado 'Karla H25

Item	Genótipo	Gene descrito	Origem
1	<i>Lactuca sativa</i> 3	-	IAC
2	<i>Lactuca sativa</i> 4	-	IAC
3	<i>Lactuca sativa</i> 5	-	IAC
4	<i>Lactuca sativa</i> 22	-	IAC
5	<i>Lactuca sativa</i> 23	-	IAC
6	<i>Lactuca sativa</i> 33	-	IAC
7	<i>Lactuca sativa</i> 35	-	IAC
8	<i>Lactuca sativa</i> 44	-	IAC
9	<i>Lactuca sativa</i> 50	-	IAC
10	<i>Lactuca sativa</i> 53	-	IAC
11	<i>Lactuca sativa</i> 54	-	IAC
12	<i>Lactuca sativa</i> 71	-	IAC
13	<i>Lactuca sativa</i> 78	-	IAC
14	<i>Lactuca sativa</i> 82	-	IAC
15	<i>Lactuca sativa</i> 89	-	IAC
16	<i>Lactuca sativa</i> 108	-	IAC
17	<i>Lactuca sativa</i> 109	-	IAC
18	<i>Lactuca sativa</i> 110	-	IAC
19	<i>Lactuca sativa</i> 221	<i>mol</i> ¹	IAC
20	<i>Lactuca sativa</i> 'Rubete'	<i>mol</i> ²	Rijk Zwaan
21	<i>Lactuca sativa</i> 'Kazan'	<i>mol</i> ²	Rijk Zwaan
22	<i>Lactuca sativa</i> 'Gisele'	<i>mol</i> ¹	Top Seed
23	<i>Lactuca sativa</i> 'Hortência'	-	Hortec Sementes
24	<i>Lactuca sativa</i> 'White Boston'	-	-

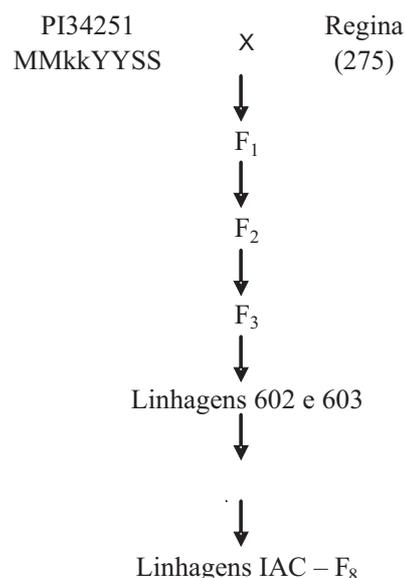


Figura 1. Genealogia das cultivares de alface do programa de melhoramento de alface da IAC-APTA. (Azevedo Filho et al., 1998)

2.3 Avaliação dos genótipos

Na avaliação dos genótipos, empregou-se o isolado LMV 'Karla H25'. As linhagens da geração avançada F₈ e as cultivares com baixa variabilidade genética foram avaliadas em três experimentos realizados em diferentes épocas do ano. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 24 tratamentos e seis repetições. A parcela compôs-se de um vaso com uma planta.

As plantas foram inoculadas no estágio de 5 ou 6 folhas verdadeiras e re-inoculadas após sete dias. Foram inoculadas seis plantas de cada genótipo e três plantas de cada um foram mantidas como controle, sem inoculação. A fonte de inóculo consistiu de folhas de *L. sativa* 'Vanguard 75' infectadas pelo LMV isolado 'Karla H25'. Em cada experimento foram inoculadas plantas de *C. amaranticolor* e *L. sativa* 'White Boston', para evidenciar o vírus no inóculo.

As reações dos genótipos foram determinadas 30 dias após a primeira inoculação, avaliando o tipo e a intensidade dos sintomas. As plantas sem sintomas de cada genótipo foram submetidas ao teste sorológico para avaliar a presença ou ausência do LMV, confirmada em PTA-ELISA. Para tanto, utilizaram-se as folhas apicais de cada planta e anti-soro para o LMV. As plantas com resultado negativo em ELISA, foram submetidas ao teste biológico de retro-inoculação em plantas de *C. amaranticolor* e *L. sativa* 'White Boston'.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Identificação do isolado

Ao microscópio eletrônico, observaram-se partículas alongadas e flexuosas medindo cerca de 750 nm de comprimento, nas amostras das cultivares 'Rider', 'Hortência' e 'Karla H25'. Em PTA-ELISA, com os diferentes anti-soros empregados, foi identificado o LMV em todas as amostras avaliadas, que reagiram positivamente, com o anti-soro respectivo e negativamente com os demais anti-soros utilizados. O círculo parcial de hospedeiras possibilitou constatar que o LMV era o único vírus nas amostras avaliadas, pois não houve manifestação de sintomas em *D. stramonium*, *N. glutinosa*, *N. tabacum* 'White Burley', *P. hybrida*, revelando que não havia infecção pelo TSWV, TCSV e CMV. Constataram-se sintomas de lesões locais nas folhas inoculadas de *C. amaranticolor*, *C. quinoa* e *C. murale* e sintomas de mosaico em *N. benthamiana* (Tabela 2). As reações das plantas indicadoras foram as mesmas relatadas por DINANT e

LOT (1992) para o LMV. Para o LMV patotipo IV não existem genes de resistência (PINK et al., 1992a), portanto como todas as cultivares diferenciadoras manifestaram sintomas quando inoculadas com o isolado 'Karla H25', possivelmente esse isolado seja o patotipo IV ou subgrupo LMV-Most, conforme a classificação por REVERS (1997) e KRAUZE-SAKATE et al. (2002) (Tabela 2). Porém, como o isolado não foi seqüenciado, não é possível saber se é uma recombinação entre os dois subgrupos de LMV.

Tabela 2. Círculo de plantas hospedeiras e sintomatologia das plantas indicadoras ao LMV isolado 'Karla' H25

Planta indicadora	Sintomas ⁽¹⁾
<i>C. amaranticolor</i>	LLN, CSS
<i>C. murale</i>	LLC, CSS
<i>C. quinoa</i>	LLC, CSS
<i>Datura stramonium</i>	AS
<i>Lactuca sativa</i> 'White Boston'	CSS, MO, DLF, NA, RLF
<i>Nicotiana benthiana</i>	SS, MO
<i>N. debneyi</i>	SS
<i>N. glutinosa</i>	SS
<i>N. tabacum</i> 'Samsun'	SS
<i>N. tabacum</i> 'White Burley'	SS
<i>Petunia hybrida</i>	SS

(¹) CSS: Sintomas Sistêmicos. LLN: Lesão Local Necrótica. LLC: Lesão Local Clorótica. DLF: Distorção do Limbo Foliar. SS: Sem Sintoma. MO: Mosaico. NA: Nanismo. RLF: Redução do Limbo Foliar.

3.2 Reação dos genótipos de alface ao LMV isolado 'Karla H25'

Os genótipos avaliados manifestaram mosaico sistêmico, subcrescimento, redução e deformação da área foliar, sintomas característicos de LMV em alface (Tabela 3). Esses são sintomas descritos, por outros autores para os diferentes patotipos do LMV (STANGARLIN, 1995; PINK et al., 1992b).

Os sintomas mais severos causados pelo LMV foram deformação, redução do limbo foliar e subdesenvolvimento das plantas, o que nestes experimentos foi observado em diversas linhagens, inclusive no controle suscetível *L. sativa* 'White Boston' e nas cultivares diferenciadoras de *L. sativa*, indicando que os genes de resistência presentes nos genótipos estudados foram sobrepujados, pelo isolado empregado.

Nos genótipos avaliados, pôde-se verificar que todos reagiram com sintomas. Em todos os genótipos, porém, sempre houve plantas que não manifestaram sintomas.

Pela tabela 3, observa-se a heterogeneidade das reações dos genótipos de *L. sativa* ao vírus, pois em um mesmo genótipo houve plantas com e sem sintomas. Esse fato pode ser atribuído à mistura genética, principalmente nas linhagens. As sementes destas linhagens foram obtidas em campo aberto, onde estavam sendo cultivadas 120 linhagens diferentes, portanto, podem ter ocorrido cruzamentos entre as linhagens. Além disso, também pode ter ocorrido mistura mecânica durante o processamento das sementes. Desta forma, podem ser consideradas contaminantes as plantas das linhagens 3 e 4 que reagiram com sintomas ao LMV isolado 'Karla H25'. Entretanto, não pode ser descartada a ocorrência de uma possível infecção mista pelo LMV patotipo II e LMV patotipo IV, embora o LMV isolado 'Karla H25' empregado nas inoculações dos genótipos avaliados, tenha se originado da inoculação inicial da 'Vanguard 75'.

Outro fator a ser considerado foi o fato de os experimentos I, II e III terem sido desenvolvidos em diferentes épocas do ano. No experimento II, realizado no verão, o número de plantas assintomáticas foi maior, do que nos experimentos I e III realizados na primavera e no outono respectivamente. Conforme RAYDER (1979), esse efeito pode ser atribuído a interação entre temperatura e luminosidade. A porcentagem de plantas com sintomas é menor no período primavera-verão, em que as horas do dia transcorrem com temperaturas acima de 23 °C e intensidade de luz maiores do que no período de outono-inverno, quando há períodos reduzidos de horas diurnas com temperatura acima de 23 °C e de menores intensidade de luz. Portanto, resulta maior o número de plantas com sintomas acentuados no outono-inverno (RAYDER, 1979).

Tabela 3. Sintomas causados pelo LMV- isolado 'Karla H25' nos genótipos de alface avaliados

Genótipos	Experimento - Sintomas		
	I - fevereiro 2004	II - abril 2004	III - dezembro 2004
<i>Lactuca sativa</i> - 3	SS.	SS	Na
<i>Lactuca sativa</i> - 4	SS	SS	SS
<i>Lactuca sativa</i> - 5	ALF, Mo , E	MoS	DLF, Mo
<i>Lactuca sativa</i> - 22	MoS	MoS	DLF, Mo
<i>Lactuca sativa</i> - 23	MoS	SS	Mo
<i>Lactuca sativa</i> - 33	SS	SS	DLF, Mo
<i>Lactuca sativa</i> - 35	E, Mo, Na.	E, Mo, Na.	E, Mo, Na
<i>Lactuca sativa</i> - 44	E, Mo, Na.	SS	DLF, Mo, Na
<i>Lactuca sativa</i> - 50	E, Mo, Na.	E, Mo, Na.	DLF, Mo, Na
<i>Lactuca sativa</i> - 53	DLF,	DLF, MoS	DLF
<i>Lactuca sativa</i> - 54	DLF, Mo	SS	DLF, Mo
<i>Lactuca sativa</i> - 71	SS	Mo	DLF, Mo
<i>Lactuca sativa</i> - 78	E, Mo, Na.	Mo, Na.	DLF, Mo, Na
<i>Lactuca sativa</i> - 82	DLF	DLF	DLF, Mo
<i>Lactuca sativa</i> - 89	DLF, SS	DLF	DLF, Mo
<i>Lactuca sativa</i> - 108	DLF	DLF	DLF, Mo
<i>Lactuca sativa</i> - 109	DLF, E, Mo.	DLF, E, Mo.	DLF, E, Mo
<i>Lactuca sativa</i> - 110	DLF, Mo.	SS	DLF, Mo
<i>Lactuca sativa</i> - BR 221	SS	SS	MoS
<i>Lactuca sativa</i> - Rubete	MoS.	-	MoS
<i>Lactuca sativa</i> - Kazan	MoS.	-	MoS
<i>Lactuca sativa</i> - Gisele	MoS.	-	MoS
<i>Lactuca sativa</i> - Hortência	E, Mo, Na.	-	Mo, Na
<i>Lactuca sativa</i> - White B.	E, Mo, Na.	E, Mo, Na.	E, Mo, Na.

ALF: Afilamento do Limbo Foliar. DLF: Distorção do Limbo Foliar. Na: Nanismo. MoS: - Mosaico suave. SS: Sem Sintoma. E: Esbranquiçamento. Mo: Mosaico.

Pelo teste do χ^2 a 1% de significância, considerando significativas as diferenças estatísticas e descartando a hipótese de que os genótipos são iguais, ou seja, susceptíveis. No grupo dos genótipos estudados foi possível identificar materiais com tolerância ao LMV isolado de alface 'Karla H25'. Resultado semelhante foi obtido para as cultivares comerciais estudadas nesses experimentos (Tabela 4). Pelo teste ELISA comprovou-se a infecção pelo LMV em todas as plantas com sintomas; em parte das plantas assintomáticas houve resultados positivos para o LMV em ELISA, enquanto nas demais o vírus não foi detectado, sendo estas plantas consideradas, respectivamente tolerantes e imunes. Todavia, na maior parte das plantas pertencentes aos genótipos avaliados, não se observou o mesmo comportamento nos três experimentos realizados.

Os resultados possibilitaram a identificação de plantas com comportamento de tolerância, nos diferentes genótipos, nas quais o vírus multiplicou-se nas plantas, sem que estas manifestassem sintomas. A manifestação dos sintomas nas plantas pode ser afetada por diferentes fatores, como alterações

fisiológicas, temperatura, luminosidade, pela idade da planta ou pelo estado nutricional, entre outros (COLARICCIO, 1996).

De acordo com o critério adotado por MATTHWES (2002), o genótipo 3 pode ser considerado tolerante ao LMV isolado 'Karla H25', uma vez que nos três experimentos realizados I, II e III verificou-se neste genótipo a presença de, respectivamente, 4, 6 e 7 plantas sem sintomas (Tabela 4). No genótipo 4, houve comportamentos diferentes nos três experimentos, verificando-se tolerância no I e no II e imunidade no III, pois nas plantas não se observaram sintomas e os resultados em ELISA foram negativos no experimento III (Tabela 4). As cultivares BR 221, Rubete, Kazan, Gisele e Hortência manifestaram sintomas de mosaico brando. Comportamento de tolerância também foi observado por OLIVEIRA (1999), na cultivar Hortência para o LMV-II isolado AF198. Pode-se supor que a resistência aos diferentes patótipos do LMV revele uma fonte genética comum, no entanto, é pouco provável, em virtude da possibilidade da recombinação entre os subgrupos LMV-Most e LMV-Common constatada no Brasil por KRAUZE-SAKATE, et al., 2004.

Tabela 4. Reação dos genótipos de alface avaliados ao LMV isolado 'Karla H25'

Genótipos		Experimento I					Experimento II					Experimento III					Total de plantas
		T	CS	SS	ELISA	Rec.	T	CS	SS	ELISA	Rec.	T	CS	SS	ELISA	Rec.	
<i>Lactuca sativa</i> -	3	4	-	4	4+	+	6	0	6	6+	+	7	1	6	6+	+	17
<i>Lactuca sativa</i> -	4	3	-	3	3+	+	6	0	6	6+	+	8	0	8	8+	+	17
<i>Lactuca sativa</i> -	5	6	4	2	2+	+	6	4	2	4-	-	8	8	0	x		20
<i>Lactuca sativa</i> -	22	6	5	1	1+	+	6	2	4	2-	-	8	5	3	3+	+	20
<i>Lactuca sativa</i> -	23	6	2	4	4-	-	6	0	6	6+	+	8	5	3	3+		20
<i>Lactuca sativa</i> -	33	5	1	4	4+	+	6	2	4	2+	+	8	6	2	2+	+	19
<i>Lactuca sativa</i> -	35	6	6	-	0	+	6	5	1	5-	-	8	7	1	1+	+	20
<i>Lactuca sativa</i> -	44	6	4	2	2+	+	6	0	6	6+	+	8	5	3	3+	+	20
<i>Lactuca sativa</i> -	50	3	2	1	1+	+	6	3	3	3+	+	8	5	3	3+	+	17
<i>Lactuca sativa</i> -	53	4	1	3	3+	+	6	2	4	2+	+	8	7	1	1+	+	18
<i>Lactuca sativa</i> -	54	6	2	4	4-	-	6	0	6	6+	+	8	5	3	3+	+	20
<i>Lactuca sativa</i> -	71	6	4	2	2+	+	6	3	3	3-	-	8	7	1	1+	+	20
<i>Lactuca sativa</i> -	78	6	5	1	1+	+	6	2	4	2+	+	8	7	1	1+	+	20
<i>Lactuca sativa</i> -	82	3	2	1	1+	+	6	3	3	3-	-	8	5	3	3+	+	17
<i>Lactuca sativa</i> -	89	6	5	1	1+	+	6	2	4	2-	-	8	8	0	+	+	20
<i>Lactuca sativa</i> -	108	6	4	2	2+	+	6	2	4	2-	-	8	6	2	2+	+	20
<i>Lactuca sativa</i> -	109	6	4	2	2+	+	6	2	4	2-	-	8	8	0	+	+	20
<i>Lactuca sativa</i> -	110	6	4	2	2-	-	6	0	6	6+	+	8	7	1	1-	-	20
<i>Lactuca sativa</i> -	221	4	1	3	3+	+	6	0	6	6+	+	8	8	0	+	+	18
<i>Lactuca sativa</i> -	Rubete	6	6	-	6-	-	6	x	x	x	x	8	8	0	+	+	20
<i>Lactuca sativa</i> -	Kazan	5	4	1	1-	-	6	x	x	x	x	8	8	0	+	+	19
<i>Lactuca sativa</i> -	Gisele	5	5	-	5-	-	6	x	x	x	x	8	8	0	+	+	19
<i>Lactuca sativa</i> -	Hortência	6	5	1	1+	+	6	x	x	x	x	8	1	7	7+	+	20
<i>Lactuca sativa</i> -	White Boston	6	6	0	6+	+	6	6	0	-	-	8	8	0	8+	+	20

χ^2 para linhagens = 61,45**. χ^2 para cultivares = 42,16**. χ^2 para genótipos = 105,61**.

Os resultados deste trabalho evidenciam que o LMV isolado 'Karla H25' foi capaz de contornar o gen *mol*¹ nas variedades 'BR 221' e 'Gisele' e do gen *mol*² nas variedades 'Kazan' e 'Rubete'. Deve-se ressaltar ainda, que a variedade 'Hortênciã' também manifestou sintomas ao isolado estudado, embora não seja conhecida sua fonte de resistência. Dentre os genótipos avaliados, com exceção do 3 e 4, todos os demais manifestaram sintomas ao isolado identificado neste trabalho como LMV patotipo IV, com base na reação das hospedeiras diferenciadoras que possuem genes de resistência para os patotipos I, II e III (PINK et al., 1992 a).

4. CONCLUSÕES

1. Os genótipos 3 e 4 foram tolerantes ao isolado 'Karla H25'.
2. O patotipo IV estabeleceu-se nas nossas condições devido a ausência de genes de resistência em cultivares provenientes da série 'Brasil'.
3. Os genótipos com genes *mol*¹ ou *mol*² reagiram com sintomas brandos ao isolado 'Karla H25'.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Agrônomo, ao Instituto Biológico pela realização dos experimentos de casa-de-vegetação e Laboratório; à Hortec Tecnologia de Sementes LTDA pelo apoio financeiro; ao Dr. P. Roggero pesquisador científico do Instituto di Virologia Vegetale, Torino-IT pelo anti-soro do LMV, ao Dr. Alexandre Levi Rodrigues Chaves pesquisador científico do Instituto Biológico, São Paulo, BR pelo anti-soro do DaYMV e ao pesquisador científico Dr. César Martins Chagas do Instituto Biológico, São Paulo, BR pela realização da microscopia eletrônica das amostras originais.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO FILHO, J.A.; NAGAI, H.; MELO, A.M.T.; YUKI, V.A. Melhoramento de alface tipo manteiga visando resistência ao tospovirus do vira-cabeça In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 38., 1998, Petrolina. **Resumos...** Petrolina: Sociedade Brasileira de Olericultura, 1998. r.26.

BARRADAS, M.M. Organização de uma coleção de vírus fitopatogênicos em tecido desidratado com cloreto de cálcio. **Biológico**, São Paulo, v. 44, p. 221-230, 1978.

COLARICCIO, A. **Identificação do vírus Y da Batata, estirpe comum (PVY⁰), em *Solanum palinacanthum* Dun., 1996.** 112 f. Tese (Doutorado em Ciências na área de Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

COSSA, A.C.; COLARICCIO, A.; EIRAS, M.; CHAVES, A.L.R.. Partial characterization of Lettuce mosaic virus (LMV). Pathotype III in hydroponic lettuce. **Virus Reviews & Research**, v.5, n.2, p.195, 2000.

DINANT, S.; LOT, H. Lettuce mosaic virus: A review. **Plant Pathology**, Oxford, v.41, p.529-542, 1992.

IBGE. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp>. Acesso em janeiro de 2005.

IEA . Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/ibcoiea.php>. Acesso em 2004.

JADÃO, A. S.; PAVAN, M.A.; SILVA, N.; ZERBINI, F.M. Seed transmission of lettuce mosaic virus (LMV) pathotype II and IV in different lettuce genotypes. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 28, p. 58-61, 2002.

KRAUZE-SAKATE, R.; LE GALL, O.; FAKHFAKH, H.; PEYPELUT, M.; MARRAKCHI, M.; VARVERI, C.; PAVAN, M.A.; SOUCHE, S.; HERVÉ LOT; ZERBINI, F.M.; CANDRESSE, T. Molecular and biological characterization of *Lettuce mosaic virus* (LMV) isolates reveals a distinct and widespread type of resistance-breaking isolates: LMV-Most. **Phytopathology**, St. Paul, v. 92, n.5, p.563-571, 2002.

KRAUZE-SAKATE, R.; FAKHFAKH, H.; PEYPELUT, M.; PAVAN, M.A.; ZERBINI, F.M.; MARRAKCHI, M.; CANDRESSE, T.; LE GALL, O. A natural occurring recombinant isolate of *Lettuce mosaic virus*. **Archives of Virology**, Vienna, v. 149, p.191-197, 2004.

MATTHEWS, R.E.F. **Plant Virology**. San Diego: Academic Press, 2002. 835 p.

NAGAI, H. Obtenção de novos cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.) resistentes ao mosaico e ao calor. I-Brasil 48, 202 e 221. **Revista de Olericultura**, v.17, p.129-137, 1979.

NAGAI, H. Alface tipo Manteiga In: FURLANI, A.M.C.; VIÉGAS, G.P. (Ed.). **O Melhoramento de plantas no Instituto Agrônomo**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1993. p.204-221.

OLIVEIRA, F. A. **Identificação e caracterização de um isolado do vírus do mosaico da alface (*Lettuce mosaic virus*-LMV).** 1999. 63 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras.

PINK, D.A.C.; KOSTAVA, D.; WALKEY, D.G.A. Differentiation of pathotypes of lettuce mosaic virus. **Plant Pathology**, Oxford, v.41, p.5-12, 1992a.

PINK, D.A. C., LOT, H.; JOHNSON, R. Novel pathotypes of lettuce mosaic virus: breakdown of a durable resistance. **Euphytica**, Dordrecht, v.63, p.169-174, 1992b.

RAYDER, E.J. Inheritance of resistance to common lettuce mosaic. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 95, p. 378-379, 1970.

RAYDER, E. J. **Leafy salad vegetables**. Westport, Connecticut: AVI Publishing, 1979. 266p.

REVERS, F.; LOT, H.; SOUCHE, S.; LE GALL, O.; CANDRESSE, T.; DUNEZ, J. Biological and molecular variability of lettuce mosaic virus isolates. **Phytopathology**, St. Paul, v.87, p.397-403, 1997.

STANGARLIN, O. S. **Identificação dos vírus causadores de mosaico em cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.) resistente ao vírus do mosaico da alface nas regiões produtoras do Estado de São Paulo**. 1995. 72 f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

STANGARLIN, O., PAVAN, M.A., DA SILVA, N. Occurrence of a new pathotype of lettuce mosaic virus on lettuce in Brazil. **Plant Disease**, St. Paul, v. 84, n.4, p.490, 2000.

VAN REGENMORTEL, M.H.V.; FAUQUET, C.M.; BISHOP, D.H.L.; CARSTENS, E.B.; ESTES, M.K.; LEMON, S.M.; MANILOFF, J.; MAYO, M.A.; GEOCH, D.J.; PRINGLE, C.R.; WICKNER, R.B. **Virus Taxonomy: Classification and nomenclature of viruses**. New York: Academic Press, 2000. 1162p.

ZERBINI, F.M. Doenças causadas por vírus em alcachofra, alface, chicória, morango e quiabo. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n.182, p.23-24, 1995.

ZERBINI, F.M.; KOIKE, S.T.; GILBERTSON, R.L. Biological and molecular characterization of lettuce mosaic potyvirus isolates from the Salinas Valley of California. **Phytopathology**, St. Paul, v.85, n.7, p.746-752, 1995.