

IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE MOSCA-BRANCA EM SOJA (*Glycine max* L.) PELA ANÁLISE DO GENE MITOCONDRIAL CITOCROMO OXIDASE I

CAROLINA GARCIA NEVES¹; SILVIA LETÍCIA SANTOS DA PAZ
MAICH²; VITÓRIA NUNES DOS SANTOS²; ANDERSON EDUARDO
BRUNETTO²; DANIELLE RIBEIRO DE BARROS³

¹Universidade Federal de Pelotas – cacah_pg@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – silviapm_2012@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – vitorians1212@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – brunettoagronomo@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – danrbarros@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A mosca branca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), é um inseto que se alimenta no floema das plantas, principalmente espécies herbáceas. Os danos causados por *B. tabaci* podem ser de dois tipos: diretamente através da alimentação de estágios imaturos e adultos e da excreção do *honeydew* sobre as folhas e frutos ou indiretamente pela transmissão de vírus de plantas (JONES, 2003).

B. tabaci é considerada um complexo de espécies crípticas, contendo no mínimo 46 espécies, distribuídas em 11 grupos (BOYKIN & De Barro 2014). As espécies desse complexo são morfologicamente iguais porém diferem em características bioquímicas, fisiológicas, moleculares que podem afetar sua fenologia, especificidade de planta hospedeira e capacidade de transmissão de diferentes espécies de vírus (De BARRO et al., 2011). Para delimitar os diferentes membros desse complexo, tem sido amplamente utilizada uma ferramenta molecular baseada na amplificação do gene mitocondrial citocromo oxidase I (mtCOI) (DINSDALE et al., 2010). Dentro desse complexo duas espécies merecem destaque: *Middle East-Asia Minor* 1 (MEAM1, biótipo B) e *Mediterranean* (MED, biótipo Q) pois são as mais invasivas e distribuídas mundialmente.

A introdução da espécie MEAM1 na América se deu no final da década de 1980 (BELLOWES et al., 1994). Atualmente é a espécie predominante no Brasil encontrando-se distribuída por todo o país (BARBOSA et al., 2014b). Já a espécie MED que foi originalmente descrita na Grécia como *Aleyrodes tabaci* em 1889 por Gennadius, foi recentemente confirmada através do uso de marcadores moleculares como sendo a espécie *Mediterranean* (TAY et al., 2012). Esta já foi relatada no Brasil, precisamente na cidade de Barra do Quaraí no Rio Grande do Sul (BARBOSA et al., 2014a). Vale ainda ressaltar a ocorrência de espécies indígenas pertencentes ao grupo NW (1 e 2), comumente conhecido como biótipo A, em vários locais do Brasil e da América Latina (MARUBAYASHI et al., 2013). Os prejuízos causados pela mosca branca vão desde a diminuição no rendimento de cultivos até o aumento nos custos de produção, devido ao uso de inseticidas (VIEIRA et al. 2011). Na cultura da soja, por exemplo, ocorre o escurecimento da folha pela formação da fumagina, reduzindo as taxas de fotossíntese e causando murcha e queda das folhas, antecipando o ciclo da cultura e resultando na queda da produtividade. As perdas de produtividade podem chegar a 100% conforme os níveis populacionais da mosca branca (EMBRAPA SOJA, 2008). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi identificar as espécies de mosca branca colonizando soja em dois municípios do Rio Grande do Sul.

2. METODOLOGIA

Durante a safra 2018/2019 foram coletados espécimes adultos de mosca branca a partir de plantas de soja em dois municípios do RS: Ronda Alta e Jari. As moscas brancas foram coletadas aleatoriamente, totalizando 50 indivíduos, 25 em cada local. Foram utilizados microtubos de 1,5 mL contendo álcool 70%. A extração de DNA total foi feita individualmente para cada adulto coletado, utilizando o método chelex modificado (WALSH et al., 1991). O DNA foi utilizado como molde para amplificação por PCR.

A fim de verificar a espécie de mosca branca, primeiramente foi feito um *screening* para identificação da espécie *B. tabaci*. Para isso todas as amostras de DNA foram submetidas à amplificação por PCR utilizando os oligonucleotídeos iniciadores C1-J-2195-FW (5' TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT 3') e TL2-N-3014-RV (5' TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA 3') (SIMON et al., 1994), os quais amplificam um fragmento de aproximadamente 800 pb do gene mitocondrial citocromo oxidase I (mtCOI). Em seguida, a reação de PCR foi corrida em gel de agarose a 1% e realizada a observação dos fragmentos em transiluminador UV.

As amostras positivas na PCR, as quais amplificaram o fragmento do gene mtCOI (800 pb), foram submetidas a análise de restrição para identificação das espécies pertencentes ao complexo *B. tabaci* (MED, MEAM1, NW) utilizando a enzima de restrição *TaqI*. Após a digestão, os fragmentos foram observados em gel de agarose 1,5% e transiluminador UV. A fim de obter uma prévia diferenciação dos padrões para posterior comparação, uma análise de restrição online (<http://nc2.neb.com/NEBcutter2/>) foi realizada, utilizando sequências das três espécies já identificadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do *screening* dos 50 indivíduos adultos analisados, 47 (94%) apresentaram resultado positivo para *B. tabaci*, pela amplificação de um fragmento de aproximadamente 800 pb. Dentro da família Aleyrodidae são conhecidas mais de 1556 espécies, subdivididas em três subfamílias Aleurodicinae, Aleyrodinae e Udamoselinae (FORERO, 2008). Portanto, é possível que os outros 6% dos indivíduos que não apresentaram resultado positivo para *B. tabaci*, pertençam a outra espécie da família Aleyrodidae, como por exemplo, a espécie *Trialeurodes vaporariorum*, pois no trabalho realizado por Barbosa et al (2014) no Rio Grande do Sul, foi a espécie de mosca branca predominante nas cidades de Caxias do Sul, Santa Maria e Pelotas.

Para identificação das espécies do complexo *B. tabaci* (MED, MEAM1, NW), foi feita análise de restrição para os 47 indivíduos que apresentaram resultado positivo. A análise de restrição online feita com sequências de cada uma das espécies: MED, MEAM1 e NW apresentou um padrão diferente para cada uma. Quando comparado esses padrões com as digestões feitas em laboratório foi possível observar a semelhança entre o padrão e o tamanho das bandas, sendo realizada então a identificação das espécies do complexo *B. tabaci*. Dos 47 indivíduos analisados através da digestão, 39 (83%) são pertencentes a espécie NW, sendo essa a mais distribuída entre os locais de coleta e 8 (17%) foram identificadas como a espécie MEAM1 (figura 1a).

Em relação as espécies encontradas em cada um dos locais de coleta, em Ronda Alta 80% das amostras apresentaram resultado positivo para a NW, enquanto que 20% para a MEAM1 (figura 1b). O mesmo ocorreu em Jari, sendo a espécie predominante NW, com 76% das amostras positivas contra 24% da

espécie MEAM1 (figura 1c). De maneira geral, as espécies indígenas apresentam preferência para colonizar plantas daninhas, assim como visto no trabalho realizado por Marubayashi (2013), onde ela foi encontrada principalmente em *Bidens* sp, *Sonchus oleraceus* e *Sida rhombifolia*. No entanto, trabalhos relatam a presença dessa espécie em soja nos estados de Mato Grosso e Distrito Federal, bem como no Rio Grande do Sul nas cidades de Panambi e Cruzeiro do Sul (LIMA et al., 2000; MORAES et al., 2018). A existência das espécies indígenas de forma significativa em alguns locais se deve ao fato das adaptações que essas sofreram, a fim de não competir pelos hospedeiros preferidos de MEAM1 (BARBOSA et al., 2014b).

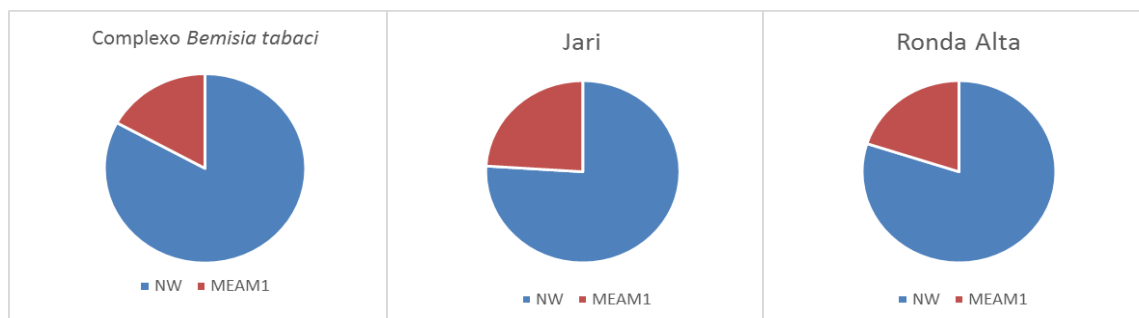


Figura 1. Porcentagem de ocorrência de espécies do complexo *Bemisia tabaci* nos locais de coleta (a). Porcentagem de ocorrência das espécies *New World* e *Middle-East Asia Minor 1* em Ronda Alta (b) e Jari (c).

4. CONCLUSÕES

Nos dois locais de coleta foram encontradas duas espécies do complexo *B. tabaci*: *New World* (NW) e *Middle East-Asia Minor 1* (MEAM1).

A espécie NW foi predominante em ambos locais onde as amostras foram coletadas.

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.

BELLOWS, T.; PERRING, T.; GILL, R.; HEADRICK, D. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae) infesting North American agriculture. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 87, p. 195–206. 1994.

BOYKIN, L. M. & De BARRO, P. J. A practical guide to identifying members of the *Bemisia tabaci* species complex: and other morphologically identical species. **Front. Ecol. Evol.** v.2, p.45, 2014.

DE BARRO, P. J.; LIU, S. S.; BOYKIN, L. M.; DINSDALE, A. B. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. **Annual Review of Entomology**. v. 56, p. 1-19. 2011.

DINSDALE, A.; COOK, L.; RIGINOS, C.; BUCKLEY, Y.; BARRO, P. D. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. **Annals of the Entomological Society of America**. v. 103, p. 196–208. 2010.

EMBRAPA SOJA. **Tecnologia de Produção de Soja - região central do Brasil**. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste. p. 1 - 262. 2008.

FORERO, D. The systematics of the Hemiptera. **Revista Colombiana de Entomologia**. v. 34, n. p. 1–21. 2008.

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

LIMA, L. H. C.; NÁVIA, D.; INGLIS, P. W.; OLIVEIRA, M. R. V. Survey of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotypes in Brazil using RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**. v. 23, n. 4, p. 781-785. 2000.

MARUBAYASHI, J. M.; YUKI, V. A.; ROCHA, K. C. G.; MITUTI, T.; PELEGRINOTTI, F. M.; FERREIRA, F. Z.; MOURA, M. F.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; PAVAN, M. A.; KRAUSE-SAKATE, R. At least two indigenous species of the *Bemisia tabaci* complex are present in Brazil. **Journal of Applied Entomology**. v. 137, p. 113-121. 2013.

MORAES, L. A. et al. Distribution and phylogenetics of whiteflies and their endosymbiont relationships after the Mediterranean species invasion in Brazil. **Scientific Reports**. v. 8, p. 1-13. 2018

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.

TAY, W.; EVANS, G.; BOYKIN, L.; DE BARRO, P. Will the Real *Bemisia tabaci* Please Stand Up? **PLOS ONE**. v. 7, n. 11, p. 1 – 5. 2012.

VIEIRA, S. S.; BUENO, A.F.; BOFF, M.I.C.; BUENO, R.; HOFFMAN-CAMPO, C.B. Resistance of soybean genotypes to *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae). **Neotropical Entomology**. v.40, p. 117–122. 2011.

WALSH, P.; METZGER, D.; HIGUCHI, R. Chelex-100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. **Biotechniques**. v.10, p.506-513. 1991.