

OCORRÊNCIA DE *Bemisia tabaci* E *Begomovirus* EM GUANXUMA

CAROLINA GARCIA NEVES¹; ISMAIL TEODORO DE SOUZA JÚNIOR²
MÔNIQUE NASCIMENTO² JOHAN MANUEL MURCIA BERMUDEZ² SÍLVIA
LETÍCIA DA PAZ MAICH²; DANIELLE RIBEIRO DE BARROS³

¹Universidade Federal de Pelotas – cacah_pg@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – agrojunior1@yahoo.com.br

²Universidade Federal de Pelotas – moniqueb.nascimento@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - jmmurciab@unal.edu.co

²Universidade Federal de Pelotas - silviapm_2012@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – danrbarros@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A mosca branca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), é uma praga polífaga encontrada predominantemente em espécies herbáceas se alimentando do floema das plantas. A mosca branca causa danos diretos através da sua alimentação como também indiretos através da transmissão de vírus que incitam doenças em plantas (JONES, 2003). *B. tabaci* é considerada um complexo de espécies crípticas composta de no mínimo 36 espécies morfológicamente iguais, variando quanto a preferência ao hospedeiro, resistência a inseticidas e capacidade de transmissão de diferentes espécies de vírus, além de aspectos moleculares (FIRDAUS et al., 2013). Dentre as espécies mais importantes economicamente e mais amplamente distribuídas no mundo estão *Middle East–Asia Minor 1* (MEAM1, biótipo B) e *Mediterranean* (MED, biótipo Q). A espécie MEAM1 foi introduzida no Brasil no início da década de 90, quando a mosca branca passou a ter importância no cenário nacional (ZERBINI et al., 2002). Já a espécie MED, teve seu primeiro relato no país em 2014, na cidade de Barra do Quaraí, no Rio Grande do Sul (BARBOSA et al., 2014a).

Dentre os gêneros de vírus de plantas, *Begomovirus*, é um dos mais importantes da família *Geminiviridae*, pois nele se encontram o maior número de espécies (BROWN et al., 2012). Podem ser encontrados em plantas cultivadas como também em plantas invasoras que funcionam como um reservatório natural desses vírus contribuindo com o processo de disseminação desses patógenos (BARRETO, 2012). Nos últimos 20 anos, as doenças causadas por esse gênero passaram a ter um maior destaque, devido ao aumento na distribuição do vetor *B. tabaci*, principalmente da espécie MEAM1 que se dispersou por todo o mundo (GILBERTSON et al., 2015). Por ser altamente polífaga, ao se alimentar de um maior número de hospedeiras, ampliou as chances de transmissão de begomovírus antes restritos às plantas invasoras para plantas cultivadas e vice-versa (RIBEIRO et al., 2003). A transmissão desse grupo de vírus pela mosca branca é de forma persistente, isto é, o tempo de aquisição do vírus pode levar horas e o período de retenção na hemolinfa pode ser de dias até por toda a vida do inseto, no caso dos *Begomovirus* ele não é capaz de replicar no inseto, sendo então persistente circulativa (NAVAS-CASTILLO et al., 2011).

O objetivo desse trabalho foi diagnosticar a infecção por vírus em *Sida rhombifolia* e identificar a espécie de mosca branca coletada no município de Cruzeiro do Sul.

2. METODOLOGIA

Em Março de 2016, espécimes adultos de mosca branca foram coletados no município de Cruzeiro do Sul ($S 29^{\circ}32' 23.7'' W 52^{\circ}00' 22.3''$), preservados imediatamente em álcool 70% e armazenados a -20°C até serem analisados. No mesmo local também foi coletada uma planta de Guanxuma (*Sida rhombifolia*), apresentando mosaico amarelo, sintoma típico de infecção causada por *Begomovirus*.

Para o diagnóstico de infecção por vírus, a extração de DNA total de *Sida rhombifolia* foi realizada a partir do método Doyle & Doyle (Doyle & Doyle, 1987). O DNA foi submetido a amplificação por PCR utilizando o par de primers universal para begomovírus PAL1v1978/PAR1c496 (ROJAS et al., 1993), o produto de PCR foi purificado (illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit; GE Healthcare Life Sciences) e sequenciado (Helixxa, Paulínia, São Paulo).

A fim de identificar a espécie de mosca branca ocorrendo nesse local, foi feita extração de DNA total a partir de 10 indivíduos adultos, através do método Chelex modificado (BARBOSA et al., 2014a). Esse DNA foi utilizado como molde para amplificação por PCR. As amostras foram submetidas a amplificação utilizando os primers genéricos de insetos C1-J-2195 e TL2-N-3014 (SIMON et al., 1994), os quais amplificam um fragmento do gene mtCOI. Dos produtos de PCR que apresentaram resultado positivo, uma amostra foi escolhida, purificada (illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit; GE Healthcare Life Sciences) e sequenciada (Helixxa, Paulínia, São Paulo). As sequências de DNA foram alinhadas utilizando o ClustalW (v. 1.6) em MEGA 6.06. Uma árvore filogenética foi construída pelo método neighbour-joining com usando o software MEGA 6.06.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sequência da amostra obtida a partir da planta de Guanxuma, quando comparada com o banco de dados ncbi, através do algoritmo BlastN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), apresentou 95% de identidade com um isolado de *Sida micrantha mosaic virus* (SiMMV) do Mato Grosso do Sul, confirmando a infecção por um begomovírus. *Sida* spp. é hospedeira de aproximadamente 14 espécies de begomovírus, sendo SiMMV uma delas, além de *Sida mottle virus* (SiMoV) e *Sida yellow mosaic virus* (SiYMV) também descritas no Brasil (BROWN et al., 2012).

O resultado indicou que dos 10 indivíduos adultos de mosca branca utilizados para fazer a identificação, todos foram positivos para *B. tabaci*, amplificando um fragmento de ~800 pb. A amostra selecionada para o sequenciamento mostrou 99% de identidade com dois isolados da Argentina (AF 340213 e AF 340212), identificados como sendo da espécie New World, também conhecida como biótipo A. Esse biótipo teve seu primeiro relato no Brasil em 1928 (BONDAR, 1928) sendo também encontrado em países como Argentina, Martinica, México, EUA e Venezuela (BARBOSA et al., 2014b). A análise filogenética da sequência obtida indica que a espécie NW (biótipo A) encontrada em Cruzeiro do Sul está intimamente relacionada com as espécies relatadas na Argentina (Figura1).

Em 2014, DE MARCHI e colaboradores detectaram a presença do vírus SiMMV em indivíduos de *B. tabaci* (NW, biótipo A). Além disso BARBOSA et al. (2014) afirma que as plantas daninhas são as principais hospedeiras da espécie

NW, conforme o resultado encontrado no presente trabalho, onde os espécimes foram coletados a partir de plantas de Guanxuma.

Os resultados apresentados nesse trabalho, evidenciam a importância em realizar o controle de plantas daninhas, tanto no campo como em ambiente protegido, pois essas além de serem um reservatório natural de vírus e de outros patógenos de plantas, também são a preferência de algumas espécies de mosca branca, como por exemplo, da espécie New World.

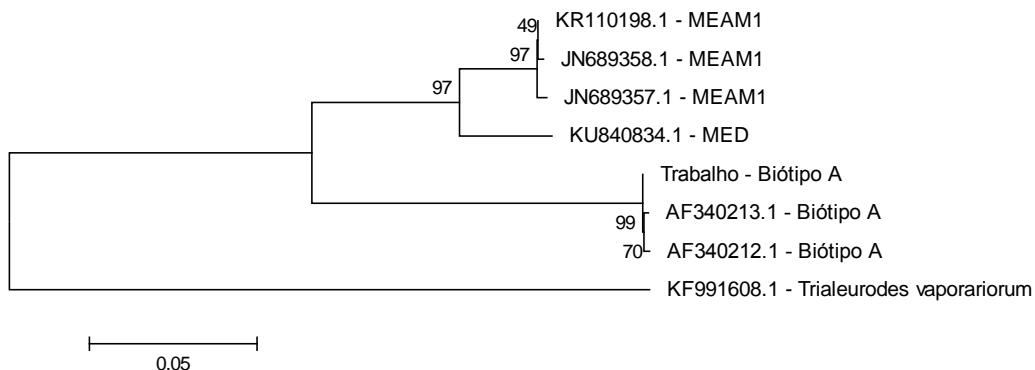


Figura 1. Análise filogenética parcial do gene mtCOI de *Bemisia tabaci*, utilizando o método neighbour-joining com o MEGA 6.06. Sequências representativas de MEAM1 e MED foram incluídas. *Trialeurodes vaporariorum* foi usada como grupo externo. São indicados o número de acesso no GenBank para cada espécie.

4. CONCLUSÕES

Foi detectado o vírus *Sida micrantha mosaic virus* infectando a planta de Guanxuma.

A espécie da mosca branca encontrada no município de Cruzeiro do Sul foi a New World (Biótipo A).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, L. F.; YUKI, V. A.; MARUBAYASHI, J. M.; DE MARCHI, B. R.; PAVAN, M. A.; BARROS, D. R.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J.; KRAUSE-SAKATE, R. First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. **Pest Management Science**, v. 71, n. 4, p. 501-504, 2014a.

BARBOSA, L. F.; MARUBAYASHI, J. M.; DE MARCHI, B. R.; YUKI, V. A.; PAVAN, M. A.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J.; KRAUSE-SAKATE, R. Indigenous American species of the *Bemisia tabaci* complex are still widespread in the Americas. **Pest Management Science**, v. 70, n. 10, p. 1440-1445, 2014b.

BARRETO, S. S. Estudo de plantas invasoras como fonte de begomovírus para o tomateiro. 2012. 147f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Curso de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília.

BONDAR, G. Aleyrodideos do Brasil. **Boletim do Laboratório de Patologia Vegetal do Estado da Bahia**, v.5, p.1-37, 1928.

BROWN, J. K.; FAUQUET, C. M.; BRIDDON, R. W.; ZERBINI, F. M.; MORIONES, E.; NAVAS CASTILLO, J. Virus Taxonomy. 9th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Elsevier Academic Press**, London, p. 1327, 2012.

DE MARCHI, B. R. **Associação de begomovírus e crinivírus com *Bemisia tabaci* espécie New World 2 e *Trialeurodes vaporariorum*.** 2014. 82f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós – Graduação em Proteção de Plantas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v.19, p.11-15, 1987.

FIRDAUS, S.; VOSMAN, B.; HIDAYATI, N.; SUPENA, E. D. J.; VISSER, R.; HEUSDEN, A. W. The *Bemisia tabaci* species complex: Additions from different parts of the world. **Insect Science**, v. 20, n. 6, p. 723-733, 2013.

GILBERTSON, R. L.; BATUMAN, O.; WEBSTER, C. G.; ADKINS, S. Role of the insect supervectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the emergence and global spread of plant viruses. **Annual Review of Virology**, v.2, p.67-93, 2015.

JONES, D. R. Plant viruses transmitted by whiteflies. **European Journal of Plant Pathology**, v.109, n. 3, p. 195-219, 2003.

NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVÉ, E.; SÁNCHEZ-CAMPOS, S. Emerging Virus Diseases Transmitted by Whiteflies. **Annual Review of Phytopathology**, v. 49, p. 219-248, 2011.

RIBEIRO, S. G.; AMBROZEVÍCIUS, L. P.; DE AVILA, A. C.; BEZERRA, I. C.; CALEGARIO, R. F.; FERNANDES, J. J.; LIMA, M. F.; MELLO, R. N.; ROCHA, H.; ZERBINI, F. M. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting geminiviruses in Brazil. **Archives of Virology**, v.148, p.281-295, 2003.

ROJAS, M. R.; GILBERTSON, R. L.; RUSSELL, D. R.; MAXWELL, D. P. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminivirus. **Plant Disease**, Saint Paul, v.77, p.340-347, 1993.

SIMON, C.; FRATI, F.; BECKENBACH, A.; CRESPI, B.; LIU, H.; FLOOK, P. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene-sequences and a compilation of conserved polymerase chain-reaction primers. **Annals of the Entomological Society of America**, v.87, p.651-701, 1994.

ZERBINI, F. M.; RIBEIRO, S. G.; ANDRADE, E. C.; LOPES E. F.; FERNANDES, J. J.; FONTES, E. P.B. Identificação e taxonomia de novas espécies de vírus transmitidos por mosca-branca no Brasil. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 151-152, 2002.