# RELAÇÕES FILOGENÉTICAS DE ISOLADOS DE MiLBVV ASSOCIADOS A DOENÇA DAS VEIAS GRANDES EM ALFACE

**Vitórya D'Agostini da Silva[1], Estefany de Freitas Oliveira[2], Isabela Vitória Miranda Santos Belisário[3], Ingrid Lins Noé[4], Rubens Caetano Andrade[5], Gabriel Medeiros Coutinho[6], Rafael Lara Rezende Cabral[7]**

[1]Universidade Federal do Espírito Santo - UFES Campus Alegre, Alto Universitário, S/N – Guararema, Alegre- ES, [1]vitoryadagostini@gmail.com, [2]estefanyoliveirafr@gmail.com, [3]isabela.belisario@edu.ufes.br, [4] Ingridlnoe@gmail.com, [5]rubens.andrade@edu.ufes.br, [6]medeirosverso@gmail.com, rafaelaraaa@gmail.com[7].

**Resumo**
A alface *(Lactuca sativa L.)* está entre as hortaliças folhosas mais produzidas e consumidas globalmente, porém sua produção é severamente afetada por doenças virais, dentre elas, destaca-se a doença das veias grandes (Lettuce Big-Vein Disease – LBVD). Comprometendo a qualidade comercial e reduzindo significativamente a produtividade, a doença é atribuída principalmente ao *Mirafiori lettuce big-vein virus* (MiLBVV, *Ophiovirus*), transmitido pelo fungo de solo *Olpidium virulentus.* A permanência do vetor no ambiente, aliada à inexistência de cultivares com resistência genética, torna o controle da enfermidade desafiador, evidenciando a urgência por estratégias de manejo mais inovadoras e eficazes. Diante desse cenário, este estudo teve como objetivo realizar uma análise in silico de sequências genômicas do MiLBVV depositadas em bancos de dados, visando investigar suas relações filogenéticas. A compreensão dessas proximidades evolutivas poderá subsidiar estratégias de manejo, melhoramento genético e desenvolvimento de ferramentas biotecnológicas, contribuindo para a mitigação dos prejuízos associados à LBVD.
**Palavras-chave**: Filogenia. *Lactuca sativa L.* Virus. Manejo fitossanitário

**Área do Conhecimento:** Genética

## Introdução

A alface (*Lactuca sativa L.*) destaca-se como uma das hortaliças folhosas mais cultivadas e consumidas globalmente, tanto em sistemas tradicionais quanto hidropônicos, devido ao seu valor nutricional e aceitação comercial. No entanto, a cultura está sujeita a diversos desafios fitossanitários, sendo a doença das veias grandes (*Lettuce Big-Vein Disease* – LBVD) uma das mais importantes, por comprometer diretamente a qualidade visual e a produtividade da planta. Além da LBVD, outras viroses de relevância agronômica também acometem a cultura, como o *Lettuce mosaic virus* (LMV; Potyvirus), responsável por mosaicos e redução da formação de cabeça (Morales & Ávila, 2000); o *Lettuce chlorosis virus* (LCV; Crinivirus), associado a amarelecimento e fragilidade foliar (Khan *et al.,* 2013); e os *ortotospovírus Impatiens necrotic spot virus* (INSV) e *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), que causam necroses foliares e perda de área fotossintética (Groves *et al.,* 2016). Em algumas regiões produtoras, também se observa a ocorrência do *Lettuce necrotic stunt virus* (LNSV; Tombusvirus), agente do *"lettuce dieback",* caracterizado por necroses severas e morte precoce de plantas (Hayes *et al.*, 2006).

A doença das veias grandes da alface (*Lettuce Big-Vein Disease* – LBVD) é causada principalmente pela infecção do Mirafiori lettuce big-vein virus (MiLBVV), pertencente ao gênero *Ophiovirus* (família *Aspiviridae*) (Lot *et al*., 2002), frequentemente associada ao Lettuce big-vein associated virus (LBVaV), do gênero Varicosavirus (família *Rhabdoviridae)* (Sasaya *et al.,* 1998). A transmissão desses vírus ocorre pelo fungo zoospórico de solo *Olpidium virulentus*, já reconhecido como vetor eficaz da doença, cuja persistência na forma de esporos torna seu controle especialmente desafiador. A infecção reduz diretamente a fração de cabeças comercializáveis, visto que plantas severamente afetadas apresentam deformações foliares e falha na formação da cabeça (Koike; Turini, 2017).

A LBVD (*"big-vein")* recebe esse nome pelos seus sintomas característicos: nervuras foliares claramente visíveis, folhas rugosas e deformadas, e redução no desenvolvimento de cabeças folhosas (Falk, 1997). Apesar de coinfecções com o LBVaV serem comuns, somente o MiLBVV é suficiente para induzir os sintomas típicos, evidenciando seu papel central na manifestação da doença (Falk, 1997).

Com o avanço das pesquisas virológicas, tornou-se evidente que o MiLBVV interfere em processos fisiológicos importantes, como a síntese de clorofila e a organização do tecido vascular da folha, afetando diretamente a fotossíntese e o crescimento da planta. Essa desordem fisiológica compromete a formação adequada das folhas, provocando deformações e redução do tamanho, fatores que desvalorizam o produto no mercado. O impacto é ainda mais acentuado em sistemas de cultivo intensivo, como a hidroponia, nos quais qualquer desvio do padrão visual esperado pode levar ao descarte da produção (Menzel *et al.,* 2014; Lecoq & Desbiez, 2012).

Adicionalmente, a persistência do fungo vetor no solo por longos períodos, mesmo na ausência da cultura da alface, dificulta as estratégias de manejo e erradicação. A inexistência de métodos químicos eficazes contra o vetor e a limitação de cultivares comerciais resistentes reforçam a importância da pesquisa científica voltada ao melhoramento genético e à biotecnologia vegetal para o enfrentamento da *Lettuce Big-Vein Disease* – LBVD (Lebeda *et al.,* 2007; Mou, 2008).

Diante desse cenário, o presente estudo justifica-se pela relevância econômica e agronômica da alface, uma das hortaliças folhosas mais consumidas no mundo, e pelo impacto que a LBVD exerce sobre a cadeia produtiva. Assim, este trabalho tem como objetivo realizar uma análise in silico de sequências genômicas depositadas em bancos de dados, de modo a investigar as relações filogenéticas do MiLBVV. A compreensão dessas proximidades evolutivas poderá subsidiar avanços em estratégias de manejo, melhoramento genético e desenvolvimento de ferramentas biotecnológicas, contribuindo para mitigar os prejuízos causados por essa enfermidade.

**Metodologia**

O estudo atual utilizou 57 sequências de DNA dos vírus *Mirafiori lettuce big-vein virus* (MiLBVV), pertencente ao gênero *Ophiovirus*, e *Lettuce big-vein associated virus* (LBVaV), do gênero *Varicosavirus*. As sequências foram obtidas a partir do banco de dados GenBank – NCBI Virus (Link), utilizando como critério de filtragem a classe *Milneviricetes*. O primeiro alinhamento foi realizado no Linux utilizando o software TrimAl, com o objetivo de reduzir o número de *gaps* (hifens onde há inserções, deleções ou regiões ausentes) uma vez que a análise é conduzida em nível de classes, o que pode introduzir inconsistências no alinhamento. Após esse processamento, foram excluídas as sequências que apresentavam gaps em toda a sua extensão e que, portanto, não poderiam ser utilizadas nas análises. As sequências removidas foram: OR901947.1, OR843374.1, OR843373.1, OM419178.1, MT163734.1, LC743511.1 e LC798336.As 50 sequências restantes foram então realinhadas utilizando o software MEGA. Em seguida, a ferramenta IQ-TREE foi empregada para a análise estatística e inferência da árvore filogenética. Para a visualização e interpretação da árvore gerada, foi utilizado o software iTOL (Interactive Tree of Life).

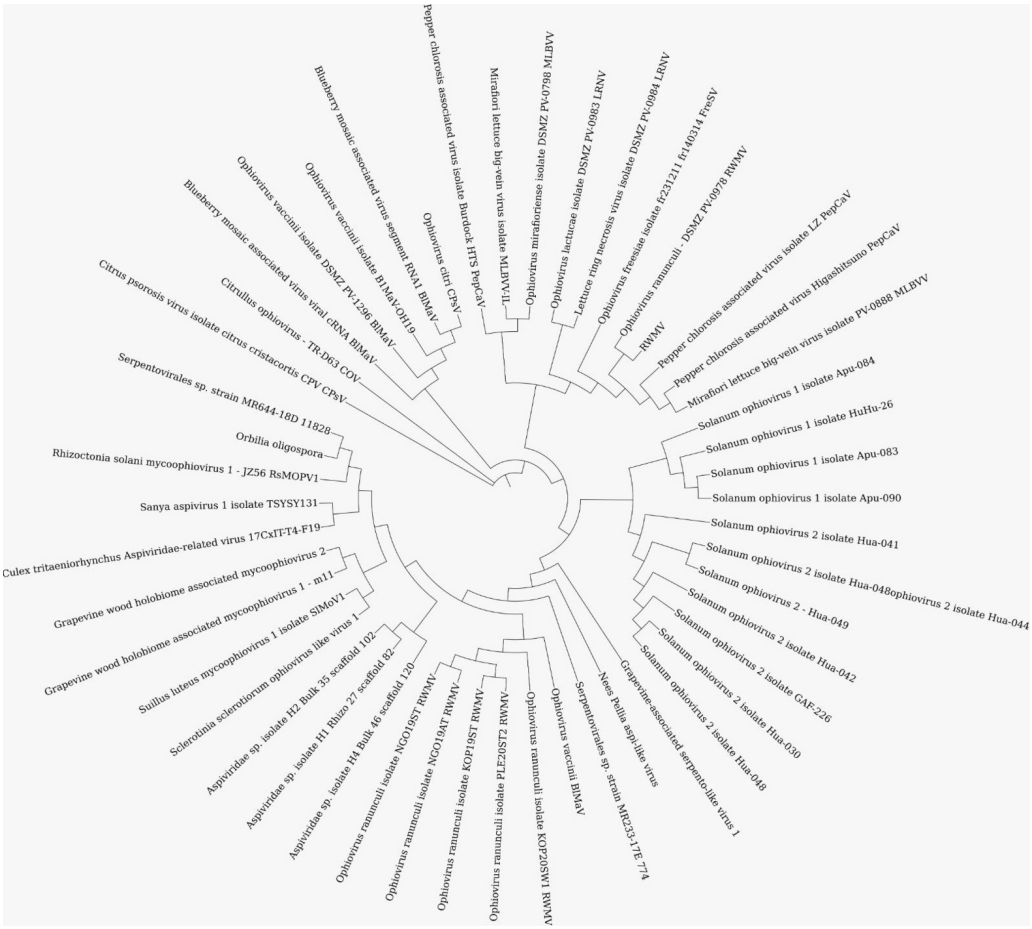
**Resultados**

A análise filogenética por máxima verossimilhança, conduzida no IQ-TREE, considerou 50 sequências de MiLBVV e LBVaV, resultando em um alinhamento de 5.226 sítios, dos quais 5.120 foram informativos por parcimônia. O modelo de substituição selecionado foi GTR+F+G4 (BIC), com parâmetro gama $\alpha \approx 2{,}78$. A melhor árvore de máxima verossimilhança apresentou log-verossimilhança –151770,840 e comprimento total de ramo de 22,699, utilizando o *Citrullus ophiovirus* (TR-D63) como *outgroup.*

Os isolados de MiLBVV agruparam-se em um clado monofilético, com forte suporte nos nós externos (valores SH-aLRT e UFBoot próximos de 100/100). Entretanto, alguns subgrupos internos exibiram suporte apenas moderado (ex.: SH≈58/UFB≈62), indicando incerteza quanto às relações evolutivas entre determinados isolados. Já o LBVaV posicionou-se em um ramo distinto, confirmando sua separação filogenética, apesar das coinfecções frequentes com MiLBVV em diferentes regiões produtoras.

Além disso, outros ophiovírus, como *Ranunculi, Vaccinii, Freesia e o Lettuce ring necrosis virus*, formaram subclados consistentes e fortemente sustentados, em conformidade com a taxonomia atual. Por outro lado, sequências anotadas como *Aspiviridae_sp.,* de origem metagenômica, apresentaram ramos longos e agrupamentos artificiais, sugerindo possíveis artefatos de montagem ou diversidade genética ainda não totalmente caracterizada.

Figura 1 - Árvore filogenética por máxima verossimilhança de isolados de *Mirafiori lettuce big-vein virus* (MiLBVV), *Lettuce big-vein associated virus* (LBVaV) e sequências relacionadas da família *Aspiviridae*. Observa-se MiLBVV formando clado monofilético, LBVaV em ramo distinto e *Aspiviridae_sp.* em ramos longos, possivelmente artefatuais.




Fonte: Os autores. (2025)

## Discussão

Os resultados confirmam a clara distinção filogenética entre MiLBVV e LBVaV, embora ambos estejam frequentemente associados na manifestação da *Lettuce Big-Vein Disease* (LBVD). Estudos recentes reforçam que apenas o MiLBVV é capaz de induzir os sintomas clássicos da doença, enquanto o LBVaV atua de forma acessória ou sinérgica (Schravesande *et al.,* 2025). Essa constatação sustenta a observação de que a progressão assíncrona da infecção por diferentes vírus pode modular a severidade da LBVD, determinando desde infecções latentes até sintomas severos.

A análise genética populacional desses vírus (Randa Zelyüt; Ertunç, 2021) demonstra uma variabilidade significativa entre isolados de diferentes regiões, o que pode explicar a resolução moderada observada em alguns subclados de MiLBVV no presente estudo. Tal diversidade genética impacta não apenas a manifestação dos sintomas, mas também a capacidade de adaptação a diferentes ambientes agrícolas e vetores.

Ferramentas moleculares, como o sequenciamento de pequenos RNAs (Bernal-vicente *et al,* 2018), têm revelado padrões de silenciamento gênico associados à resposta da planta contra MiLBVV e LBVaV. Essas abordagens complementam os estudos filogenéticos, permitindo compreender como os vírus modulam o metabolismo da planta hospedeira e superam barreiras de defesa.

Relatos de ocorrência em diferentes países, como Irã (Salem *et al.,* 2020) e Colômbia (Hernandez *et al.,* 2020) confirmam que a LBVD é um problema fitossanitário global, frequentemente associado a perdas significativas de produtividade. Os resultados obtidos neste trabalho, ao demonstrar a consistência filogenética de MiLBVV como um grupo monofilético, reforçam seu papel como principal agente etiológico da LBVD e a necessidade de monitoramento constante da sua variabilidade genética.

Portanto, o presente estudo contribui para o entendimento evolutivo dos vírus envolvidos na LBVD, evidenciando a estabilidade filogenética de MiLBVV e a coexistência com LBVaV em diferentes contextos agrícolas. Essa compreensão é essencial para orientar programas de melhoramento genético, estratégias de manejo e desenvolvimento de ferramentas biotecnológicas de detecção e controle.

## Conclusão

A investigação filogenética das sequências de MiLBVV e LBVaV revelou que o MiLBVV constitui um clado monofilético bem definido, confirmando sua centralidade na etiologia da LBVD. Apesar da coinfecção frequente com LBVaV, este vírus apresenta linhagem evolutiva distinta, reforçando sua atuação como agente associado, mas não essencial, para o desenvolvimento dos sintomas clássicos.

A variabilidade genética observada entre os isolados de MiLBVV destaca a necessidade de monitoramento contínuo e de abordagens integradas que considerem tanto os aspectos evolutivos quanto os mecanismos moleculares de interação planta-vírus.

Diante da importância econômica da alface, os resultados obtidos neste estudo contribuem para ampliar o conhecimento sobre a diversidade genética de MiLBVV, fornecendo subsídios para estratégias de manejo mais eficientes e para o desenvolvimento de cultivares resistentes. Assim, compreender a dinâmica evolutiva desses vírus representa um passo fundamental na mitigação dos impactos da LBVD na produção global de alface.

## Referências

BERNAL-VICENTE, A. *et al.* Small RNA-Seq to characterize viruses responsible of lettuce big vein disease in Spain. **Frontiers in Microbiology,** Lausanne, v. 9, art. 3188, 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2018.03188. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2018.03188/full. Acesso em: 25 set. 2026.

HERNANDEZ, A. K. *et al.* First report of lettuce big-vein disease associated with *Mirafiori lettuce big-vein virus* and Lettuce big-vein associated virus in Colombia. **Plant Disease,** St. Paul, v. 104, n. 3, p. 1000, 2020. DOI: 10.1094/PDIS-07-19-1471-PDN. Disponível em: https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-07-19-1471-PDN. Acesso em: 25 set. 2026.

KOIKE, S. T.; TURINI, T. A. Big vein. In: **UC IPM pest management guidelines:** lettuce. [S. l.]: University of California, 2017. Disponível em: https://ipm.ucanr.edu/agriculture/lettuce/big-vein/. Acesso em: 20 set. 2026.

LEBEDA, A. *et al.* Lettuce (*Asteraceae; Lactuca spp.)*. In: SINGH, R. J. (ed.). **Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement:** vegetable crops. Boca Raton: CRC Press, 2007. v. 3, p. 377–472.

LECOQ, H.; DESBIEZ, C. Viruses of cucurbit crops in the Mediterranean region: an ever-changing picture. **Advances in Virus Research,** v. 84, p. 67–126, 2012. DOI: 10.1016/B978-0-12-394314-9.00003-8. Disponível em: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394314-9.00003-8. Acesso em: 25 set. 2026.

LOT, H. *et al.* Transmission by *Olpidium brassicae* of *Mirafiori lettuce virus* and *Lettuce big-vein virus*, and their roles in lettuce big-vein etiology. **Phytopathology**, St. Paul, v. 92, n. 3, p. 288–293, 2002. DOI: 10.1094/PHYTO.2002.92.3.288. Disponível em: https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.3.288. Acesso em: 25 set. 2026.

MACCARONE, L. D. Relationships between the pathogen *Olpidium virulentus* and viruses associated with lettuce big-vein disease. **Plant Disease,** St. Paul, v. 97, n. 6, p. 700–707, 2013. DOI: 10.1094/PDIS-10-12-0979-FE. Disponível em: https://doi.org/10.1094/PDIS-10-12-0979-FE. Acesso em: 25 set. 2026.

MOU, B. Lettuce. In: PROHENS, J.; NUEZ, F. (ed.). **Vegetables I:** Asteraceae, Brassicaceae, Chenopodicaceae, and Cucurbitaceae. New York: Springer, 2008. p. 75–116. (Handbook of Plant Breeding, v. 1). DOI: 10.1007/978-0-387-30443-4_3. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-0-387-30443-4_3. Acesso em: 25 set. 2026.

RANDA ZELYÜT, F.; ERTUNÇ, F. Population genetic analysis of lettuce big-vein disease viruses and their vector fungi Olpidium virulentus in Ankara province, Turkey. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 113, art. 101593, 2021. DOI: 10.1016/j.pmpp.2020.101593. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0885576520302617. Acesso em: 25 set. 2026.

SALEM, N. *et al.* Occurrence and partial genetic characterisation of Lettuce big-vein associated virus and Mirafiori lettuce big-vein virus infecting lettuce in Jordan. **Annals of Applied Biology,** Oxford, v. 177, n. 1, p. 90–100, 2020. DOI: 10.1111/aab.12595. Disponível em: https://doi.org/10.1111/aab.12595. Acesso em: 25 set. 2026.

SCHRAVESANDE, W. E. W. *et al.* Asynchronous viral spread of two unrelated viruses determines lettuce big vein disease symptom development. **Phytopathology**, St. Paul, v. 116, n. 4, p. 658–667, 2026. DOI: 10.1094/PHYTO-04-25-0155-R. Disponível em: https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PHYTO-04-25-0155-R. Acesso em: 25 set. 2026.