

CÍNTIA SABINO DE OLIVEIRA

**TRANSMISSÃO DE BEGOMOVÍRUS POR *Bemisia tabaci* MEDITERRANEAN E
LEVANTAMENTO DE ESPÉCIES CRÍPTICAS E VÍRUS ASSOCIADOS EM
ESTUFAS DE PIMENTÃO E TOMATE NO ESTADO DE SÃO PAULO**

Botucatu

2024

CÍNTIA SABINO DE OLIVEIRA

**TRANSMISSÃO DE BEGOMOVÍRUS POR *Bemisia tabaci* MEDITERRANEAN E
LEVANTAMENTO DE ESPÉCIES CRÍPTICAS E VÍRUS ASSOCIADOS EM
ESTUFAS DE PIMENTÃO E TOMATE NO ESTADO DE SÃO PAULO**

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

Orientador: Prof.^a Dr.^a Renate Krause
Sakate

Coorientador(a): Dr.^a Angélica Maria
Nogueira

Botucatu

2024

O48t

Oliveira, Cíntia Sabino de

Transmissão de begomovírus por Bemisia tabaci
Mediterranean e levantamento de espécies crípticas e vírus
associados em estufas de pimentão e tomate no estado de São
Paulo / Cíntia Sabino de Oliveira. -- Botucatu, 2024
64 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu
Orientadora: Renate Krause Sakate
Coorientadora: Angélica Maria Nogueira

1. Mosca branca. 2. Begomovírus. 3. Crinivírus. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título:

TRANSMISSÃO DE BEGOMOVÍRUS POR Bemisia tabaci MEDITERRANEAN E LEVANTAMENTO DE ESPÉCIES CRÍPTICAS E VÍRUS ASSOCIADO EM ESTUFAS DE PIMENTÃO E TOMATE NO ESTADO DE SÃO PAULO

AUTORA: CINTIA SABINO DE OLIVEIRA

ORIENTADORA: RENATE KRAUSE SAKATE

COORDINADORA: ANGÉLICA MARIA NOGUEIRA PORTILHO

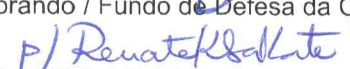
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Agronomia (Proteção de Plantas), pela Comissão Examinadora:



Prof.^a Dr.^a RENATE KRAUSE SAKATE (Participação Presencial)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu UNESP



Pesquisador Dr. EDUARDO SILVA GORAYEB (Participação Presencial)
Pós-Doutorando / Fundo de Defesa da Citricultura



Prof. Dr. GABRIEL MADOGGIO FAVARA (Participação Virtual)
Pós-Doutorando - Departamento de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas

Botucatu, 26 de fevereiro de 2024.

À minha família,

Dedico

AGRADECIMENTOS

Aos meus amados pais, Raquel e Josino, por todo o amor, confiança, reconhecimento e apoio incondicional, pelo incentivo e investimento na minha educação.

À minha irmã, Camila, por ser minha melhor amiga, parceira e por me apoiar nos em todos os momentos e com quem tenho as melhores conversas e risadas.

À minha família, por todo o carinho, cuidado e torcida.

À Prof.^a Dr.^a Renate Krause Sakate, por toda orientação, dedicação, amizade, ensinamentos e apoio à minha formação, desde a graduação.

À minha coorientadora, Dr.^a Angélica Maria Nogueira, por todo carinho, amizade, paciência ao me ensinar e sempre me ajudar e me apoiar tanto.

Aos meus companheiros de laboratório, Caroline Martinez, Gabriel Favara, Julio Marubayashi e Leonardo Dovigo, pela amizade e por toda a ajuda nos experimentos. Aos colegas de departamento Luana Melo, Luiz Bonilha, Marcos Pedroza e Rafaela Vargas, pela amizade e companhia.

Aos funcionários do Departamento de Proteção Vegetal, em especial aos técnicos Marcelo e Vanessa e ao Nivaldo e Lázaro pelo suporte.

A todos os meus professores, por todo conhecimento transmitido e carinho e dedicação ao ensinar.

Aos porteiros da Fazenda Experimental Lageado, por me receberem com um sorriso, deixando as manhãs mais leves e alegres.

À minha amiga, Milena Sousa, pela amizade. Às minhas amigas de graduação, Juliana, Letícia, Maria Elisa e Yasmin, por toda amizade e apoio.

Aos produtores rurais que dispuseram do seu tempo e nos receberam de portas abertas para as coletas e por compartilhar seu conhecimento de campo.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, por todo o suporte e apoio estrutural, que permitiu o desenvolvimento deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de Mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil – CAPES – Código de financiamento 001, e com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) processo nº 2019/18639-4.

“Se procurar bem, você acaba encontrando não a explicação (duvidosa) da vida, mas a poesia (inexplicável) da vida”.

ANDRADE, C. D. Corpo. Posfácio: Maria Esther Maciel. 1. ed. São Paulo: Companhia das Letras, 2015. p. 59.

RESUMO

As moscas brancas do complexo de espécies crípticas *Bemisia tabaci* causam severos danos na agricultura devido ao seu hábito polífago e por serem vetoras de diversos vírus, como dos gêneros *Begomovirus* e *Crinivirus*. No Brasil, *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1) é a espécie críptica predominante desde 1990. A espécie críptica *B. tabaci* Mediterranean (MED) foi detectada no país em 2014, e desde então, altas infestações do inseto têm sido reportadas em estufas de solanáceas em várias regiões do estado de São Paulo. Após a invasão de *B. tabaci* MED, muitas dúvidas surgiram sobre a epidemiologia das doenças causadas por vírus transmitidos por mosca branca. Os principais objetivos do trabalho foram avaliar a eficiência de transmissão dos begomovírus tomato severe rugose virus (ToSRV) e tomato rugose mosaic virus (ToRMV) para plantas de tomate e do bean golden mosaic virus (BGMV) para plantas de feijão, por *B. tabaci* MEAM1 e quatro populações de *B. tabaci* MED, e verificar a incidência de espécies crípticas de mosca branca e vírus associados em estufas de tomate e pimentão no estado de São Paulo. Os resultados demonstraram que *B. tabaci* MEAM1 é uma excelente vetora de begomovírus e foi capaz de transmitir o ToSRV e o ToRMV para tomateiros e o BGMV para feijoeiro com alta eficiência. *B. tabaci* MED não foi capaz de transmitir o ToSRV e o ToRMV para plantas de tomate. Apenas uma população de *B. tabaci* MED foi capaz de transmitir BGMV para uma planta de feijão, o que demonstra que a espécie pode transmitir o vírus com uma baixa eficiência. Ao avaliar a aquisição dos vírus pelo inseto, observou-se que tanto *B. tabaci* MEAM1 como *B. tabaci* MED são capazes de adquirir o ToSRV, ToRMV e BGMV. Para verificar o avanço da espécie críptica MED e vírus em ambiente de cultivo protegido de tomate e pimentão, foram feitas coletas de folhas e moscas brancas em diferentes municípios produtores no estado de São Paulo. Os resultados demonstraram predominância de *B. tabaci* MED nas duas culturas, maior incidência de crinivírus em tomate do que em pimentão e ausência de begomovírus nas estufas analisadas. Esses resultados corroboram com os dados obtidos nos ensaios de transmissão e aquisição, e sugerem que a prevalência de *B. tabaci* MED pode alterar o cenário de ocorrência de vírus nessas culturas no estado de São Paulo.

Palavras-chave: begomovírus; crinivírus; *Bemisia tabaci*; *Solanum lycopersicum*; *Capsicum annuum*.

ABSTRACT

Whiteflies from the *Bemisia tabaci* cryptic species complex are polyphagous and can cause severe damage in agriculture. They are vectors of several viruses, such as the belonging to the *Begomovirus* and *Crinivirus* genera. In Brazil, *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1) has been the predominant cryptic species since 1990. The cryptic species *B. tabaci* Mediterranean (MED) was detected in the country in 2014, and since then, high insect infestations have been reported in solanaceous greenhouses in several regions of São Paulo state. After the invasion of *B. tabaci* MED, many doubts arose about the epidemiology of diseases caused by whitefly-transmitted viruses. The main objectives of the work were to evaluate the transmission efficiency of the begomovirus tomato severe rugose virus (ToSRV) and tomato rugose mosaic virus (ToRMV) to tomato plants, and the bean golden mosaic virus (BGMV) to common bean plants, by *B. tabaci* MEAM1 and four populations of *B. tabaci* MED. The incidence of cryptic species of *B. tabaci* and associated viruses in tomato and pepper greenhouses in São Paulo state was also evaluated. The results demonstrated that while *B. tabaci* MEAM1 is an excellent vector of begomovirus and was able to transmit these three virus with high efficiency, *B. tabaci* MED was not able to transmit ToSRV and ToRMV to tomato plants. Only one population of *B. tabaci* MED was able to transmit BGMV to one common bean plant, which demonstrates that the species can transmit the virus but with low efficiency. When evaluating the acquisition of viruses by the insect, it was observed that both *B. tabaci* MEAM1 and *B. tabaci* MED are capable to acquire ToSRV, ToRMV, and BGMV. To verify the advancement of MED cryptic species and viruses in tomato and pepper under protected cultivation environment, collections of leaves and whiteflies were made in different producing municipalities in São Paulo state. The results demonstrated a predominance of *B. tabaci* MED, a higher incidence of crinivirus in tomatoes than in peppers, and the absence of begomovirus in the greenhouses analyzed. These results corroborate the data obtained with transmission and acquisition assays and suggest that the prevalence of *B. tabaci* MED may change the scenario of virus occurrence in these crops in São Paulo state.

Keywords: begomovirus; crinivirus; *Bemisia tabaci*; *Solanum lycopersicum*; *Capsicum annuum*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 1 – Populations of *Bemisia tabaci* Mediterranean in São Paulo state are not good vectors of Brazilian begomoviruses

Figure 1 - Detection of ToSRV in <i>B. tabaci</i> MEAM1 and MED-SI (A) and confirmation of the identity of each whitefly population (B)	33
Figure 2 - Detection of ToRMV in <i>B. tabaci</i> MEAM1 and MED-SI (A) and confirmation of the identity of each whitefly population (B)	33
Figure 3 - Detection of BGMV in <i>B. tabaci</i> MEAM1 and MED-SI (A) and confirmation of the identity of each whitefly population (B)	34

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 – Populations of *Bemisia tabaci* Mediterranean in São Paulo state are not good vectors of Brazilian begomoviruses

Tabela 1 – Transmission rates of tomato severe rugose virus (ToSRV) and tomato rugose mosaic virus (ToRMV) to tomato plants and bean golden mosaic virus (BGMV) to common bean plants by <i>Bemisia tabaci</i> MEAM1 and <i>B. tabaci</i> MED-SI.....	31
Tabela 2 – Transmission rates of tomato severe rugose virus (ToSRV) and tomato rugose mosaic virus (ToRMV) to tomato plants and bean golden mosaic virus (BGMV) to common bean plants by <i>Bemisia tabaci</i> MEAM1 and <i>B. tabaci</i> MED-Spt, MED-Bot and MED-Ita.....	32

Capítulo 2 – Ocorrência de *Bemisia tabaci* e vírus associados em estufas de tomate e pimentão no estado de São Paulo

Tabela 1 – Detecção de espécies crípticas de <i>B. tabaci</i> e vírus associados em estufas de tomate em municípios no estado de São Paulo.....	51
Tabela 2 – Detecção de espécies crípticas de <i>B. tabaci</i> e vírus associados em estufas de pimentão em municípios no estado de São Paulo.....	52

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	21
CAPITULO 1 - POPULATIONS OF <i>Bemisia tabaci</i> 23	
MEDITERRANEAN IN SÃO PAULO STATE ARE NOT GOOD	
VECTORS OF BRAZILIAN BEGOMOVIRUSES.....	
1.1 INTRODUCTION.....	24
1.2 MATERIAL AND METHODS.....	26
1.2.1 Whitefly populations.....	26
1.2.2 Virus inoculum sources.....	27
1.2.3 Transmission of ToSRV, ToRMV and BGMV by <i>B. tabaci</i> MEAM1 and MED populations.....	28
1.2.4 Virus detection in whiteflies.....	29
1.2.5 Construction of infectious clones of ToSRV-SP isolate.....	30
1.2.6 Prevalence of <i>B. tabaci</i> species and associated begomoviruses in tomato greenhouses.....	30
1.3 RESULTS.....	30
1.3.1 Begomovirus transmission by <i>B. tabaci</i> MED populations from São Paulo State.....	30
1.3.2 Detection of the <i>Hamiltonella</i> endosymbiont in the MED-SI and MED-Spt populations.....	32
1.3.3 Acquisition efficiency of ToSRV and ToRMV by <i>B. tabaci</i> MEAM1 and MED-SI.....	32
1.3.4 Occurrence of <i>Bemisia tabaci</i> cryptic species and begomoviruses in tomato greenhouses in Pirajuí county, São Paulo state.....	34
1.4 DISCUSSION.....	34
FUNDING.....	38
REFERENCES.....	39
CAPÍTULO 2 – OCORRÊNCIA DE <i>Bemisia tabaci</i> E VÍRUS EM	
ESTUFAS DE TOMATE E PIMENTÃO NO ESTADO DE SÃO	
PAULO.....	43
2.1 INTRODUÇÃO.....	45
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	48

2.2.1	Coletas.....	48
2.2.2	Identificação da espécie críptica de mosca branca.....	48
2.2.3	Extração de ácidos nucleicos de plantas e detecção dos vírus.....	49
2.3	RESULTADOS.....	50
2.4	DISCUSSÃO.....	54
2.5	CONCLUSÃO.....	56
	REFERÊNCIAS.....	57
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61
	REFERÊNCIAS.....	63

INTRODUÇÃO GERAL

Popularmente conhecida como mosca branca *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) é um complexo que compreende mais de 45 espécies crípticas, morfologicamente idênticas e geneticamente distintas (Rehman *et al.*, 2021). Amplamente distribuídas, apenas algumas dessas espécies são consideradas pragas. No Brasil, estão presentes espécies nativas como a *B. tabaci* New World 1 (NW1) e *B. tabaci* New World 2 (NW2), também conhecidas por biótipo A (Marubayashi *et al.*, 2013), que atualmente não causam grandes danos, e espécies invasoras de importância agrícola, como *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1, biótipo B) e *B. tabaci* Mediterranean (MED, biótipo Q). Além dos danos diretos pela alimentação no floema, causam perdas por meio da secreção do “honeydew”, que serve de substrato para fungos, reduzindo a taxa fotossintética, a produtividade e a qualidade dos frutos (Horowitz *et al.*, 2020). São excelentes insetos vetores de vírus dos gêneros *Begomovirus*, *Crinivirus*, *Ipomovirus*, *Torradovirus*, *Carlavirus*, *Polerovirus* e *Cytorhabdovirus* (Naveed *et al.*, 2023). O gênero *Begomovirus* inclui mais de 440 espécies (Fiallo-olivé *et al.*, 2021), e representam 90% dos vírus transmitidos por mosca branca (Gilbertson *et al.*, 2015).

O primeiro relato de *B. tabaci* no Brasil ocorreu nos anos 20, na Bahia (Bondar, 1928). No entanto, este inseto não causava grandes prejuízos para a agricultura, sendo considerada uma praga secundária, com alguns surtos esporádicos de mosaico dourado do feijoeiro, causado por bean golden mosaic virus (BGMV) no feijão (*Phaseolus vulgaris*). A hipótese é de que, até o início da década de 1990, os espécimes de *B. tabaci* presentes eram os nativos das Américas e não possuíam culturas agrícolas como principais plantas hospedeiras (Barbosa *et al.*, 2014). Esse cenário mudou rapidamente em meados dos anos 90, quando a espécie *B. tabaci* MEAM1, foi introduzida no Brasil (Lourencao; Nagai, 1994). A partir desse momento, a espécie MEAM1 foi disseminada por todo o território nacional em um curto período de tempo, onde sua incidência aumentou significativamente na cultura do tomate (*Solanum lycopersicum*) (Ribeiro *et al.*, 1998; Inoue-Nagata *et al.*, 2016), aumentando também a ocorrência de vírus dessa cultura, uma vez que seu hábito polífago permitiu que os vírus migrassem de seus hospedeiros nativos para as plantas cultivadas (Navas-Castillo *et al.*, 2011). Ainda hoje, *B. tabaci* MEAM1 é a espécie predominante, associada a epidemias de begomovírus no país (Moraes *et al.*, 2018). Dentre os que

ocorrem no Brasil, destacam-se o tomate severe rugose virus (ToSRV), tomate mottle leaf curl virus (ToMoLCV) e o BGMV.

No Brasil, a espécie críptica *B. tabaci* MED foi relatada pela primeira vez no Rio Grande do Sul em 2014, e mais tarde no estado de São Paulo em 2017 (Moraes *et al.*, 2018). É importante ressaltar que a classificação taxonômica destes insetos vem sendo discutida nestes últimos anos, e há uma proposição de que MED seja considerada como *Bemisia tabaci* sensu strictu por ter sido primeiramente identificada por Gennadius na Grécia (Tay *et al.*, 2012; Brown; Paredes-Montero; Stocks, 2023), enquanto MEAM1 passaria a ser chamada de *Bemisia argentifolli* Bellows & Perring (Bellows *et al.*, 1994; Brown; Paredes-Montero; Stocks, 2023).

Sabe-se que diferentes espécies do complexo de *B. tabaci* podem transmitir o mesmo vírus com diferentes eficiências de transmissão, de acordo com o hábito alimentar e preferência pelo hospedeiro (Jiang *et al.*, 2004). Dessa forma, questionamentos acerca da epidemiologia de doenças virais surgiram com a introdução de *B. tabaci* MED no território brasileiro. MEAM1 é conhecida por transmitir begomovírus desde sua introdução no Brasil. Estudos demonstram que MED transmite o ToSRV com menor eficiência que MEAM1, além de gerar menor número de adultos em plantas infectadas com este vírus (Gorayeb *et al.*, 2020). Em um levantamento realizado entre os anos de 2013 e 2017 em cultivo de solanáceas, observou-se que o ToSRV é o begomovírus predominante, encontrado em amostras de pimentão, batata (*Solanum tuberosum*) e tomate (Mituti *et al.*, 2019). No mundo, MED é apontada como uma excelente vetora do crinivírus tomato chlorosis virus (ToCV), e na China, a distribuição do vírus foi acompanhada da dispersão de MED pelo território (Shi *et al.*, 2018). No Brasil, MED também é excelente vetora do ToCV para o tomateiro (Bello *et al.*, 2019).

Para melhor compreender essa interação entre as espécies crípticas de mosca branca e a transmissão de vírus, o presente trabalho foi dividido em dois capítulos. O primeiro capítulo teve como objetivo avaliar a eficiência de transmissão dos begomovírus ToSRV e o tomate rugose mosaic virus (ToRMV) para plantas de tomate e de BGMV para plantas de feijão, por *B. tabaci* MEAM1 e por quatro diferentes populações de *B. tabaci* MED do estado de São Paulo. O capítulo 2 buscou avaliar a ocorrência de espécies crípticas de *Bemisia tabaci* e a incidência dos vírus associados em estufas de tomate e pimentão em diferentes municípios do estado de São Paulo.

CAPÍTULO 1

POPULATIONS OF *Bemisia tabaci* MEDITERRANEAN IN SÃO PAULO STATE ARE NOT GOOD VECTORS OF BRAZILIAN BEGOMOVIRUSES¹

Angélica Maria Nogueira¹, Cíntia Sabino de Oliveira¹, Vinicius Henrique Bello², Gabriel Madoglio Favara¹; Eduardo Vicentin¹, Julio Massaharu Marubayashi¹, Caroline da Cruz Martines¹, Luis Fernando Maranhão Watanabe³, Tarsiane Mara Carneiro Barbosa⁴, Daniel de Lima Alvarez¹, Regiane Cristina de Oliveira¹, Francisco Murilo Zerbini⁴, Jorge Alberto Marques Rezende², Renate Krause-Sakate^{1*}

¹Departamento de Proteção Vegetal, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brazil

²Departamento de Fitopatologia e Nematologia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, São Paulo, Brazil

³BIOTROP, Soluções Biológicas, Lucas do Rio Verde, Mato Grosso, Brazil

⁴Departamento de Fitopatologia/Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, Brazil

Corresponding author: Renate Krause Sakate (renate.krause@unesp.br)

Angélica Maria Nogueira and Cíntia Sabino de Oliveira contributed equally to this work.

¹ Capítulo redigido de acordo com as normas do periódico **Plant Pathology**

Abstract

Begomoviruses cause losses in several essential crops around the world. The *Bemisia tabaci* cryptic species MEAM1 and MED are efficient vectors of begomoviruses. MEAM1 has been the predominant species in Brazil since the mid-1990s. MED was detected in Brazil in 2014, and since then, high insect infestations have been reported, mainly in greenhouse production of solanaceous crops. In this study, we compared the transmission efficiency of the begomoviruses tomato severe rugose virus (ToSRV) and tomato rugose mosaic virus (ToRMV) to tomato plants and bean golden mosaic virus (BGMV) to common bean plants by a population of MEAM1 and four populations of MED. *B. tabaci* MEAM1 efficiently transmitted ToSRV and ToRMV to tomato and BGMV to common bean plants. *B. tabaci* MED populations did not transmit ToSRV and ToRMV to tomato plants. Only one population of *B. tabaci* MED transmitted BGMV with efficiency of 3.3%. PCR analysis indicated that *B. tabaci* MED can acquire ToSRV, ToRMV, and BGMV after a 24 h acquisition access period. Furthermore, some greenhouse tomato plantings from São Paulo state were surveyed for the presence of viruses and whiteflies, and *B. tabaci* MED were predominant, whereas begomoviruses were absent. Our results demonstrate that populations of *B. tabaci* MED from São Paulo state are inefficient vectors of begomoviruses, being able to acquire the virus but do not transmit them to plants. Understanding this interaction is important and suggests that the spread of *B. tabaci* MED could change the epidemiological scenario of begomoviruses in areas where this insect predominates.

1.1 INTRODUCTION

Begomoviruses are classified in the genus *Begomovirus* of the family *Geminiviridae* and comprise the largest group of whitefly-transmitted viruses. Members of this family have a unique particle morphology of twinned (geminata) icosahedra, and possess one or two circular, single-stranded (ss) DNA genomic components (Fiallo-Olivé *et al.*, 2020). Based on genomic features and phylogeny, begomoviruses are divided into two groups: Old World (OW) encompassing Europe, Africa, Asia, and Oceania and New World (NW) comprising the Americas. The NW begomoviruses are mostly bipartite, with DNA-A and DNA-B genomic components of approximately 2.5–

2.6 kb in size (Fiallo-Olivé *et al.*, 2020). In Brazil, only NW begomoviruses have been reported infecting tomato crops (Souza *et al.*, 2022). Begomoviruses are transmitted in a persistent circulative manner by the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Czosnek *et al.*, 2017). In addition to transmitting begomoviruses, *B. tabaci* is also able to transmit viruses from the genera *Crinivirus*, *Ipomovirus*, *Carlavirus*, *Polerovirus*, *Torradovirus*, and *Cytorhabdovirus* (Ghosh and Ghanim, 2021)

The whitefly *Bemisia tabaci* is a complex of at least 45 genetically distinct cryptic species (Rehman *et al.*, 2021) differentiated by biochemical or molecular polymorphism markers and biological features such as preferential host, capacity to cause plant disorders, attraction of natural enemies, response to insecticides, endosymbiont constitution and plant virus transmission capabilities (Horowitz *et al.*, 2005). *B. tabaci* was officially reported in Brazil in 1928 in the state of Bahia (Bondar, 1928). The indigenous whiteflies (*B. tabaci* New World, biotype A) have driven 'since the emergence of the virus in the 1960s. Populations of whiteflies in solanaceous crops remained low until the early 1990s when *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1, biotype B, *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring) (Bellows *et al.*, 1994)) was reported in São Paulo state (Lourenção and Nagai, 1994). Its rapid dissemination across the country and adaptability to colonize solanaceous plants caused the emergence of begomoviruses in tomato crops (Ribeiro *et al.*, 1998). *B. tabaci* MEAM1 is an excellent vector of tomato severe rugose virus (ToSRV), tomato mottle leaf curl virus (ToMoLCV) and bean golden mosaic virus (BGMV), the most important begomoviruses infecting, respectively, tomato and common bean crops in Brazil (Bello *et al.*, 2019; Souza *et al.*, 2022). *B. tabaci* MEAM1 is still the predominant cryptic species throughout the Brazilian territory (Fernandes *et al.*, 2022).

In 2014-2015, a second invasion of an exotic whitefly occurred in Brazil, with *B. tabaci* Mediterranean (MED, biotype Q; *Bemisia tabaci sensu stricto* (Tay *et al.*, 2012) being reported in the South and Southeast region of the country (Moraes *et al.*, 2018). Outbreaks of *B. tabaci* MED have become prevalent in vegetable crops, mainly sweet peppers (*Capsicum annuum*) and cucumbers (*Cucumis sativus*) cultivated in greenhouses, in São Paulo and Paraná states. These infestations have posed significant challenges in managing the insect population (Bello *et al.*, 2020; Gorayeb *et al.*, 2021).

Regarding virus transmission, a colony of *B. tabaci* MED was established by our group with specimens collected from begonias in 2015 from the municipality of Santa

Isabel in São Paulo state. The whiteflies were able to efficiently transmit ToSRV and the crinivirus tomato chlorosis virus (ToCV) to tomato plants, as well as BGMV and the carlavirus cowpea mild mottle virus (CPMMV) to common bean plants (Bello *et al.*, 2019). Experiments conducted later with whiteflies from the same colony indicated a significant reduction in the efficiency of ToSRV transmission (Gorayeb *et al.*, 2020). However, specimens of *B. tabaci* MED from the same colony continued to exhibit high transmission efficiency for ToCV and CPMMV (Bello *et al.*, 2021; Vicentin *et al.*, 2022).

To better understand the significance of *B. tabaci* MED as a vector of begomoviruses in Brazil, this study aimed to compare the transmission efficiency of ToSRV, ToRMV, and BGMV by a population of *B. tabaci* MEAM1 and four populations of *B. tabaci* MED. We also investigated the acquisition efficiency of these begomoviruses by *B. tabaci* MEAM1 and *B. tabaci* MED. Moreover, we conducted surveys for whitefly transmitted viruses on tomato greenhouses where *B. tabaci* MED was the predominant species. The results obtained contribute to a better understanding of the epidemiology of whitefly transmitted viruses following the introduction of *B. tabaci* MED in Brazil.

1.2 MATERIALS AND METHODS

1.2.1 Whitefly populations

The *B. tabaci* MEAM1 population used in this study was initially collected in January 2015 from collard (*Brassica oleracea* L.) plants in Campinas municipality, São Paulo state, Brazil. Since then, the colony has been maintained on collard plants in insect-proof cages in the greenhouse. Four different *B. tabaci* MED populations collected in different regions of São Paulo were used in this study. *B. tabaci* MED populations were named according to the collection locations: MED-SI was collected in 2015 from begonia plants (*Begonia* sp.) in Santa Isabel county, MED-Spt was collected in 2018 from sweet pepper plants in São Pedro do Turvo county, MED-Bot was collected in 2021 from poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*) plants in Botucatu county and MED-Ita was collected in 2022 from sweet pepper plants in Itapeva county. *B. tabaci* MED-SI and MED-Bot populations were reared on cotton plants and MED-Spt on sweet pepper plants. Nonviruliferous adults of each population were maintained in insect-proof cages in different greenhouses at the Department of Plant Protection,

FCA-UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil. The MED-Ita population was collected, tested to confirm MED whitefly species as described below and immediately used for the transmission assay.

Periodically, 50 insects from each population were randomly collected to evaluate the purity of the colonies. Total genomic DNA from individual whiteflies was extracted according to a Chelex protocol (Moraes *et al.*, 2018) followed by polymerase chain reaction (PCR)-based amplification of a microsatellite locus that differentiates *B. tabaci* MEAM1 and MED using the Bem23 F and Bem23R primer pair (Skaljac *et al.*, 2010). The DNA of 50 and 20 insects were used to check the frequency of the *Hamiltonella* endosymbiont in the MED-SI and MED-Spt populations, respectively, using genus-specific primers (Zchori-Fein and Brown, 2002). In addition, to confirm the identification of the whitefly species, two individuals from each population were tested by sequencing of a portion of the mitochondrial cytochrome oxidase I (mtCOI) gene using universal primers C1-J-2195 and L2-N-3014 (Simon *et al.*, 1994). The whitefly mtCOI sequences were deposited in GenBank.

1.2.2 Virus inoculum sources

To investigate the transmission efficiency of native bipartite begomoviruses by different MED populations, tomato plants infected with ToSRV and ToRMV and common bean plants infected with BGMV were used as inoculum sources for the transmission experiments.

Three distinct ToSRV isolates were tested: ToSRV-[BR-Pir1-05] (GenBank access number MG837738), ToSRV-SP and ToSRV-ES. Isolates ToSRV-SP and ToSRV-ES were collected, respectively, from field-infected tomato plants located in Campinas county, São Paulo, Brazil (in January 2017) and Venda Nova do Imigrante county, Espírito Santo, Brazil (in September 2021). The BGMV-SP isolate was collected from field-infected common bean plants in Mogi Mirim county, São Paulo, Brazil (in April 2021) and maintained in common beans plants (cv. Jalo) through *B. tabaci* MEAM1-mediated transmission. Infected common bean plants were maintained in insect-proof cages in a greenhouse. The identification of ToSRV-SP, ToSRV-ES, ToRMV-[BR-Ub1-96], and BGMV-SP isolates was confirmed by total DNA extraction (Doyle and Doyle, 1987), followed by PCR using GoTaq Green Master Mix kit (Promega) and the

begomovirus universal primer set PAL1v1978/PAR1c496 (Rojas *et al.*, 1993). The amplicons were then sequenced to confirm the identification.

To obtain tomato plants infected with each viral isolate, two or three-week-old tomato plants cv. Santa Clara were inoculated separately by biolistics with infectious clones corresponding to the DNA-A and DNA-B of ToSRV-[BR-Pir1-05] and ToRMV-[BR-Ub1-96] and with DNA of the ToSRV-SP and ToSRV-ES isolates obtained by rolling circle amplification (RCA) (Inoue-Nagata *et al.*, 2004). Basically, about 1 µg of each DNA component were mixed with 5mg of gold particles (BioRad), 100 µl of 0.05 M spermidine and 100 µl of 1 M CaCl₂ using a vortex. After 10 minutes of incubation at room temperature, DNA-coated microparticles were centrifuged for 15 s, and the supernatant was discarded. The pellet was washed three times with 1 mL of absolute ethanol and resuspended in a solution of ethanol and 20 mg/mL PVP. The suspension was put into tefzel tubing to decant for 5 min. Next, the ethanol was removed and the DNA-coated gold microcarriers tefzel tubing were put in a tubing prep station (BioRad) to prepare microparticle cartridges. Biolistic inoculation was made using a Helios gene gun (BioRad). Plants inoculated with each isolate were maintained in separated whitefly-proof cages in a greenhouse. The youngest upper leaves were collected 21 days post-inoculation (dpi) for total DNA extraction (Doyle and Doyle, 1987) and PCR to confirm virus infection. PCR products were separated by 1% agarose gel electrophoresis, stained with ethidium bromide and visualized under UV light. Transmission assays were performed using PCR-positive plants at 28 dpi.

1.2.3 Transmission of ToSRV, ToRMV and BGMV by *B. tabaci* MEAM1 and MED populations

The transmission efficiency of ToSRV, ToRMV, and BGMV was evaluated in transmission assays performed with each MED population (MED-SI, MED-Spt, MED-Bot and MED-Ita). Concurrently, the transmission of the begomoviruses with a *B. tabaci* MEAM1 population was performed as a positive control for each experiment. Approximately 500 nonviruliferous adults of *B. tabaci* MEAM1 and MED were separately placed into insect-proof cages containing tomato plants infected with ToSRV and ToRMV, and common beans infected with BGMV, for a virus acquisition access period (AAP) of 24 h. After the AAP, whiteflies from the different populations were transferred, using a hand-held aspirator, to cages containing healthy seedlings

of tomatoes (cv. Santa Clara, three true leaves) or common beans (cv. Jalo, primary leaves completely developed) seedlings (10 adult insects/seedling), for an inoculation access period (IAP) of 24h under controlled conditions [26°C, 12 light:12 dark (light 6:00–18:00 hs)]. Nonviruliferous MEAM1 and MED whiteflies transferred to tomato and common bean plants for an AAP and IAP of 24h were used as negative controls. After the IAP, the seedlings were sprayed with acetamiprid and pyriproxyfen.

Forty-five tomato and common bean plants were inoculated with the three ToSRV isolates (ToSRV-BR-Pir1-05, ToSRV-SP, ToSRV-ES) and BGMV-SP isolate, respectively, using viruliferous *B. tabaci* MED-SI in three independent experiments (15 replications per treatment). For ToRMV-BR-Ub1-96 isolate, 30 tomato plants were inoculated in two independent experiments (15 replications per treatment). For the Med-Bot and MED-Ita populations, 15 tomato plants were inoculated, separately, with the isolates ToSRV-SP and ToRMV-BR-Ub1-96 and 15 common bean plants were inoculated with the BGMV-SP isolate. For the MED-Spt population, 15 tomato plants were inoculated, separately, with each tomato begomovirus, and 30 common bean plants were inoculated with BGMV-SP isolate. All tested plants were maintained in insect-free cages in a greenhouse (26±5°C). The appearance of symptoms was evaluated up to 28 dpi and the presence of the virus was analyzed by PCR as described above.

1.2.4 Virus detection in whiteflies

Nonviruliferous insects from *B. tabaci* MEAM1 and MED-SI populations were placed in separate cages containing leaves of ToSRV- or ToRMV-infected tomato or BGMV-infected common bean plants for a virus AAP of 24 hours. Following the AAP, whiteflies were randomly collected using a hand-held aspirator in plastic vials and kept in an ultra-freezer -80°C for two hours. The total genomic DNA of 10 adults from each whitefly population was extracted individually using the Purelink Viral RNA/DNA kit (Thermo Fisher Scientific). PCR was used to test those three begomoviruses in the insect's body using universal primers PAL1v1978/PAR1c496 (Rojas *et al.*, 1993). Confirmation of purity for each population was also performed by amplifying the microsatellite locus, allowing the differentiation of whitefly cryptic species MEAM1 and MED (Skaljic *et al.*, 2010).

1.2.5 Construction of infectious clones of ToSRV-SP isolate

To construct tandem dimeric clones of the DNA-A and DNA-B components of the ToSRV-SP isolate, circular genomic DNA of the virus was amplified by RCA (Inoue-Nagata *et al.*, 2004), followed by partial restriction digestion. Dimers of each genomic component were cloned separately in the pBluescript KS+ plasmid vector (Stratagene). To confirm that the dimeric clones were infectious, tomato plants were inoculated by biolistics as described in item 1.2.2. Infected plants confirmed by PCR were used as inoculum sources to verify transmission by MEAM1 and MED-SI populations. A total of 15 plants per treatment were used and the experiments were conducted under the conditions described above.

1.2.6 Prevalence of *B. tabaci* species and associated begomoviruses in tomato greenhouses

Four tomato greenhouses in Pirajuí county, São Paulo state, were evaluated for the presence of begomoviruses and *B. tabaci* species. Fifty leaves from symptomatic and asymptomatic tomato plants were randomly collected from each greenhouse and tested for the presence of begomoviruses as described above. Ten insects were also collected at each greenhouse. Cryptic species were identified by amplification of microsatellites using the Bem23F and Bem23R primer pair (Skaljac *et al.*, 2010).

1.3 RESULTS

1.3.1 Begomovirus transmission by *B. tabaci* MED populations from São Paulo State

B. tabaci MEAM1 (GenBank access numbers OR143103; OR143104) transmitted ToSRV-SP, ToSRV-ES, and ToSRV-BR-Pir1-05 with efficiencies of 80.0%, 71.0%, and 97.8%, respectively. None of the tomato plants inoculated using *B. tabaci* MED-SI (GenBank access numbers OR143105; OR143106) became infected with any ToSRV isolate. Similarly, *B. tabaci* MED-SI could not transmit the ToSRV-SP infectious clone constructed in this study, while *B. tabaci* MEAM1 transmitted it with an efficiency of 100% (Table 1). Symptoms in tomato plants inoculated with each ToSRV isolate by *B.*

tabaci MEAM1 appeared at 10-14 dpi and consisted of yellow mosaic. These results suggest that *B. tabaci* MED-SI is an inefficient ToSRV vector.

To further investigate whether the incapacity of transmission by *B. tabaci* MED-SI population was restricted to ToSRV or includes other indigenous begomoviruses, transmission experiments with ToRMV (another tomato begomovirus closely related to ToSRV) to tomato plants and of BGMV to common bean plants were performed. As seen for ToSRV, *B. tabaci* MEAM1 was able to transmit ToRMV and BGMV with efficiencies of 80% and 60%, respectively, whereas *B. tabaci* MED-SI did not transmitted either begomovirus (Table 1). Symptoms in tomato and common bean plants infected with ToRMV and BGMV began to appear at 10-14 dpi and consisted of a yellow mosaic.

Transmission tests were carried out with three additional populations of *B. tabaci* MED collected in São Paulo state to evaluate whether the ability to transmit begomoviruses may vary according to the whitefly population. MED-Spt (GenBank access numbers OR143109; OR143110), MED-Bot (GenBank access numbers OR143107; OR143108) and MED-Ita (GenBank access numbers OR143111; OR143112) populations did not transmit ToSRV and ToRMV to tomato plants. MED-Bot and MED-Ita populations could also not transmit BGMV to common bean plants. The MED-Spt population transmitted BGMV to one out of 30 common bean plants tested (3.3%).

Table 1 – Transmission rates of tomato severe rugose virus (ToSRV) and tomato rugose mosaic virus (ToRMV) to tomato plants and bean golden mosaic virus (BGMV) to common bean plants by *Bemisia tabaci* MEAM1 and *B. tabaci* MED-SI

Whitefly population	Virus isolate					
	ToSRV-SP	ToSRV-SP*	ToSRV-ES	ToSRV-BR-Pir1-05	ToRMV-BR-Ub1-96	BGMV-SP
MEAM1	36/45 ^A (80.0 ^B)	15/15 (100)	32/45 (71.0)	44/45 (97.8)	24/30 (80.0)	18/30 (60.0)
MED-SI	0/45 (0)	0/15 (0)	0/45 (0)	0/45 (0)	0/30 (0)	0/45 (0)

Inoculation with 10 whiteflies per plant. ^ANumber of plants infected/tested; ^BPercentage of infection; *Transmission test with ToSRV infectious clone.

To evaluate whether the ability to transmit begomoviruses may vary according to the whitefly population, transmission tests were carried out with three additional populations of *B. tabaci* MED collected in São Paulo state. MED-Spt (GenBank access

numbers OR143109; OR143110), MED-Bot (GenBank access numbers OR143107; OR143108) and MED-Ita (GenBank access numbers OR143111; OR143112) populations did not transmit ToSRV and ToRMV to tomato plants. MED-Bot and MED-Ita populations could also not transmit BGMV to common bean plants (Table 2). The MED-Spt population transmitted BGMV to one out of 30 common bean plants tested (3.3%). The infected bean plant showed typical symptoms caused by BGMV. The transmission rates of ToSRV, ToRMV and BGMV by *B. tabaci* MEAM1 ranged from 66.7-93.3%, 53.3-80.0%, and 53.3-100%, respectively (Table 2).

Table 2 – Transmission rates of tomato severe rugose virus (ToSRV), and tomato rugose mosaic virus (ToRMV) to tomato plants and bean golden mosaic virus (BGMV) to common bean plants by *Bemisia tabaci* MEAM1, MED-Spt, MED-Bot and MED-Ita

Whitefly population	Virus isolate		
	ToSRV-BR-Pir1-05	ToRMV-BR-Ub1-96	BGMV-SP
MEAM1	12/15 ^A (80 ^B)	9/15 (60)	22/30 (73.3)
MED-Spt	0/15 (0)	0/15 (0)	1/30 (3.3)
MEAM1	10/15 (66.7)	12/15 (80)	15/15 (100)
MED-Bot	0/15 (0)	0/15 (0)	0/15 (0)
MEAM1	14/15 (93.3)	8/15 (53.3)	8/15 (53.3)
MED-Ita	0/15 (0)	0/15 (0)	0/15 (0)

Inoculation with 10 whiteflies per plant. ^ANumber of plants infected/tested; ^BPercentage of infection.

1.3.2 Detection of the *Hamiltonella* endosymbiont in the MED-SI and MED-Spt populations

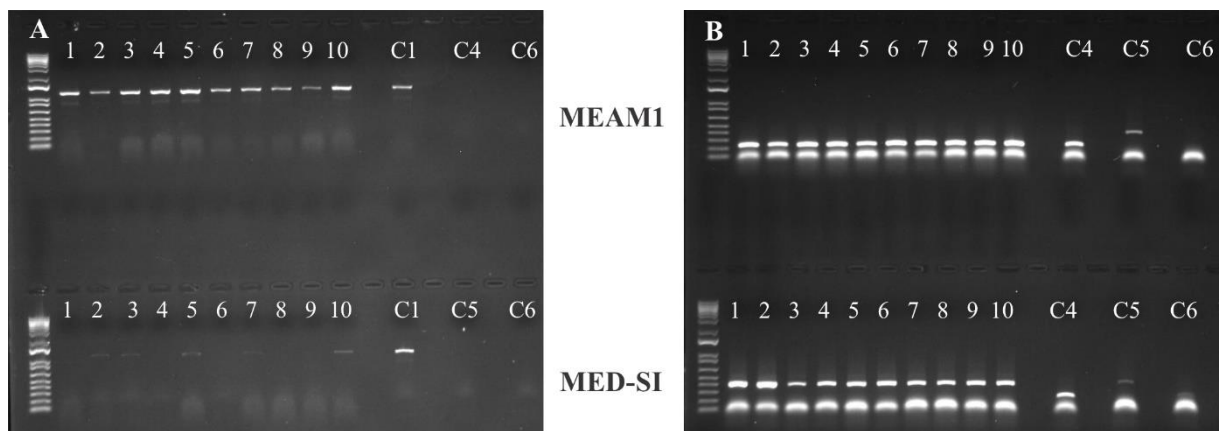
The MED-SI and MED-Spt populations harboured a high frequency of the *Hamiltonella* endosymbiont. The endosymbiont was detected in 98% and 80%, respectively, of adults from the MED-SI and MED-Spt populations.

1.3.3 Acquisition efficiency of ToSRV and ToRMV by *B. tabaci* MEAM1 and MED-SI

Following a 24-h AAP on leaves of ToSRV- or ToRMV-infected tomato plants or BGMV-infected common bean plants, the presence of ToSRV was detected by PCR in the whitefly whole body in 10 out of 10 MEAM1 insects and 5 out of 10 MED-SI insects (Figure 1), ToRMV was detected in 10 out of 10 MEAM1 insects and 9 out of 10 MED-SI insects (Figure 2). BGMV was detected in 6 out of 10 MEAM1 insects and 9 out of 10 MED-SI insects (Figure 3). These results indicate that MED-SI population

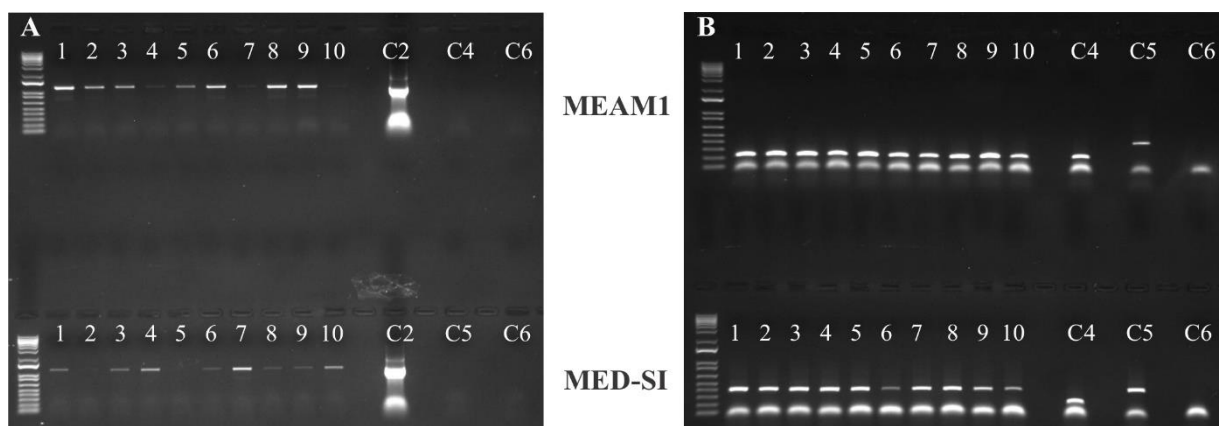
can acquire ToSRV, ToRMV and BGMV viral particles while feeding on infected plants, but can not transmit them to healthy plants.

Figure 1: Detection of tomato severe rugose virus (ToSRV) in *Bemisia tabaci* MEAM1 and MED-SI after a virus acquisition access period of 24 hours (A) and confirmation of the identity of each whitefly population (B). C1, C4, C5 and C6 correspond to ToSRV-infected plant (control positive), non-viruliferous MEAM1 whitefly, non-viruliferous MED whitefly and PCR negative control (water) respectively



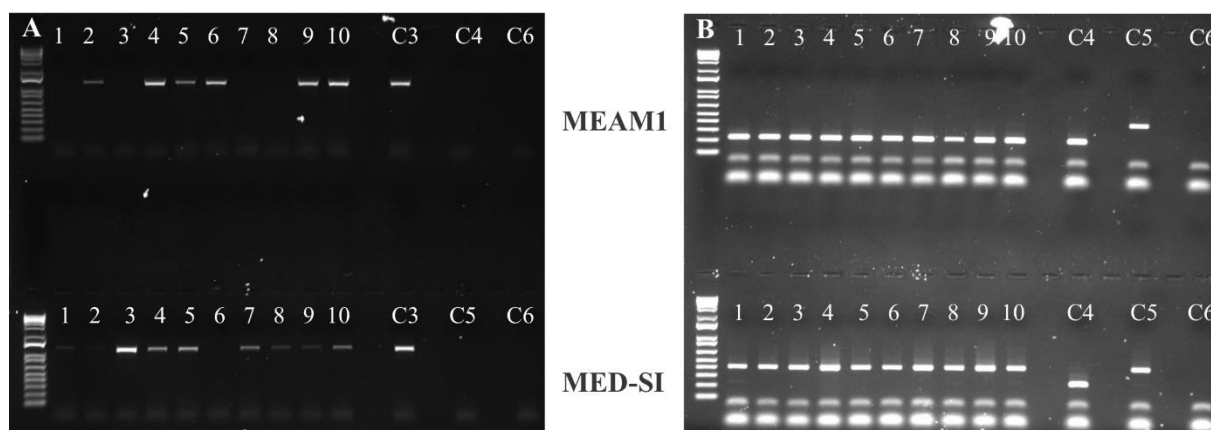
(Nogueira *et al.*, 2024)

Figure 2: Detection of tomato rugose mosaic virus (ToRMV) in *Bemisia tabaci* MEAM1 and MED-SI after a virus acquisition access period of 24 hours (A) and confirmation of the identity of each whitefly population (B). C1, C4, C5 and C6 correspond to ToSRV-infected plant (control positive), non-viruliferous MEAM1 whitefly, non-viruliferous MED whitefly and PCR negative control (water) respectively



(Nogueira *et al.*, 2024)

Figure 3: Detection of bean golden mosaic virus (BGMV) in *Bemisia tabaci* MEAM1 and MED-SI after a virus acquisition access period of 24 hours (A) and confirmation of the identity of each whitefly population (B). C1, C4, C5 and C6 correspond to ToSRV-infected plant (control positive), non-viruliferous MEAM1 whitefly, non-viruliferous MED whitefly and PCR negative control (water) respectively



(Nogueira *et al.*, 2024)

1.3.4 Occurrence of *Bemisia tabaci* cryptic species and begomoviruses in tomato greenhouses in Pirajuí county, São Paulo state

Begomoviruses were not detected by PCR in any of the 200 tomato plants inspected in greenhouses located in Pirajuí county. All whiteflies collected from tomato plants in the greenhouses were identified as *B. tabaci* MED.

1.4 DISCUSSION

Herein, we observed that different colonies of *B. tabaci* MED collected in São Paulo state could not transmit ToSRV and ToRMV to tomato plants and that they are also inefficient vectors of BGMV to common bean plants. The fact that led us to conduct the present study was the observation of a gradual decrease in the efficiency of begomovirus transmission by *B. tabaci* MED-SI in previous studies conducted by our research group (Bello *et al.*, 2019; Gorayeb *et al.*, 2020). This colony has been maintained under laboratory conditions since 2015, when *B. tabaci* MED was first detected in ornamental plants in Brazil (Moraes *et al.*, 2017). The first experiments

conducted in 2016 with adults of *B. tabaci* MED-SI showed that they efficiently transmitted BGMV to common bean plants and ToSRV to tomato plants (Bello *et al.*, 2019). However, in different experiments conducted in 2017, a decrease in the efficiency of ToSRV transmission to tomato plants was observed, as well as a negative effect on the fitness of *B. tabaci* MED on ToSRV-infected plants (Gorayeb *et al.*, 2020; Bello *et al.*, 2023). Nevertheless, *B. tabaci* MED-SI remained efficient in transmitting the crinivirus tomato chlorosis virus (ToCV) and the carlavirus cowpea mild mottle virus (CPMMV) (Bello *et al.*, 2021; Vicentin *et al.*, 2022).

Effective transmission of begomoviruses relies on whiteflies ingesting viral particles through their stylets during feeding, with the virions passing through the food canal, reaching the esophagus and midgut, and entering the hemolymph. The virions are subsequently internalized into the primary salivary glands and released with the saliva into the plant phloem (Mugerwa *et al.*, 2022). In their circulative pathway through *B. tabaci*, begomoviruses must overcome several barriers to achieve successful transmission. This necessitates interactions with potential receptors and multiple whitefly proteins (Czosnek *et al.*, 2017). The non-transmission of ToSRV, ToRMV, and BGMV by different populations of *B. tabaci* MED is probably due to the lack of interaction(s) between viral and vector proteins, which prevents the overcoming of existing barriers for successful transmission, such as crossing the gut barrier into the hemolymph, escape from the insect's immune system, and the passage of viral particles from the hemolymph into the primary salivary glands (Czosnek *et al.*, 2017).

In a study comparing the transmission efficiency of the begomoviruses tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), cucurbit leaf crumple virus (CuLCrV), and sida golden mosaic virus (SiGMV) by *B. tabaci* MEAM1 and *B. tabaci* MED, it was observed that CuLCrV and SiGMV were not transmitted by *B. tabaci* MED (Gautam *et al.*, 2022). The authors pointed out that due to inefficient translocation of CuLCrV and SiGMV from the midgut into the hemolymph, both begomoviruses failed to accumulate in the primary salivary gland, resulting in unsuccessful transmission by *B. tabaci* MED. In another study conducted by Pan *et al.* (2018), the transmission efficiency of tobacco curly shoot virus (TbCSV) by the *B. tabaci* cryptic species MEAM1, MED, Asia 1, and Asia II 1 was compared. The results revealed that Asia II 1 exhibited the highest transmission efficiency, whereas MEAM1 showed the lowest transmission efficiency. Furthermore, it was observed that TbCSV had a higher ability to cross the midgut wall in Asia II 1 compared to MEAM1. Based on these findings, the authors concluded that the

efficiency of a begomovirus to traverse the midgut wall of whitefly and reach the hemolymph plays a crucial role in determining transmission capability.

To better understand the differential transmission of ToSRV, ToRMV, and BGMV by *B. tabaci* MEAM1 and *B. tabaci* MED-SI, we evaluated the acquisition efficiency of these begomoviruses by whiteflies of both cryptic species. Our results indicate that *B. tabaci* MEAM1 exhibited efficiency in acquiring these begomoviruses and competence in their transmission. *B. tabaci* MED-SI was also able to acquire the begomoviruses but failed to transmit them to healthy plants. Chi *et al.* (2020) demonstrated that *B. tabaci* Asia II 1 could readily transmit Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV) to tobacco plants, while *B. tabaci* MEAM1 and *B. tabaci* MED transmitted this begomovirus less efficiently. A positive correlation was observed between the transmission efficiencies of SLCMV by a given *B. tabaci* cryptic species and the viral content in the whole body of the whiteflies. Guo *et al.*, (2015) reported that the accumulation of the begomovirus papaya leaf curl China virus (PaLCuCNV) was higher in *B. tabaci* MEAM1 than in *B. tabaci* MED, Asia 1 or Asia II 7 after a 48 h AAP in tomato plants. Subsequently, it was found that *B. tabaci* MEAM1 transmitted PaLCuCNV to tomato plants with substantially higher efficiency than *B. tabaci* MED, Asia 1 or Asia II 7.

B. tabaci colonies can harbour different prokaryotic endosymbionts with important functions for their biology and ecology, including virus transmission efficiency (Andreason *et al.*, 2020). The prevalence of *Hamiltonella* endosymbionts in whiteflies has been reported to increase the begomoviruses transmission efficiency (Su *et al.*, 2013). We observed that MED-SI and MED-Spt populations have a high frequency of the *Hamiltonella* endosymbiont, suggesting that the frequency of this endosymbiont did not influence the transmission ability of the tested begomoviruses.

The incidence of begomoviruses in Brazil is directly associated with the dynamics of the insect vector. BGMV has severely impacted common beans in Brazil since the 1960s. Until the 1990s the indigenous *B. tabaci* populations, possibly NW (formerly A biotype), were responsible for the outbreaks of BGMV in common bean crops. BGMV outbreaks persisted despite the displacement of the indigenous *B. tabaci* species by the invasive *B. tabaci* MEAM1, demonstrating the capability of both species to effectively to transmit BGMV effectively (Inoue-Nagata *et al.*, 2016). The scenario was entirely different for tomato plants, as begomovirus outbreaks in this plant became frequent only after the introduction of *B. tabaci* MEAM1 in the mid-1990s (Lourenção

and Nagai, 1994; Ribeiro *et al.*, 1998). *B. tabaci* MEAM1 is a highly polyphagous insect which is able to adapt to different environments compared to indigenous whiteflies. This resulted in a gradual displacement of the indigenous populations by MEAM1, facilitating the transmission of indigenous begomoviruses from non-cultivated hosts to tomato crops (Inoue-Nagata *et al.*, 2016).

As occurred in Brazil, introducing a novel vector or virus into a country or region can have profound implications for the epidemiology of plant virus diseases. A gradual displacement of tomato leaf curl Taiwan virus (ToLCTWV) by tomato yellow leaf curl Thailand virus (TYLCTHV) in tomato fields in Taiwan was documented between 2005 and 2009. That displacement was attributed to invasion of TYLCTHV and the shift of the dominant whitefly species from *B. tabaci* MED to *B. tabaci* MEAM1, which exhibits higher transmission efficiency of TYLCTHV than ToLCTWV (Weng *et al.*, 2015). In Spain, the dynamics of begomovirus transmission in tomato revealed a progressive displacement of tomato yellow leaf curl Sardinia virus (TYLCSV) by tomato yellow leaf curl virus-Israel (TYLCV-Is) (Sánchez-Campos *et al.*, 1999). That displacement was attributed to the higher transmission efficiency of TYLCV-Is by *B. tabaci* MEAM1, which emerged as the dominant whitefly species during the hot season, coinciding with the peak of disease spread.

The transmission efficiency of viruses by whiteflies of different species significantly influences the dynamics of disease epidemics. The presence of a whitefly species that can efficiently transmit the virus increases the likelihood of epidemics, whereas the absence of competent vectors decreases the risk of widespread disease dissemination (Fiallo-Olivé *et al.*, 2020). Chi *et al.*, (2020) reported that the lower transmission efficiency of SLCMV by *B. tabaci* MEAM1 and *B. tabaci* MED indicates that regions dominated by these invasive whitefly species, such as southern China, have a reduced risk of SLCMV epidemics in cassava crops. However, in other regions of Asia where cassava is cultivated, such as southern Vietnam, the prevalence of efficient vectors like *B. tabaci* Asia II 1 substantially increases the risk of SLCMV epidemics in cassava crops (Chi *et al.*, 2020).

The findings from the current study regarding the transmission efficiency of ToSRV, ToRMV, and BGMV by *B. tabaci* MEAM1 and *B. tabaci* MED suggest that areas dominated by *B. tabaci* MED are unlikely to experience begomovirus outbreaks. This fact was observed in the surveys conducted in four tomato production greenhouses infested with *B. tabaci* MED. Molecular analyses demonstrated the absence of

begomovirus infection in all evaluated tomato plants. However, as the tomato plants exhibited interveinal chlorosis symptoms typically induced by infection with the crinivirus tomato chlorosis virus (ToCV), we conducted tests to detect this crinivirus by RT-PCR. We found that ToCV was detected in greenhouses tomato 1, 2, 3 and 4 with incidences of 26%, 52%, 76% and 86%, respectively (data not shown). *B. tabaci* MED is an excellent vector of the crinivirus ToCV (Vicentin *et al.*, 2022). It is possible that the absence of begomoviruses in tomato plants may have occurred for other reasons, for example, the absence of inoculum sources in the area. However, these results could be the first evidence that the low transmission efficiency of begomoviruses by *B. tabaci* MED can change the virus scenario in economically important crops like tomatoes.

In conclusion, our study sheds light on the transmission efficiency of begomoviruses by different populations of *B. tabaci* MED in São Paulo state, in Brazil. The results demonstrate the limited ability of *B. tabaci* MED populations to transmit ToSRV, ToRMV, and BGMV, in contrast to the efficient transmission of these viruses by *B. tabaci* MEAM1. These findings highlight the importance of understanding the dynamics of whitefly-mediated transmission of begomoviruses and suggest that the prevalence of *B. tabaci* MED could drastically alter the epidemiological scenario of begomoviruses. Transmission determinants for ToSRV, ToRMV and BGMV by *B. tabaci* are not completely understood, which requires further investigation. Moreover, it is essential to perform begomovirus transmission experiments with *B. tabaci* MED populations collected from additional geographical locations from Brazil. A more comprehensive analysis would allow to determine the extent to which the decline in transmission efficiency is becoming a rule for begomoviruses. These results will contribute to the knowledge of whitefly-virus interactions and will have implications for the management and control strategies of begomovirus diseases in Brazil.

Funding

This work was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001 for scholarship; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP for scholarship and research grant (grant number 2018/18274-3, 2019/18639-4, 2020/05563-7 and 2021/08351-3) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq for

research grant (grant number 405684/2018-5; 303411/2018-0; 304002/2022-4). RKS, FMZ, and JAMR received CNPq fellowships.

REFERENCES

- Andreason, S. A., Shelby, E. A., Moss, J. B., Moore, P. J., Moore, A. J., & Simmons, A. M. (2020) Whitefly endosymbionts: Biology, evolution, and plant virus interactions. *Insects*, 11, 775.
- Bello, V. H., da Silva, F. B., Watanabe, L. F. M., Vicentin, E., Muller, C., de Freitas Bueno, R. C. O., et al. (2021) Detection of *Bemisia tabaci* Mediterranean cryptic species on soybean in São Paulo and Paraná States (Brazil) and interaction of cowpea mild mottle virus with whiteflies. *Plant Pathology*, 70, 1508–1520.
- Bello, V. H., Nogueira, A. M., Sartori, M. M. P., Pavan, M. A., Rezende, J. A. M., Ghanim, M., et al. (2023) Performance and preference of *Bemisia tabaci* on tomato severe rugose virus infected tomato plants. *Phytoparasitica*, 51, 403–413.
- Bello, V. H., Watanabe, L. F. M., Fusco, L. M., De Marchi, B. R., Da Silva, F. B., Gorayeb, E. S., et al. (2020) Outbreaks of *Bemisia tabaci* Mediterranean species in vegetable crops in São Paulo and Paraná States, Brazil. *Bulletin Entomological Research*, 110, 487–496.
- Bello, V. H., Watanabe, L. F. M., Santos, B. R., Marubayashi, J. M., Yuki, V. A., De Marchi, B. R., et al. (2019) Evidence for increased efficiency of virus transmission by populations of Mediterranean species of *Bemisia tabaci* with high *Hamiltonella* prevalence. *Phytoparasitica*, 47, 293–300.
- Bellows Jr, T. S., Perring, T. M., Gill, R. J., & Headrick, D. H. (1994) Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 87, 195-206.
- Bondar, G. (1928) Relatório. *Boletim do Laboratório de Patologia Vegetal*, 4, 39–46.
- Chi, Y., Pan, L.-L., Bouvaine, S., Fan, Y.-Y., Liu, Y.-Q., Liu, S.-S., et al (2020) Differential transmission of Sri Lankan cassava mosaic virus by three cryptic species of the whitefly *Bemisia tabaci* complex. *Virology*, 540, 141–149.
- Czosnek, H., Hariton-Shalev, A., Sobol, I., Gorovits, R., & Ghanim, M. (2017). The incredible journey of Begomoviruses in their whitefly vector. *Viruses*, 9, 273.
- Doyle, J. J., and Doyle, J. L. (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11–15.

- Fernandes, D. de S., Okuma, D., Pantoja-Gomez, L. M., Cuenca, A., and Corrêa, A. S. (2022) *Bemisia tabaci* MEAM1 still remains the dominant species in open field crops in Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 84.
- Fiallo-Olivé, E., Pan, L.-L., Liu, S.-S., & Navas-Castillo, J. (2020) Transmission of begomoviruses and other whitefly-borne viruses: Dependence on the vector species. *Phytopathology*, 110, 10–17.
- Gautam, S., Mugerwa, H., Buck, J. W., Dutta, B., Coolong, T., Adkins, S., et al. (2022) Differential Transmission of Old and New World begomoviruses by Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1) and Mediterranean (MED) cryptic species of *Bemisia tabaci*. *Viruses*, 14, 1104.
- Ghosh, S., & Ghanim, M. (2021) Factors determining transmission of persistent viruses by *Bemisia tabaci* and emergence of new virus–vector relationships. *Viruses*, 13, 1808.
- Gorayeb, E. S., Bello, V. H., Cruciol, G. C. D., Watanabe, L. F. M., Dovigo, L. H., Sartori, M. M. P., et al. (2020) Evaluation of *Datura stramonium* and *Nicandra physaloides* as reservoirs of tomato severe rugose virus and whiteflies. *Plant Pathology*, 69, 569–575.
- Gorayeb, E. S., Watanabe, L. F. M., Pereira, Y. A. B., Dovigo, L. H., Bello, V. H., de Souza, I. M., et al. (2021) Performance and preference of *Bemisia tabaci* on cucumbers: understanding the recent outbreaks of Mediterranean cryptic species in Brazil. *Crop Protection*, 143, 105468.
- Guo, T., Guo, Q., Cui, X.-Y., Liu, Y.-Q., Hu, J., & Liu, S.-S. (2015) Comparison of transmission of Papaya leaf curl China virus among four cryptic species of the whitefly *Bemisia tabaci* complex. *Scientific Reports*, 5, 1–9.
- Horowitz, A. R., Kontsedalov, S., Khasdan, V., & Ishaaya, I. (2005) Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 58, 216–225.
- Inoue-Nagata, A. K., Albuquerque, L. C., Rocha, W. B., & Nagata, T. (2004) A simple method for cloning the complete begomovirus genome using the bacteriophage ϕ 29 DNA polymerase. *Journal of Virology Methods*, 116, 209–211.
- Inoue-Nagata, A. K., Lima, M. F., & Gilbertson, R. L. (2016) A review of geminivirus diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. *Horticultura Brasileira*, 34, 8–18.
- Lourenção, A. L., & Nagai, H. (1994) Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no estado de São Paulo. *Bragantia*, 53, 53–59.

- Moraes, L. A., Marubayashi, J. M., Yuki, V. A., Ghanim, M., Bello, V. H., De Marchi, B. R., et al. (2017) New invasion of *Bemisia tabaci* Mediterranean species in Brazil associated to ornamental plants. *Phytoparasitica*, 45, 517–525.
- Moraes, L. A., Muller, C., Bueno, R. C. O. de F., Santos, A., Bello, V. H., De Marchi, B. R., et al. (2018) Distribution and phylogenetics of whiteflies and their endosymbiont relationships after the Mediterranean species invasion in Brazil. *Scientific Report*, 8, 14589.
- Mugerwa, H., Gautam, S., Catto, M. A., Dutta, B., Brown, J. K., Adkins, S., et al. (2022) Differential transcriptional responses in two Old world *Bemisia tabaci* cryptic species post acquisition of Old and New world begomoviruses. *Cells*, 11, 2060.
- Pan, L., Chen, Q., Guo, T., Wang, X., Li, P., Wang, X., et al. (2018) Differential efficiency of a begomovirus to cross the midgut of different species of whiteflies results in variation of virus transmission by the vectors. *Science China Life Sciences*, 61, 1254–1265.
- Rehman, M., Chakraborty, P., Tanti, B., Mandal, B., & Ghosh, A. (2021) Occurrence of a new cryptic species of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae): an updated record of cryptic diversity in India. *Phytoparasitica*, 49, 869–882.
- Ribeiro, S. G., De Ávila, A. C., Bezerra, I. C., Fernandes, J. J., Faria, J. C., Lima, M. F., et al. (1998) Widespread occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with new biotype of the whitefly vector. *Plant Disease*, 82, 830.
- Rojas, M. R., Gilbertson, R. L., Russell, D. R., & Maxwell, D. P. (1993) Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Disease*, 77, 340–347.
- Sánchez-Campos, S., Navas-Castillo, J., Camero, R., Soria, C., Diaz, J. A., & Moriones, E. (1999) Displacement of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)-Sr by TYLCV-Is in tomato epidemics in Spain. *Phytopathology*, 89, 1038–1043.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., & Flook, P. (1994) 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*, 87, 651–701.
- Skaljic, M., Zanic, K., Ban, S. G., Kontsedalov, S., & Ghanim, M. (2010). Co-infection and localization of secondary symbionts in two whitefly species. *BMC Microbiology*, 10, 1–15.
- Souza, J. O., Melgarejo, T. A., Vu, S., Nakasu, E. Y. T., Chen, L.-F., Rojas, M. R., et al. (2022) How to be a successful monopartite begomovirus in a bipartite-dominated world: emergence and spread of tomato mottle leaf curl virus in Brazil. *Journal of Virology*, 96, e00725-22.

Su, Q., Pan, H., Liu, B., Chu, D., Xie, W., Wu, Q., et al. (2013) Insect symbiont facilitates vector acquisition, retention and transmission of plant virus. *Scientific Reports*, 3, 1367.

Tay, W. T., Evans, G. A., Boykin, L. M., & De Barro, P. J. (2012) Will the real *Bemisia tabaci* please stand up?. *PLoS One*, 7, e50550.

Vicentin, E., Mituti, T., Nogueira, A. M., Moura, M. F., Bello, V. H., Ribeiro-Júnior, M. R., et al. (2022) Differential reaction of sweet pepper to infection with the crinivirus tomato chlorosis virus probably depends on the viral variant. *Plant Pathology*, 71, 1313–1322.

Weng, S. H., Tsai, W. S., Kenyon, L., & Tsai, C. W. (2015). Different transmission efficiencies may drive displacement of tomato begomoviruses in the fields in Taiwan. *Annals of Applied Biology*, 166, 321–330.

Zchori-Fein, E., & Brown, J. K. (2002). Diversity of prokaryotes associated with *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 95, 711–718.

CAPÍTULO 2

OCORRÊNCIA DE *Bemisia tabaci* E VÍRUS ASSOCIADOS EM ESTUFAS DE TOMATE E PIMENTÃO NO ESTADO DE SÃO PAULO

Cíntia Sabino De Oliveira¹; Angélica Maria Nogueira¹; Renate Krause Sakate¹.

¹Departamento de Proteção de Plantas, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP, Brasil.

RESUMO

A família Solanacea abriga importantes culturas agrícolas, dentre elas o tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e o pimentão (*Capsicum annuum* L.). Um dos principais entraves na produção dessas hortaliças é a grande incidência de pragas e doenças, de difícil manejo. No Brasil, as espécies crípticas de mosca branca *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1) e *B. tabaci* Mediterranean (MED) causam inúmeros prejuízos em importantes culturas agrícolas, principalmente devido à transmissão de vírus. *B. tabaci* MEAM1 é a espécie predominante desde 1990 e conhecida principalmente por transmitir vírus do gênero *Begomovirus*. *B. tabaci* MED foi introduzida em 2014. Altas infestações dessa espécie foram observadas em estufas de solanáceas em várias regiões do estado de São Paulo. Para compreender a distribuição dessas espécies crípticas em ambientes de cultivo protegido bem como a ocorrência de vírus associados, foram feitas coletas em diferentes estufas, nas principais regiões produtoras de tomate e pimentão do estado de São Paulo. Foram coletadas 50 folhas aleatoriamente por estufa, de plantas sintomáticas e assintomáticas, e 10 moscas brancas de cada local avaliado. Para detecção de crinivírus e begomovírus, o RNA e o DNA total das amostras de folhas frescas foram extraídos individualmente, submetidos a RT-PCR e PCR respectivamente. Para a identificação molecular das moscas brancas coletadas, o DNA de cada inseto foi extraído individualmente, e a identificação da espécie críptica presente foi realizada através da amplificação de um locus microssatélite que permite diferenciar as espécies crípticas de *B. tabaci* MEAM1 e MED. Os resultados demonstraram predominância e alta dispersão de *B. tabaci* MED em pimentão e tomate, maior incidência de crinivírus em tomate e menor em pimentão e ausência de begomovírus

em todas as estufas analisadas, o que pode significar uma alteração no cenário de ocorrência destes vírus no estado de São Paulo, provavelmente associada com a recente dispersão de *B. tabaci* MED.

Palavras-chave: mosca branca; crinivírus; begomovírus; solanáceas.

ABSTRACT

Important crops belong to the Solanaceae family, including tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) and peppers (*Capsicum annuum* L.). One of the main challenges in the production of these vegetables are the diseases caused by viruses, mainly transmitted by whiteflies from the two invasive cryptic species *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1, biotype B) and *B. tabaci* Mediterranean (MED, biotype Q). *B. tabaci* MEAM1 is very well known as important vector of begomoviruses and has been the predominant species in Brazil since 1990, but *B. tabaci* MED was detected in 2014 and since then high infestations were observed in sweet pepper greenhouses in several regions of São Paulo state associated with epidemics of the tomato chlorosis virus of the genus *Crinivirus*. To better understand the distribution of these whitefly cryptic species, as well as the occurrence of associated viruses, tomato and sweet pepper leaves were collected from different producing regions of São Paulo state. Fifty samples of fresh leaves from symptomatic and asymptomatic plants, and ten whitefly insects, were collected from each area. To detect crinivirus and begomovirus, total RNA and DNA was extracted and subjected to RT-PCR and PCR. For the molecular identification of the collected whiteflies, the DNA of each insect was extracted individually, followed by the amplification of a microsatellite locus that allows the differentiation of MEAM1 and MED. Interestingly, the results demonstrated a predominance of *B. tabaci* MED, higher incidence of crinivirus in tomato (2-86%) than in sweet pepper (0-18%), and absence of begomovirus in all of the greenhouses visited, indicating a change in the scenario of viruses in São Paulo state.

Keywords: whiteflies; crinivirus; begomovirus; Solanaceae.

2.1 INTRODUÇÃO

Um dos maiores problemas enfrentados nos cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*) e pimentão (*Capsicum annuum*), ambos da família Solanaceae, é a alta incidência de pragas e doenças. A mosca branca *Bemisia tabaci*, é uma das mais importantes. Além de polífaga, causa danos severos nessas culturas, e é reconhecida principalmente por ser um excelente vetora de vírus (Moraes *et al.*, 2018). Dentre os principais gêneros de vírus transmitidos por mosca branca, pode-se destacar os *Begomovirus*, *Crinivirus*, *Ipomovirus*, *Torradovirus*, *Carlavirus*, *Polerovirus* e *Cytorhabdovirus* (Naveed *et al.*, 2023). Destes, os *Begomovirus* e os *Crinivirus* são frequentemente encontrados infectando solanáceas e são transmitidos pela mosca branca *Bemisia tabaci* (Fiallo-Ollivé *et al.*, 2020).

Pertencentes à família *Geminiviridae*, os vírus que compõe o gênero *Begomovirus* apresentam DNA circular de fita simples e morfologicamente são formados por uma partícula icosaédrica geminada não envelopada. Seu genoma pode ser mono ou bipartido, sendo que os componentes do genoma bipartido são denominados de DNA-A e DNA-B (Zerbini *et al.*, 2017). Enquanto o DNA-A contém genes que auxiliam na replicação e formação da capa proteica, o DNA-B contém os genes de movimento do vírus dentro da planta (Hanley-Bowdoin *et al.*, 1999). Esses vírus são transmitidos por mosca branca de forma persistente circulativa. Para que o inseto vetor adquira o vírus, é necessário que ele se alimente do floema de plantas infectadas. Após o estilete ser inserido e atingir o floema, as partículas virais se movimentam em direção ao intestino, seguem para a câmara filtro, atingem a hemolinfa e retornam para a glândula salivar, logo, quando o inseto for se alimentar novamente em uma planta hospedeira, ocorre a transmissão do vírus (Ghanim, Czosnek, 2016).

O Brasil é um dos maiores centros de diversidade do mundo em relação às espécies de begomovírus reportadas em tomateiro (Fernandes *et al.*, 2008). O número de espécies relatadas em solanáceas aumentou significativamente após a introdução da espécie críptica *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1, biótipo B, *Bemisia argentifolli* Bellows & Perring (Bellows *et al.*, 1994; Brown; Paredes-Montero; Stocks, 2023) na década de 1990 (Ribeiro *et al.*, 2003; Lourencao; Nagai, 1994). Atualmente, é a espécie predominante no território brasileiro (Moraes *et al.*, 2018; Fernandes *et*

al., 2022). Mais de dezoito espécies de begomovirus já foram descritas infectando naturalmente plantas de tomate, apesar de algumas estarem restritas a determinadas regiões (Krause-Sakate *et al.*, 2020). Em tomate, os begomovírus mais importantes são o ToSRV, de ocorrência nos principais estados produtores: Goiás, São Paulo e Minas Gerais, e o tomato mottle leaf curl virus (ToMoLCV), mais frequente na região Nordeste do país (Souza *et al.*, 2022). Apesar do ToSRV (Nozaki *et al.*, 2006) e o tomato yellow vein streak virus (ToYVSV) terem o tomate como principal hospedeiro, já foram detectados infectando plantas de pimentão (Nozaki; Krause-Sakate; Pavan, 2010). No campo, o ToSRV é predominante em cultivos de tomate (Rocha *et al.*, 2013). De maneira geral, os sintomas causados por begomovírus são bastante semelhantes em solanáceas, incluindo mosaico, manchas, amarelecimento, rugosidade, ondulação das folhas e redução do crescimento (Krause-Sakate *et al.*, 2020).

Em 2014, a espécie *Bemisia tabaci* Mediterranean (MED, biótipo Q, *Bemisia tabaci* sensu strictu) (Tay *et al.* 2012; Brown; Paredes-Montero; Stocks, 2023) foi reportada na região Sul do país em plantas de pimentão (Barbosa *et al.*, 2015). Posteriormente, uma segunda invasão de MED foi reportada nos estados de São Paulo e Paraná, associada a plantas ornamentais (Moraes *et al.*, 2017). Um levantamento feito em 2018 nos estados do Paraná e São Paulo, relatou predominância de *B. tabaci* MED em cultivo protegido de pimentão, mas também foi detectada em estufas de tomate, pepino, e berinjela, e em campo aberto de tomate, pepino e berinjela (Bello *et al.*, 2020). Devido ao fato de *B. tabaci* MED apresentar elevada resistência a inseticidas, isso pode contribuir para que surtos ocorram em cultivo protegido (Barbosa *et al.*, 2015), mas também pode ser um problema em cultivos de tomate e pimentão em campo aberto.

O gênero *Crinivirus* pertencente à família *Closteroviridae*, abriga vírus de RNA de fita simples e senso positivo, cujo genoma pode ser bi ou tripartido, de aproximadamente 15.3 a 17.7 kb. Enquanto o RNA 1 é responsável por codificar proteínas ligadas à replicação viral, o RNA 2 e RNA 3 são responsáveis por codificar proteínas, ligadas à diferentes funções, como encapsidamento, movimento célula a célula, transmissão por vetor e supressor de silenciamento gênico (Martelli *et al.*, 2002). O mais importante vírus deste gênero em solanáceas é o tomato chlorosis virus (ToCV), reportado pela primeira vez no país no município de Sumaré-SP, em plantas de tomate (Barbosa *et al.*, 2008). Apesar do tomateiro ser o principal hospedeiro, o

ToCV pode infectar outras espécies de solanáceas, como pimentão (Barbosa; Teixeira; Rezende, 2010), batata (*Solanum tuberosum*) (Freitas *et al.*, 2012), berinjela (*Solanum melongena*), jiló (*Solanum aethiopicum*) (Fonseca *et al.*, 2016) e pepino (*Cucumis sativus*) (Bello *et al.*, 2020). Um levantamento realizado entre os anos de 2013 e 2017 demonstrou alta incidência do ToCV em tomateiros nos estados de São Paulo, Espírito Santo, Minas Gerais e no Distrito Federal, porém, uma baixa incidência em plantas de pimentão (Mituti *et al.*, 2019).

O ToCV é transmitido por *Bemisia tabaci* MEAM1 e MED, espécies do complexo de mosca branca, e por *Trialeurodes vaporariorum* e *T. abutilonea*, de maneira semi-persistente (Krause-Sakate *et al.*, 2020). Nesse tipo de transmissão, após inserir o estilete no floema, as partículas virais ficam retidas no cibário, permanecendo por menos tempo no corpo do inseto, de forma que não há período de latência (Ng; Falk, 2006).

É um importante vírus na cultura do tomate, e seus sintomas podem ser facilmente confundidos com deficiências nutricionais, especialmente por surgirem nas folhas mais velhas e do baixeiro da planta (Krause-Sakate *et al.*, 2020). Em geral, os sintomas mais típicos são clorose internerval amarelecimento, e também o bronzeamento das folhas. No pimentão, é comum encontrar infecções assintomáticas, o que pode comprometer o diagnóstico (Fiallo-Olivé; Navas-Castillo, 2019). A produção dos pimentões infectados também é fortemente afetada, visto que o tamanho das plantas e dos frutos são reduzidos (Fortes, Moriones; Navas-Castillo, 2012).

B. tabaci MEAM1 é frequentemente encontrada associada a epidemias de begomovírus, e MED vêm sendo reportada em associação com a dispersão do ToCV (Shi *et al.*, 2018), sendo considerada uma excelente vetora deste crinivírus (Orfanidou *et al.*, 2016; Shi *et al.*, 2018). Estudos recentes de transmissão demonstram que MED não é boa vetora de begomovírus nativos do Brasil (dados não publicados), apesar de ser excelente vetora de begomovírus do velho mundo, como o tomato yellow leaf curl virus (TYLCV).

Vários fatores podem contribuir para a alteração no cenário de transmissão de vírus em cultivo protegido de tomate e pimentão no estado de São Paulo, tais como mudança do vetor predominante, troca de cultivares, que podem apresentar níveis de

resistência diferentes, bem como a introdução e emergência de um novo vírus. O objetivo do trabalho foi avaliar a distribuição de espécies crípticas de *B. tabaci* e a incidência de vírus associados em plantas de tomate e pimentão cultivadas em ambiente protegido para compreender melhor o cenário epidemiológico dez anos após a introdução da espécie invasora *B. tabaci* MED no país. Esses dados são fundamentais para o estabelecimento de um manejo racional, tanto para o inseto vetor, como para as doenças causadas por vírus.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Coletas

As coletas de folhas frescas e moscas brancas foram feitas em diferentes municípios do estado de São Paulo, nas principais regiões produtoras de tomate e pimentão. Ao todo, estufas de tomate em três municípios, Pirajuí, São Pedro do Turvo, Itápolis e pimentão em cinco municípios, Pirajuí, São Pedro do Turvo, Itápolis, Santa Adélia e Fernando Prestes, foram avaliadas no período de dois anos. As plantas variaram em idade de plantio e cultivares.

Foram coletadas no mínimo, 50 amostras de folhas por estufa, de maneira aleatória, tanto de plantas sintomáticas como assintomáticas, do terço médio e superior das plantas. Também foram coletados dez insetos de mosca branca por estufa, utilizando um aspirador bucal e preservados em etanol 70%. Em algumas estufas, não foi possível coletar dez insetos devido à sua ausência. Apenas uma área de tomate cultivada em campo aberta foi coletada, no município de Itápolis (área 6).

2.2.2 identificação da espécie críptica de mosca branca

Para identificar a espécie de mosca branca, o DNA total de dez insetos coletados foi extraído individualmente, seguindo o protocolo modificado de Chelex (Walsh *et al.*, 1991). Todas as amostras foram submetidas a PCR (Polymerase Chain

Reaction) utilizando GoTaq Green Master Mix Kit (Promega, Brazil) seguindo as instruções do fabricante, e um par de primers Bem23F (5'-CGGAGCTTGCGCCTTAGTC-3') e Bem23R (5'-CGGCTTTATCATAGCTCTCGT-3'), que permite diferenciar *B. tabaci* MEAM1 e MED através da amplificação de uma região de microssatélites (De Barro *et al.*, 2003; Skaljic *et al.*, 2010). O ciclo utilizado 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. O produto de PCR obtido foi submetido a eletroforese em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio. Os fragmentos amplificados foram visualizados em transiluminador com luz UV.

2.2.3 Extração de ácidos nucleicos de plantas e detecção dos vírus

A extração do DNA e RNA total das folhas frescas foi feita individualmente seguindo o protocolo de Doyle e Doyle (1987). Para detecção de crinivírus, o RNA total extraído foi submetido a RT-PCR, utilizando a enzima AMV reverse transcriptase (Promega, Brazil), GoTaq Green Master Mix Kit (Promega, Brazil) seguindo as instruções do fabricante, com o par de primers específicos para o ToCV: p22-7537-F/p22-8371-R que amplificam um fragmento de 834 pb do RNA 1 do vírus (Bello *et al.*, 2020). A RT-PCR consistiu em 42°C por 30', 95°C por 2', 35 ciclos a 95°C, 54°C e 72°C por 1', 72°C por 10' e por fim uma temperatura constante de 4°C.

Para detecção de begomovírus, o DNA total foi submetido a PCR utilizando um par de primers universal PAL1v1978/PAR1c496 que amplifica fragmentos de 1.2 kb do DNA-A de begomovírus (Rojas *et al.*, 1993). A reação consistiu em 12,5 µL de PCR master mix (2x) (GoTaq Green Master Mix, Promega), 2 µL de DNA total e 0.4 µM de cada primer, com volume final de 25 µL. O ciclo utilizado consistiu em uma etapa de desnaturação inicial a 95°C por 2 min, seguido de 25 ciclos a 95°C por 1 min, 57°C por 2 min e 72°C por 2 min, e uma etapa final a 72°C por 10 min.

Para ambos os vírus, o produto de PCR e RT-PCR foi submetido a eletroforese em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio visualizados em transiluminador com luz UV.

2.3 RESULTADOS

Os resultados demonstraram uma maior incidência do ToCV nas estufas de tomate, variando de 2 a 86% (Tabela 1), em comparação com as estufas de pimentão, cuja incidência variou de 0 a 18% (Tabela 2). A presença de begomovírus não foi constatada em nenhuma das plantas de tomate e pimentão das estufas avaliadas. Já em relação à espécie de mosca branca, *B. tabaci* MED foi predominante.

Em tomate, ToCV foi detectado em maiores taxas nas plantas das estufas do município de Pirajuí variando de 20% a 86% de incidência. Em São Pedro do Turvo, apenas uma planta (2%) foi encontrada infectada com o ToCV. Em Itápolis 22% e 4% das plantas testadas em estufa e campo aberto, respectivamente, estavam infectadas com o ToCV. Apenas *B. tabaci* MED foi encontrada. Já em campo aberto 50% dos insetos testados foram classificados como *B. tabaci* MED e 50% como *B. tabaci* MEAM1 (Tabela 1). O principal sintoma observado em plantas de tomate foi clorose internerval nas folhas do baixeiro da planta.

Em pimentão, o ToCV foi detectado em 11 dos 18 locais coletados. No município de Pirajuí, o ToCV foi detectado em plantas nas estufas 2, 4 e 6 com uma incidência de 2%, 14% e 3% respectivamente. Em Itápolis, o vírus foi detectado em plantas nas 4 estufas avaliadas, com uma incidência variando de 2% a 14%. Em Santa Adélia, o ToCV foi detectado em 6% das plantas testadas. Em Fernando Prestes, o ToCV foi detectado em três estufas com incidência variando de 2% a 18%. São Pedro do Turvo foi o único local que o vírus não foi detectado infectando plantas de pimentão. Em relação a detecção da espécie críptica presente, apenas *B. tabaci* MED foi encontrada em todos os locais amostrados, com exceção do local 6 onde foi identificado um inseto de *B. tabaci* MEAM1 (Tabela 2). As plantas de pimentão estavam assintomáticas.

Em nenhum dos municípios avaliados, tanto na cultura do tomateiro como pimentão, foram identificadas amostras positivas para begomovírus, mesmo em estufas onde havia presença de *B. tabaci* MEAM1.

Tabela 1 – Detecção de espécies crípticas de *B. tabaci* e vírus em estufas de tomate em municípios do estado de São Paulo

Área	Município	Ano	Coordenadas	MEAM1	MED	crinivirus	begomovirus
1	Pirajuí/SP	2022	22°00'25.2"S 49°29'35.574"W	0	100 % (10/10)	20% (10/50)	0 (0/50)
2	Pirajuí/SP	2022	22°00'44.21"S 49°28'17.17"W	0	100 % (10/10)	52% (26/50)	0 (0/50)
3	Pirajuí/SP	2023	21°57'23.8"S 49°15'20.0"W	0	100% (2/2)	76% (38/50)	0 (0/50)
4	Pirajuí/SP	2023	21°57'23.8"S 49°15'20.0"W	0	100% (10/10)	86% (43/50)	0 (0/50)
5	São Pedro do Turvo	2023	22°48'13.4"S 49°51'54.9"W	0	100% (10/10)	2% (1/50)	0 (0/50)
6	Itápolis (CA)	2023	21°33'50.6"S 48°47'14.3"W	50% (5/10)	50% (5/10)	4% (2/50)	0 (0/50)
7	Itápolis	2023	21°26'54.3"S 48°44'37.0"W	0	100% (5/5)	22% (11/50)	0 (0/50)

*CA - campo aberto

Tabela 2 – Detecção de espécies crípticas de *B. tabaci* e vírus em estufas de pimentão em municípios do estado de São Paulo

Estufa	Município	Ano	Coordenadas	MEAM1	MED	crinivírus	begomovirus
1	Pirajuí/SP	2022	22°00'25.2"S 49°29'35.574"W	0	100% (10/10)	0 (0/50)	0 (0/50)
2	Pirajuí/SP	2022	22°00'44.21"S 49°28'17.17"W	0	100% (10/10)	2% (1/50)	0 (0/50)
3	Pirajuí/SP	2022	22°00'44.21"S 49°28'17.17"W	0	100% (10/10)	0 (0/50)	0 (0/50)
4	Pirajuí/SP	2022	21°57'12.21"S 49°26'01.91"W	N/C	N/C	14% (7/50)	0 (0/50)
5	Pirajuí/SP	2022	21°57'12.21"S 49°26'01.91"W	0	100% (10/10)	0 (0/50)	0 (0/50)
6	Pirajuí/SP	2023	21°57'23.8"S 49°15'20.0"W	10% (1/10)	90% (9/10)	3% (6/200)	0 (0/200)
7	São Pedro do Turvo	2023	22°48'13.4"S 49°51'54.9"W	0	100% (10/10)	0 (0/50)	0 (0/50)
8	São Pedro do Turvo	2023	22°48'13.4"S 49°51'54.9"W	0	100% (10/10)	0 (0/50)	0 (0/50)

9	Itápolis	2023	21°27'03.4"S 48°45'04.6"W	0	100% (10/10)	8% (4/50)	0 (0/50)
10	Itápolis	2023	21°27'03.4"S 48°45'04.6"W	0	100% (10/10)	10% (5/50)	0 (0/50)
11	Itápolis	2023	21°26'54.3"S 48°44'37.0"W	0	100% (10/10)	2% (1/50)	0 (0/50)
12	Itápolis	2023	21°26'54.3"S 48°44'37.0"W	0	100% (10/10)	14% (7/50)	0 (0/50)
13	Santa Adélia	2023	21°23'55.7"S 48°45'03.8"W	0	100% (8/8)	6% (3/50)	0 (0/50)
14	Fernando Prestes	2023	21°21'39.2"S 48°43'06.4"W	0	100% (10/10)	2% (1/50)	0 (0/50)
15	Fernando Prestes	2023	21°21'39.2"S 48°43'06.4"W	0	100% (10/10)	0 (0/50)	0 (0/50)
16	Fernando Prestes	2023	21°21'39.2"S 48°43'06.4"W	0	100% (10/10)	0 (0/50)	0 (0/50)
17	Fernando Prestes	2023	21°21'50.9"S 48°43'03.1"W	0	100% (10/10)	18% (9/50)	0 (0/50)
18	Fernando Prestes	2023	21°21'50.9"S 48°43'03.1"W	0	100% (10/10)	6% (3/50)	0 (0/50)

2.4 DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram maior incidência do ToCV nas estufas de tomate em comparação com as estufas de pimentão, e torna evidente a predominância e a associação de *B. tabaci* MED à esse vírus em cultivo protegido de tomate e pimentão no estado de São Paulo. A ausência de begomovírus nas áreas de produção pode estar relacionada a ausência de inóculo e estágio da cultura, pois em áreas de campo aberto foi encontrada *B. tabaci* MEAM1, excelente vetor destes vírus. Um aspecto que pode contribuir para a maior incidência de ToCV em estufas de tomate, é a maior susceptibilidade do tomateiro ao ToCV quando comparado ao pimentão (Fortes *et al.*, 2012). Outro aspecto importante é a origem do isolado, que pode ser um fator determinante para o sucesso da infecção de ToCV (Fortes; Moriones; Navas-Castillo, 2012). Vicentin *et al.* (2022) demonstraram que há isolados de ToCV provenientes de tomateiro que não são capazes de infectar o pimentão, mas infectam o tomate com alta eficiência, tanto por *B. tabaci* MED (87%) como *B. tabaci* MEAM1 (93,9%). Já isolados de ToCV provenientes do pimentão são transmitidos com alta eficiência tanto para tomate como para pimentão. A eficiência de transmissão do isolado de ToCV do pimentão para pimentão, é maior por *B. tabaci* MED (83,2%) do que por *B. tabaci* MEAM1 (50%), devido à diferença na preferência do inseto vetor pela planta hospedeira (Vicentin *et al.*, 2022).

Apesar de polípagas, as espécies do complexo de *B. tabaci* podem ter comportamentos diferentes de acordo com o hospedeiro (Vicentin *et al.*, 2022). Watanabe *et al.* (2019) demonstrou que o pimentão é um melhor hospedeiro para MED, enquanto MEAM1 tem preferência pelo tomate. A interação vírus vetor também pode influenciar na transmissão do vírus. Estudos recentes realizados na China, demonstraram que existe sinergismo entre *B. tabaci* MED e o ToCV, interação que não é observada entre MEAM1 e ToCV, onde este crinivírus persistiu por mais tempo em MED do que em MEAM1 (Shi *et al.*, 2018). O contrário disso é observado, uma vez que o ToCV interage negativamente com MEAM1, afetando a performance e o número de emergência de insetos em plantas infectadas com o ToCV (Watanabe *et al.*, 2018).

B. tabaci MEAM1 ainda é a espécie predominante no país (Moraes *et al.*, 2018; Fernandes *et al.*, 2022) e responsável pela disseminação da grande diversidade de

begomovírus pelo território brasileiro (Souza *et al.*, 2020). Apesar dos begomovírus serem predominantes em tomateiro, alguns vírus como o ToSRV e o tomato yellow vein streak virus (ToYVSV) também infectam o pimentão, mesmo que em menor expressividade (Nozaki; Krause-Sakate; Pavan, 2012). Após a detecção de *B. tabaci* MED no estado de São Paulo, houve uma grande preocupação com o TYLCV, begomovirus predominante na Europa, porém ainda ausente no Brasil. Neste levantamento, nenhuma amostra positiva para begomovírus foi encontrada, mas o monitoramento e os cuidados para prevenir a introdução do TYLCV devem permanecer, visto que além de *B. tabaci* MEAM1, *B. tabaci* MED também pode transmitir eficientemente o TYLCV, além de se beneficiar de plantas infectadas com este begomovírus (Chen *et al.*, 2013; Pan *et al.*, 2013).

Em 2020, surtos de crinivírus foram observados em estufas de tomate, pimentão e pepino (Bello *et al.*, 2020). O cultivo de pepino em casas de vegetação é feito em sucessão com essas solanáceas, de forma que a alta incidência de *B. tabaci* MED vêm aumentando também nesta cultura. Foi comprovado que MED tem maior adaptabilidade e sobrevivência que MEAM1 em plantas de pepino (Gorayeb *et al.*, 2021). No estado do Paraná, altas populações de mosca branca foram encontradas em campos de batata e tomate, porém, não foram encontrados begomovírus associados, e uma baixa incidência de crinivírus nos tomateiros (Keller *et al.*, 2023). No estado de Santa Catarina o ToCV foi identificado em tomate e pepino em associação com *B. tabaci* MED, e o ToSRV identificado em apenas dois dos nove municípios avaliados. A incidência de *B. tabaci* MED foi predominante, correspondendo a 49%, seguida de *T. vaporariorum*, 32.9% e *B. tabaci* MEAM1, 17.9%, apesar de a incidência de MEAM1 estar restrita a apenas um município (Gorayeb *et al.*, 2024).

Em relação à predominância de *B. tabaci* MED, algumas características do inseto colaboram para sua maior adaptabilidade em ambiente protegido, em comparação à *B. tabaci* MEAM1. Um estudo feito em pimentão demonstrou que em até três meses, MED desloca MEAM1 (Watanabe *et al.*, 2019). Além disso, MEAM1 apresenta maior sensibilidade a inseticidas do que MED, e pode deslocar MEAM1 numa condição de alta pressão de inseticidas (Horowitz *et al.*, 2005). Apesar de MED ser a espécie menos suscetível a inseticidas, já existem relatos de resistência em MEAM1 à diferentes grupos de inseticidas (Horowitz *et al.*, 2020). Isso torna o manejo do inseto bastante difícil, bem como consequentemente, o manejo do vírus também.

Os resultados obtidos com este trabalho ajudam a esclarecer a dinâmica de ocorrência de vírus dos gêneros *Begomovirus* e *Crinivirus* no estado de São Paulo, em associação às espécies crípticas de *B. tabaci*, evidenciando que begomovírus como o ToSRV que ocorriam em alta incidência em levantamentos passados, não tem mais ocorrência expressiva nos cultivos de tomate, o que provavelmente se deve ao fato de MED não ser uma vetora eficiente desse vírus. Por outro lado, o pimentão era uma cultura que não tinha muitos problemas em relação a vírus transmitidos por mosca branca. Agora, com a predominância da espécie MED, está sendo observado o aumento na incidência de ToCV, visto que é excelente vetora desse vírus, além de ter o pimentão como um bom hospedeiro. Estudos para verificar o cenário epidemiológico em campo aberto no estado precisam ser realizados.

2.5 CONCLUSÕES

- A espécie *B. tabaci* MED foi predominante nas estufas de pimentão e tomate e sua presença associada à incidência do crinivírus tomato chlorosis virus;
- A incidência foi maior em estufas de tomate do que nas de pimentão;
- Não foram encontradas amostras positivas para begomovírus nas estufas avaliadas;
- Na única área de tomate a campo aberto analisada, apesar da presença de *B. tabaci* MEAM1, também não se detectou begomovírus;
- Outros estudos ao longo do território brasileiro são necessários para verificar o avanço da espécie MED e da epidemiologia dos vírus associados.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, L. F. et al. First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. **Pest Management Science**, v. 71, n. 4, p. 501-504, 2015.
- BARBOSA, J. C. et al. First report of *Tomato chlorosis virus* infecting tomato crops in Brazil. **Plant Disease**, v. 92, n. 12, p. 1709-1709, 2008.
- BARBOSA, J. C.; TEIXEIRA, L. D. D.; REZENDE, J. A. M. First report on the susceptibility of sweet pepper crops to *Tomato chlorosis virus* in Brazil. **Plant Disease**, v. 94, n. 3, p. 374-374, 2010.
- BELLO, V. H. et al. Evidence for increased efficiency of virus transmission by populations of Mediterranean species of *Bemisia tabaci* with high *Hamiltonella* prevalence. **Phytoparasitica**, v. 47, p. 293–300, 2019.
- BELLO, V. H. et al. Outbreaks of *Bemisia tabaci* Mediterranean species in vegetable crops in São Paulo and Paraná States, Brazil. **Bulletin of Entomological Research**, v. 110, n. 4, p. 1-10, 2020.
- BELLO, V. H. et al. First report of *Tomato chlorosis virus* infecting cucumber in Brazil. **Plant Disease**, v. 104, n. 2, p. 603, 2020.
- BELLOWS JR, T. S. et al. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 87, n. 2, p. 195-206, 1994.
- BROWN, J. K.; PAREDES-MONTERO, J. R.; STOCKS, I. C. Reassessment of the *Bemisia tabaci* cryptic species group—imperative for a taxonomic reassessment. **Current Opinion in Insect Science**, p. 101032, 2023.
- CHEN, G. et al. Virus infection of a weed increases vector attraction to and vector fitness on the weed. **Scientific Reports**, v. 3, n. 1, p. 2253, 2013.
- DE BARRO, P. J. et al. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Bemisia tabaci*. **Molecular Ecology Notes**, v. 3, n. 1, p. 40-43, 2003.
- DE 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, n. 1, p. 14589, 2018.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11-15, 1987.
- FERNANDES, F. R. et al. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. **Virus genes**, v. 36, p. 251-258, 2008.

FERNANDES, D. de S. et al. *Bemisia tabaci* MEAM1 still remains the dominant species in open field crops in Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. e256949, 2022.

FIALLO-OLIVÉ, E.; NAVAS-CASTILLO, J. Tomato chlorosis virus, an emergent plant virus still expanding its geographical and host ranges. **Molecular Plant Pathology**, v. 20, n. 9, p. 1307-1320, 2019.

FIALLO-OLIVÉ, E. et al. Transmission of begomoviruses and other whitefly-borne viruses: Dependence on the vector species. **Phytopathology**, v. 110, n. 1, p. 10-17, 2020.

FONSECA, M. E. N. et al. First Report of Tomato chlorosis virus Infecting Eggplant and Scarlet Eggplant in Brazil. **Plant Disease**, v. 100, n. 4, p. 867, 2016.

FORTES, I. M.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. Tomato chlorosis virus in pepper: prevalence in commercial crops in southeastern Spain and symptomatology under experimental conditions. **Plant Pathology**, v. 61, n. 5, p. 994-1001, 2012.

FREITAS, D. M. S. et al. First Report of Tomato chlorosis virus in Potato in Brazil. **Plant Disease**, v. 96, n. 4, p. 593, 2012.

GHANIM, M.; CZOSNEK, H. Interactions between the whitefly *Bemisia tabaci* and Begomoviruses: Biological and Genomic Perspectives. In: **Management of Insect Pests to Agriculture**, p. 181-200. Springer, Cham, 2016.

GORAYEB, E. S. et al. Performance and preference of *Bemisia tabaci* on cucumbers: understanding the recent outbreaks of Mediterranean cryptic species in Brazil. **Crop Protection**, v. 143, p. 105468, 2021.

GORAYEB, E. S. et al. Survey of viruses and vectors in tomato plants, alternative hosts and weeds in the state of Santa Catarina, Brazil. **Plant Pathology**, v. 73, n. 2, p. 444-454, 2024.

HANLEY-BOWDOIN, L. et al. Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, n. 1, p. 71-106, 1999.

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.

HOROWITZ, A. R. et al. Insecticide resistance and its management in *Bemisia tabaci* species. **Journal of Pest Science**, v. 93, p. 893-910, 2020.

KELLER, E. et al. Incidência de *Begomovirus* e *Crinivirus* nas culturas do tomateiro e batateira no Estado do Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, v. 53, p. e20210883, 2023.

KRAUSE-SAKATE, R. et al. Population dynamics of whiteflies and associated viruses in South America: Research progress and perspectives. **Insects**, v. 11, n. 12, p. 847, 2020.

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

MARTELLI, G. P. et al. The family *Closteroviridae* revised. **Archives of Virology**, v. 147, n. 10, p. 2039-2044, 2002.

MITUTI, T. et al. Survey of begomoviruses and the crinivirus, tomato chlorosis virus, in solanaceous in Southeast/Midwest of Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 5, p. 468-472, 2019.

MORAES, L. A. et al. New invasion of *Bemisia tabaci* Mediterranean species in Brazil associated to ornamental plants. **Phytoparasitica**, v. 45, p. 517-525, 2017.

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, n. 1, p. 1-13, 2018.

NAVEED, H. et al. A review of interactions between plants and Whitefly-Transmitted Begomoviruses. **Plants**, v. 12, n. 21, p. 3677, 2023.

NG, J. C. K.; FALK, B. W. Virus-Vector Interactions Mediating Nonpersistent and Semipersistent Transmission of Plant Viruses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 44, p. 183-212, 2006.

NOZAKI, D. N. et al. First report of *Tomato severe rugose virus* infecting pepper plants in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, n. 3, p. 321-321, 2006.

NOZAKI, D. N.; KRAUSE-SAKATE, R.; PAVAN, M. A. Begomovírus infectando a cultura de pimentão no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v. 36, p. 244-247, 2010.

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, n. 10, p. 2043-2049, 2016.

PAN, H. et al. Rapid spread of tomato yellow leaf curl virus in China is aided differentially by two invasive whiteflies. **PloS one**, v. 7, n. 4, p. e34817, 2012.

RIBEIRO, S. G. et al. Widespread occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with the new biotype of the whitefly vector. **Plant Disease**, v. 82, n. 7, p. 830-834, 1998.

ROCHA, C. S. et al. Brazilian begomovirus populations are highly recombinant, rapidly evolving, and segregated based on geographical location. **Journal of virology**, v. 87, n. 10, p. 5784-5799, 2013.

ROJAS, M. R. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. **Plant disease**, v. 77, n. 4, p. 340, 1993.

SHI, X. et al. Transmission efficiency, preference and behavior of *Bemisia tabaci* MEAM1 and MED under the influence of *Tomato chlorosis virus*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 2271, p. 1-9, 2018.

SKALJAC, M. et al. Co-infection and localization of secondary symbionts in two whitefly species. **BMC microbiology**, v. 10, p. 1-15, 2010.

SOUZA, T. A. et al. A temporal diversity analysis of Brazilian begomoviruses in tomato reveals a decrease in species richness between 2003 and 2016. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1201, 2020.

SOUZA, J. O. et al. How to be a successful monopartite Begomovirus in a bipartite-dominated world: emergence and spread of *Tomato mottle leaf curl virus* in Brazil. **Journal of Virology**, v. 96, n. 18, p. e00725-22, 2022.

TAY, W. T. et al. Will the real *Bemisia tabaci* please stand up?. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e50550, 2012.

VICENTIN, E. et al. Differential reaction of sweet pepper to infection with the crinivirus tomato chlorosis virus probably depends on the viral variant. **Plant Pathology**, v. 71, n. 6, p. 1313-1322, 2022.

WALSH, P. S. et al. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. **Biotechniques**, v. 10, n. 4, p. 506–513, 1991.

WATANABE, L. F. M. et al. Performance of *Bemisia tabaci* MEAM1 and *Trialeurodes vaporariorum* on *Tomato chlorosis virus* (ToCV) infected plants. **Journal of Applied Entomology**, v. 142, n. 10, p. 1008-1015, 2018.

WATANABE, L. F. M. et al. Performance and competitive displacement of *Bemisia tabaci* MEAM1 and MED cryptic species on different host plants. **Crop Protection**, v. 124, 2019.

ZERBINI, F. M. et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Geminiviridae*. **Journal of General Virology**, v. 98, n. 2, p. 131-133, 2017.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A recente introdução de *Bemisia tabaci* Mediterranean resalta o importante papel do inseto vetor na transmissão de vírus de plantas e o manejo das doenças ocasionadas por eles. Apesar de adquirir as partículas virais, *B. tabaci* MED não é uma boa vetora dos begomovirus ToSRV, ToRMV e BGMV, ao contrário de *B. tabaci* MEAM1, que adquire e transmite os três vírus com alta eficiência. Isso pode vir a alterar o cenário de ocorrência desses vírus no campo.

Levantamentos realizados no Estado de São Paulo indicam predominância da espécie críptica *B. tabaci* MED e ausência de begomovírus nas estufas avaliadas. Mais estudos são necessários para compreender melhor o cenário atual de ocorrência de espécies crípticas de mosca branca e vírus associados nos campos de produção do Brasil.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, L. F. et al. Indigenous American species of the *Bemisia tabaci* complex are still widespread in the Americas. **Pest Management Science**, v. 70, n. 10, p. 1440-1445, 2014.
- BONDAR, G. Relatório. **Boletim do Laboratório de Patologia Vegetal**, 4, 39–46. 1928.
- BARBOSA, J. C.; TEIXEIRA, L. D. D.; REZENDE, J. A. M. First report on the susceptibility of sweet pepper crops to Tomato chlorosis virus in Brazil. **Plant Disease**, v. 94, n. 3, p. 374-374, 2010.
- BELLO, V. H. et al. Evidence for increased efficiency of virus transmission by populations of Mediterranean species of *Bemisia tabaci* with high *Hamiltonella* prevalence. **Phytoparasitica**, v. 47, p. 293-300, 2019.
- BELLOWS JR, T. S. et al. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 87, n. 2, p. 195-206, 1994.
- BROWN, J. K.; PAREDES-MONTERO, J. R.; STOCKS, I. C. Reassessment of the *Bemisia tabaci* cryptic species group—imperative for a taxonomic reassessment. **Current Opinion in Insect Science**, p. 101032, 2023.
- FIALLO-OLIVÉ E. et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Geminiviridae 2021, **Journal of General Virology**, 102:001696, 2021. Acesso em 09 abr. 2024. Disponível em: <<https://ictv.global/report/chapter/geminiviridae/geminiviridae>>
- 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 of Virology**, v. 2, n. 1, p. 67-93, 2015.
- GORAYEB, E. S. et al. Evaluation of *Datura stramonium* and *Nicandra physaloides* as reservoirs of tomato severe rugose virus and whiteflies. **Plant pathology**, v. 69, n. 3, p. 569-575, 2020.
- HOROWITZ, A. R. et al. Insecticide resistance and its management in *Bemisia tabaci* species. **Journal of Pest Science**, v. 93, p. 893-910, 2020.
- INOUE-NAGATA, A. K. et al. A review of geminivirus diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 8-18, 2016.
- JIANG, Y.X. et al. Effect of *Bemisia tabaci* biotype in the transmission of Tomato yellowleaf curl Sardinia virus (TYLCSV-ES) between tomato and common weeds. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid, ES, v. 2, p.115–119, 2004.
- LOURENCAO, A. L.; NAGAI, H. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo. **Bragantia**, v. 53, n. 1, p. 53–59, 1994.

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, n. 1-2, p. 113-121, 2013.

MITUTI, T. et al. Survey of begomoviruses and the crinivirus, tomato chlorosis virus, in solanaceous in Southeast/Midwest of Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 5, p. 468-472, 2019.

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, n. 1, p. 1-13, 2018.

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.

NAVEED, H. et al. A review of interactions between plants and Whitefly-Transmitted Begomoviruses. **Plants**, v. 12, n. 21, p. 3677, 2023.

REHMAN, M. et al. Occurrence of a new cryptic species of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae): an updated record of cryptic diversity in India. **Phytoparasitica**, v. 49, n. 5, p. 869-882, 2021.

RIBEIRO, S. G. et al. Widespread occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with the new biotype of the whitefly vector. **Plant Disease**, v. 82, n. 7, p. 830-834, 1998.

SHI, X. et al. Transmission efficiency, preference and behavior of *Bemisia tabaci* MEAM1 and MED under the influence of tomato chlorosis virus. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 2271, p. 1-9, 2018.

TAY, W. T. et al. Will the real *Bemisia tabaci* please stand up?. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e50550, 2012.