

VINICIUS HENRIQUE BELLO

**TRANSMISSÃO DE VÍRUS PELAS ESPÉCIES CRÍPTICAS DE
Bemisia tabaci MEDITERRANEAN E MIDDLE EAST-ASIA MINOR 1**

BOTUCATU

2017

VINICIUS HENRIQUE BELLO

**TRANSMISSÃO DE VÍRUS PELAS ESPÉCIES CRÍPTICAS DE
Bemisia tabaci MEDITERRANEAN E MIDDLE EAST-ASIA MINOR 1**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Renate Krause-Sakate

Co-orientador: Dr. Julio Massaharu Marubayashi

BOTUCATU

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

B446t Bello, Vinicius Henrique, 1992-
Transmissão de vírus pelas espécies crípticas de *Bemisia tabaci* Mediterranean e Middle East-Asia Minor 1 / Vinicius Henrique Bello. - Botucatu : [s.n.], 2017
58 p. : il. color., tabs.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2017
Orientador: Renate Krause-Sakate
Coorientador: Julio Massaharu Marubayashi
Inclui bibliografia

1. Mosca branca. 2. Vírus de plantas. 3. *Bemisia tabaci*. I. Krause-Sakate, Renate. II. Marubayashi, Julio Massaharu. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. IV. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "TRANSMISSÃO DE VÍRUS PELAS ESPÉCIES CRÍPTICAS DE *Bemisia tabaci* Mediterranean E Middle East-Asia Minor 1"

AUTOR: VINICIUS HENRIQUE BELLO
ORIENTADORA: RENATE KRAUSE SAKATE
COORIENTADOR: JULIO MASSAHARU MARUBAYASHI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. RENATE KRAUSE SAKATE
Depto de Proteção Vegetal / UNESP - Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu

Prof. Dr. MARCELO AGENOR PAVAN
Dep de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas

DR. VALDIR ATSUSHI YUKI
Depto. Virologia Vegetal / Instituto Agronômico de Campinas

Botucatu, 24 de fevereiro de 2017.

À minha família,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Aos professores Renate Krause-Sakate, Marcelo Agenor Pavan e ao Dr. Julio Massaharu Marubayashi da HORTEC pela orientação, confiança, amizade e inspiração para o desenvolvimento de todos os meus trabalhos;

Aos professores e funcionários do Departamento de Proteção Vegetal FCA/UNESP pelos conhecimentos transmitidos, amizade e contribuição na obtenção deste título, e em especial ao pesquisador do IAC Dr. Valdir A. Yuki pela contribuição em meus trabalhos e aprendizados;

Aos técnicos de campo Paulo Roberto Rodriguese AdemirPereirapelo auxílio na manutenção dos trabalhos desenvolvidos em casa de vegetação do Departamento de Proteção Vegetal;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsas de estudos modalidades mestrado;

Aos colegas do curso de Pós-graduação, por todo apoio, amizade e momentos de descontração durante a realização dos estudos, em especial aos amigos: Bruno, Daiana, Gabriel, Guilherme, Julio, Késsia, Letícia, Leysimar, Luis, Milena, Mônica, Marcos, Giovana, Rafaela, Beatriz, João, Thiago e Marcelo;

Aos colegas de República, por todo apoio, amizade e momentos de descontração durante a realização dos estudos, em especial aos amigos: Fernando Kassis, Carlos Renato, Lucas Viegas, Luis Panutti, Ulisses Gandolfo, Fábio Gregory, Gabriel Baroni, Tomas Fiori, Murilo Marques, Antonio Higo, Nilton Santos, Fernando Pereira;

Finalmente, agradeço à minha família em especial aos meus pais, irmão e avós.

RESUMO

A mosca-branca, *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) é uma das mais importantes pragas e, além disso, é vetora de vírus de plantas. *B. tabaci* é comumente classificada como um complexo de espécies crípticas, das quais se destacam as duas espécies invasivas, Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1), predominante no Brasil, e a espécie Mediterranean (MED), recentemente detectada no país. Para a espécie MED se desconhece sua habilidade na transmissão de vírus encontrados no Brasil. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial de transmissão do carlavírus *Cowpea mild mottle virus* (CpMMV); do crinivírus *Tomato chlorosis virus* (ToCV) e dos begomovírus *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) e *Bean golden mosaic virus* (BGMV). Para aquisição do vírus pela espécie MED e MEAM1, o período de acesso de aquisição (PAA) e o período de acesso de inoculação (PAI) foram de 24h no escuro a 30°C, utilizando-se dez insetos por planta testada. Os ensaios de transmissão demonstram que a população da espécie MED abrigoando 97 % de *Hamiltonella*, 33 % de *Rickettsia* e 12 % de *Arsenophonus* de endossimbiontes secundários, denominada de MED2, transmitiu o BGMV e o CpMMV com 100 % de eficiência, enquanto que a população de MED (MED1) contendo 14 % de *Hamiltonella* e 29 % de *Rickettsia* transmitiu o BGMV e o CpMMV com 56,6 % e 53,3 % de eficiência, respectivamente. Comparativamente a espécie MEAM1 com 98 % de *Hamiltonella* e 91 % de *Rickettsia* transmitiu o BGMV e o CpMMV com 90% de eficiência. Em relação ao ToSRV, ambas populações de MED testadas transmitiram este begomovírus com 83,3 % de eficiência, enquanto a espécie MEAM1 transmitiu com 80 % de eficiência. O crinivírus ToCV foi transmitido por MED1 e MED2 com 93,3 % e 83,3 % de eficiência, respectivamente, e com 80% de eficiência por MEAM1. Os ensaios de transmissão demonstraram que a espécie Mediterranean, recém detectada no Brasil, é excelente vetora dos principais vírus transmitidos por mosca-branca encontrados no Brasil.

Palavras-chave: Mosca-branca, Endossimbiontes, *Begomovirus*, *Carlavirus*, *Crinivirus*.

ABSTRACT

The whitefly, *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) is one of the most important agriculture pests and also is a virus vector. *B. tabaci* is considered a complex of cryptic species, and Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1, formerly known as biotype B) and Mediterranean (MED, biotype Q), are highlighted as the most invasive in world. The ability of MED species, to transmit Brazilian viruses was investigated in this work. The transmission of the carlavirus *Cowpea mild mottle virus* (CpMMV), the crinivirus *Tomato chlorosis virus* (ToCV) and the begomovirus *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) and *Bean golden mosaic virus* (BGMV) was tested by MEAM1 and MED, comparatively. The acquisition access period (AAP) and the inoculation access period (IAP) used were of 24h, in the dark conditions at 30°C, using 10 insects per plant tested. The transmission assays demonstrated that the population of the MED species that harbor 97 % of *Hamiltonella*, 33 % of *Rickettsia* and 12 % of *Arsenophonus* secondary endosymbionts, denominated MED2, transmitted the BGMV and the CpMMV with 100 % efficiency, while the MED (MED1) population with 14 % of *Hamiltonella* and 29 % of *Rickettsia* transmitted the BGMV and the CpMMV with 56,6 % and 53,3 % efficiency, respectively. Comparatively, the MEAM1 species with 98 % of *Hamiltonella* and 91 % of *Rickettsia* transmitted the BGMV and the CpMMV with 90% of efficacy. In relation to the ToSRV, both MED populations tested transmitted this begomovirus with 83,3 % efficiency, while the MEAM1 species transmitted with 80 % efficiency. The crinivirus ToCV was transmitted by MED1 and MED2 with 93,3 % and 83,3 % efficiency, respectively, and with 80% efficiency by MEAM1. The transmission assays showed that the Mediterranean species, detected recently in Brazil, is an excellent vector of the whitefly transmitted viruses found in Brazil.

Keywords: Whitefly, Endosymbionts, *Begomovirus*, *Carlavirus*, *Crinivirus*.

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1.** Ensaios de transmissão de vírus pelas espécies crípticas de *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 e Mediterranean.....41
- TABELA 2.** Ensaios de transmissão de vírus pelas espécies crípticas de *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 e Mediterranean41

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Organização do genoma do *Bean golden mosaic virus* (Fígura adaptada de ROJAS et al., 2005)23
- Figura 2** - *Begonia* sp. e B) *Euphorbia pulcherrima*, hospedeiros originais onde foram coletadas as populações de *Bemisiatabaci* pertencentes a espécie críptica mediterranean. C e D: distintas populações de Mediterranean sendo mantidas isoladamente..... 32
- Figura 3** - Sintomas dos isolados utilizados nos ensaios de transmissão. A) ToSRV+ ToCV – Lins, B) ToSRV – Lins, C) ToCV – Lins, D) ToCV – Campinas, E) BGMV + CpMMV – Londrina, F) BGMV – Londrina, G) CpMMV – Londrina, H) CpMMV – Campinas.....38

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1. <i>Bemisia tabaci</i> e sua importância como vetora de vírus.....	21
2.1.1 Gênero <i>Begomovirus</i>	22
2.1.2 Gênero <i>Carlavirus</i>	26
2.1.3 Gênero <i>Crinivirus</i>	28
3. MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 Estabelecimento de populações de mosca-branca das espécies MED e MEAM1.....	32
3.1.1 Identificação e manutenção das espécies de mosca-branca e seus endossimbiontes	33
3.2. Obtenção dos isolados virais.....	33
3.3 Ensaio de eficiência de transmissão de vírus pelas espécies MED e MEAM1..	34
3.3.1 Detecção dos vírus.....	35
4. RESULTADOS	37
4.1 Estabelecimento de populações de mosca-branca das espécies MED e MEAM1.....	37
4.2. Obtenção e manutenção dos isolados	37
4.3 Ensaio de transmissão em feijoeiro	39
4.4. Ensaio de transmissão em tomateiro	39
5. DISCUSSÃO	42
6. CONCLUSÃO.....	45
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

1. INTRODUÇÃO

A mosca-branca, *Bemisia tabaci* Gennadius(Hemiptera: Aleyrodidae), é uma das pragas de maior importância do século 20, pois além de causar danos diretos através de sua alimentação no floema e excreção de “honeydew”, transmite mais de 300 espécies diferentes de vírus(KANAKALA; GHANIM, 2015; GILBERTSON et al., 2015). Sua excelente capacidade de reprodução, dispersão, colonização em diferentes hospedeiros, bem como uma menor suscetibilidade aos inseticidas comumente utilizados na agricultura contribuem para recentemente ter sido denominada de supervetora de vírus (GILBERTSON et al., 2015).

B. tabaci transmite vírus muito diversos, pertencentes aos gêneros, *Begomovirus*, *Crinivirus*, *Carlavirus*, *Ipomovirus* e *Torradovirus*(NAVAS-CASTILLO et al., 2011; GILBERTSON et al., 2015). Dentre estes, destacam-se os begomovirus, correspondendo a cerca de 90 % dos vírus transmitidos pela mosca-branca GILBERTSON et al., 2015).

B. tabaci é considerada um complexo de espécies crípticas de pelo menos 37 espécies (KANAKALA; GHANIM, 2015). No Brasil, quatro espécies do complexo estão presentes, sendo estas as espécies nativas, New World 1 (NW1) e New World 2 (NW2) (MARUBAYASHI et al., 2013) e as espécies invasivas Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1) e a mais recentemente detectada espécie Mediterranean (BARBOSA et al., 2015; MORAES et al., 2016).

Das espécies deste complexo, as espécies Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1), também referida como biótipo B, e Mediterranean (MED), também conhecida como biótipo Q, apresentam a maior importância a nível mundial (KANAKALA; GHANIM, 2015; HADJISTYLLI; RODERICK; BROWN; 2016). A espécie MEAM1 é a de maior distribuição mundial e responsável por surtos de fitoviroses no Brasil após seu relato no início da década de 90 (LOURENÇÃO; NAGAI, 1994), principalmente pela emergência de begomovirose em solanáceas a partir do início da década de 1990 (ZERBINI et al., 1996; RIBEIRO et al., 1998). A espécie MED apresenta menor suscetibilidade a inseticidas, habilidade em colonizar hospedeiros diferentes em comparação a MEAM1 e habilidade competitiva desta espécie, além de apresentar uma relação mutualística com o begomovírus *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) (NING et al., 2015; GHANIM; CZONESK, 2015).

A espécie *Mediterranean* foi recentemente também verificada no Estado de São Paulo e em 2016 no Estado do Paraná, tendo sido associada a plantas ornamentais (MORAES et al., 2016). Desta forma a recém-deteção e dispersão de MED no Brasil traz grandes preocupações quanto ao futuro cenário dos problemas relacionados à mosca-branca e vírus transmitidos por este inseto.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar sua eficiência e capacidade de transmissão de vírus, como o carlavírus *Cowpea mild mottle virus* (CpMMV), o crinivírus *Tomato chlorosis virus* (ToCV), e os begomovírus *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) e o *Bean golden mosaic virus* (BGMV), todos de expressão econômica em diversas culturas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Bemisia tabaci* e sua importância como vetora de vírus

A mosca-branca, *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae), é uma das mais importantes pragas, sendo cosmopolita e polífaga. Em adição aos danos diretamente causados pela sucção do floema e excreção de “honeydew”, que serve como substrato para infecções de fungos, as moscas-brancas são conhecidas principalmente como vetores de vírus (KANAKALA; GHANIM, 2015). Cinco gêneros de vírus possuem como vetor a mosca branca (*B. tabaci*): *Begomovirus*, *Crinivirus*, *Ipomovirus*, *Carlavirus* e *Torradovirus* (NAVAS-CASTILLO et al., 2011; GILBERTSON et al., 2015).

B. tabaci é um complexo de ao menos 37 espécies crípticas, que variam quanto a sua gama de hospedeiros, suscetibilidade a inseticidas, transmissão de vírus, além de aspectos moleculares (ALEMANDRI et al., 2015; KANAKALA; GHANIM, 2015; BOYKIN et al., 2013; LEE et al., 2013; TAY et al., 2012). Estas espécies crípticas, apesar de morfologicamente idênticas, apresentam isolamento reprodutivo como demonstrado por Sun et al. (2011).

A espécie MEAM1, também conhecida como biótipo B, é a de maior distribuição mundial, detectada inicialmente em poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*) na Flórida, USA (COSTA; BROWN, 1990) e no Brasil no começo de 1990, provavelmente pelo comércio internacional de plantas ornamentais (LOURENÇÃO; NAGAI, 1994). Trata-se da espécie de *B. tabaci* predominante no Brasil (MORAES et al., 2016; MARUBAYASHI et al., 2014; MARUBAYASHI et al., 2013; LIMA et al., 2000).

A espécie MED também está presente por todo o mundo (KANAKALA; GHANIN, 2015), porém a sua presença nas Américas é mais limitada, sendo primeiramente relatada no Estados Unidos em 2004 (DALTON, 2006), subsequentemente no México em 2007 (MARTINEZ-CARRILLO; BROWN, 2007), Guatemala em 2009 (BETHKE et al., 2009), Argentina e Uruguai (GRILLE et al., 2011), Costa Rica (GUEVARA-COTO et al., 2011) e mais recente no Brasil, nos

estados do Rio Grande do Sul (BARBOSA et al., 2015), São Paulo e Paraná (MORAES et al., 2016). Essa espécie tem deslocado espécies indígenas de moscas-brancas e também a espécie MEAM1 em diferentes regiões do mundo, como verificado na China (TENG et al., 2010; CHU et al., 2010), países do Mediterrâneo (GAUTHIER et al., 2014), Itália (PARRELA et al., 2012) e Israel (MAHADAV et al., 2009). Estudos indicam que sua habilidade em colonizar plantas de pimentão é significativamente maior quando comparada à espécie MEAM1 (CHU et al., 2012; SUN et al., 2013), além de sua menor suscetibilidade a inseticidas (SUN et al., 2013; LUO et al., 2010; HOROWITZ et al., 2005). Trata-se de uma excelente vetora do *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) (KANAKALA; GHANIM, 2015; GHANIM; CZONESK, 2015).

A emergência de vírus em diversas regiões pode estar relacionada à introdução de uma espécie específica de mosca-branca, fato este ocorrido no Brasil após a entrada do biótipo B (espécie MEAM1) no Estado de São Paulo. Dada à sua excelente capacidade polífaga, esta espécie possibilitou aos begomovírus saírem de seus hospedeiros naturais que eram plantas daninhas, para plantas economicamente importantes, como o tomateiro (NAVAS-CASTILLO et al., 2011), coincidindo com a emergência dos begomovírus em solanáceas (CASTILLO-URQUIZA et al., 2008; FERNANDES et al., 2008). Na China também foi verificado que o TYLCV passou a ser um vírus emergente na região após a detecção de MED, sendo esta espécie mais eficiente na transmissão deste vírus quando comparada à espécie MEAM1 (NING et al., 2015).

Em seguida serão destacados os vírus importantes no Brasil transmitidos por mosca-branca.

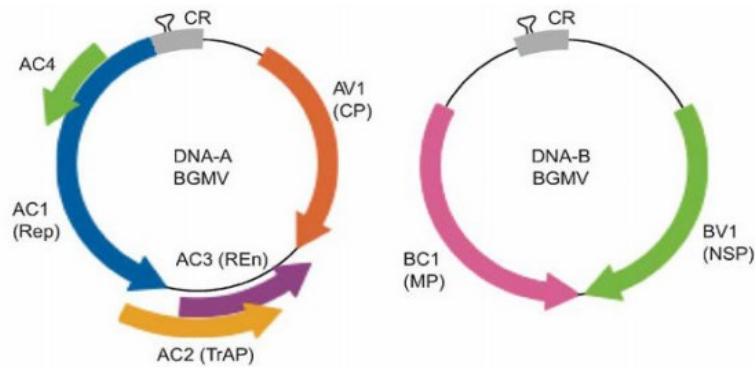
2.1.1 Gênero *Begomovirus*

Os vírus pertencentes a família *Geminiviridae* apresentam como característica marcante partículas icosaédricas geminadas e seu genoma constituído de DNA circular de fita simples (STANLEY et al., 2005). Esta família é dividida em sete gêneros segundo a classificação do Comitê Internacional de Classificação de Vírus

(ICTV): *Begomovirus*, *Becurtovirus*, *Curtovirus*, *Eragrovirus*, *Mastrevirus*, *Topocuvirus* e *Turncurtovirus*. Dentre estes gêneros, destaca-se os *Begomovirus* com 322 espécies (ICTV, 2016).

O gênero *Begomovirus* pode ser dividido em dois grupos, os que apresentam genoma monopartido, ou seja, somente o DNA A, e os que apresentam o genoma bipartido, DNA A e DNA B (Figura 1) (STANLEY et al., 2005). Os *Begomovirus*, tradicionalmente eram divididos em dois grandes grupos, em função da deriva continental. Estes são denominados de begomovirus do Novo Mundo (NW) e velho mundo (OW), aqueles presentes nas Américas e Hemisfério Ocidental que correspondente aos bipartidos e os presentes na Europa, Ásia, África e Hemisfério Oriental correspondente aos monopartidos, respectivamente (GILBERTSON et al., 2015).

Figura 1- Organização do genoma do *Bean golden mosaic virus* (Figura adaptada de Rojas et al., 2005)



O *Bean golden mosaic virus* (BGMV) e o *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) são os vírus de maior importância no Brasil (INOUE-NAGATA, LIMA, GILBERTSON, 2016).

O BGMV, causador do mosaico dourado do feijoeiro, foi relatado pela primeira vez no Brasil em 1961 (COSTA, 1965), porém não apresentava importância econômica na época. Uma década depois, com a expansão de espécies hospedeiras da mosca-branca (*Bemisia tabaci*), vetora do vírus, principalmente a

soja e o algodoeiro, o vírus disseminou-se rapidamente. A partir de 1973, esta virose passou a ser considerada a mais importante da cultura no Brasil, principalmente nos estados do Paraná e São Paulo. Atualmente continua sendo a doença causada por vírus de maior importância para a cultura, no estado do Paraná, São Paulo, Goiás e Minas Gerais (INOUE-NAGATA et al., 2016). O BGMV também é encontrado na Argentina sendo prevalente em feijoeiro (ALEMANDRI et al., 2012).

A gama de hospedeiros do BGMV é composta por *Phaseolus vulgaris*, *Glycine max*, *Canavalia eschiformis*, *Phaseolus lunatus*, *Lathyrus sativus*, *Macroptilium atropurpureum*, *Galactia striata*, *Phaseolus longepedunculatus*, *Macroptilium erythroloma*, *Nicandria physaloides*, *Malvastrum coromandelianum*, *Calopogonium mucunoides* e *P. acutifolius*, sendo as principais encontradas no campo com sintomas de mosaico as plantas pertencentes ao gênero *Phaseolus* (WALZ et al., 2015; FERNADES et al., 2009).

O BGMV é transmitido de maneira persistente circulativa não-propagativa por *B. tabaci*. De acordo com Kanakala e Ghanin (2015), para o begomovírus TYLCV cuja a transmissão é circulativa não-propagativa, foi verificado que o inseto insere o estilete na epiderme de plantas infectadas e move intracelularmente através do parênquima até o floema, no qual o vírus normalmente se encontra e é requerido para aquisição e transmissão dos vírus. Os insetos adquirem o vírus durante a alimentação do floema em plantas infectadas. O vírus move-se através do canal alimentar até o intestino e câmara filtro da mosca-branca, onde as partículas virais entram na hemolinfa e transitam para a glândula salivar acessório para transmissão durante o próximo ciclo de alimentação (KANAKALA; GHANIN, 2015). De acordo com Yuki et al. (1998), o Biótipo B transmite o BGMV eficientemente, além da New World 2 (MARCHI, 2014).

As epidemias ocasionadas pelo BGMV são frequentes, evidenciando que o controle do mosaico dourado ainda é um desafio. Até o momento não há cultivares de feijoeiro com um bom nível de resistência para o vírus. O controle químico do vetor não é muito das vezes eficaz, devido a eficiência com o qual a mosca-branca transmite o vírus e a dificuldade de controlar grandes populações em diferentes culturas e ervas daninhas (INOUE-NAGATA et al., 2016).

Uma medida utilizada em alguns estados foi a implementação de um período livre de feijão (vazio sanitário) em Goiás (GO), Distrito Federal (DF), e Minas Gerais (MG) (IN 15, DAS, MAPA, 16/06/2014), após epidemias que ocorreram nos últimos

anos, destacando as que ocorreram nas safras de 2012/2013. Para os municípios que localizam-se ao sul de GO, fica proibido o cultivo de feijão pelo período de 05 de setembro e 05 de outubro. Já para MG, DF e os municípios que localizam-se ao norte de GO, o período foi estipulado entre os dias 20 de setembro e 20 de outubro. Estas regiões do Brasil central são as de maior cultivo de feijão, e que são gravemente afetadas pelo BGMV no período de crescimento da cultura. Esta abordagem visa a pequena gama de hospedeiros do BGMV (principalmente feijão) e o fato do vírus não ser transmitido para a prole do seu vetor, a mosca-branca (INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016). Além disto, a Embrapa desenvolveu um feijão transgênico altamente resistentes à infecção pelo BGMV, porém não é resistente a outros vírus que infectam feijão, incluindo o *Cowpea mild mottle virus*, também transmitido pela mosca branca (SANTANA, 2015).

Referente aos begomovirus em tomateiro, até o momento, ao menos 14 espécies de begomovirus indígenas foram relatadas infectando a cultura no Brasil, entretanto, o ToSRV é o prevalente nas principais regiões no qual cultiva-se o tomateiro como o Distrito Federal, Minas Gerais, São Paulo e Goiás (INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016).

A gama de hospedeiro do ToSRV, além do tomateiro (*Solanum lycopersicum*) é composta por *Nicandra physaloides*, *Chenopodium album*, *C. ambrosioides*, *Amaranthus spinosus*, *Emilia sonchifolia*, *Euphorbia heterophylla*, *Phaseolus vulgaris*, *Capsicum annuum*, *Datura stramonium*, *Nicandra physaloides*, *Nicotiana clevelandii*, *N. tabacum* cv. TNN, *Solanum americanum*, *S. tuberosum*, *Nicotiniana rustica*, *N. tabacum* cv. samsun (MACEDO et al., 2015; BARBOSA et al., 2011b; SOUZA-DIAS et al., 2008).

O ToSRV é um vírus normalmente encontrado no floema e sua relação com o vetor é de maneira persistente circulativo não-propagativo (INOUE-NAGATA et al., 2016), podendo ser transmitido por espécies de mosca-branca, dentre elas *B. tabaci* MEAM1 e NW2 (MARCHI, 2014). O ToSRV pode ser adquirido e transmitido com períodos de alimentação de apenas cinco minutos, porém sua eficiência de transmissão pode aumentar a medida que aumenta-se os períodos de alimentação do inseto na planta infectada, podendo sua retenção chegar a 25 dias na espécie MEAM1 (FREITAS, 2012).

Os prejuízos causados pelo ToSRV podem chegar a 100%, principalmente quando trata-se de tomateiro de ciclo determinado (INOUE-NAGATA; LIMA;

GILBERTSON, 2016; BERGAMINHO-FILHO et al., 2016). Dentre as estratégias de controle para amenizar o problema causado pelo vírus, o controle químico do vetor é um dos métodos empregados, porém a eficiência desta estratégia é baixa quando a população do vetor é elevada. Assim, este tipo de controle deve ser utilizado visando a dispersão primária da doença, ou seja, moscas-brancas que vem virulíferas de fora da lavoura de tomate (BERGAMINHO-FILHO et al., 2016). A utilização de plantas com resistência genética é empregada para a cultura do tomateiro. No mercado há inúmeros híbridos com diferentes níveis de resistência ao ToSRV, porém estes híbridos possuem genes que conferem resistência ao *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), um begomovirus monosegmentado, diferente do ToSRV. Devido a esse fato, a resistência conferida por esses genes ao ToSRV não é completa, e quando infectada as cultivares, ainda ocorre sintomas, porém são mais suaves e faz-se necessário a utilização de outras medidas de controle (INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016; INOUE-NAGATA et al., 2016).

Outra estratégia empregada foi a implementação de um período de vazio sanitário em 2003 (IN 024, DAS, MAPA, 15/03/2003). Esse período visa reduzir a população de tomateiros, como fonte de inóculo do vírus. Porém, esta medida foi empregada oficialmente em GO a partir de 2007 e reeditada em 2011. Neste período fica proibido o cultivo de tomateiro de ciclo determinado nos meses de dezembro e janeiro, porém esta medida não é válida para tomate de ciclo indeterminado (INOUE-NAGATA et al., 2016).

2.1.2 Gênero *Carlavirus*

O gênero *Carlavirus*, família *Betaflexiviridae* tem como membro tipo o *Carnation latent virus* (CLV). Os membros deste gênero apresentam partículas alongadas e flexuosas com ao menos 650 nm de comprimento e 13 nm de diâmetro (NAGATA et al., 2003; COSTA et al., 1983; WAKI et al., 1982). Seu genoma é composto de RNA de fita simples (BRUNT; PHILLIPS, 1981). Este gênero é composto por 52 espécies de vírus, no qual são transmitidos por pulgões (HULL, 2014), com exceção de dois vírus transmitidos por mosca-branca de maneira semi-persistente, o *Cowpea mild*

mottle virus (CpMMV) e o *Melon yellowing-associated virus* (MYaV) (INOUE-NAGATA et al., 2016; GILBERTSON et al., 2015).

O CpMMV foi relatado pela primeira vez no mundo infectando naturalmente plantas de cacau, na África (ANON, 1951). Posteriormente no leste de Ghana, África, infectando *Vigna unguiculata* (BRUNT; KENTEN, 1973), subsequente em Cote d'Ivoire, Costa do Marfim em 1978 (THOUVENEL et al., 1982) e na Tailândia em 1978 (IWAKI et al., 1982), ambos infectando plantas de soja. Em tomateiro o CpMMV foi descrito na Nigéria, (BRUNT; PHILLIPS, 1981) e em Israel (ANTIGNUS; COHEN, 1987). Na Índia, o CpMMV foi relatado infectando plantas de amendoim em 1983 (IIZUKA et al., 1983). Na América do Sul, o CpMMV foi relatado na Argentina infectando feijão (PARDINA et al., 2004), soja (LAGUNA et al., 2006) e *Salvia hispânica* (CELLI et al., 2016), na Venezuela infectando *V. unguiculata* (BRITO et al., 2012) e no Brasil em feijão (COSTA et al., 1980) e soja (ALMEIDA et al., 2005).

A gama de hospedeiras do CpMMV é composta principalmente de plantas da família Fabacea (leguminosas), sendo feijão e soja as principais (MARUBAYASHI, 2006; COSTA et al., 1983). Também são hospedeiras: *Arachis hypogea*, *Canavalia ensiformis*, *Cyamopsis tetragonolobus*, *Dolichos lab lab*, *Glycine max*, *Macroptilium lathyroides*, *Phaseolus acutifolius*, *P. longepedunculatus*, *P. lunatus*, *P. vulgaris*, *Pisum sativum*, *Stizolobium deeringianum* (sin. *Mucuna deeringiana*), *Stizolobium* sp. e *Vigna unguiculata* (COSTA et al., 1983, MARUBAYASHI, 2006). Outras espécies de plantas como *Sida* sp. *Gomphrena globosa*, *Chenopodium murale*, *C. quinoa*, *Tetragonia expansae* *Nicotiana megalosiphon* foram verificadas como hospedeiras (COSTA et al., 1983).

Os sintomas ocasionados pelo CpMMV em feijão são mosaicos em forma de manchas angulares amarelas, no qual originou o nome da doença: mancha angular do feijoeiro “Jalo” (COSTA et al., 1983). Porém, o tipo e a severidade dos sintomas apresentados pela doença podem ser variáveis. Este vírus pode ser transmitido via extrato vegetal tamponado tanto para soja, quanto para feijão (COSTA et al., 1983; MARUBAYASHI, 2006), e pelo biótipo B(MEAM1) de mosca-branca (MARUBAYASHI et al., 2010) e a espécie NW2 (FAVARA et al., 2015) de maneira semi-persistente (MUNIYAPPA; REDDY, 1983). A aquisição do vírus pelo inseto pode ser realizado em curtos períodos de acesso de aquisição (PAAs) e períodos de acesso de inoculação, em até dez minutos de PAAs e dois minutos para PAIs, porém sua taxa de transmissão é baixa, podendo aumentar conforme os PAAs e

PAIs aumentam. O CpMMV pode ser transmitido por apenas um inseto, porém com baixa eficiência (MARUBAYASHI et al., 2010; COSTA et al., 1983; MUNIYAPPA; REDDY, 1983).

De acordo com Costa et al. (1983), o CpMMV não é transmitido por sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) e soja no Brasil, porém já foi verificada transmissão pelas sementes de *V. unguiculata*, *P. vulgaris* e *G. maxna* África, em Ghana (BRUNT; KENTEN, 1973). A disseminação do carlavírus por sementes de *V. unguiculata* também foi relatada na Venezuela (BRITO et al., 2012).

Diversos métodos estão disponíveis para diagnosticar o CpMMV, incluindo RT-PCR (CELLI et al., 2016), anti-soro específico (TAVASOLI et al., 2009) e testes biológicos com inoculação em plantas hospedeiras/indicadoras, como a soja BRS-132 (MARUBAYASHI, 2006).

O CpMMV é um vírus que pode causar danos de 25 a 31% em feijões do grupo Manteiga e Jalo, respectivamente (COSTA et al., 1983). Porém, de acordo com Santana (2015), plantas de feijoeiro comum em campo produzem até cinco vezes menos em comparação ao feijoeiro geneticamente modificado ao BGMV, este fato deve-se também a ocorrência de infecção mista com ambos os vírus.

2.1.3 Gênero *Crinivirus*

O gênero *Crinivirus* (Família *Closteroviridae*) é composto por 14 espécies de vírus (TZANETAKIS; MARTIN; WINTERMANTEL, 2013), porém o *Tomato chloris virus* (ToCV) e o *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV) são as únicas espécies do gênero associadas a doenças importantes ao tomateiro em diversos países (NAVAS-CASTILLO et al., 2011).

O ToCV é transmitido pelas espécies de *B. tabaci* do grupo das New World, MEAM1, MED e as duas espécies do gênero *Trialeurodes*, *vaporariorum* e *abutilonea* (ORFANIDOU et al., 2016; WINTERMANTEL; WISLER, 2006), sendo esta última espécie não verificada no Brasil. O TICV é transmitido exclusivamente por *T. abutilonea* (TZANETAKIS; MARTIN; WINTERMANTEL, 2013).

O genoma do ToCV é composto por duas moléculas de RNA de fita simples, senso positivo. As partículas dos virions são alongadas e flexuosas, com comprimentos em ao menos 800-850 nm (LIU et al., 2000).

O ToCV foi identificado pela primeira vez na Florida, EUA, infectando tomateiros em 1995, causando a doença denominada inicialmente de “yellow dwarf disorder”, atribuindo-se inicialmente a deficiências nutricionais (WISLER et al., 1998; SIMONE et al., 1996). No ano de 2008, este vírus foi relatado no Brasil, infectando plantas de tomateiro no município de Sumaré, São Paulo (BARBOSA et al., 2008). Além do Estado de São Paulo, o ToCV foi encontrado em Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Goiás e Bahia (BARBOSA et al., 2011a).

No Brasil, o ToCV infecta as culturas do tomate (BARBOSA et al., 2011), pimentão (BARBOSA et al., 2010), batata (FREITAS et al., 2012), berinjela e jiló (FONSECA et al., 2016), além de diversas plantas daninhas. Outras espécies de plantas daninhas relatadas são *Tetragonia expansa*, *Gomphrena globosa*, *Vinca rosea*, *Beta macrocarpa*, *Chenopodium capitatum*, *C. álbum*, *C. murale*, *Spinacia oleracea*, *Callistephus chinensis*, *Calendula officinalis*, *Limonium latifolium*, *Cyphomandra betacea*, *Nicotiana benthamiana*, *N. clevelandii*, *N. edwardsoni*, *N. glutinosa*, *N. megalosiphon*, *N. tabacum*, *Petunia hybrida*, *Physalis alkekengi*, *P. ixocarpa*, *P. wrightii*, *Solanum nigrum*, *S. acaule*, *Zinnia* sp., *Raphanus sativus*, *R. raphanistrum*, *Eruca sativa*, *S. americanum*, *Mazus pumilus*, *Galium spiritum*, *Phytolacca americana*, *Vicia tetrasperma*, *V. angustifolia* var. *segetilis*, *Ipomoea hederacea*, *C. ficifolium*, *Stellaria media*, *Cerastium glomeratum*, *Cardamine flexuosa*, *Trigonotis peduncularis*, *Youngia japônica*, *Sonchus asper*, *Erigeron annuus*, *Conyza canadensis* (BOITEUX et al., 2015, KIL et al., 2015; WINTERMANTEL; WISLER, 2006; TSAI et al., 2004; FONT et al., 2004;).

Os sintomas da doença denominada de “amarelão do tomateiro” ocorrem nas folhas do baixeiro, normalmente após três a quatro semanas após a infecção e caracterizam-se por principalmente por áreas cloróticas internervais. Os sintomas do ToCV por muito anos no Brasil passou despercebido, por ser confundido com deficiência nutricional de Magnésio, o que dificulta a diagnose e a disseminação do vírus (DOVAS; KATIS; AVGELIS, 2002).

A aquisição e a transmissão do ToCV pela mosca-branca ocorre em curtos períodos de tempo, embora a transmissão seja mais eficiente em períodos de alimentação maiores. As espécies que transmitem melhor o vírus são MEAM1 e

MED. Este vírus é capaz de persistir por até três dias em MEAM1 e um dia em NW1, já na espécie MED, pode persistir por até seis dias (ORFANIDOU et al., 2016; WINTERMANTEL; WISLER, 2006). O ToCV não apresenta transmissão via extrato vegetal tamponado (DOVAS; KATIS; AVGELIS, 2002) e nem por sementes (EPPO, 2005).

Vários métodos estão disponíveis para diagnosticar o ToCV, incluindo RT-PCR descrito por Dovas et al. (2002), sondas moleculares (GARCIA-CANO et al., 2010), ou anti-soro específico (JACQUEMOND et al., 2009) deste vírus. Outra maneira de identificar o ToCV é através de transmissão diferencial pelo seu vetor mosca-branca, pois este é transmitido pelas espécies de *B. tabaci* MEAM1, MED, provavelmente NW 1, NW 2, *Trialeurodes vaporariorum* e *T. abutilonea*, enquanto o TICV é transmitido exclusivamente por *T. vaporariorum* (MARCHI, 2014; TZANETAKIS; MARTIN; WINTERMANTEL, 2013).

O manejo do ToCV em tomateiro é baseado em práticas culturais e controle químico do vetor através da utilização de inseticidas. Os inseticidas podem reduzir a população do vetor, porém são ineficientes no controle da doença, pois os insetos apresentam a capacidade de transmitir o vírus antes mesmo de serem mortos. A eliminação de hospedeiros alternativos do vírus e culturas abandonadas de solanáceas devem ser adotadas, antes da implantação da cultura. Até o momento não há variedades ou híbridos comerciais de tomateiro resistentes ao ToCV no mercado (TZANETAKIS; MARTIN; WINTERMANTEL, 2013; INOUE-NAGATA et al., 2016).

2.1 *Bemisia tabaci* e seus endossimbiontes

B. tabaci abriga o endossimbionte primário e obrigatório *Portiera aleyrodidarum* (P-endosymbiont), que suplementa a dieta do inseto (THAO; BAUMANN, 2004) e diversos endossimbiontes secundários como o *Arsenophonus*, *Hamiltonella* (MORAN et al., 2005; THAO; BAUMANN, 2004), *Frittschea* (EVERETT et al., 2005), *Cardinium* (WEEKS; BREEUWER, 2003), *Rickettsia* (GOTTLIEB et al., 2006), *Wolbachia* (ZCHORI-FEIN; BROWN, 2002) e *Orientia* like organism (OLO) (BING et al., 2013). Estes endossimbiontes facultativos podem ter papel crucial na transmissão

de vírus (KLIOT et al., 2014), resistência a inseticidas (KONTSEDALOV et al., 2008), conferir melhor adaptação ao ambiente (HIMLER et al., 2011) e alterar a defesa do hospedeiro (SU et al., 2013).

Estes endossimbiontes são transmitidos de duas maneiras, transmissão vertical e horizontal. A transmissão vertical ocorre pela passagem do endossimbionte da mãe para a prole, e a transmissão horizontal ocorre durante a cópula (AHMED et al., 2013; BRUNIM, LEVY, GHANIM, 2012). A transmissão vertical é a mais comum e ocorre para todos os endossimbiontes. (BRUNIM; LEVY; GHANIM, 2012).

Em estudos populacionais de mosca-branca realizados no Brasil pôde ser demonstrado que *Hamiltonella Rickettsia* são os endossimbiontes com predominância na espécie MEAM1, além de ter sido verificada a presença de *Cardinium* e *Fritschea* (MARUBAYSHI et al., 2014). Em MED, devido a sua recente descoberta no Brasil, até o momento foi encontrado os endossimbiontes *Hamiltonella*, *Rickettsia* e *Arsenophonus* (MORAES et al., 2016).

A função da *Hamiltonella* foi descrita por Gottlieb et al. (2010), no qual a proteína GroEl produzida por este endossimbionte interage com a capa proteica (CP) do TYLCV, protegendo o vírus durante a circulação na hemolinfa da mosca-branca até que ocorra a transmissão. O mesmo não ocorre com outras proteínas GroEl. Um estudo realizado na Índia demonstra uma interação da CP do *Cotton leaf curl virus* (CLCuV) e a proteína GroEl do *Arsenophonus*, sugerindo que este endossimbionte estaria envolvido na transmissão de begomovírus por moscas do grupo Asia 2 de *B. tabaci* (RANA et al., 2012).

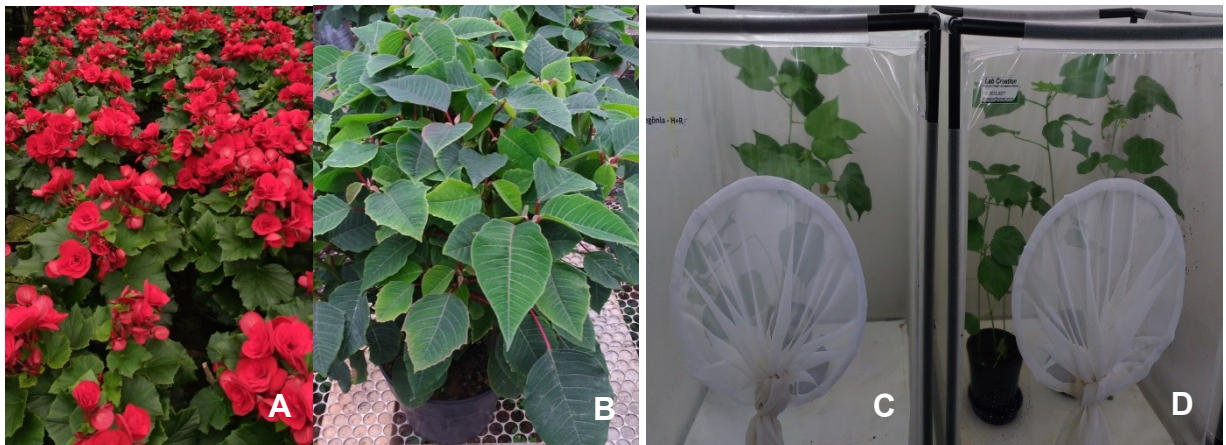
Rickettsia é outro endossimbionte envolvido na transmissão do TYLCV (KLIOT et al., 2014). Fêmeas infectadas com *Rickettsia* transmitem o TYLCV com o dobro da taxa de transmissão quando comparado com fêmeas não infectadas com a bactéria. No mesmo estudo foi demonstrado um antagonismo entre *Rickettsia* e TYLCV, com altos níveis de bactéria no “midgut” (intestino) resultando em alta concentração de partículas do vírus na “filter chamber” (câmara filtro), favorecendo o caminhar do vírus até que ocorra a transmissão.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Estabelecimento de populações de mosca-branca das espécies MED e MEAM1

Os insetos da espécie MEAM1 foram cedidos gentilmente pelo Dr. Valdir A. Yuki do Instituto Agronômico de Campinas (IAC). Quanto à espécie MED, estas populações foram coletadas na região de Mogi das Cruzes – SP (Figura 2), onde já havia sido identificada previamente (MORAES et al., 2016) e trazidas para o Laboratório de Virologia da Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu em plantas de algodão protegidas com gaiolas possuindo telas de poliéster anti-afídica. Em seguida, os insetos foram transferidos para gaiolas maiores e mantidos em salas com temperatura e iluminação controladas até o estabelecimento da população.

Figura 2- A) *Begonia* sp. e B) *Euphorbia pulcherrima*, hospedeiros originais onde foram coletadas as populações de *B. tabaci* pertencentes a espécie críptica Mediterranean. C e D: distintas populações de Mediterranean sendo mantidas isoladamente.



3.1.1 Identificação e manutenção das espécies de mosca-branca e seus endossimbiontes

A identificação dos insetos foi realizada através da análise do gene mitocondrial citocromo oxidase I (mtCOI). Primeiramente o DNA total das moscas-brancas foi extraído seguindo o protocolo modificado de Chelex (WALSH et al., 1991). Todas as amostras foram submetidas a uma reação de PCR utilizando-se os primers genéricos C1-J-2195 e L2-N-3014 (SIMON et al., 1994). A reação de PCR consistiu de volume final de 50µl (concentração final MgCl₂ 50mM, dNTP 2,5mM, oligonucleotídeos a 1µM) utilizando-se 0.5 unidades de Taq polymerase. O programa usado no termociclador consistiu em 5' a 94°C (um ciclo), 30" a 94°C, 45" a 45°C e 1' a 72°C (35 ciclos) com uma extensão final de 10' a 72°C. A presença de amplicons foi visualizada em gel de eletroforese a 0,8 % corado com brometo de etídeo. Amostras representativas das localidades que obtiveram o fragmento do mtCOI amplificado foram purificadas e enviadas para sequenciamento para assim serem comparadas entre si e com outras sequências de mosca-branca depositadas no GeneBank, utilizando-se o programa BlastN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>).

Para caracterização dos endossimbiontes, o DNA total dos insetos foi utilizado como molde para reações de PCR. A presença de *Portiera aleyrodidarum*, *Arsenophonus*, *Hamiltonella*, *Wolbachia*, *Cardinium*, *Fritschea* e *Rickettsia*, foi determinada utilizando-se oligonucleotídeos específicos que amplificam fragmentos na região 16S ou 23S rDNA (MARUBAYASHI et al., 2014).

3.2. Obtenção dos isolados virais

Os ensaios de transmissão foram realizados para os principais vírus transmitidos por mosca-branca no Brasil, o ToSRV e o BGMV, que infectam solanáceas e feijão, respectivamente, o crinivírus ToCV que infecta solanáceas e o carlavírus CpMMV que infecta feijoeiro. O isolado de ToSRV e ToCV foi coletado na região de Lins – SP, em infecção mista em tomateiro. Para separar os vírus, foi utilizada a técnica de ampliações em círculo rolante (RCA) (INOUE-NAGATA et al., 2004) + Biobalística

para o ToSRV. Natécnica de biobalística ou também referida como bombardeamento com micropartículas, os vírus estão associados a partículas de ouro inseridas com pressão no interior da célula vegetal, possibilitando a infecção viral (SANFORD et al. 1987).

Quanto ao crinivírus ToCV, este foi transmitido por *T. vaporariorum*. Um isolado de ToCV proveniente da região de Campinas, cedido pelo Dr. Valdir A. Yuki do IAC, também foi utilizado para os testes de transmissão.

O isolado de BGMV e CpMMV foi coletado na região de Londrina – PR, também em infecção mista em feijoeiro. Para separar os vírus, foram utilizadas técnicas como RCA, segundo Inoue-Nagata et al., 2004 e Biobalística para o BGMV (conforme descrito anteriormente). Foi realizada inoculação via extrato vegetal tamponado em feijoeiro Jalo para o CpMMV. Um isolado de CpMMV proveniente da região de Campinas, cedido pelo Dr. Valdir A. Yuki do IAC, também foi utilizado para os testes de transmissão.

3.3 Ensaio de eficiência de transmissão de vírus pelas espécies MED e MEAM1

Para realização dos ensaios de transmissão, utilizou-se um total de 30 plantas para a transmissão com a espécie MED e 10 plantas para a espécie MEAM1. Para transmissão do BGMV e CpMMV foi utilizado feijão cv. Jalo, e para transmissão do ToSRV e ToCV foi utilizado tomate cv. Mariana.

Os ensaios foram realizados utilizando-se adultos das espécies MED e MEAM1. Os insetos foram transferidos com auxílio de um aspirador bucal para pequenas gaiolas contendo ramos de plantas infectadas com um dos isolados virais. Estes foram mantidos em sala climatizada a 30°C no escuro por um período de acesso à aquisição (PAA) de 24 horas. Após esse PAA, as moscas-brancas foram transferidas para gaiolas contendo plântulas saudáveis, permanecendo por 24 horas, sobre as mesmas condições para o período de acesso de inoculação (PAI). Para inoculação foram utilizados 10 insetos por planta testada, transferidos para “cages” colocadas sobre as plantas. Após o PAI, pulverizou-se os inseticidas Oberon (Espiromesifeno)

+ Cartap BR 500 (Cloridrato de Cartap) em todas as plantas testadas, para que fosse possível eliminar todas as fases da mosca-branca (ovos, ninfas e adultos). Posteriormente, as plantas foram transferidas para a casa de vegetação e mantidas em gaiolas com telas anti-afídicas, temperatura de 25 a 30°C, por um período de pelo menos 30 dias para análise visual através de sintomas e análises moleculares para detectar o vírus. Paralelamente, transferiu-se moscas-brancas avirulíferas provenientes da criação para plantas saudáveis, onde permaneceram pelo mesmo período de 24 horas, sendo utilizadas como controle negativo.

Alem dos testes de transmissão, foi calculado a probabilidade de transmissão do vírus por um único inseto de acordo com Swallon (1985), segundo a fórmula $p = 1 - (1 - I)^{1/k}$, onde p = probabilidade de transmissão por um único inseto, I = proporção de plantas infectadas e k = número de insetos testados durante o PAI. Quando $p = 1$, a probabilidade de um único inseto transmitir o vírus é de 100 %.

3.3.1 Detecção dos vírus

Após a transmissão, as plantas foram mantidas em gaiolas por ao menos 30 dias, até serem submetidas à análise molecular para a detecção viral. O ToSRV e o BGMV foram detectados através da extração do DNA total das folhas utilizando o protocolo descrito por DELLAPORTA et al. (1983), seguido de RCA conforme Inoue-Nagata et al. (2004) e PCR utilizando primers degenerados para begomovirus PAL1v1978/PAR1c496 (ROJAS et al., 1993).

Para a detecção do ToCV, o RNA total foi extraído pelo método Trizol® (Invitrogen), seguido de RT-PCR utilizando os primers HS-11/HS-12 (DOVAS et al., 2002). O produto do RT-PCR foi utilizado para um nested-PCR específico para o ToCV utilizando os pares de primers ToC-5/ToC-6, conforme descrito por Dovas et al. (2002).

A detecção de CpMMV foi realizada através de inoculação em plantas de soja BRS-132, via extrato vegetal tamponado (MARUBAYASHI, 2006). Posteriormente, foi selecionado algumas plantas para serem identificadas molecularmente. A detecção foi realizada extraindo-se o RNA total utilizando o Kit Total RNA

Purification Kit (NORGEN) seguido de RT-PCR com os primers específicos CpMMV 1280-F (5' GGCGTTCCAAAAGCTGCCGAT 3') e CpMMV 1696-R (5' GGAGCCACCTTTCCAATCAA 3') desenhados com base no alinhamento de sequências de carlavírus disponíveis no GeneBank.

Amostras representativas dos vírus identificados molecularmente que obtiveram os seus respectivos fragmentos amplificados foram purificadas e enviadas para sequenciamento para serem comparadas com sequências de vírus depositadas no GeneBank, utilizando-se os programas Blastn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>), podendo assim confirmar a eficiência da nossa detecção.

4. RESULTADOS

4.1 Estabelecimento de populações de mosca-branca das espécies MED e MEAM1

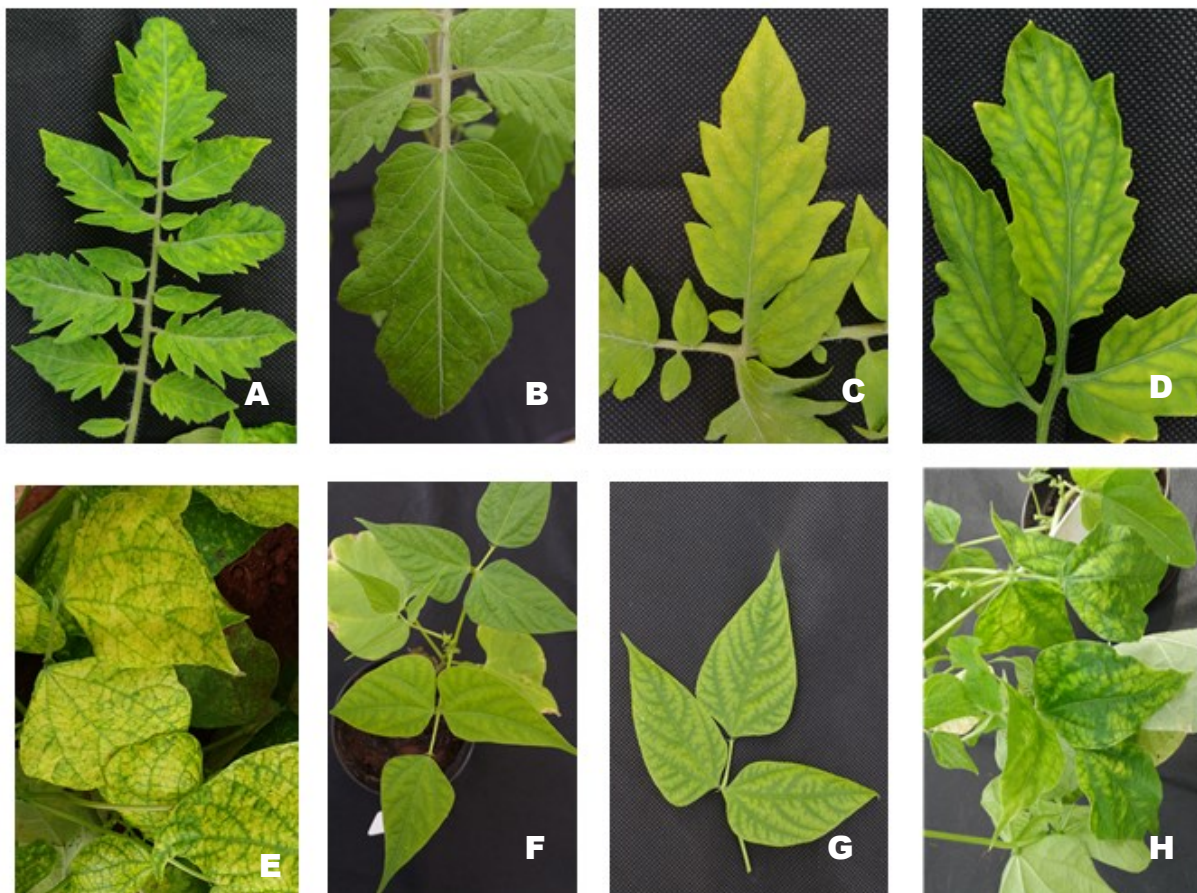
Uma colônia de mosca-branca da espécie MEAM1 e duas populações da espécie MED foram obtidas. A caracterização dos endossimbiontes destas populações foi realizada, e constatou-se que a colônia da espécie MEAM1, apresentou 98% de *Hamiltonella* e 91% de *Rickettsia* em 100 insetos analisados. A colônia de MED1 apresentou 14% de *Hamiltonella* e 29% de *Rickettsia*, já a colônia de MED2 abriga 97% de *Hamiltonella*, 33% de *Rickettsia* e 12% de *Arsenophonus*.

Seis meses após o estabelecimento de MED1, caracterizou-se novamente os endossimbiontes e foi possível observar uma mudança de 14% de *Hamiltonella* e 29% de *Rickettsia*, para 97 % e 1 %, respectivamente.

4.2. Obtenção e manutenção dos isolados

Os isolados obtidos e utilizados para os ensaios de transmissão foram: *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) + *Tomato chlorosis virus* (ToCV) Lins, ToSRV – Lins, ToCV - Lins, ToCV – Campinas, *Bean golden mosaic virus* (BGMV) + *Cowpea mild mottle virus* (CpMMV) – Londrina, BGMV – Londrina, CpMMV – Londrina e o CpMMV – Campinas (Figura 3).

Figura 3- Sintomas dos isolados utilizados nos ensaios de transmissão. A) ToSRV + ToCV – Lins, B) ToSRV – Lins, C) ToCV – Lins, D) ToCV – Campinas, E) BGMV + CpMMV – Londrina, F) BGMV – Londrina, G) CpMMV – Londrina, H) CpMMV – Campinas,



O isolado de ToCVeToSRV (Lins) apresentaram respectivamente uma identidade de 99% e 98 % com os isolados brasileiros ToCV (KT727959) e ToSRV (EU600238), respectivamente. O isolado ToCV - Campinas, apresentou uma identidade de 99% com outro isolado brasileiro de ToCV (KX398666).

O isolado de BGMVeCpMMV (Londrina) apresentaram um identidade de 99% e 97% com os isolados brasileiros BGMV (KJ939849) e CpMMV (KF554101), respectivamente.

4.3 Ensaios de transmissão em feijoeiro

Os resultados dos ensaios de transmissão utilizando as espécies de *B. tabaci* MEAM1 e MED para os vírus BGMV e CpMMV estão demonstrados na Tabela 1.

O BGMV demonstrou ser transmitido eficientemente pelas espécies MEAM1 e MED quando em infecção simples, com eficiência de transmissão de 90 % pela espécie MEAM1. As populações de MED contendo diferentes constituições de endossimbiontes apresentaram eficiência de transmissão de 53,3 % quando utilizada população a MED1 e 100 % para a MED2.

Utilizando-se a população MED1 com 97 % de *Hamiltonella* e 1 % de *Rickettsia*, foi verificada eficiência de transmissão de 100% para o BGMV.

O isolado CpMMV – Londrina foi transmitido com 100% de eficiência por MEAM1, já quando utilizada a espécie MED, a eficiência de transmissão foi de 96,6 % e 100 % para as populações MED1 e MED2, respectivamente. O isolado CpMMV – Campinas em infecção simples foi transmitido com 40 % de eficiência por MEAM1 e 70 % por MED1.

Quando em infecção mista de BGMV e CpMMV, a eficiência de transmissão do BGMV foi de 100 % quando utilizada a espécie MEAM1, já quando utilizada a espécie MED, a eficiência foi de 26,6 % e 53,3 % para MED1 e MED2, respectivamente. Já em relação ao CpMMV, ambas as espécies transmitem o vírus eficientemente, com 100 %, 96,6 % e 100 % para MEAM1, MED1 e MED2, respectivamente.

4.4. Ensaios de transmissão em tomateiro

Os ensaios de transmissão utilizando as espécies de *B. tabaci* MEAM1 e MED, eo begomovírus brasileiro ToSRV e o ToCV encontram-se na Tabela 2.

O ToSRV foi transmitido com eficiência de 80 % e 83,3 % com as populações de MEAM1 e MED2, respectivamente. Já quando se utilizou a população MED1 com 97

% de *Hamiltonella* e 1 % de *Rickettsia*, esta transmitiu o begomovírus com eficiência de 83,3 %.

Quanto ao ToCV – Lins, MEAM1 transmitiu o vírus com eficiência de 80 %, já para MED, a eficiência de transmissão foi de 83,3 % e 90 % para MED1 e MED2, respectivamente. Referente ao ToCV – Campinas, a eficiência de transmissão pelas espécies foram de 80 %, 53,3 % e 83,3% para MEAM1, MED1 e MED2, respectivamente.

Quando o ToSRV e o ToCV estão em infecção mista, a eficiência de transmissão do crinivírus quando utilizada a espécie MEAM1 foi de 100 %, já quando utilizou-se MED1 e MED2, a eficiência foi de 93,3 % e 83,3 %, respectivamente. Em relação ao ToSRV, a espécie MEAM1 transmitiu o begomovírus com 100 % de eficiência. Já quando utilizado MED1 e MED2, a eficiência de transmissão foi de 73,3 % e 76,6 %, respectivamente.

Tabela 1. Ensaios de transmissão de vírus pelas espécies crípticas de *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 e Mediterranean.

Vírus	Hospedeiro ^a	Vetores ^b						
		MEAM1 ^d	p ^c	MED1 ^e	p ^c	MED2 ^f	p ^c	
BGMV + CpMMV - Londrina	BGMV	Feijão cv. Jalo	10/10 (100)	1	8/30 (26,6)	0,03	16/30 (53,3)	0,07
	CpMMV	Feijão cv. Jalo	10/10 (100)	1	29/30 (96,6)	0,29	30/30 (100)	1
	CpMMV	Feijão cv. Jalo	9/10 (90)	0,21	17/30 (56,6)	0,08	30/30 (100)	1
	BGMV	Feijão cv. Jalo	9/10 (90)	0,21	16/30 (53,3)	0,07	30/30 (100)	1
	CpMMV– Campinas	Feijão cv. Jalo	4/10 (40)	0,05	21/30 (70)	0,11	NT	

^aHospedeiros utilizados para aquisição e transmissão

^bNúmero de plantas infectadas/testadas; número em parentêses indica a porcentagem de infecção

^cProbabilidade de transmissão por um inseto (SWALLOW, W. H. (1985))

^dConstituição de MEAM1 : 98 % de *Hamiltonella* e 91 % de *Rickettsia*; ^eConstituição de MED1 : 14 % de *Hamiltonella*, e 29 % de *Rickettsia*; ^f MED2 : 97 % de *Hamiltonella*, 33 % de *Rickettsia* e 12 % de *Arsenophonus*

NT – Não testado

Tabela 2. Ensaios de transmissão de vírus pelas espécies crípticas de *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 e Mediterranean.

Vírus	Hospedeiro ^a	Vetores ^b						
		MEAM1 ^d	p ^c	MED1 ^e	p ^c	MED2 ^f	p ^c	
ToSRV + ToCV – Lins	ToSRV	Tomate cv. Mariana	10/10 (100)	1	22/30 (73,3)	0,12	23/30 (76,6)	0,14
	ToCV	Tomate cv. Mariana	10/10 (100)	1	28/30 (93,3)	0,24	25/30 (83,3)	0,17
	ToCV	Tomate cv. Mariana	8/10 (80)	0,15	25/30 (83,3)	0,17	27/30 (90,0)	0,21
	ToSRV	Tomate cv. Mariana	8/10 (80)	0,15	NT		25/30 (83,3)	0,17
	ToCV - Campinas	Tomate cv. Mariana	8/10 (80)	0,15	16/30 (53,3)	0,07	20/30 (66,6)	0,11

^aHospedeiros utilizados para aquisição e transmissão

^bNúmero de plantas infectadas/testadas; número em parentêses indica a porcentagem de infecção

^cProbabilidade de transmissão por um inseto (SWALLOW, W. H. (1985))

^dConstituição de MEAM1 : 98 % de *Hamiltonella* e 91 % de *Rickettsia*; ^eConstituição de MED1 : 14 % de *Hamiltonella*, e 29 % de *Rickettsia*; ^f MED2 : 97 % de *Hamiltonella*, 33 % de *Rickettsia* e 12 % de *Arsenophonus*

NT – Não testado

5. DISCUSSÃO

A mosca-branca no Brasil está implicada a grandes problemas na agricultura, tanto como praga e principalmente como vetora de importantes vírus. Até a década de 90 havia no Brasil somente as espécies de *B. tabaci* indígenas do grupo New World, também chamadas de biótipo A e que são constituídas de duas espécies, NW1 e NW2 (BARBOSA et al., 2014; MARCHI, 2014; MARUBAYASHI et al., 2013). As epidemias relacionadas a vírus eram esporádicas, ocorrendo basicamente na cultura do feijoeiro, uma vez que as moscas-brancas nativas tem preferência a colonizar esta cultura (COSTA; OLIVERA; SILVA; 1977).

Com a detecção da espécie MEAM1 no início da década de 90, referida na época como biótipo B (LOURENÇÃO; NAGAI, 1994), ocorreu um aumento vertiginoso de begomovírus infectando solanáceas, principalmente em tomateiro (FARIA et al., 2000; RIBEIRO et al., 1998; ZERBINI et al., 1996), isto porque MEAM1 é altamente polífaga e realizou a transferência dos vírus nativos, de plantas daninhas a hospedeiros cultivados, como o tomateiro (NAVAS-CASTILLO et al., 2011).

No Brasil hoje, a espécie predominante de *B. tabaci* é a MEAM1 (MORAES et al., 2016; MARUBAYASHI et al., 2014; MARUBAYASHI et al., 2013) sendo a responsável pelas grandes perdas relacionadas a vírus em diversas culturas. Entretanto, temos atualmente um novo cenário, pois a espécie de *B. tabaci* invasiva *Mediterranean* foi detectada no país, inicialmente no Estado do Rio Grande do Sul (BARBOSA et al., 2015) e em 2015 no Estado de São Paulo e 2016 no Estado do Paraná (MORAES et al., 2016). Esta espécie traz grandes preocupações quanto ao futuro cenário dos problemas relacionados à mosca-branca, pois MED é conhecida por ser excelente vetora de begomovírus como o TYLCV (KANAKALA e GHANIM, 2015; NING et al., 2015; GHANIM; CZONESK, 2015), possuir baixa suscetibilidade aos inseticidas comumente utilizados na agricultura (GHANIM; KONTSEDALOV, 2009; HOROWITZ et al., 2005) e está causando em diversos países o desaparecimento de espécies indígenas, bem como da invasiva MEAM1 (SUN et al., 2013; LIU et al., 2007).

A interação entre o vírus TYLCV e a espécie MED é muito bem estudada em diversos países, dada a importância que este vírus possui na Europa e

Ásia. Sabe-se que o TYLCV necessita da “heat shock protein 70” (HSP 70) do inseto para mediar a translocação do vírus na câmara filtro e intestino do inseto (KANAKALA; GHANIM, 2015; GHANIM, 2014) e da proteína GroEL produzida pelo endossimbionte secundário *Hamiltonella* para mediar a translocação do vírus na hemolinfa até as glândulas salivares do inseto (GOTTLIEB et al., 2010). A espécie MED é muito mais eficiente na transmissão do TYLCV, quando comparada à espécie MEAM1 (LI et al., 2010).

O TYLCV ainda não foi relatado no Brasil, porém já foi detectado na Venezuela, nosso país vizinho (ZAMBRANO et al., 2007), tornando-se uma séria ameaça a culturas como o tomateiro e pimentão, hospedeiras do TYLCV (KIL et al., 2016). Além disso, neste trabalho foi verificado que a espécie MED é excelente vetora de vírus importantes em solanáceas como o ToSRV, hoje espécie predominante na região Sudeste brasileira (INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016; INOUE-NAGATA et al., 2016), do crinivirus ToCV que conjuntamente com o ToSRV vem causando grandes prejuízos, pois, frequentemente é encontrado em infecções mistas com este vírus (MACEDO et al., 2014), do BGMV que é a espécie de begomovirus predominante em feijoeiro e do CpMMV que nestes últimos anos vem sendo frequentemente encontrado em infecções mistas com o BGMV nesta cultura (SANTANA, 2015).

Também foi verificado que a composição de endossimbiontes nas populações da espécie *Mediterranean* podem influenciar a eficiência de transmissão de vírus. Em populações de MED, foi observado que a ausência ou baixa frequência do endossimbionte *Hamiltonella* implica em uma baixa eficiência de transmissão do TYLCV (SU et al., 2013; GOTTLIEB et al., 2010). Estes dados reforçam a importância da GroEL produzida pela *Hamiltonella* na eficiência de transmissão do TYLCV pela espécie MED (GHANIM; CZONESK, 2015; KANAKALA; GHANIM, 2015).

No nosso caso pode-se observar que a presença do endossimbionte *Hamiltonella* na população MED2 confere melhor eficiência de transmissão de vírus brasileiros, porém para o BGMV e CpMMV esta população que possui 97 % de *Hamiltonella*, 33 % de *Rickettsia* e 12 % de *Arsenophonus* foi mais eficiente na transmissão quando comparada a MED1. Entretanto, os resultados para os vírus ToSRV e ToCV transmitidos para o tomateiro foram

eficientemente transmitidos por ambas populações de MED, independentemente da constituição de endossimbiontes presentes.

Os endossimbiontes secundários *Hamiltonella* e *Rickettsia* são muito comuns em populações de MEAM1, enquanto que para MED é comum a presença dos endossimbiontes secundários *Hamiltonella*, *Rickettsia*, *Cardinium*, *Wolbachia* e *Arsenophonus* (GUEGUEN et al., 2010; MARUBAYASHI et al., 2014; GHANIM; CZONESK, 2015; MORAES et al., 2016). No Brasil há uma variabilidade muito grande de endossimbiontes secundários encontrados em MED, possivelmente explicada por introduções diversas e recentes da espécie no país (MORAES et al., 2016). Além disto como observado em nosso trabalho, a manutenção da população de *Mediterranean* em um hospedeiro específico pode manipular e alterar a constituição de endossimbiontes (SU et al., 2016).

O que se pode verificar é que apesar da habilidade distinta de transmissão de vírus pelas populações de MED estudadas, ambas podem ser consideradas boas vetoras dos vírus estudados, sendo assim um fato preocupante quanto ao aspecto de MED como vetora de vírus encontrados no Brasil.

6. CONCLUSÃO

A espécie *Mediterranean* é excelente vetora dos vírus BGMV e CpMMV para feijoeiro e do ToSRV e ToCV para tomateiro

A constituição de endossimbiontes presentes na mosca-branca influenciou a transmissão de alguns vírus testados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, M. Z. et al. Evidence for Horizontal Transmission of Secondary Endosymbionts in the *Bemisia tabaci* Cryptic Species Complex. **PLoS One**, v. 8, e53084, 2013.

ANON. Viruse and virus disease of cocoa; new viruses. **Report of the West African Cocoa Research Institute**, v. 50, p. 9-10, 1951.

ANTIGNUS, Y.; COHEN, S. Purification and some properties of a new strain of cowpea mild mottle virus in Israel. **Annals of Applied Biology**, v. 110, p. 563-569, 1987.

ALEMANDRI, V. P. et al. Incidence of begomoviruses and climatic characterisation of *Bemisia tabaci*- geminivirus complex in soybean and bean in Argentina. **Agriscientia**, v. 29, p. 31-39, 2012.

ALEMANDRI, V. et al. Three Members of the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) Cryptic Species Complex Occur Sympatrically in Argentine Horticultural Crops. **Journal of Economic Entomology**, p. 1-9, 2015.

ALMEDA, A. M. R. et al. Detection and partial characterization of a carlavirus causing stem necrosis of soybean in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 191-194, 2005.

BARBOSA, J. C. et al. First report of Tomato chlorosis virus infecting tomato crops in Brazil. **Journal of Phytopathology**, v. 161, p. 884-886, 2008.

BARBOSA, J. C.; TEIXEIRA, L. D. D.; REZENDE, J. A. First Report on the Susceptibility of Sweet Pepper Crops to *Tomato chloris virus* in Brazil. **Plant Disease**, v. 94, p. 374, 2010.

BARBOSA, J. C. et al. Occurrence of *Tomato chloris virus* in tomato crops in five Brazilian states. **Tropical Plant Pathology**, v. 32, p. 256-258, 2011.

BARBOSA, J. C. et al. Characterization and Experimental Host Range of a Brazilian Tomato Isolate of *Tomato severe rugose virus*. **Journal of Phytopathology**, v. 159, p. 644-646, 2011b.

BARBOSA, L. F. et al. Indigenous American species of the *Bemisia tabaci* complex are still widespread in the Americas. **Pest Management Science**, v. 70, p. 1440-1445, 2014.

BARBOSA, L. F. et al. First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. **Pest Management Science**, v. 71, p. 501-504, 2015.

BERGAMINHO-FILHO, A. et al. The importance of primary inoculum and area-wide disease management to crop health and food security. **Food Security**, v. 8, p. 221-238, 2016.

BETHKE J, BYRNE F, HODGES G, MCKENZIE C, SHATTERS R. First record of the Q biotype of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, in Guatemala. **Phytoparasitica**, v. 37, p. 61-64, 2009.

BING, X. et al. Characterization of a Newly Discovered Symbiont of the Whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 2, p. 569-575, 2013.

BOITEUX, L. S. et al. Wild radish (*Raphanus* spp.) and garden rocket (*Eruca sativa*) as new Brassicacea hosts of Tomato chlorosis virus in South America. **Plant Disease**, v. 100, p. 1027, 2015.

BOYKIN, L. M. et al. Is agriculture driving the diversification of the *Bemisia tabaci* species complex (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae)?: Dating, diversification and biogeographic evidence revealed. **BMC Evolutionary Biology**, v. 13, p. 228-238, 2013.

BRITO, M. et al. First report of *Cowpea mild mottle carlavirus* on yardlong bean (*Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis*) in Venezuela. **Viruses**, v. 4, p. 3804-3811, 2012.

BRUNIM, M.; KONTSEDALOV, S.; GHANIM, M. *Rickettsia* influences thermotolerance in the whitefly *Bemisia tabaci* B biotype. **Insect Science**, v. 18, p. 57-66, 2011.

BRUNT, A. A.; KENTEN, R. H. Cowpea mild mottle, a newly reconized virus infecting cowpeas (*Vigna unguiculata*) in Ghana. **Annual of Aplied Biology**, v. 74, p. 67-74, 1973.

BRUNT, A. A.; PHILLIPS, S. 'Fuzzy vein', a disease of tomate (*Lycopersicon esculentum*) in Western Nigeria indiced by cowpea mild mottle virus. **Tropical Agricultural**, v. 58, p.177-180, 1981.

CASTILLO-URQUIZA G, BESERRA J, BRUCKNER F, LIMA A, VARSANI A, ALFENAS-ZERBINI P, et al. Six novel begomoviruses infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. **Archives of Virology**, v. 153, p. 1985-1989, 2008.

CELLI, M. G. et al. First report *Cowpea mild mottle virus* in chia (*Salvia hispanica*). **Crop Protection**, v. 89, p. 1-5, 2016.

CHU, D., ZHANG, Y.; WAN, F. Cryptic invasion of the exotic *Bemisia tabaci* biotype Q occurred widespread in Shandong province of China. **Florida Entomologist**, v. 93, p. 203-207, 2010.

CHU, D. et al..Effects of host, temperature and relative humidity on competitive displacement of two invasive *Bemisia tabaci* biotypes [Q and B]. **Insect Science**, v. 19, p. 595-603, 2012.

COSTA, A. S. Three whitefly-transmitted virus diseases of beans in São Paulo, Brazil. **Plant Protection Bulletin**, v. 13, p. 121-130, 1965.

COSTA, A. S.; OLIVEIRA, A. R.; SILVA, D. M. Transmissao mecânica do mosaico do tomateiro. **Summa Phytopathology**, v. 3., p. 194-200, 1977.

COSTA, A.S.; GASPAR, J.O.; VEGA, J. Mosaico angular do feijoeiro jalo causado por um vírus do grupo S transmitido por mosca branca. In: Resumos do I Seminário Sobre Pragas e Doenças do Feijoeiro, Campinas, 1980.

COSTA, A. S. et al. Mosaico angular do do feijoeiro Jalo causado por um "Carlavirus" transmitido pela mosca branca *Bemisia tabaci*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 8, p. 325-337, 1983.

COSTA, H.S.; BROWN, J.K. Variability in biological characteristic isozyme patterns and virus transmission among populations of *Bemisia tabaci* Genn.in Arizona. **Phytopathology**, v.80, p.888, 1990.

DALTON, R. The Christmas invasion.**Nature**, v.443, p. 898–900, 2006.

DOVAS, C. I.; KATIS, N.I.; AVGELIS, A. D. Multiplex detection associated with epidemics of a yellowing disease of tomato in Greece. **Plant Disease**, v. 86, p. 1345-1349, 2002.

EVERETT, K. et al. Novel chlamydiae in whiteflies and scale insects: endosymbionts 'Candidatus Fritschea bemisiae' strain Falk and 'Candidatus *Fritschea eriococci*' strain Elm. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, p. 1581-1587, 2005.

FARIA, J. C. et al. Situação atual das geminiviroses no Brasil.**Fitopatologia Brasileira**, v. 25, p. 125-137, 2000.

FAVARA, G. M. et al. Transmissão de Carlavirus pela *Bemisia tabaci* espécie New World 2 e Middle East-Asia Minor 1. In: 27° Congresso de Iniciação Científica da Unesp, 2015, Botucatu (SP), **Resumo**. Botucatu, 2015.
file:///C:/Users/Gigabyte%20Vinicius/Downloads/RESUMO_42855657814_ptg.pdf

FERNANDES, F. et al. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. **Virus Genes**, v. 36, p. 251-258, 2008.

FERNANDES, F. R. et al. Three distinct begomoviruses associated with soybean in central Brazil. Arch. **Virology**, v. 154, p. 1567-1570, 2009.

FONSECA et al. First Report of *Tomato chloris virus* Infecting Eggplant and Scarlet Eggplant in Brazil. **Plant Disease**, v. 100, p. 867, 2016.

FONT, M. I. et al. Current Status and Newly Discovered Natural Hosts of *Tomato infectious virus* and *Tomato chloris virus* in Spain. **Plant Disease**, v. 88, p. 82, 2004.

FREITAS, D.M. **Tomato severe rugose virus (ToSRV) e Tomato chlorosis virus (ToCV): relações com Bemisia tabaci biótipo B e eficiência de um inseticida no controle da transmissão do ToSRV.** 2012. 74 p. Tese (Doutorado em Ciências/Fitopatologia) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agronomia “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2012.

FREITAS, D. M. S. et al. First Report of *Tomato chlorosis virus* in Potato in Brazil. **Plant Disease**, v. 96, p. 593, 2012.

GARCIA-CANO, E. et al. Resistance to Tomato chlorosis virus in wild tomato species that impair virus accumulation and disease symptom expression. **Phytopathology**, v. 100, p. 582-592, 2010.

GHANIM, M.; KONTSEDALOV, S. Suscetibility to insecticides in the Q biotype of *Bemisia tabaci* is correlated with bacterial symbiont densities. **Pest Management Science**, v. 65, p. 939-942, 2009.

GHANIM, M. A review of the mechanisms and components that determine the transmission efficiency of *Tomato yellow leaf curl virus* (Geminiviridae; Begomovirus) by its whitefly vector. **Virus Research**, 2014.

GHANIM, M.; CZONESK. Interactions Between the Whitefly *Bemisia tabaci* and Begomoviruses: Biological and Genomic Perspectives. **Management of Insect Pest to Agriculture**, 2015. DOI 10.1007/978-3-319-24049-7_7

GAUTHIER, N. et al. Genetic structure of *Bemisia tabaci* Med populations from home-range countries, inferred by nuclear and cytoplasmic markers: impact on the distribution of the insecticide resistance genes. **Pest Management Science**, v. 70, p. 1477–1491, 2014.

GUEGEUN, G. et al. Endosymbiont metacommunities, mtDNA diversity and the evolution of the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) species complex. **Molecular Ecology**, v. 19, p. 4365-4378, 2010.

GILBERTSON, R. L. et al. Role of the Insect Supervectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the Emergence and Global Spread of Plant Viruses. **Annual Review Virology**, v. 2, p. 67-93, 2015.

GOTTLIEB, Y. et al. Identification and localization of a *Rickettsia* sp in *Bemisia tabaci* (Homoptera : Aleyrodidae). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 5, p. 3646-3652, 2006.

GOTTLIEB, Y. et al. The Transmission Efficiency of *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* by the Whitefly *Bemisia tabaci* Correlated with the Presence of a Specific Symbiotic Bacterium Species. **Journal of Virology**, p. 9310-9317, 2010.

GRILLE, G. et al. First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Argentina and Uruguay. **Phytoparasitica**, v.39, p. 235–238, 2011.

GUEVARA-COTO, J. et al. *Bemisia tabaci* Biotype Q is present in Costa Rica. **European Journal of Plant Pathology**, v. 131, p. 167-70, 2011.

HADJISTYLLI, M.; RODERICK, G. K.; BROWN, J. K. Global Population Structure of a Worldwide Pest and Virus Vector: Geneyic Diversity and Sibling Species Group. **PLoS ONE**11(11): e0165105, 2016.

HIMLER, A. et al. Rapid Spread of a Bacterial Symbiont in an Invasive Whitefly Is Driven by Fitness Benefits and Female Bias. **Science**, v. 332, n. 6026, p. 254-256, 2011.

HOROWITZ, A. et al. Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 58, n. 4, p. 216-225, 2005.

HULL, R. Plant Virology. Elsevier, 4° ed., 2014.

ICTV (Int. Comm. Taxon. Viruses) (2015). *Virus Taxonomy: 2015 Release*. Master Species List 29 (MSL#29), Exec. Comm. 46 (EC 46), Montreal, Can., July 2014, email ratif.2015 (MSL #29). www.ictvonline.org/virustaxonomy.asp?msl_id=29

INOUE-NAGATA, A. K. et al. A simple method for cloning the begomovirus genome using the bacteriophage π 29 DNA polymerase. *Journal of Virological Methods*, Amsterdam, v. 116, p. 209-211, 2004.

INOUE-NAGATA, A. K.; LIMA, M. F.; GILBERTSON, R. L. A review of geminivirus (begomovirus) diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. **Horticultura Brasileira**, v. 34, p. 008-018, 2016.

INOUE-NAGATA, A. et al. Vírus transmitidos por moscas-brancas no Brasil: vetores, principais doenças e manejo. **Revisao Anual de Patologia de Plantas**, v. 24, p. 1-23, 2016.

IWAKI, M. et al. Whitefly transmission and some properties of cowpea mild mottle virus on soybean in Thailand. **Plant Disease**, v. 66, p. 365-368, 1982.

IIZUKA, N. et al. Natural occurrence of a strain of cowpea mild mottle virus on groundnut (*Arachis hypogaea*) in India. **Phytopathologische Zeitschrift**, v. 109, p. 245-253, 1983.

JACQUEMOND, M. et al. Serological and molecular detection of *Tomato chlorosis virus* and *Tomato infectious chlorosis virus* in tomato. **Plant Pathology**, v. 58, p.210-220, 2009.

KANAKALA, S.; GHANIN, M. Advances in the Genomics of the Whitefly *Bemisia tabaci*: An Insect Pest and Virus Vector. **Short Views on Insect Genomics and Proteomics**, v. 3, p. 19-40, 2015.

KIL, E. J. et al. Identification of natural weed hosts of Tomato chlorosis virus in Korea by RT-PCR whit root and tissues. **European Journal of Plant Pathology**, v. 142, p. 419-426, 2015.

KIL, E. J. et al. *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV): a seed-transmissible geminivirus in tomatoes. **Scientific Reports**, 8;6:19013,2016.

KLIOT, A. et al. Implication of the Bacterial Endosymbiont *Rickettsia* spp. in Interactions of the Whitefly *Bemisia tabaci* with *Tomato Yellow Leaf Curl Virus*. **Journal of Virology**, v. 88, n. 10, p. 5652-5660, 2014.

KONTSEDALOV, S. et al. The presence of *Rickettsia* is associated with increased susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera : Aleyrodidae) to insecticides. **Pest Management Science**, v. 64, n. 8, p. 789-792, 2008.

LAGUNA, I. G. et al. *Cowpea mild mottle virus* Infecting Soybean Crops in Northwestern Argentina. **Fitopatologia Brasileira**, v. 33, p. 317, 2006.

LEE, W. et al. Taxonomic Status of the *Bemisia tabaci* Complex (Hemiptera: Aleyrodidae) and Reassessment of the Number of Its Constituent Species. **PLoS One**, v. 8, 8:e63817 2013.

LI, M. et al. Transmission of Tomato Yellow Leaf Curl Virus By two invasive biotypes and Chinese indigenous biotype of the whitefly *Bemisia tabaci*. **International Journal of Pest Management**, v. 56, p. 275-280, 2010.

LIMA, L. H. C. et al. Survey of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotypes in Brazil using RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 781-785, 2000.

LIU, S.S., DE BARRO, P.J., XU, J., LUAN, J.B., ZANG, L.S., RUAN, Y.M.; WAN, F. H. Asymmetric mating interactions drivewidespread invasion and displacement in a whitefly. **Science**, v. 318, p. 1769–1772, 2007.

LIU, H. Y.; WISLER, G. C.; DUFFUS, J. E. Particle lengths of whitefly-transmitted criniviruses. **Plant Disease**, v. 84, p. 803-805, 2000.

LOURENÇÃO, A.L.; NAGAI, H. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo. **Bragantia**, v.53, n.1, p.53-59, 1994.

LUO, C. et al. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* biotype Q (Hemiptera: Aleyrodidae) from China. **Crop Protection**, v. 29, n. 5, p. 429-434, 2010.

MACEDO, M. A. et al. High incidence of *Tomato chlorosis virus* alone and in mixed infection with begomovirus in two tomato fields in the Federal District and Goiás state, Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, p. 449-452, 2014.

MACEDO, M. A. et al. Host range and whitefly transmission efficiency of *Tomato severe rugose virus* and *Tomato golden vein virus* in tomato plants. **Tropical Plant Pathology**, v. 40, p. 405-409, 2015.

MAHADAV, A. et al. Thermotolerance and gene expression following heat stress in the whitefly *Bemisia tabaci* B and Q biotypes. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 39, n. 10, p. 668-676, 2009.

MARCHI, B. R. **Associação de begomovírus e crinivírus com Bemisia tabaci espécie New World 2 e Trialeurodes vaporariorum**. 2014. 71 p.

Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) –Universidade Estadual Paulista “Julio de Measquita Filho”, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

MARTINEZ-CARRILLO, J.; BROWN, J. First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in southern Sonora, Mexico. **Phytoparasitica**, v. 35, p. 282-284, 2007.

MARUBAYASHI, J. M. **Compea mild mottle virus: transmissao, circulo de hospedeiras e resposta à infecção de cultivares IAC de feijão e soja**. 2006. 29p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Produção Agrícola) – Instituto Agronomico, Campinas, 2006.

MARUBAYASHI, J. M.; YUKI, V. A.; WUTKE, E. B. Transmissao do Cowpea mild mottle virus pela mosca branca *Bemisia tabaci* biótipo B para plantas de feijão e soja. **Summa Phytopathologica**, v. 36, p. 158-160, 2010.

MARUBAYASHI, J. M. et al. At least two indigenous species of the *Bemisia tabaci* complex are present in Brazil. **Journal of Applied Entomology**, v. 137, p. 113-121, 2013.

MARUBAYASHI, J. M. et al. Diversity and Localization of Bacterial Endosymbionts from Whitefly Species Collected in Brazil. **PloS ONE**, v. 9, e108363, 2014.

MORAES, L. A. et al. POPULATIONAL DYNAMICS OF *Bemisia tabaci* MEDITERRANEAN SPECIES (BIOTYPE Q) IN BRAZIL AND VIRUS TRANSMISSION. In: XXVII CONGRESSO BRASILEIRO DE VIROLOGIA, 2016, Pirenópolis (GO), **Resumo**. Pirenópolis, 2016.

MORAN, N. et al. Evolutionary relationships of three new species of Enterobacteriaceae living as symbionts of aphids and other insects. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 6, p. 3302-3310, 2005.

MUNIYAPPA, V.; REDDY, D. V. R. Transmission of cowpea mild mottle virus by *Bemisia tabaci* in a nonpersistent manner. **Plant Disease**, v. 67, p. 391-393, 1983.

NAGATA, T. et al. Isolation of a novel carlavirus from melon in Brazil. **Plant Pathology**, v. 52, p. 797, 2003.

NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVÉ, E.; SÁNCHEZ-CAMPOS, E. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, US, v. 49, p. 219-248, 2011.

NING, W. et al. Transmission of *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* by *Bemisia tabaci* as Affected by Whitefly Sex and Biotype. **Scientif Reports**, v. 5, p. 10744, 2015.

ORFANIDOU, C. G. et al. Transmission of *Tomato chlorosis virus* (ToCV) by *Bemisia tabaci* Biotype Q and Evaluation of Four Weed Species as Viral Sources. **Plant Disease**, v. 100, p. 2043-2049, 2016.

PARDINA, P.E.R. et al. First record of *Cowpea mild mottle virus* in bean crops in Argentina. **Australasian Plant Pathology**, v.33, p. 129-130, 2004.

PARRELLA, G. et al. Invasion of the Q2 mitochondrial variant of Mediterranean *Bemisia tabaci* in southern Italy: possible role of bacterial endosymbionts. **Pest Management Science**, v. 70, n. 10, p. 1514-1523, 2014.

RANA, V.S. et al. *Arsenophonus* GroEL interacts with CLCuV and is localized in midgut and salivary gland of whitefly *B. tabaci*. **PLoS One** 7:e42168, 2012.

RIBEIRO, S.G.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; FERNANDES, J.J.; FARIA, J.C.; LIMA, M.F.; GILBERTSON, R.L.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; ZERBINI, F.M. Widespread occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with the new biotype of the whitefly vector. **Plant Disease**, v. 82, p. 830-834, 1998.

ROCHA, K. C. G. et al. Ocorrência e variabilidade genética do *Tomato severe rugose virus* em tomateiro e pimentão no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v.36, p.222-227, 2010.

ROJAS, M.R. et al. Use of degenerate oligonucleotídeos in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. **Plant Disease**, v. 77, p. 340-347, 1993.

ROJAS, M.R. et al. Exploiting chinks in the plant's armor: Evolution and emergence of geminiviruses. **Annual Review Phytopathology**, v 43, p.361–394, 2005.

SANFORD, J. C. et al. Delivery of substances into cells tissues using a particle bombardment process. **Particulate Science Technology**, v. 5, p. 27-37, 1987.

SANTA, M. V. **DANOS DO *Cowpea mild mottle virus* (CpMMV) E DE MOSCA-BRANCA (*Bemisia tabaci* Genn.) NO FEIJOEIRO-COMUM GENETICAMENTE MODIFICADO RESISTENTE AO *Bean golden mosaic virus***.2015. 99 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitossanidade) – Universidade Federal de Goiás, Goiania, 2015.

SIMONE, G. W. et al. A new whitefly-vectored closterovirus of tomato in Florida.**Proc. Fla. Tom. Inst.**, pp. 71–74, 1996.

SOUZA-DIAS, J. A. C. et al. *Tomato severe rugose virus*: another begomovirus causing leaf deformation and mosaic symptoms on potato in Brazil. **Plant Disease**, v. 92, p. 487, 2008.

STANLEY, J. Geminiviridae. *IN*: FAUQUET, C.M. et al. **Virus Taxonomy. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**, London, Elsevier/Academic Press; p.301-326, 2005.

SU, Q. et al. Insect symbiont facilitates vector acquisition, retention, and transmission of plant virus. **Scientific Reports**, v. 3, p. 1-6, 2013.

SUN, Q. et al. Facultative symbiont *Hamiltonella* confers benefits to *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), an invasive agricultural pest worldwide. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 46, n. 6, p. 1265-1271, 2013.

SUN, D.B. et al. [Competitive displacement between two invasive whiteflies: insecticide application and host plant effects](#). **Bulletin Entomological Research**, v. 103, n. 3, p. 344-353, 2013.

SWALLOW, W. H. Group testing for estimating infection rates and probabilities of disease transmission. **Phytopathology**, v. 75, p. 882-889, 1985.

TAVASOLI, M.; SHAHRAEEN, N.; GHORBANI, S. H. Serological and RT-PCR detection of *cowpea mild mottle* carlavirus infecting soybean. **Journal of General and Molecular Virology**, v. 1, p. 7-11, 2009.

TAY, W. T. et al. Will the Real Bemisia tabaci Please Stand Up? **PLoS One**, v. 7, e50550, 2012.

TENG, X.; WAN, F.; CHU, D. *Bemisia tabaci* biotype q dominates other biotypes across China. **Florida Entomologist**, v. 93, n. 3, p. 363-368, 2010.

THAO, M.; BAUMANN, P. Evolutionary relationships of primary prokaryotic endosymbionts of whiteflies and their hosts. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 6, p. 3401-3406, 2004.

THOUVENEL, J. C.; MONSARRAT, A.; FAUQUETE, C. Isolation of cowpea mild mottle virus from diseased soybeans in the Ivory Coast. **Plant Disease**, v. 66, p. 336-337, 1982.

TSAI, W. S. et al. First report of the occurrence of Tomato chlorosis virus and Tomato infectious chlorosis virus in Taiwan. **Plant Disease**, v. 88, p. 311, 2004.

TZANETAKIS, I. E.; MARTIN, R. R.; WINTERMANTEL, W. M. Epidemiology of criniviruses: an emerging problem in world agriculture. **Frontiers in Microbiology**, 2013. (doi: 10.3389/fmicb.2013.00119)

WALZ, D. M. et al. Identificação de Hospedeiros Alternativos da Família Fabaceae ao Mosaico Dourado do Feijoeiro. In: V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA, 2015, Londrina (PR), **Resumo**. Disponível em <<http://pdf.blucher.com.br/s3-sa-east-1.amazonaws.com/biochemistryproceedings/vsimbbtec/22115.pdf>> Acesso em 06 de novembro de 2016.

WEEKS, A.R.; BREEUWER, J.A.J. A new bacterium from the Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides phylum that causes sex ratio distortion. **Insect Symbiosis II**.p. 165-176, 2003.

WINTERMANTEL, W. M.; WISLER, G. C. Vector Specificity, Host Range, and Genetic Diversity of Tomato chloris virus. **Plant Disease**, v. 90, p. 814-819, 2006.

WISLER, G. C. et al. Tomato chloris virus: a new whitefly-transmitted, phloem-limited, bipartite closterovirus of tomato. **Phytopathology**, v. 88, p. 402-409, 1988.

YUKI, V. A. et al. Transmissão Experimental do Vírus do Mosaico Dourado do Feijoeiro por *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring. **An. Soc. Entomol. Brasil**, v. 27, p. 675-678, 1998.

ZAMBRANA, K. et al. First Report of *Tomato yellow leaf curl virus* in Venezuela. **Plant Disease**, v. 91, p. 768, 2007.

ZERBINI, F. M. et al. Um novo geminivírus isolado de tomateiro (*L. esculentum*) em Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, p. 430, 1996.

ZCHORI-FEIN E, BROWN J. Diversity of prokaryotes associated with *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 95, n. 6, p. 711-718, 2002.