

Erigeron bonariensis: Hospedeira Alternativa do *Lettuce mosaic virus* no Brasil

Alexandre L. R. Chaves¹, Marina R. Braun¹, Marcelo Eiras¹, Addolorata Colariccio¹ & Silvia R. Galletti²

¹Laboratório de Fitovirologia e Fisiopatologia, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, e-mail: chaves@biologico.sp.gov.br; ²Lab. de Microscopia Eletrônica, Instituto Biológico, Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP

(Aceito para publicação em 18/02/2003)

Autor para correspondência: Alexandre L. R. Chaves

CHAVES, A.L.R., BRAUN, M.R., EIRAS, M., COLARICCIO, A. & GALLETI, S.R. *Erigeron bonariensis*: hospedeira alternativa do *Lettuce mosaic virus* no Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 28:307-311. 2003.

RESUMO

O gênero *Erigeron* (Asteraceae), de plantas da vegetação espontânea, encontra-se amplamente disseminado nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, sendo frequentemente encontrado em lavouras perenes e anuais. Plantas de *E. bonariensis* com sintoma de mosaico, típico do induzido por vírus, foram coletadas no município de São Paulo e submetidas a análises ao microscópio eletrônico de transmissão, testes biológicos, sorológicos e moleculares. Em cortes ultrafinos do tecido foliar original, observaram-se inclusões tubulares e cata-ventos dispersos no citoplasma. Através de inoculação mecânica, somente *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Nicotiana benthamiana* e *N. clevelandii* foram infetadas. Os resultados obtidos em ELISA foram negativos quando se utilizaram antissoros contra o *Turnip mosaic virus* (TuMV) e diferentes estirpes do *Potato*

virus Y (PVY), constatando-se relacionamento sorológico com o *Lettuce mosaic virus* (LMV). Com a utilização de oligonucleotídeos específicos para LMV amplificaram-se fragmentos esperados de aproximadamente 280 pb, que seqüenciados confirmaram a identidade do vírus. A ocorrência do LMV em *E. bonariensis*, gênero da mesma família botânica da alface (*Lactuca sativa*), é de grande importância, pois talvez possa atuar como reservatório para infecção de campos de produção de alface. Este é o primeiro relato, no Brasil, de vírus infetando *Erigeron* sp., o qual só havia sido reportado como hospedeira natural do *Bidens mottle virus* (BiMoV) e do *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) nos Estados Unidos.

Palavras-chave adicionais: *Potyvirus*, LMV, detecção, vegetação espontânea.

ABSTRACT

Erigeron bonariensis: an alternative host of *Lettuce mosaic virus* in Brazil

The genus *Erigeron*, Asteraceae family, comprises weed plants spread over Southern and Southeastern Brazil, and, frequently, is found among annual and perennial crop plants. *Erigeron bonariensis* L. plants showing symptoms of mosaic, similar to those caused by plant viruses, were collected in São Paulo State and submitted to electron microscopy, biological, serological and molecular analysis. Ultrathin sections of the original foliar tissues samples showed tubular and pinwheel inclusions dispersed in the cytoplasm of infected cells. Following transmission by mechanical inoculation, only

Chenopodium amaranticolor, *C. quinoa*, *Nicotiana benthamiana* and *N. clevelandii* were infected. The ELISA results were negative with antisera against *Turnip mosaic virus* (TuMV) and *Potato virus Y* (PVY) and positive for *Lettuce mosaic virus* (LMV) antiserum. With specific primers to LMV, 280 bp fragments were amplified and sequenced, confirming the virus identity as LMV. The occurrence of LMV in *E. bonariensis*, which belongs to the lettuce (*Lactuca sativa*) family, is significant since it may also act as LMV reservoir for lettuce field crops. This is the first report in Brazil of a virus infecting *Erigeron* sp. which has also been reported as a natural host of *Bidens mottle virus* and *Tomato spotted wilt virus* in the United States.

No Brasil, devido à grande diversidade florística, o montante dos prejuízos ocasionados pelas plantas invasoras em áreas cultivadas é reconhecidamente maior, principalmente, pela dificuldade de controle. A interferência das plantas da vegetação espontânea sobre as culturas agrícolas se traduz em prejuízos diretos ocasionados pela alelopatia e competição com perdas de 30 a 40% e prejuízos indiretos difíceis de serem quantificados, por serem hospedeiras intermediárias de pragas e patógenos (Lorenzi, 2000).

Plantas da vegetação espontânea têm como características crescer em locais inóspitos, apresentar hábito agressivo, dispersão de sementes principalmente pelo vento, alta capacidade reprodutiva, resistência a controle químico e

grandes populações ocupando extensas áreas; o que as tornam grandes fontes potenciais de inóculo de fitopatógenos para plantações de espécies comerciais, desempenhando papel fundamental na epidemiologia das doenças causadas por vírus como hospedeiras primárias e secundárias (Duffus, 1971). Diversas espécies da vegetação espontânea pertencentes às famílias Asteraceae, Amaranthaceae, Chenopodiaceae, Commelinaceae, Solanaceae, Fabaceae, Plantaginaceae, Malvaceae, Tropaeolaceae já foram descritas como hospedeiras naturais de fitovírus. Assim, é importante ressaltar que dos vírus já identificados no mundo, cerca de 15% foram descritos em espécies pertencentes à vegetação espontânea (Bruntt *et al.*, 1997).

Estas interações, por sua vez, devem ser investigadas para que se possa estabelecer as relações epidemiológicas entre os vírus, seus vetores e as culturas de importância econômica (Colariccio, 1996).

Potyviridae é a maior das famílias de fitovírus com espécies já relatadas tanto em plantas invasoras como cultivadas. Conta, atualmente, com 145 espécies, o que corresponde a 20% dos vírus que causam doenças em plantas (Shukla *et al.*, 1994). Muitos vírus dessa família têm gama de hospedeiras restrita, tanto natural quanto experimental, freqüentemente confinado a poucas espécies vegetais pertencentes à mesma família botânica, mesmo gênero ou gêneros relacionados (Brunt *et al.*, 1997).

Durante visitas técnicas realizadas em campo experimental de hortaliças, incluindo a alface (*Lactuca sativa* L.), situado no município de São Paulo, SP, plantas de *Erigeron* sp., família Asteraceae, da vegetação espontânea, conhecidas popularmente no Brasil como buva, voadeira ou rabo-de-foguete (Lorenzi, 2000), apresentando sintoma de mosaico foram coletadas (Figura 1). Para a correta identificação botânica, exemplares foram herborizados e enviados para o Instituto de Botânica de São Paulo.

Folhas infetadas, provenientes do material original, foram trituradas em tampão protetivo (TACM), pH 8,0 (3,02 g TRIS; 0,5g ácido ascórbico 0,1%; 0,5 g cisteína 0,1%; 2,5 ml mercapto-etanol 0,5%; 500 ml de água destilada) segundo Colariccio (1996). O inóculo foi friccionado em plantas sadias de 26 espécies de indicadores pertencentes a sete famílias botânicas e mantidas em casa de vegetação para a observação posterior de sintomas. Plantas assintomáticas foram submetidas a testes de recuperação em plantas de *Nicotiana benthamiana* Domin. para verificar a possibilidade de infecção latente.

Para a avaliação da suscetibilidade do *Erigeron* sp. frente a outras espécies de fitovírus, plantas obtidas através de sementes (desta mesma espécie) foram mantidas em casa de vegetação e inoculadas com um isolado dos vírus: *Cucumber mosaic virus* (CMV), gênero *Cucumovirus*, família *Bromoviridae*; *Lettuce mosaic virus* (LMV), gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*; *Potato virus Y* “estirpe comum” (PVY⁰), gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*; *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV), gênero *Tospovirus*, família *Bunyaviridae*; *Tomato mosaic virus* (ToMV), gênero *Tobamovirus*; e *Tomato white necrosis virus* (TWNV) gênero *Tymovirus*. Utilizaram-se dez plantas por isolado e uma testemunha. O inóculo foi padronizado em 1:1 (p:v), empregando-se o tampão TACM, conforme descrito anteriormente. Os tratamentos foram padronizados sendo inoculadas duas folhas por planta, aplicando-se 100 µl do inóculo por folha. As plantas inoculadas foram mantidas em casa de vegetação e, após 30 dias, foram utilizadas em testes de recuperação em plantas indicadores suscetíveis para cada espécie de vírus utilizado.

Amostras foliares naturalmente infetadas foram processadas através da técnica de contrastação negativa com acetato de uranila 2%. Para obtenção de seções ultrafinas, fragmentos foliares foram fixados em glutaraldeído 2,5% em



FIG. 1 - Mosaico em folhas de *Erigeron bonariensis* induzido pelo *Lettuce mosaic virus* (LMV).

tampão fosfato 0,1 M pH 7,0, pós-fixados em tetróxido de ósmio 1%, no mesmo tampão, contrastados com acetato de uranila 2%, desidratados em série cetônica e incluídos em Spurr. Em seguida, as seções foram contrastadas em acetato de uranila e citrato de chumbo e observadas ao microscópio eletrônico de transmissão EM-208 (Philips) para visualização de inclusões e alterações ultraestruturais.

Testes de DAS-ELISA foram realizados seguindo as recomendações do fabricante (AGDIA), utilizando anti-soros específicos contra a capa protéica do PVY “estirpe comum” (PVY⁰), “estirpe clorótica” (PVY^C) e “estirpe necrótica” (PVY^N). Testes de PTA-ELISA, para LMV e o TuMV, foram realizados com anti-soros policlonais cedidos, respectivamente, pelo Dr. M.A. Pavan (UNESP-Botucatu, SP) e Dr. P. Roggero (Instituto de Fitovirologia- Torino, Itália).

As amostras obtidas a partir de extrato de *N. benthamiana* experimentalmente infetadas foram aplicadas em triplicatas, sendo o controle negativo constituído de extrato de plantas sadias de *N. benthamiana* e os controles positivos constituídos de amostras liofilizadas, infetadas com os vírus correspondentes aos anti-soros. As leituras de absorbância ($A_{405\text{ nm}}$) foram feitas após a aplicação do substrato (p-nitrofenilfosfato), utilizando-se o aparelho Microplate reader 3550-UV (Bio-Rad). As análises foram feitas a partir da relação da média das leituras (triplicata) das amostras infetadas, sobre a leitura das amostras sadias (I/S).

Partiu-se de 1 g de folhas infetadas de *N. benthamiana* para a extração dos RNAs totais, de acordo com Chomczynski & Sacchi (1987). Amostra de *N. benthamiana* sadia também foi extraída, servindo como controle negativo.

Para a transcrição reversa, seguida da PCR (RT-PCR), utilizou-se protocolo descrito por Revers *et al.* (1997), partindo-se de 1 µg de RNAs totais extraídos de *N. benthamiana* infetada. O oligonucleotídeo (5' AGCTT₁₄ 3') foi utilizado na síntese do cDNA e, também, os oligonucleotídeos denominados 8894P (5' CCGTACATAGCIG ARTGTGCT 3'), que anela no terminal 3' correspondente à proteína denominada Nib (senso viral) e o

9171M (5' GCGTTGATGTCGTCATCYTT 3'), que anela no terminal 5' da capa protéica (senso complementar), ambos específicos para o LMV e que permitem amplificar segmentos de DNA de cerca de 280 pb foram utilizados na PCR, além do termociclador Programmable Thermal Controller - *PTC100* (MJ Research), e os reagentes do kit para PCR Taq DNA Polymerase, recombinante (Gibco BRL). As condições para a PCR constaram de um desnaturação inicial a 94 °C por 3 min, seguida de 40 ciclos a 92 °C por 20 s, de desnaturação, 56 °C por 20 s, para o anelamento, e 40 s de extensão a 72 °C, com uma extensão final de 7 min a 72 °C. Os fragmentos de DNA amplificados foram visualizados sob luz ultravioleta em gel de agarose 1% corado com brometo de etídio.

A purificação dos fragmentos de DNA, amplificados via RT-PCR, do gel de agarose, foi realizada utilizando-se o kit "Concert Nucleic Acid Purification System" (Gibco BRL) seguindo recomendações do fabricante.

Os produtos amplificados via RT-PCR foram seqüenciados diretamente pela técnica de reação de terminação em cadeia. Utilizou-se o seqüenciador automático ABI 377 e o kit ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit - Ampli Taq DNA Polymerase, FS (Applied Biosystem), seguindo-se as recomendações do fabricante. O seqüenciamento foi realizado nos dois sentidos, utilizando-se os dois oligonucleotídeos (8894P e 9171M). O alinhamento das seqüências foi feito com o auxílio do programa Sequencer 3.1 (Gene Codes Corporation) e as comparações, com as seqüências existentes no banco de dados (GenBank), foram feitas através do programa do National Center for Biotechnology Information (NCBI). As seqüências foram alinhadas (Clustal W) com outras dez seqüências de isolados de LMV depositadas no GenBank, sendo obtido um dendrograma (TreeView 1.5) das seqüências de aminoácidos deduzidos, sendo utilizado como membro externo o *Plum pox virus* (PPV) gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*.

De acordo com o levantamento detalhado da diversidade florística, realizado por Angely em 1969, o Estado de São Paulo apresenta uma grande variedade de plantas da vegetação espontânea, com destaque para membros de Asteraceae com 718 espécies relacionadas em 101 gêneros e a Solanaceae, com 173 espécies distribuídas em 22 gêneros.

Identificou-se o material vegetal com mosaico como pertencente à espécie *Erigeron bonariensis* L., sin. *Conyzia bonariensis* (L.) Cronquist (Asteraceae), planta daninha freqüentemente encontrada em plantações e carreadores (Lorenzi, 2000) e hospedeira natural de fitoplasmas no Brasil (Brioso *et al.*, 2001).

O vírus isolado de *E. bonariensis* apresentou gama de hospedeiras restrito, pois somente plantas indicadoras de *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn, *C. quinoa* Willd., *N. tabacum* L. 'Samsun', 'TNN' e 'Xanthi NN' desenvolveram sintomas locais, enquanto que *N. benthamiana* desenvolveu sintomas foliares sistêmicos de afilamento, bolhas, deformação, mosaico e faixa das nervuras. Plantas de outras espécies de Asteraceae da vegetação espontânea, não foram suscetíveis quando inoculadas com o isolado.

A correta identificação do potyvirus isolado de *E. bonariensis* baseou-se, principalmente, nos resultados de sorologia e pela análise das seqüências de nucleotídeos e aminoácidos deduzidos obtidos pela amplificação de fragmentos de DNA via RT-PCR.

Em ELISA, observou-se relacionamento sorológico somente com anti-soro específico para o LMV, relação I/S de 3,427. Não houve leitura significativa para os demais anti-soros utilizados.

Em análises ao microscópio eletrônico de transmissão de folha de *E. bonariensis* infetada, foram observadas, pela técnica de contrastação negativa, partículas flexuosas alongadas com aproximadamente 700 nm (Figura 2A). Em cortes ultrafinos de folhas do material original naturalmente infetado, foram visualizadas inclusões do tipo catavento, túbulos e agregados laminares no citoplasma (Figura 2B), típicos aos induzidos por vírus pertencentes à família *Potyviridae* (Shukla *et al.*, 1994). A presença de agregado cristalino de possível natureza viral, além de grânulos ordenados em pequenas fileiras dispersos no citoplasma também foi observada (Figuras 2B e 2C). Grânulos ordenados dispersos no citoplasma, induzidos pelo LMV, estão sendo relatados pela primeira vez neste trabalho, pois tais estruturas, até então, só haviam sido descritas em plantas infetadas pelo *Watermelon mosaic virus* (WMV), gênero *Potyvirus* (Francki *et al.*, 1985).

Por meio de RT-PCR, foram amplificados fragmentos de 278 pb que foram seqüenciados e comparados com outras seqüências de LMV depositadas no Genbank. O isolado de LMV obtido de *E. bonariensis* apresentou similaridade entre 95% e 100%, tanto para as seqüências de nucleotídeos como de aminoácidos deduzidos, quando comparado com outros de diversas partes do mundo, inclusive com os isolados brasileiros AF198 e AF199, provenientes de alface (Krause-Sakate *et al.*, 2001). O dendrograma obtido a partir do alinhamento de aminoácidos deduzidos da região N-terminal da capa protéica, permitiu a formação de três grupos distintos de acordo com a região geográfica. O LMV isolado de *E. bonariensis* permaneceu no grupo juntamente com os isolados da China, França, Espanha, Estados Unidos e Brasil (Figura 3). Ressalta-se que a porção N-terminal da capa protéica é a que apresenta maior variabilidade genética entre as espécies deste gênero (Shukla *et al.*, 1994).

Sabe-se que as principais espécies de afídeos vetores do LMV são as espécies *Acyrtosiphon scariolae* Passerini, *Aphis gossypii* Glover, *Macrosiphum euphorbiaceae* Thos., *Myzus persicae* Sulzer e *Nasonomia ribisnigrus* Mosley (Brunt *et al.*, 1997). Através da análise da seqüência de aminoácidos deduzidos foi possível observar a presença da trinca de aminoácidos (DAG), responsável pelo reconhecimento vetor/vírus durante o processo de transmissão (Shukla *et al.*, 1994), o que permite inferir que o isolado de LMV de *E. bonariensis*, pode possivelmente ser transmitido para culturas de alface por meio dos afídeos vetores.

O LMV isolado de *E. bonariensis* apresentou propriedades biológicas distintas do LMV comum, uma vez que plantas de *Gomphrena globosa* L. e *Zinnia elegans* Jacq. não

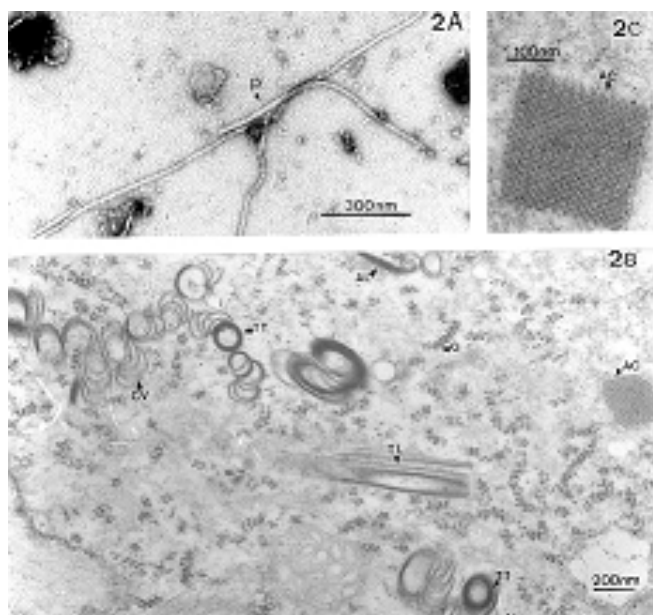


FIG. 2 - Micrografias eletrônicas de folhas de *Erigeron bonariensis* infetadas pelo *Lettuce mosaic virus* (LMV). A. Partículas alongadas e flexuosas com aproximadamente 700 nm visualizadas em contrastação negativa (P); B. Ultraestrutura de secções foliares apresentando inclusões do tipo catavento (CV), túbulos seccionados longitudinalmente (TL) e transversalmente (TT), agregados laminares (AL), grânulos ordenados (G), agregados cristalinos (AC) e Mitocôndrio (M); C. Detalhe de agregados cristalinos de provável origem viral.

foram suscetíveis, enquanto que plantas inoculadas de *C. amaranticolor*, desenvolveram apenas lesões locais, embora esta hospedeira reaja com lesões necróticas locais e sintomas sistêmicos de mosaico e rugosidade depois de inoculada com outra estirpe do LMV (Brunt *et al.*, 1997).

Em plantas da vegetação espontânea, no Estado de São Paulo, foram relatados o CMV em *Commelina benghalensis* L., *C. erecta* L. e *Tradescantia clongata* Mart.; uma espécie não identificada de vírus em *Vigna luteola* L.; um potyvírus em *Solanum athropurpureum* L., *S. ciliatum* All., *S. palinacanthum* Dunal e *S. viarum* Dunal. E, também, diferentes espécies do gênero *Tospovirus* em *Amaranthus* spp., *Bidens pilosa* L., *Boerhavia* spp., *Emilia sagittata* Wahl., *Commelina benghalensis* L., *Gamochaeta spicata* L., *Sida spinosa* L. e *Portulaca oleracea* L. (Colariccio, 1996).

Plantas de *E. bonariensis* só haviam sido descritas como hospedeiras naturais de fitoplasmas em diferentes regiões dos Estados de São Paulo (Costa, 1954) e Rio de Janeiro (Brioso *et al.*, 2001), onde esta planta é comum. Esta é a primeira descrição de um vírus infetando esta espécie da vegetação espontânea, no Brasil. Até então, os únicos relatos de vírus, nesta espécie, haviam sido feitos na Florida e na Ilha de Mauí, onde se identificaram, respectivamente, *Bidens mottle virus* (BiMoV), gênero *Potyvirus* (Shukla *et al.*, 1994) e *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), gênero *Tospovirus*, família *Bunyaviridae* (Cho *et al.*, 1986). *Erigeron canadense* L. também já foi relatada como hospedeira natural do *Tobacco rattle virus* (TRV), gênero

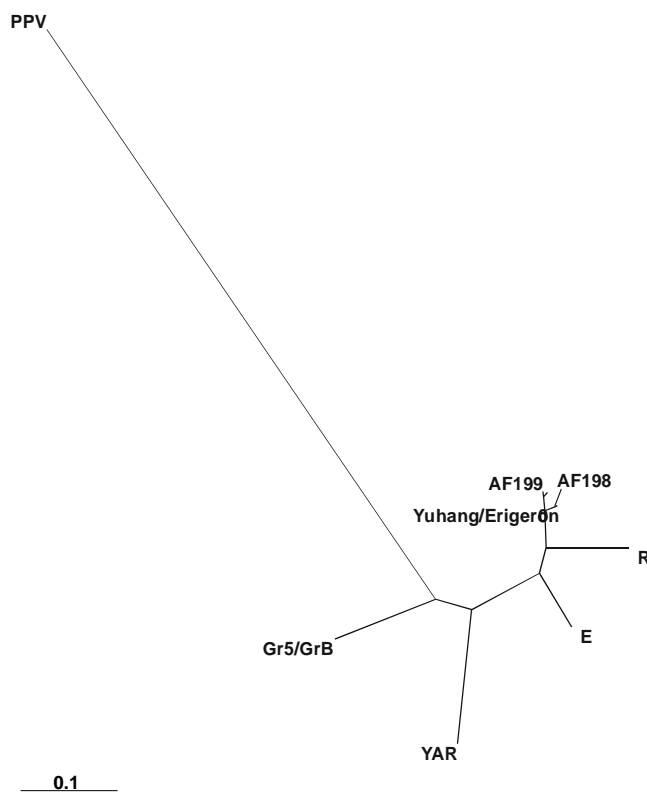


FIG. 3 - Dendrograma obtido a partir do alinhamento de aminoácidos deduzidos (*Clustal W*) do N-terminal da capa protéica de diferentes isolados do *Lettuce mosaic virus* (LMV), de regiões geográficas distintas, comparados com o isolado de *Erigeron bonariensis*. Isolados brasileiros: AF198 (AJ278855), AF199 (AJ278854); Isolado chinês: Yuhang (AJ297630); Isolado dos Estados Unidos: R (U24670); Isolado espanhol: E (X97705); Isolados franceses: 13 (Z78223), Aud (Z78224); Isolados gregos: Gr5 (Z78228), GrB (Z78230); Isolado árabe: YAR (Z78227); *Plum pox virus* - PPV (X97398). A barra corresponde às substituições de aminoácidos por sítio.

Tobravirus, de diferentes espécies do gênero *Tobamovirus* e do *Tomato bushy stunt virus* (TBSV), gênero *Tombusvirus* no leste Europeu (Shukla *et al.*, 1994).

A ocorrência natural do LMV em *E. bonariensis* indica que plantas desta espécie podem atuar como reservatório natural desse vírus, que atualmente é responsável por significativas quebras de produção e perdas econômicas na cultura de alface no Brasil (Krause-Sakate *et al.*, 2001). Além disso, *E. bonariensis* dispersa-se com grande facilidade atingindo áreas distantes, onde se instala (Lorenzi, 2000). Assim, a correta caracterização do vírus e o entendimento das relações epidemiológicas são de grande importância para o manejo adequado da cultura de alface, visando ao controle do LMV.

Em condições de campo, o LMV tem como característica apresentar restrita gama de hospedeiros naturais, incluindo algumas espécies de plantas da vegetação espontânea como *Cirsium vulgare* (Savi) Ten., *Malva parviflora* L. e algumas plantas ornamentais como *Tagetes erecta* L. e *Osteospermum fruticosum* (L.) Norl. (Opgenorth *et al.*, 1991). A ocorrência do LMV em plantas da vegetação espontânea como a *Gazania*

sp. já foi relatada em regiões endêmicas, como o Vale de Salinas (Califórnia - EUA) e, também, em plantas ornamentais, como o *Lisianthus* [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shin.] na Itália (Zerbini *et al.*, 1997), sendo portanto inédita a descrição deste vírus em *E. bonariensis*.

Visando avaliar o potencial do *E. bonariensis* como reservatório de fitovírus, comprovou-se que esta planta se comportou como hospedeira somente do LMV, não desenvolvendo sintomas quando inoculada com isolados do CMV, PVY⁰, TCSV, ToMV e TWNV. Em testes de recuperação, utilizando hospedeiras experimentais suscetíveis para cada vírus, somente o isolado de LMV, que reproduziu sintomas de mosaico em *E. bonariensis*, retornou para plantas de *C. amaranticolor* e *N. benthamiana*.

É de conhecimento que, após o preparo do solo para plantio, as primeiras espécies da vegetação espontânea que surgem no campo pertencem às famílias Asteraceae, Amaranthaceae, Portulacaceae e Solanaceae. Dentre estas, as espécies incluídas em Asteraceae são as mais importantes e são consideradas invasoras presentes durante todo o ano no campo (Lorenzi, 2000).

Assim, juntamente com a aquisição de sementes certificadas e a utilização de cultivares de alface resistentes (Zerbini *et al.*, 1997), a erradicação de plantas de *E. bonariensis* torna-se prática recomendada para o controle do LMV em áreas produtoras de alface e de outras asteráceas suscetíveis cultivadas no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGELY, J. Flora analítica e fitográfica do Estado de São Paulo. São Paulo, SP. Edição Phytion. 1969.
- BRIOSO, P.S.T., MONTANO, H.G., POZZER, L. & PIMENTEL J.P. Doenças associadas a fitoplasmas no Estado do Rio de Janeiro. *Fitopatologia Brasileira* 26:249. 2001 (Resumo).
- BRUNT, A.A., CRABTREE, K., DALLWITZ, M.J., GIBBS, A.J. & WATSON, L. *Viruses of plants*. Wallingford, UK. CAB International. 1997.
- CHO, J.J., MAU, R.F.L., GONSALVES, D. & MITCHELL, W.C. Reservoir weed host of *Tomato spotted wilt virus*. *Plant Disease* 70:1014-1017. 1986.
- CHOMCZYNSKI, P. & SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochemistry* 162:156-159. 1987.
- COLARICCIO, A. Identificação do vírus Y da batata, estirpe comum (PVY0) em *Solanum palinacanthum* Dun. (Tese de Doutorado). São Paulo. Universidade de São Paulo. 1996.
- COSTA, A.S. Superbrotamento de *Erigeron bonariensis* L. *Bragantia* 14:1-12. 1954.
- DUFFUS, J.E. Role of weeds in the incidence of virus disease. *Annual Review of Phytopathology* 15:319-335. 1971.
- FRANCKI, R. I. B., MILNE, R. G. & HATTA, T. *Atlas of Plant Viruses*. Boca Raton, USA. CRC Press. 1985.
- KRAUSE-SAKATE, R., MELLO, R.N., PAVAN, M.A., ZAMBOLIM, E.M., CARVALHO, M.G., LE GALL, O. & ZERBINI, F.M. Molecular characterization of two Brazilian isolates of *Lettuce mosaic virus* with distinct biological properties. *Fitopatologia Brasileira* 26:153-157. 2001.
- LORENZI, H. *Plantas daninhas no Brasil*. 3ª edição. Nova Odessa, SP. Editora Plantarum. 2000.
- OPGENORTH, D.C., WHITE, J.B., OLIVER, B. & GREATHEAD, A.S. Freeway daisy (*Osteospermum fruticosum*) as a host for lettuce mosaic virus. *Plant Disease* 75:751. 1991. (Note)
- REVERS, F., COT, H., SOUCHE, H., GALL, O., CANDRESSE, T. & DUNEZ, J. Biological and molecular variability of *Lettuce mosaic virus* isolates. *Plant Pathology* 87:397-403. 1997.
- SHUKLA, D.D., WARD, C.W. & BRUNT, A.A. *The Potyviridae*. Wallingford, USA. CAB International. 1994.
- ZERBINI, F.M., KOIKE, S.T. & GILBERTSON, R.L. *Gazania* sp.: A New Host of *Lettuce mosaic potyvirus*, and Potential Inoculum Source for Recent Lettuce Mosaic Outbreaks in Salinas Valley of California. *Plant Disease* 81:641-647. 1997.