



**AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO DO *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV) POR *Bemisia tabaci* BIÓTIPO B – MEAM 1 (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) E CONTROLE BIOLÓGICO POR *Amblydromalus limonicus* (ACARI: PHYTOSEIIDAE) EM BATATA (*Solanum tuberosum* L.)**

**THIAGO PAP**

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de Concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema

Orientador: Dr. Mário Eidi Sato  
Co-orientador: Dr. Fernando Javier Sanhueza Salas

**São Paulo**

**2016**

# INSTITUTO BIOLÓGICO

## PÓS-GRADUAÇÃO

AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO DO *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV) POR *Bemisia tabaci* BIÓTIPO B – MEAM 1 (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) E CONTROLE BIOLÓGICO POR *Amblydromalus limonicus* (ACARI: PHYTOSEIIDAE) EM BATATA (*Solanum tuberosum* L.)

**THIAGO PAP**

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de Concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema

Orientador: Dr. Mário Eidi Sato

Co-orientador: Dr. Fernando Javier

Sanhueza Salas

**São Paulo**

**2016**



SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO  
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS

**INSTITUTO BIOLÓGICO**

Pós-Graduação  
Av. Cons. Rodrigues Alves 1252

CEP 04014-002 - São Paulo - SP

[secretariapg@biologico.sp.gov.br](mailto:secretariapg@biologico.sp.gov.br)



INSTITUTO BIOLÓGICO

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**Thiago Pap**

**Título:** AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO DO *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV) POR *Bemisia tabaci* BIÓTIPO B - MEAM 1 (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) E CONTROLE BIOLÓGICO POR *Amblydromalus limonicus* (ACARI: PHYTOSEIIDAE) EM BATATA (*Solanum tuberosum* L.)

**Orientador:** Dr. Mário Eidi Sato

**Co-orientador:** Dr. Fernando Javier Sanhueza Salas

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.  
Área de Concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema

Aprovado em: 29/07/2016

Banca Examinadora

Assinatura:

Prof. Dr. Mário Eidi Sato

Instituição: Instituto Biológico, CEIB, Laboratório de Acarologia

Assinatura:

Prof. Dr.: Simone de Souza Prado

Instituição: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Meio Ambiente, Laboratório de Quarentena Costa Lima

Assinatura:

Prof. Dr. Addolorata Colariccio Trevizan

Instituição: Instituto Biológico, CSV, Laboratório de Fitovirologia e Fisiopatologia

Dedico este trabalho a Larisa, minha mãe que sempre me ajudou na busca para atingir meus sonhos e sempre acreditou em mim.

## AGRADECIMENTOS

Além de dedicar esta dissertação a ela, quero também tentar expressar, a parte que consigo, da minha infinita gratidão por todo o incondicional amor, carinho e apoio que ela sempre me deu, à Larisa, minha mãe.

Família não é sangue, família é amor é confiança e apoio, coisas que tive de sobra deles durante toda a minha vida, e principalmente nos momentos decisivos desta dissertação, por isso não deixo de agradecer à Ingrid, Natacha e Ronaldo, irmã, tia e tio.

Um dia me disseram que a frase que representa a máxima expressão dos sentimentos de uma pessoa é “não tenho palavras para descrever” e hoje eu concordo e faço uso desta frase para agradecer ao Dr. Fernando Javier Sanhueza Salas, mais que meu co-orientador, um pai, um amigo. Não tenho palavras para descrever o quão grato sou a ele pelos ensinamentos, pelo apoio, orientação e motivação.

Sou imensamente grato ao Dr. Mário Eidi Sato, meu orientador, que mais do que prontamente aceitou me orientar e guiar neste percurso e por tudo que ele fez por mim e por esta dissertação, e pela imensa paciência e compreensão que teve comigo durante este período.

Ao Dr. Ricardo Harakava, pela disponibilidade, paciência para quando eu apareci com dúvidas e por ter auxiliado no sequenciamento.

A colaboradora PhD Simone de Souza Prado sou especialmente grato pelo imenso auxílio prestado quando mais precisei, a acolhida e abertura de seu laboratório para o desenvolvimento de parte do trabalho, e pelos momentos incríveis vivenciados de ensinamentos sem igual, profissionalmente e pessoalmente.

A Sirlei de Souza Marques, bolsista do CNPq/PIBIC do Instituto Biológico, pelo auxílio na criação dos ácaros predadores e condução dos testes toxicológicos com *Amblydromalus limonicus*.

A Samantha Zanotta e Lillian Silveira Pereira, que me ensinaram muito do que hoje sei e me auxiliaram sempre, desde a criação do projeto que nos trouxe até esta dissertação, e pelo prazer que foi poder trabalhar e estudar na companhia delas.

À Ieda Mascarenhas e Danielle Gobatto, elas que todos os dias tinham sorrisos a oferecer, ajuda a ceder nos momentos de dificuldade, e sábios ensinamentos a passar profissional e pessoalmente.

A Eliana Borges Rivas sou inenarravelmente grato por toda a ajuda e tempo despendido durante as correções da dissertação e pelos ensinamentos nas mais diversas áreas, pesquisa, qualidade, trabalho, estudo, sempre com incrível bom humor e imensa disponibilidade.

Thiago Navarro Bueno (02) e Adriana Maria Vieira Jorge, amigos que tenho como irmãos que me acompanham desde os tempos da faculdade, apoiando, trabalhando junto, viajando e vivendo.

Camila, Guilherme, Natalia e Gustavo, obrigado por terem aceitado algumas palavras da minha parte, tentando ensina-los, mesmo que poucas vezes e por pouco tempo e pelos bons momentos vividos no laboratório.

A Adriano Marcelino pela companhia e ajuda nas viagens a campo, por ser este professor incrível, e “Ás” na manga, que sempre tirou inúmeras duvidas, não importando o teor da pergunta.

Aos pesquisadores do Instituto Biológico, Marta Helena, Eduardo Nogueira, Josiane Takasaki, Jesus Tófoli, Ricardo Domingues, e Teresa Jocys agradeço pelos ótimos momentos passados e incríveis conversas recheadas de conselhos e experiências vividas.

A Mário Eidi Sato, Simone de Souza Prado, Ricardo Harakava, Marcos César Gonçalves, Adolorata Colariccio, por terem aceitado serem membros das minhas bancas de Qualificação e Defesa da Dissertação de Mestrado e pelas contribuições feitas como membros das mesmas.

Ao Instituto Biológico de São Paulo, representado por seus diretores, pela oportunidade de realizar este trabalho.

Meus mais sinceros agradecimentos a todos que colaboraram ou participaram de forma a me auxiliar a chegar a este momento de realização profissional.

*“É quando a vida me desafia que  
eu sempre dobro a aposta,  
onde quer que eu vá.”  
Paulo de Carvalho*

## RESUMO

PAP, T. AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO DO *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV) POR *Bemisia tabaci* BIÓTIPO B – MEAM 1 (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) E CONTROLE BIOLÓGICO POR *Amblydromalus limonicus* (ACARI: PHYTOSEIIDAE) EM BATATA (*Solanum tuberosum* L.). São Paulo-SP. 2016. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) - Instituto Biológico.

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é afetada por mais de 40 viroses relatadas em varias localidades do mundo. Dentre os vírus que infectam batata os principais são aqueles pertencentes ao gênero *Begomovirus*, como o *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV). O vírus é transmitido por mosca-branca (*Bemisia tabaci* Genn.) biótipo B, um problema novo e sério à cultura não só de batata como, também, de tomate. *B. tabaci* é, atualmente, considerada o mais importante vetor de fitovírus. Algumas espécies de ácaros predadores apresentam grande potencial para uso em controle biológico desta praga, como *Amblydromalus limonicus* (Garman & McGregor). O objetivo deste trabalho de pesquisa foi fornecer subsídios para o manejo de pragas na cultura de batata no Brasil, através do controle de *B. tabaci* e do ToYVSV. Para isso, foram realizados: a) Estudos do processo de transmissão do ToYVSV por *B. tabaci* biótipo B em batata ‘Asterix’ e ‘Agata’; b) Avaliação da capacidade de predação de *A. limonicus* sobre *B. tabaci* nas duas cultivares de batata; c) Avaliação da sensibilidade do ácaro predador *A. limonicus* aos principais inseticidas utilizados para o controle de *B. tabaci* em batata no Brasil. Os resultados obtidos demonstram o bom potencial de uso de *A. limonicus* para o controle biológico de *B. tabaci* em plantas de batata, uma vez que cada fêmea adulta do predador consumiu até 8,4 ovos/dia de *B. tabaci*, ovipositando até 1,1 ovos/dia. O predador mostrou-se mais efetivo para o controle de *B. tabaci* em plantas de ‘Agata’ do que em ‘Asterix’. Os agroquímicos deltametrina e lambda-cialotrina causaram 100% de mortalidade de fêmeas adultas de *A. limonicus*. O inseticida tiametoxam e os inseticidas/acaricidas espiromesifeno, acefato e diafentiuron foram classificados como inócuos (espiromesifeno) ou levemente nocivos (demais produtos) para *A. limonicus*, podendo ser úteis para o manejo integrado de *B. tabaci* em cultivos de batata no Brasil. Foi comprovada a presença de ToYVSV nas plantas de tomates onde os indivíduos de *B. tabaci* passaram pelos os períodos de acesso a aquisição, o vírus não foi detectado nas plantas de batata utilizadas nos períodos de acesso a inoculação por 24 horas ou 48 horas. As plantas de batata ‘Agata’ e ‘Asterix’ utilizadas nos testes de transmissão não apresentaram sintomas característicos do vírus e nem resultados positivos quando avaliadas por PCR. O estudo englobou a detecção de possíveis bactérias simbiotes envolvidas no processo de transmissão de begomovírus, indicando uma baixa porcentagem de presença de bactérias já descritas como atuantes no processo de transmissão.

Palavras-chave: Mosca-branca, ácaro predador, simbiotes, begomovírus

## ABSTRACT

PAP, T. TRANSMISSION EVALUATION OF *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV) BY *Bemisia tabaci* BIOTYPE B – MEAM 1 (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) AND BIOLOGICAL CONTROL BY *Amblydromalus limonicus* (ACARI: PHYTOSEIIDAE) IN POTATO (*Solanum tuberosum* L.). São Paulo-SP. 2016. Dissertation (Master in Health, Food Safety and Environmental Agribusiness) - Instituto Biológico.

The potato (*Solanum tuberosum* L.) is affected by more than 40 viruses reported in several locations worldwide. Among the viruses that infect potato those that cause more losses are the begomovirus, like *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV). The virus transmitted by whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.) Biotype B is a new and serious problem not only to potatoes but also to tomato crop. *B. tabaci* is currently considered the most important phytovirus insect vector. Some species of predatory mites such as *Amblydromalus limonicus* (Garman & McGregor), have great potential for use in the biological control of this pest. The aim of this research was to provide basic information for pest management in potatoes in Brazil, through the control of *B. tabaci* and ToYVSV. It was carried out the following studies to this purpose: a) Study of the ToYVSV transmission process by *B. tabaci* biotype B in 'Asterix' and 'Agata' potato; b) Evaluation of the ability of predation of *A. limonicus* on *B. tabaci* in two potato cultivars; c) Evaluation of the susceptibility of the predatory mite *A. limonicus* to the main insecticides used to control *B. tabaci* potatoes in Brazil. The results show good potential for use of *A. limonicus* for the biological control of *B. tabaci* in potatoes, since each adult female of the predator consumed up to 8.4 *B. tabaci* eggs per day, laying up to 1.1 eggs per day. The predator was more effective for the control of *B. tabaci* in 'Agata' plants than in 'Asterix'. The insecticide thiamethoxam and insecticides / acaricides spiromesifen, acephate and diafenthiuron were rated as innocuous (spiromesifen) or slightly harmful (remaining chemicals) to *A. limonicus* and may be useful for the integrated management of *B. tabaci* in potatoes in Brazil. Although it was proved the presence of ToYVSV on the host tomatoes where individuals of *B. tabaci* performed periods of access to acquisition, but, the virus was not detected on the potatoes used on the periods of inoculation for 24 hours or 48 hours. The 'Agata' and 'Asterix' plants used in this study did not show characteristic symptoms of the virus and any positive results when evaluated by PCR. The study included the detection of possible bacterial symbionts involved in begomovirus transmission process, indicating a low percentage of the presence of bacterias already described as active in the transmission process.

Keywords: Whitefly, mite predator, symbionts, begomovirus

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Tipos de onda e correlações para análise de EPG (adaptado de Salas, 2004; Garzo, 2002; Prado, 1997).....	24
<b>Tabela 2.</b> Iniciadores específicos utilizados nas PCR.....	27
<b>Tabela 3.</b> Resultados dos testes de transmissão de ToYVSV para duas cultivares de <i>Solanum tuberosum</i> , Agata e Asterix, com PAA e PAI de 24 h e três repetições em cada experimento, avaliados por PCR.....	35
<b>Tabela 4.</b> Resultados dos teste de transmissão de ToYVSV para duas cultivares de <i>Solanum tuberosum</i> , Agata e Asterix, com PAA e PAI de 48 h e três repetições em cada experimento , avaliados por PCR.....	35
<b>Tabela 5.</b> Resultados das amostras do teste de 24 horas apos avaliação por PCR para as bactérias simbiotes de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1.....	38
<b>Tabela 6.</b> Resultados das amostras do teste de 24 horas apos avaliação por PCR para as bactérias simbiotes de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1.....	39
<b>Tabela 7.</b> Detecção de bactérias simbiotes em indivíduos de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 alimentadas em planta de tomate ‘Santa Clara’ infectada por ToYVSV e transferidas para inoculação de plantas de batata com PAA/PAI de 24 horas....	40
<b>Tabela 8.</b> Detecção de bactérias simbiotes em indivíduos de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 alimentadas em planta de tomate ‘Santa Clara’ infectada por ToYVSV e transferidas para inoculação de plantas de batata com PAA/PAI de 48 horas....	40
<b>Tabela 9.</b> Variáveis avaliadas utilizando-se o <i>Electrical penetration graphics</i> em ‘Agata’.....	43
<b>Tabela 10.</b> Variáveis avaliadas utilizando-se o <i>Electrical penetration graphics</i> em ‘Asterix’.....	44

**Tabela 11.** Densidades de ovos de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 em duas cultivares de batata, com presença e ausência do ácaro predador *Amblydromalus limonicus*.....48

**Tabela 12.** Toxicidade de agrotóxicos sobre fêmeas adultas de *Amblydromalus limonicus*, em folhas de feijão-de-porco, em bioensaio de contato direto e residual.....49

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Folhas de *Solanum lycopersicum* fonte de ToYVSV apresentando sintomas de clareamento de nervura, mosaico amarelado, rugosidade, enrolamento das bordas foliares.....17
- Figura 2.** Colônia de mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1, do Laboratório de Estudo de Vetores do Instituto Biológico, utilizada nos ensaios deste estudo.....19
- Figura 3.** Distribuição de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1, nas plantas de batata, nos testes de transmissão de ToYVSV. Os 15 círculos representam cada uma das plantas de batata e os números no interior destes representam o número de inseto em cada uma das plantas de batata.....20
- Figura 4.** Gaiola tipo *clip cage* em folha de batata ‘Agata’ confinando *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1.....20
- Figura 5.** a) Realização da fixação do fio de ouro em um espécime de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1; b) Detalhe de indivíduo adulto com fio de ouro a ser fixado com pintura de prata para realização dos ensaios de *Electrical Penetration Graph* (EPG).....22
- Figura 6.** a) Gaiola de Faraday com o equipamento EPG Giga 4; b) a mesma gaiola com as plantas de batata e com os espécimes de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 presos a fios de ouro.....22
- Figura 7.** Criação de ácaros predadores da espécie *Amblydromalus limonicus*.....28
- Figura 8.** a) Fêmea adulta do ácaro predador *Amblydromalus limonicus*; b) arena de criação.....29

- Figura 9.** Arenas utilizadas para experimento sobre capacidade de predação de ovos de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 por *Amblydromalus limonicus*.....29
- Figura 10.** Eletroforese em gel de agarose 1%: marcador de peso molecular 1Kb (DNA Ladder Norgen) (M); controle negativo (todos os reagentes exceto DNA) (1); *Solanum lycopersicum* sadia (2); *S. lycopersicum* infectada com ToYVSV (3).....33
- Figura 11.** a) Sequência senso do begomovírus ToYVSV - isolado tomate utilizado no presente trabalho; b) sequência anti-senso do mesmo vírus.....34
- Figura 12.** a) Sequências homólogas à senso obtida neste trabalho; b) sequências homólogas a sequência anti-senso obtida no presente trabalho. Após busca em rede com o programa MEGABLAST no 'GenBank':.....34
- Figura 13.** Taxa de consumo (médias  $\pm$  EP) de ovos de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 por dia por fêmea adulta de *Amblydromalus limonicus*, em arenas de folha de feijão-de-porco.....47

## ABREVIATURAS E SIGLAS

μL	Microlitro
CIA	Clorofórmio : Álcool Isoamílico
cm <sup>2</sup>	Centímetro quadrado
DNA	Ácido desoxirribonucléico
dNTPs	Dideoxynucleotídeos
g	Grama
h	Hora
H <sub>2</sub> O	Água
Mg <sup>2+</sup>	Magnésio
MgCl <sub>2</sub>	Cloreto de magnésio
min	Minuto
mL	Mililitro
pb	Pares de bases
PCR	Reação em cadeia pela polimerase
RPM	Rotações por minuto
SDS	Dodecil sulfato de sódio
s	Segundo
TAE	Tampão Tris-ácido acético-EDTA
Taq	(polimerase extraída de) <i>Thermus aquaticus</i>
t	Tonelada
ha	Hectare

°C	Graus Celsius
MIP	Manejo Integrado de Pragas
EPG	<i>Electrical Penetration Graphics</i>
DAP	Dias Após Plantio
U. R.	Umidade Relativa
PAA	Período de Acesso a Aquisição
PAI	Período de Acesso a Inoculação
LED	Light Emitting Diode
cm	Centímetro
G	Gravidade
M	Molar
Kg	Kilogramas
mm	Milímetro
MED	Mediterranean
MEAM 1	Middle East Asia Minnor 1
PVC	Policloreto de polivinila

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	I
<b>ABSTRACT</b> .....	II
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	III
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	V
<b>ABREVIATURAS</b> .....	VII
<b>1. INTRODUÇÃO.</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	3
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA.</b> .....	4
3.1. Batata ( <i>Solanaum tuberosum</i> L.) .....	4
3.1.1. Cultivares utilizadas nos testes .....	6
3.1.1.1. Cultivar Agata .....	6
3.1.1.2. Cultivar Asterix.....	6
3.2. <i>Tomato yellow vein streak virus</i> – ToYVSV.....	7
3.3. Mosca-branca <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1.....	8
3.4. Simbiontes em <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 .....	11
3.5. O controle biológico pelo Ácaro <i>Amblydromalus limonicus</i> . .....	13
3.6. A técnica de <i>Electrical Penetration Graphics</i> (EPG).....	15
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.</b> .....	17
4.1. Isolado de <i>Tomato yellow vein streak virus</i> (ToYVSV) .....	17
4.2. Produção e manutenção de plantas de batata. ....	18
4.3. Colônia de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 .....	18
4.3.1. Determinação do número mínimo de indivíduos de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 necessários para a transmissão do ToYVSV.....	19
4.4. Comportamento alimentar de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 em ‘Agata’ e ‘Asterix’ utilizando EPG.....	21
4.4.1. Análise estatística dos dados de EPG .....	23
4.5. Análise molecular.....	25
4.5.1. Extração de DNA total das plantas.....	25
4.5.2. Extração de DNA total de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1.....	26
4.5.3. Avaliação do ToYVSV em plantas de batata e tomate e em <i>Bemisia tabaci</i> e das bactérias simbiontes a <i>B. tabaci</i> por PCR (Polymerase Chain Reaction).....	27
4.6. Estudos sobre controle biológico de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 com <i>Amblydromalus limonicus</i> .....	28
4.6.1. Obtenção da população de ácaros predadores.....	28

4.6.2. Capacidade de predacão de ovos <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 por <i>Amblydromalus limonicus</i> .....	29
4.6.3. Influência de <i>Amblydromalus limonicus</i> sobre a infestação de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 em plantas de batata.....	30
4.6.4. Sensibilidade de ácaros predadores a inseticidas utilizados para o controle de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 .....	31
4.6.4.1. Testes toxicológicos com <i>Amblydromalus limonicus</i> .....	31
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	33
5.1. Confirmação da identificação do vírus .....	33
5.2. Avaliação da eficiência de transmissão do ToYVSV por <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 .....	34
5.3. Identificação da população de simbiosites de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 .....	37
5.4. Comportamento alimentar de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 em ‘Agata’ e ‘Asterix’ utilizando EPG.....	42
5.5. Estudos sobre controle biológico de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 com <i>Amblydromalus limonicus</i> .....	47
5.5.1. Capacidade de predacão de ovos <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 por <i>Amblydromalus limonicus</i> .....	47
5.5.2. Influência de <i>Amblydromalus limonicus</i> sobre a infestação de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B – MEAM 1 em plantas de batata .....	48
5.5.3. Testes toxicológicos com <i>Amblydromalus limonicus</i> .....	49
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	51
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	52

## 1. INTRODUÇÃO

A batateira *Solanum tuberosum* L. é uma das mais importantes espécies da família *Solanaceae*, considerada a quarta fonte alimentar da humanidade, situando-se logo após o trigo (*Triticum* spp.), o milho (*Zea mays* L.) e o arroz (*Oryza* spp.) (HAWKES; FRANCISCO-ORTEGA, 1993; FAO, 2014). O consumo anual médio de batata por pessoa em países europeus é superior a 100 kg, enquanto que no Brasil é de seis quilos (IBGE, 2015).

No Brasil, a estimativa de área plantada para 2015 foi de 129.569 hectares, com rendimento de 87 t/ha, numa produção final de cerca de 3.637.593 toneladas. Os estados responsáveis pelas maiores produções são Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Bahia e Rio Grande do Sul, concentrando mais de 95% da produção nacional (IBGE, 2015).

Diversos tipos de ataque de pragas, dentre eles fungos, bactérias, vírus, nematoides e insetos, impactam negativamente a produção de batatas (GIUSTO, 2006). Dentre as doenças destacam-se mais de 40 viroses relatadas em várias localidades produtoras de batata do mundo (BERGER; GERMAN, 2001).

Muitas das espécies de vírus que infectam a batateira são transmitidas por insetos vetores, como a mosca-branca e através de tubérculos sementes. Como o Brasil é dependente da importação de batata semente para o cultivo, é estratégico não só a verificação do estado fitossanitário dessas sementes, como também o monitoramento da cultura quanto à presença de pragas (BERGER; GERMAN, 2001).

Os danos causados pela mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Genn.), podem ser divididos em danos diretos e indiretos. Os danos diretos são aqueles associados à introdução de toxinas em tecidos foliares que provocam desordens fisiológicas e à própria sucção pela praga que causa o definhamento da planta pela perda da seiva. Os danos indiretos são aqueles provocados indiretamente pela colonização da mosca-branca na planta como, por exemplo, a secreção açucarada (*honeydew*) excretada pelo inseto durante sua alimentação que favorece a colonização por fungos saprófitos, e estes por sua vez reduzem a área fotossintética da folha; no entanto, o que se destaca é a atuação do inseto como vetor de fitovírus (CAMERON *et al.*, 2013).

Dentre as 128 espécies de fitovírus transmitidos por *B. tabaci* temos entre elas os *Begomovirus* (família *Geminiviridae*). As espécies desse gênero já foram relatadas em solanáceas como plantas de tomate e batata (FARIA *et al.*, 1997; SOUZA-DIAS, 2008). Os primeiros relatos de geminivírus surgiram em 1965 no Brasil, e foram associados a infestações de mosca-branca (COSTA, 1965).

*B. tabaci* é o inseto vetor mais importante e único conhecido de *Begomovirus* (HARRISON, 1985; DUFFUS, 1987; GERLING; MOTRO; HOROWITZ, 1980). Entre os principais begomovírus, que ocorrem em batata destacam-se o *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV), *Tomato severe rugose virus* (ToSRV), e *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV); sendo este último ainda não foi relatado no Brasil, e classificado como praga quarentenária A1 (SOUZA-DIAS, 1996; JONES, 2003).

Desde a década de 1990, os begomovírus são predominantes em várias regiões produtoras de batata, como o estado de São Paulo e o Distrito Federal (SOUZA-DIAS, 1996). Os sintomas característicos são deformação de topo, mosqueado, mosaico amarelo e redução de área foliar (FARIA *et al.*, 2000; SOUZA-DIAS *et al.*, 2008b). Em áreas de produção de batata, ToYVSV induz mosaico e deformação foliar, e a transmissão ocorre tanto por batata-semente quanto por vetor. Desta forma, essa espécie de vírus oriunda de plantas de tomate e transmitida por *B. tabaci*, constituem um problema relativamente novo e sério à bataticultura no Brasil.

Recentemente há relatos de que bactérias simbiotes podem interferir na transmissão de begomovírus. Os simbiotes secundários como a bactéria secundária *Hamiltonella defensa* e *Rickettsia* spp. foram descritas por influenciarem na transmissão do begomovírus TYLCV (SU *et al.*, 2013; KLIOT *et al.*, 2014).

Visando a importância do controle da mosca-branca, e assim, da transmissão de begomovírus há a necessidade de diminuir o uso de agroquímicos utilizados na cultura de batata aumentando a ação de algumas espécies de ácaros predadores, principalmente dos generalistas (hábito alimentar tipo III), como os dos gêneros *Neoseiulus*, *Typhlodromus* e *Amblyseius*. Estes têm sido avaliados como um potencial para o controle de insetos como tripes e moscas-brancas (McMURTRY; CROFT, 1997). A espécie *Amblydromalus limonicus* [= *Typhlodromalus (Amblyseius) limonicus*] (Garman & McGregor) (Acari: Phytoseiidae) apresenta bom potencial para ser utilizado em programas de controle biológico de moscas-brancas, tripes e ácaros tetraniquídeos (Van HOUTEN *et al.*, 1995; 2008).

Assim, o conhecimento de métodos de controle de pragas no cultivo da batata é de suma importância devido ao alto custo de produção e às grandes perdas na produtividade, principalmente por se tratar do controle de insetos vetores de vírus.

## 2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho de pesquisa foi fornecer subsídios para o manejo da cultura de batata no Brasil visando o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 e *Tomato yellow vein streak virus*:

a) Estudar o processo de transmissão do *Tomato yellow vein streak virus* por *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 em plantas de batata ‘Asterix’ e ‘Agata’;

b) Avaliar a capacidade de predação de *Amblydromalus limonicus* sobre *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 nas plantas de batatas ‘Asterix’ e ‘Agata’;

c) Avaliar a sensibilidade do ácaro predador *Amblydromalus limonicus* aos principais inseticidas utilizados para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 em plantas de batata no Brasil.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Batata (*Solanum tuberosum* L.)

A família Solanaceae possui espécies de grande importância econômica, como a batata (*Solanum tuberosum* L.) que é uma das mais importantes espécies da família, a qual inclui também o tomate (*Solanum lycopersicum* L.), o pimentão (*Capsicum annuum* L.) e o fumo (*Nicotiana tabacum* L.) (HAWKES, 1993).

*Solanum tuberosum* é uma planta perene, cultivada normalmente como anual. Essa apresenta características como folhas compostas, flores, estolões, ou seja, ramificações originadas de gemas que se encontram nas axilas de folhas rudimentares na parte subterrânea do caule, e ao final destes estão os tubérculos, que são caules adaptados para reprodução e reserva de amido. A planta de batata considerada normal desenvolve o mesmo número de hastes de acordo com o número de brotos que saem da batata-semente. O sistema radicular da batata é superficial e as raízes se concentram em até 30 cm de profundidade (LOPES; BUSO, 1997; FILGUEIRA, 2000).

O ciclo vegetativo da cultura pode ser precoce (menor que 90 dias), médio (90-110 dias) ou tardio (>110 dias), sendo que este período varia entre as cultivares (FORTES, 2003).

Após ensaios realizados com plantas de batatas 'Bintje', de ciclo precoce, e 'Aracy', de ciclo tardio, quatro estádios fenológicos foram definidos. O estágio I tem uma duração de uma a duas semanas após o plantio, abrangendo do momento em que a batata-semente brota até a emergência das hastes, tendo pouca exigência de água. O estágio II começa entre a quarta e a quinta semana depois do plantio, sendo que no intervalo entre emergência da haste e a tuberização; há um aumento na necessidade de água e inicia-se a adubação, devido ao desenvolvimento radicular. O estágio III ocorre na oitava semana, quando se atinge o ápice do desenvolvimento vegetativo; nesse estágio há maior absorção de nutrientes e pode ocorrer à formação de flores, dependendo das condições climáticas. O estágio IV é o maior e dura até a senescência da planta; nele acontece o incremento em peso dos tubérculos enquanto a parte aérea estiver viva. Em sequência, ocorre o amarelecimento das folhas entre a décima segunda e a décima quarta semana. Nos estádios III e IV deve-se ter os maiores cuidados fitossanitários, pois nesse período é que se tem a maior incidência de pragas e doenças (FILGUEIRA, 2003).

No Brasil, o cultivo da batata é realizado em três safras. Na primeira, a das águas, o plantio ocorre no período de setembro a novembro, com a colheita a partir de janeiro. Neste

período a irrigação não é tão necessária, porém a alta umidade e a elevada temperatura fazem com que a parte aérea seja consideravelmente aumentada, podendo assim ocorrer o acamamento da planta e a presença de folíolos menores, o que ocasiona um atraso na tuberização. Na segunda safra, a da seca, o plantio é realizado entre fevereiro e abril com a colheita na seca, e no início do plantio a pluviosidade pode ser suficiente para manter a planta. Na terceira safra, a de inverno, o plantio vai de maio a julho e a colheita ocorre em setembro; durante este período, a irrigação é necessária e a qualidade do tubérculo é superior, com isso, o preço do tubérculo fica mais elevado se comparado com o de outras safras (CARVALHO DIAS, 1993; CHOER, 2003).

Em 2015, a área plantada foi estimada em 129.569 hectares, com rendimento de 87 t/ha, numa produção final esperada de 3.637.593 toneladas. Os estados responsáveis pelas maiores produções foram Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Bahia e Rio Grande do Sul, concentrando mais de 95% da produção do país (IBGE, 2015). Aproximadamente 90% da produção de batata se concentraram nas Regiões Sul e Sudeste, enquanto o restante estava nas Regiões Centro-Oeste e Nordeste em áreas com altitudes superiores a 900 m (LEGNARO; SÁBIO, 2007; ÁVILA *et al.*, 2009), como o município de Cristalina em Goiás e a Chapada da Diamantina, na Bahia (LEGNARO; SABIO, 2007). As condições climáticas encontradas nesses locais são excepcionais para o cultivo da batateira contribuindo para produtividade 60% superior à média brasileira, atingindo 40 toneladas por ha (ÁVILA *et al.*, 2009).

A produtividade da batata é afetada, também, pela presença de pragas e doenças. Dentre as pragas que afetam a produção da batata no Brasil temos a mosca-branca *B. tabaci*, descrita por Lourenção e Nagai (1994) como uma praga de plantas de batata de grande importância tanto pelos danos diretos quanto pelos danos indiretos que causam à produção.

A propagação da batateira é comumente realizada através de tubérculos (batata-semente), por essa razão, este insumo deve ser de alta qualidade agrônômica e fitossanitária, pois, caso contrário, uma provável consequência seria a queda na produtividade da lavoura, devido principalmente a doenças (ÁVILA *et al.*, 2009).

Do ponto de vista da legislação, as “Unidades Certificadoras” do Brasil não atendem à demanda de análises para sanidade de tubérculos-sementes (FIGUEIRA, 2006) e, na ausência destas, os produtores passaram a realizar a autocertificação, causando informalização na produção de sementes, e agravando os problemas fitossanitários (ANDREATTA, 2006).

### **3.1.1. Cultivares utilizadas nos experimentos**

#### **3.1.1.1. Cultivar Agata**

'Agata' é proveniente da Holanda e originária do cruzamento das variedades Bohm x Sirco. Apresenta maturação de precoce a muito precoce, com rendimento alto e baixo teor de matéria seca. Suas plantas têm hastes finas, com coloração verde pronunciada; sua folhagem apresenta bom desenvolvimento, folhas moderadamente grandes, de silhueta fechada e de cor verde clara. Apresenta pouca inflorescência e suas flores são de cor branca. O tubérculo tem casca de coloração amarela, predominantemente lisa, polpa amarela clara; olhos superficiais, definição do número de tubérculos em torno de 15 dias (considerado uma característica marcante de 'Agata'), produção de tubérculos normalmente de tamanho uniforme. Broto com formas cilíndricas, largas, coloração violeta avermelhada pouco pronunciada, e escassamente piloso. Devido às suas características de tubérculo e pela boa aceitação dos consumidores e produtores, graças ao pouco tempo em campo, a 'Agata' representa atualmente a cultivar com maior área plantada no Brasil (JADOSKI *et al.*, 2012), representando cerca de 60% da produção nacional.

#### **3.1.1.2. Cultivar Asterix**

'Asterix' é holandesa originária do cruzamento das variedades SVP VE 70-9 x Cardinal. É uma planta alta, com estrutura de folhagem tipo caule; hastes eretas, coloração moderada de antocianina; folhas grandes, verdes, silhueta semiaberta a fechada; floração rica, nenhuma ou coloração muito leve de antocianina dentro da corola de flor. Seus tubérculos possuem a forma oval a oval alongada; pele vermelha, casca predominantemente áspera; polpa de cor amarelo clara; olhos muito superficiais. O tamanho do broto é moderadamente grande, cônico, com forte coloração de antocianina e moderada a forte pubescência da base; botão terminal com tamanho variando de moderadamente grande a grande e, ocorre a redução de antocianina variando de forte a muito forte; ponta de raiz em quantidade moderada a pouca. A cultivar tem um ótimo sabor e é excelente para ser usada no processamento de pré-fritas congeladas. É resistente a nematoides e ao cancro, tem resistência moderada à sarna comum e à requeima, boa resistência ao crescimento secundário e aos danos mecânicos. É uma variedade fácil de plantar e boa para armazenar. É a cultivar cuja área plantada mais cresceu na Europa nos últimos anos (ABBA, 2015).

### 3.2. *Tomato yellow vein streak virus – ToYVSV*

*Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV) é uma espécie do gênero *Begomovirus*, membro da família *Geminiviridae*. As espécies pertencentes a esta família são importantes, pois têm potencial de se disseminar rapidamente em campos de produção, causando grandes perdas econômicas (NAVAS-CASTILLO *et al.*, 2011; STEVENSON *et al.*, 2001).

A família *Geminiviridae* compreende sete gêneros, classificados de acordo com a organização de seu genoma: *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocuvirus*, *Becurtovirus*, *Eragovirus*, *Turncurtovirus* e *Begomovirus* (ICTV, 2015). Os geminivírus têm como característica vírions ‘geminados’, ou seja, formados por dois icosaedros incompletos e unidos, porém com um só tipo de proteína e genoma circular de ssDNA (BROWN *et al.*, 2012). O número de segmentos de DNA (um ou dois) e os vetores variam de acordo com o gênero (BROWN *et al.*, 2012).

O gênero *Begomovirus*, com 288 espécies aceitas (ICTV, 2015), se caracteriza por apresentar: I) partículas geminadas, icosaédricas de 15 a 20 nm de diâmetro; II) uma ou duas moléculas de DNA (DNA A e DNA B), circulares e de fita simples; III) transmissão por *B. tabaci*; IV) hospedeiras, geralmente dicotiledôneas (ALBUQUERQUE, 2012; BROWN *et al.*, 2012).

As begomoviroses podem causar perdas que variam de 20 a 100% na produção (BROWN; BIRD, 1992). As populações do biótipo B de *B. tabaci* têm uma grande capacidade de transmitir begomovírus, apesar de outros biótipos também transmitirem eficientemente (JONES, 2003).

Os begomovírus são transmitidos por adultos e ninfas de *B. tabaci* de maneira persistente. O manejo de begomoviroses é realizado com plantio de cultivares tolerantes ao vírus, quando disponíveis, e o controle do inseto vetor (VILLAS-BÔAS; CASTELO BRANCO, 2009). Apesar dos estudos e avanços na produção de material resistente aos begomovírus e à mosca-branca, estes vírus continuam causando grandes perdas na produção (ÁVILA *et al.*, 2009).

Trabalhos recentes têm descrito a interação entre simbioses e moscas-brancas e as partículas virais e proteínas secretadas por essas bactérias simbioses secundárias, presentes no trato digestivo da mosca-branca. Esta interação pode auxiliar nos processos de aquisição, translocação, retenção e transmissão do vírus (SU *et al.*, 2013, KLIOT *et al.*, 2014)

Os begomovírus já foram descritos como sendo divididos em dois grupos, o do Velho Mundo, representado principalmente pelo TYLCV, que possui apenas um segmento de DNA

circular, e os do Novo Mundo como o ToYVSV que possui duas moléculas de DNA: o DNA A, que contém os genes relacionados à replicação viral e à síntese da capa proteica, e o DNA B, que possui os genes associados ao movimento e à expressão de sintomas (TIMMERMANS; PREMDAS; MESSING, 1994; FARIA *et al.*, 1997; BROWN, 1997; CZOSNEK *et al.*, 2002; BARBOSA *et al.*, 2011).

As espécies de *Begomovirus* que possuem genoma bipartido, como o ToYVSV, estão no tecido floemático e também que podem vir a ser encontradas no córtex, mesófilo e epiderme foliar. Entretanto os begomovírus que possuem genoma monopartido, como o TYLCV, estão descritos como limitados apenas ao tecido do floema (TIMMERMANS; PREMDAS; MESSING, 1994; MORRA; PETTY, 2000).

A caracterização molecular parcial do ToYVSV no país revelou a existência de ampla diversidade genética, com pelo menos nove prováveis espécies já identificadas (FARIA *et al.*, 2000; RIBEIRO *et al.*, 2002).

### 3.3. Mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1

A primeira descrição da mosca-branca *Bemisia tabaci* foi feita por Gennadius, na Grécia em 1889, proveniente de material adquirido de coleta de planta de fumo, sendo denominada na ocasião *Aleurodes tabaci* (BROWN; FROHLICH; ROSELL, 1995). Este inseto tem 1 mm de comprimento e é dotado de quatro asas membranosas.

*B. tabaci* (Genn.) pertence à ordem Hemiptera, subordem Sternorrhyncha, família Aleyrodidae e subfamília Aleyrodicinae. A família Aleyrodidae possui cerca de 1500 espécies (INBAR; GERLING, 2008), sendo que a subfamília Aleyrodicinae compreende mais de 90% do total de espécies (MARTIN; MOUND, 2007). Apesar desse número expressivo, apenas quatro espécies são relatadas como vetores de vírus, sendo eles: *Trialeurodes vaporariorum*, *T. abutilonea*, *T. ricini* e *B. tabaci*. Atualmente, essa espécie é considerada como mais importante vetor de fitovírus e único vetor conhecido de *Begomovirus* (GERLING; MOTRO; HOROWITZ, 1980; HARRISON, 1985; DUFFUS, 1987).

*B. tabaci* é cosmopolita, com suposto centro de origem no Oriente (Índia e Paquistão), tendo sido introduzida na África, Europa e Américas pelo transporte e intercâmbio de material vegetal (BROWN; BIRD, 1992; BROWN, 1997).

No Brasil, a mosca-branca *B. tabaci* é conhecida desde 1923 (BONDAR, 1928), ocorrendo em várias culturas e plantas invasoras, no entanto em baixas infestações. Em 1968, na região norte do Paraná, surtos populacionais dessa espécie representada pelo

biótipo A dominante na época, foram verificados em lavouras de algodão e feijão (COSTA; RUSSEL, 1973).

*B. tabaci* é um complexo de espécies constituído por mais de 40 biótipos, ou seja, espécies morfológicamente indistintas. O biótipo B de *B. tabaci* [= *B. argentifolii* Bellows & Perring], atualmente pertencente ao grupo MEAM 1 (Middle East-Minor Asia 1) (DINSDALE *et al.*, 2010), foi introduzido no Brasil no início da década de 1990 (LOURENÇÃO; NAGAI, 1994). Desde então, o biótipo predominante é o B (anteriormente o biótipo A era o que predominava no país) com destaque para as culturas de feijão e soja. A mudança da predominância do biótipo A para o biótipo B, ou o deslocamento de um biótipo pelo outro, pode ser explicada pela maior taxa de reprodução, alta oviposição e um número muito maior de plantas hospedeiras (BEDFORD *et al.*, 1994; RABELLO *et al.*, 2005). Fato semelhante está ocorrendo nos países do Mediterrâneo e Europa com um novo biótipo resistente a alguns inseticidas neonicotinoides e que conseguiu se sobrepor ao biótipo B, o biótipo Q (TIWARI; NEMA; KHARE, 2013). A partir do Oriente Médio, o biótipo Q conseguiu se disseminar para diversas partes do mundo (LEFEUVRE *et al.*, 2010; BARBOSA *et al.*, 2014), inclusive para a Ásia (CHU *et al.*, 2006; LIU *et al.*, 2012), e no Brasil em 2013 (MARUBAYASHI *et al.*, 2013).

*B. tabaci* destaca-se como um dos mais destrutivos insetos-praga de culturas protegidas ou plantações em campo (XU; LIN; LIU, 2011; PAN *et al.*, 2012). Infesta mais de 600 espécies de plantas, mono e dicotiledôneas, incluindo espécies cultivadas ou não (BROWN; FROHLICH; ROSELL, 1995 De BARRO *et al.*, 2011; LOURENÇÃO; SAKATE; VALLE, 2014). Segundo Lourenção e colaboradores (2014), as principais culturas de interesse econômico atacadas por este inseto no Brasil são: algodão (*Gossypium herbaceum* L.), abóbora (*Curcubita* spp.), batata (*Solanum tuberosum* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris*), tomate (*Solanum lycopersicum*), melancia (*Citrullus lanatus* L.), melão (*Cucumis melo* L.), soja (*Glycine max*), videira (*Vitis* spp.), hortaliças diversas e ornamentais. Dentre as plantas da vegetação espontânea, algumas hospedeiras são: amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla* L.), caruru (*Amaranthus* spp.), corda-de-viola (*Ipomoea* sp., *Pavonia cancellata* Cav., *Pavonia humifusa* A. St-Hill), guanxuma (*Sida rhombifolia* L.), joá-bravo (*Solanum viarum* Dun.), marmeleiro (*Croton sonderianus* Muell. Arg.), maria-preta (*Solanum americanum* L.), mata-pasto-liso [*Senna tora* (L.) Roxb.] , melão-de-são-caetano (*Mormodica charantia* Moric.), quebra-pedra (*Phyllanthus tenellus* Roxb.) e serralha-vermelha (*Emilia sonchifolia* L.) (LOURENÇÃO; NAGAI, 1994; HAJI *et al.*, 2015; MOREIRA, 2001; LOURENÇÃO *et al.*, 2003).

No Estado de São Paulo, o biótipo B de *B. tabaci* foi primeiramente observado na região de Paulínia em 1992, nas culturas de abóbora, brócolis e berinjela; em Ibiúna no

mesmo ano, nas culturas de tomate; em Ribeirão Preto em 1994, nas culturas de brócolis, berinjela e jiló; e em Araçatuba e Presidente Prudente em 1995, em cultivos de tomate e plantas ornamentais, além de infestações severas em plantas da vegetação espontânea local (LOURENÇÃO, 1997). Na cultura da batata ela é conhecida há vários anos, mas suas populações eram pequenas, não causando graves danos às plantas (MOUND; HALSEY, 1978; GALLO *et al.*, 2002).

O ciclo de vida de *B. tabaci* biótipo B varia de acordo com a planta hospedeira e as condições ambientais, sendo a temperatura um dos fatores mais determinantes. Segundo Salgueiro (1993), o ciclo de vida de *B. tabaci* dura 19 dias a 32°C, podendo chegar a 73 dias a 15°C; em condições favoráveis, esse inseto pode apresentar de 11 a 15 gerações por ano, sendo que cada fêmea pode colocar de 100 a 300 ovos durante o seu ciclo de vida. Lacerda e Carvalho (2008) mencionaram um período de desenvolvimento de ovo a adulto foi de 22,3 dias em plantas de tomate e de 25,6 dias em repolho (a 25°C e 65% de umidade relativa). Nessas condições, a duração dos diversos estádios de desenvolvimento, em plantas de tomate e repolho, foram respectivamente de 7,3 e 7,7 dias para ovo (período embrionário); 4,0 e 4,4 dias para o primeiro instar; 2,7 e 3,4 dias para o segundo instar; 2,5 e 4,3 dias para terceiro instar, e 5,8 e 5,7 dias para pupa.

Segundo De Barro (2011), *B. tabaci* alcançou o *status* de praga mais danosa às culturas mundiais de plantio em campo aberto e protegido, em 1980. O mesmo autor também menciona que a expansão dos vírus transmitidos por *B. tabaci* ao redor do mundo se deve a facilidade na dispersão deste inseto pelo globo, e que o plantio intensivo de monoculturas associado à utilização maciça de inseticidas leva à resistência na espécie. Por estas razões, o controle do inseto e das viroses a ele associadas tem se tornado cada vez mais difícil e a disseminação dessas doenças tem aumentado.

O controle químico da praga é bastante difícil devido ao reduzido número de produtos efetivos registrados para a cultura da batata, associado ao fato da rápida seleção de populações resistentes aos inseticidas utilizados para seu controle (RODITAKIS; RODITAKIS; TSANGKARAKOU, 2005). Além disso, outros fatores associados à dificuldade de controle da praga incluem: o local de postura, geralmente folhas 'baixeiras' onde os inseticidas de impacto *knock down* não são efetivos e a falta de inseticidas de ação ovicida ou de fases imaturas, que possibilitam o rápido restabelecimento populacional da praga.

A mosca-branca se alimenta no floema da planta, introduzindo o estilete e extraindo aminoácidos e carboidratos necessários para sua sobrevivência, ao mesmo tempo o inseto pode adquirir o vírus. O vírus circula internamente via canal digestivo até a câmara filtro onde se alojam. A maior parte das bactérias simbióticas se alojam no intestino médio (mesêntero). Posteriormente, o vírus entra em contato com as proteínas secretadas pelas

bactérias que o auxiliam a passar para a hemolinfa do corpo do inseto até atingir as glândulas salivares acessórias e, assim quando o inseto se alimenta em outra planta transmite o begomovírus (BROWN; BIRD, 1992; CZEPAK *et al.*, 2009).

*B. tabaci* é vetor de aproximadamente 111 espécies de fitovírus, sendo que, só o gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*) engloba mais de 90% do total de espécies de vírus transmitidos por este inseto; convém salientar que esta espécie é o único vetor conhecido de *Begomovirus* (JONES, 2003).

No Brasil, dentre as culturas mais afetadas pela transmissão dos begomovírus pelo biótipo B de *B. tabaci* destacam-se as plantas de batata, feijão, melão, pimentão e tomate, com sintomas bastante severos nas plantas (HAJI *et al.*, 2001; LOURENÇÃO; SAKATE; VALLE, 2014). Muitas das espécies não cultivadas servem de hospedeiros para os vírus transmitidos por *B. tabaci* às plantas cultivadas. (CAVALCANTE, 2014). Um dos geminivírus, o ToYVSV, tornou-se a espécie predominante em várias regiões, como no estado de São Paulo e no Distrito Federal, em plantas de tomate e batata (COLARICCIO *et al.*, 2007).

#### 3.4. Simbiontes em *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1

Os insetos que se alimentam de seiva de plantas, como a mosca-branca, evoluíram e se adaptaram a novos habitats favorecidos pelas relações com seus simbiontes, pois estes auxiliam na interação do inseto com seu hospedeiro e com o meio ambiente, fornecendo a resistência a alguns fatores ambientais, como temperatura, ou até mesmo modificando o círculo de hospedeiras nas quais os insetos se alimentam (PINHEIRO *et al.*, 2015; HANSEN; MORAN, 2011).

Os insetos que se alimentam no floema possuem bactérias endógenas que são denominadas endossimbiontes ou simbiontes e são divididos em primários e secundários (PINHEIRO *et al.*, 2015).

A bactéria descrita como simbiote primário obrigatório para a mosca-branca, *B. tabaci*, é denominada *Candidatus Portiera aleyrodidarum* (*Portiera aleyrodidarum*) que auxilia na complementação da alimentação das moscas-brancas. Esta é passada verticalmente das fêmeas para a prole devido ao fato de se localizar em células especializadas para manter os simbiontes, denominadas bacteriocitos. Embora a bactéria seja descrita como obrigatória, não significa que a mosca-branca não sobreviva na ausência da mesma, porém a mosca-branca se desenvolve de forma diferente necessitando de uma alimentação mais reforçada e contínua, pois há relatos de que a bactéria secreta, para a mosca-branca, aminoácidos e

carotenoides essenciais para o seu desenvolvimento, auxiliando no aumento da taxa reprodutiva e oviposição, permitindo com que a mosca-branca se reproduza com maior eficiência e oviponha um número maior de ovos (WILKINSON; DOUGLAS, 1996; PINHEIRO *et al.*, 2015; THAO; BAUMANN, 2004; BING *et al.*, 2013).

Sete gêneros já foram caracterizados e descritos como simbioses secundários de *B. tabaci*: *Candidatus Hamiltonella defensa*, *Rickettsia* spp., *Candidatus Wolbachia* spp., *Candidatus Cardinium hertigii*, *Arsenophonus* spp., *Candidatus Fritschea bemisiae*, *Orientia* spp. (PINHEIRO *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2015). A transmissão desses simbioses secundários pode ocorrer de maneira vertical ou horizontal, sendo que a horizontal se dá por via reprodutiva e em alguns casos a aquisição ocorre pela alimentação em plantas que contenham a bactéria (CHIEL *et al.*, 2009; BING *et al.*, 2013; KLIOT *et al.*, 2014).

Os fatores relacionados à presença de diferentes simbioses secundários em populações do mesmo biótipo de *B. tabaci* podem variar de acordo com as plantas hospedeiras dos insetos, temperatura, geografia e até mesmo as viroses relacionadas ao inseto (CHIEL *et al.*, 2007; SKALJAC *et al.*, 2013; KLIOT *et al.*, 2014).

Alguns simbioses secundários de *B. tabaci* vêm sendo relatados como auxiliadores nos eventos de aquisição, translocação, retenção e transmissão dos vírus que os insetos são vetores. Entretanto, também existem relatos em que os simbioses secundários estariam associados à resistência a inseticidas, altas temperaturas, proteção a parasitoides, manipulação da reprodução e inibição da transmissão de patógenos (OLIVER *et al.*, 2003; RUSSELL; MORAN, 2006; KONTSEDALOV *et al.*, 2008; MOREIRA *et al.*, 2009; GOTTLIEB *et al.*, 2010; KLIOT *et al.*, 2014; PINHEIRO *et al.*, 2015).

Como exemplo de bactéria simbiote secundária que interage durante os eventos de aquisição, translocação, retenção e transmissão do begomovírus TYLCV, pode ser citada a bactéria *Hamiltonella defensa*. Esta bactéria secreta uma proteína homóloga, GroEL, que interage fisicamente com o vírus aumentando em 80% a taxa de aquisição, retenção e transmissão do vírus (SU *et al.*, 2013).

A proteína GroEL é uma chaperonina secretada por diversas bactérias; estas proteínas são relatadas como interagindo com partículas virais que infectam bactérias, animais e plantas. Aparentemente a GroEL tem a habilidade de se ligar fisicamente com as proteínas da capa viral e assim auxiliar no processo de translocação do vírus pelo corpo do inseto (Van Den HEUVEL *et al.*, 1994; 1999; HOGENHOUT *et al.*, 2000; KLIOT; GHANIM, 2013)

Também pode ser citado o aumento na taxa de ocorrência destes eventos para o mesmo vírus, quando na presença de bactérias simbioses secundárias do gênero

*Rickettsia*, onde a presença da bactéria ocasionou uma melhor aquisição/transmissão (79%) se comparada às moscas-brancas sem a presença do simbiote (41%) (KLIOT *et al.*, 2014).

Embora os casos citados acima tenham sido descritos referentes à transmissão do TYLCV, sendo este um begomovírus do Velho Mundo com apenas uma partícula de DNA, já foi descrito que este fato não influencia na transmissão e na interação entre os begomovírus e as proteínas secretadas pelas bactérias no momento da transmissão (CZOSNEK *et al.*, 2002).

Assim como existem bactérias simbiotes relacionadas à aquisição, translocação, retenção e transmissão de patógenos, também existem bactérias simbiotes responsáveis pela inibição da ocorrência desses eventos. A bactéria *Wolbachia* spp., gênero descrito como simbiotes secundários de diversos artrópodes, foi relatada em mosquitos como *Aedes aegypti* na Austrália inibindo a replicação dos vírus da dengue e chikungunya e, também, de *Plasmodium* (MOREIRA *et al.*, 2009; KLIOT *et al.*, 2014).

A presença dos simbiotes secundários pode estar relacionada à presença ou ausência dos vírus, pois segundo Klot e colaboradores (2014), as moscas-brancas que continham o simbiote secundário *Rickettsia* foram expostas a plantas infectadas por TYLCV tinham sua concentração de bactéria reduzida, sugerindo que o begomovírus e a bactéria competem pelos recursos providos pela mosca-branca.

### **3.5. O controle biológico pelo ácaro *Amblydromalus limonicus***

Com o crescente interesse pela melhoria da qualidade dos produtos agrícolas e do meio ambiente, o controle biológico vem assumindo importância cada vez maior em programas de manejo integrado de pragas (MIP). Neste caso, pode frequentemente ser associado a outros métodos de controle, como o cultural, o físico, o da resistência de plantas e o químico (PARRA *et al.*, 2002).

O controle biológico pode ser visto do ponto de vista natural e aplicado. Na natureza é um fenômeno que regula a população de um organismo pela combinação de fatores naturais bióticos ou abióticos. Já a técnica, quando aplicada, refere-se ao uso de inimigos naturais para diminuir a população de uma praga. A aplicação pode ser conduzida pela adoção de três estratégias: clássico, por conservação e por incremento.

O controle biológico “clássico” abrange a introdução de inimigos naturais em uma área onde estes ainda não estejam presentes, com o objetivo de se estabelecer o agente de controle que se considera eficiente, principalmente quando se trata de uma praga exótica. O controle biológico por conservação tem como objetivo a manutenção dos inimigos naturais já

presentes no ambiente, adotando medidas que propiciem um melhor desempenho destes, através de alterações no ambiente ou adoção de práticas agrícolas mais apropriadas. O método por incremento refere-se a práticas sistemáticas cujo objetivo é o aumento da população de um determinado inimigo natural comprovadamente eficiente, que é liberado no campo para o controle da praga. Este tipo de estratégia envolve liberações dos tipos inundativa e inoculativa. A primeira corresponde à liberação de grandes quantidades de agentes de controle, visando à rápida redução da praga, enquanto a segunda corresponde à liberação de menores números de agentes de controle, com o objetivo de se promover o controle da praga ao longo das gerações subsequentes dos agentes de controle (MORAES; McMURTRY; DENMARK, 1986; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

O controle de *B. tabaci* é um desafio devido à sua ampla gama de hospedeiros, fácil dispersão e alto potencial reprodutivo (ANTONY; PALANISWAMIM; HENNEBERRY, 2003; NARANJO *et al.*, 2010). No Brasil, é controlada principalmente com o uso de agrotóxicos, mas alguns casos de resistência a inseticidas têm sido relatados (SILVA *et al.*, 2009). Uma alternativa para seu controle seria a utilização de inimigos naturais, como ácaros predadores da família Phytoseiidae (CAVALCANTE, 2014). Em países da Europa e na América do Norte, os fitoseídeos *Amblydromalus limonicus* (Garman & McGregor), *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot) e *Euseius gallicus* (Kreiter & Tixier) têm sido utilizados com esta finalidade (HOOGERBRUGGE *et al.*, 2005; KNAPP *et al.*, 2012; BIOBEST, 2014; KOPPERT, 2014).

Cerca de 120 espécies pertencentes a 31 famílias de nove ordens têm sido citadas como inimigos naturais de *B. tabaci*, incluindo ácaros da família Phytoseiidae (GERLING; ALOMAR; ARNÓ, 2001). Fitoseídeos relatados como predadores de *B. tabaci* são: *A. limonicus*, *A. swirskii*, *E. gallicus*, *Euseius scutalis* (Athias-Henriot), *Neoseiulus barkeri* (Hughes), *Phytoseius finitimus* (Ribaga) e *Typhlodromus (Typhlodromus) athiasae* Porath & Swirski (KOMATSU; NAKANO, 1998; GERLING; ALOMAR; ARNÓ, 2001; NOMIKOU *et al.*, 2001; HOUTEN; ROTHE; BOLCKMANS, 2008; BIOBEST, 2014).

*A. limonicus*, *A. swirskii* e *E. gallicus* tem sido comercialmente utilizados como agentes de controle de *B. tabaci*. No entanto, esses inimigos naturais ainda não são utilizados para o controle de *B. tabaci* no Brasil (CAVALCANTE, 2014).

A espécie *A. limonicus* tem sido encontrada em diversas culturas. As fêmeas dessa espécie medem cerca de 0,35 mm de comprimento, sua longevidade é de aproximadamente 16,6 dias e o número de ovos depositados é em torno de 31,9, em um período de 9,4 dias, quando alimentado com ácaro rajado em folhas de morangueiro. Para os machos, a longevidade é de 15,1 dias. A razão sexual é de 0,56 (fêmeas/fêmeas + machos) (NICASTRO *et al.*, 2011).

Em estudo conduzido por Pijnakker e Messelink (2005), em casa de vegetação infestada de mosca-branca *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), espécies de ácaros predadores (Phytoseiidae) foram avaliadas quanto ao potencial predatório sobre a espécie de mosca-branca, *A. swirskii* (Athias-Henriot), *Euseius ovalis* (Evans) e *A. limonicus*; os resultados evidenciaram efetividade de predação de 99% pelo ácaro *A. limonicus*.

### **3.6. A técnica de *Electrical penetration graphics* (EPG)**

Para avaliar o comportamento alimentar de *B. tabaci* biótipo B em *S. tuberosum* experimentos têm empregado a técnica de monitoramento eletrônico da atividade estiletar de insetos, denominada “Electrical Penetration Graph” (EPG). Uma vez que essa técnica permite detectar alterações na voltagem, condutividade e tensão que ocorrem durante as fases de alimentação do inseto sugador nos diferentes tecidos da planta sendo assim possível se determinar o tempo que *B. tabaci* leva para atingir o floema onde se alimenta e, assim, adquirir e transmitir vírus (TJALLINGII, 1985; PRADO, 1997; GÁRZO, 2002; SALAS; PACIÊNCIA; FERRERES, 2012).

A técnica de EPG foi idealizada nos Estados Unidos por McLean e Kinsey (1964), e a partir deste feito muitas questões relacionadas à alimentação de insetos fitófagos sugadores foram elucidadas.

A técnica consiste em incorporar o inseto e a planta estudada a um circuito elétrico acoplado em um sistema de medição e um computador. No momento em que o inseto insere o estilete dentro do tecido vegetal, o circuito é fechado ocorrendo uma variação de voltagem que produz tipos de ondas e padrões que correspondem à localização e atividade do estilete dentro da planta, importantes no processo de aquisição e transmissão (por exemplo: ingestão ou salivação) dos fitovírus em questão (GÁRZO *et al.*, 2002; SALAS; PACIÊNCIA; FERRERES, 2012). Esta técnica é empregada atualmente em várias frentes de pesquisa, tais como: avaliação da preferência alimentar de insetos por diferentes cultivares de plantas; estudos com metabólitos secundários; ação de inseticidas e transmissão de fitovírus (HOLBROOK, 1977; RAMAN; TINGEY; GREGORY, 1979; La POINTE; TINGEY, 1984; FERERES *et al.*, 1993; MARTÍN *et al.*, 1997; SALAS; LOPES; FERRERES, 2010).

Os dados obtidos são transformados de analógicos para digitais pelo equipamento GIGA-4 e transferidos para um computador em formas digitais de gráficos de ondas, onde a amplitude, frequência, formas, tensões e tamanhos de ondas, foram previamente

determinados por trabalhos desenvolvidos para outros grupos de insetos sugadores (NAUEN, 1995; CUI *et al.*, 2010; BONANI, 2010). Graças às mudanças de condutividade registradas, o comportamento alimentar do inseto pode ser interpretado, pois, diferentes eventos nos tecidos da planta resultam em alterações na voltagem, condutividade e tensão, detectada pelo equipamento, alterando assim a amplitude e a frequência de ondas registrada em gráficos, que serão comparados com os padrões já conhecidos por estudos prévios (LEONARD; HOLBROOK, 1978; TJALLINGII, 1985; PRADO, 1997).

Os principais eventos que foram observados, onde há uma onda específica para cada evento são: a duração da primeira picada de prova, número de picadas de prova, duração da primeira penetração do estilete, duração da segunda picada de prova, duração do primeiro padrão de floema, número de penetrações após o primeiro padrão de floema, entre outros (Van HELDEN; TJALLIGII, 1993). Estes dados se dividem em sequenciais, com tempos fixos (número de eventos e porcentagens) e não sequenciais onde ocorrem variações (tempo e número de eventos) de acordo com o comportamento de cada indivíduo. Para a mosca-branca, os padrões de onda conhecidos se assemelham aos de afídeos.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Isolado de *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV)

As fontes do ToYVSV isolado de plantas de tomate, utilizadas neste trabalho foram cedidas pela Dra. Lillian Pereira proveniente do Instituto Agronômico de Campinas (IAC) e pelo Dr. João Roberto Spotti Lopes do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz” (ESALQ/USP).

No laboratório, o vírus foi mantido em plantas de tomates ‘Santa Clara’ por enxertia e a verificação da infecção viral foi feita por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com iniciadores específicos e pela observação de sintomas.

Nas plantas de tomates que serviram como fontes de vírus, o ToYVSV induziu os sintomas clássicos descritos por Faria e colaboradores (1997), ou seja demonstrando clareamento de nervura, mosaico amarelado, rugosidade, enrolamento das bordas foliares, demonstrados na Figura 1.



**Figura 1.** Folhas de *Solanum lycopersicum* fonte de ToYVSV apresentando sintomas de clareamento de nervura, mosaico amarelado, rugosidade, enrolamento das bordas foliares

#### 4.2. Produção e manutenção de plantas de batata

As plantas de batata foram cultivadas em vasos de plástico com 20 cm de diâmetro x 15 cm de altura, com capacidade para 3L, e mantidas em casa de vegetação; foram protegidas com tela antivírus (50 mesh), para evitar presença de outros insetos. Cada vaso foi preenchido com uma mistura de terra e composto orgânico na proporção 3:1.

As plantas foram obtidas a partir de tubérculos sementes comprovados como livres do ToYVSV a partir da realização de extração de DNA total de plantas e PCR com a utilização do iniciador específico para ToYVSV descrito na Tabela 2, e portanto foram caracterizados como livres do ToYVSV, para ambas as 'Agata' e 'Asterix', utilizadas nos ensaios entre 20 e 25 dias após o plantio (DAP), quando apresentaram o segundo folíolo completamente desenvolvido. Os tubérculos sementes utilizados nos testes de transmissão de 'Agata' e 'Asterix' foram cedidos pelo Engenheiro Agrônomo Pedro Hayashi – Associação de Bataticultores de Vargem Grande do Sul (ABVGS).

#### 4.3. Colônia de *Bemisia tabaci* biótipo B - MEAM 1

Os insetos utilizados nos experimentos deste trabalho foram obtidos a partir de uma população de *B. tabaci* biótipo B criada em plantas de couve (*Brassica oleracea* L.), cedida pela Dra. Lillian Pereira do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Esta população de *B. tabaci* foi caracterizada molecularmente como pertencendo ao biótipo B e como sendo uma colônia utilizada como padrão suscetível nos estudos de resistência a inseticidas (FONTES; COLOMBO; LOURENÇÃO, 2010).

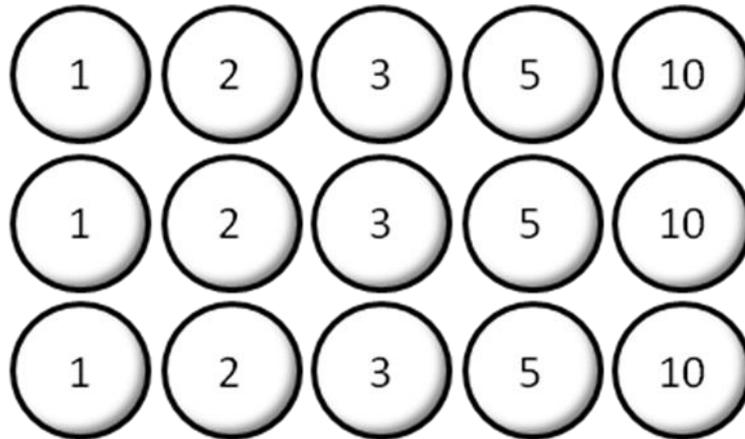
A população de *B. tabaci* foi mantida em plantas de batata 'Bach 4' no Laboratório de Estudo de Vetores do Instituto Biológico, em São Paulo, em caixas de criação de madeira (70 x 40 x 45 cm), com laterais de tela anti-vírus e portas com vidro (Figura 2). As colônias foram mantidas em temperatura ambiente, com fotofase de 14 horas e U.R. 80%. Semanalmente, plantas de batata 'Bach 4' com senescência eram substituídas por novas, a fim de prover condições adequadas de alimentação aos insetos.



**Figura 2.** Colônia de mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1, do Laboratório de Estudo de Vetores do Instituto Biológico, utilizada nos ensaios deste estudo

#### **4.3.1. Determinação do número mínimo de indivíduos de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 necessários para a transmissão do ToYVSV**

Os experimentos de transmissão foram realizados para ambas as cultivares de plantas de batata no Laboratório de Estudo de Vetores do Instituto Biológico, sob condições controladas (fotofase 14 horas; U.R. 80%). Utilizou-se um aspirador entomológico, feito com tubo de acrílico ligado a duas mangueiras plásticas, uma contendo um filtro e a outra não, para a captura dos indivíduos de *B. tabaci*. Os insetos coletados da colônia, livres de ToYVSV, foram colocados em uma planta de tomate infectada por ToYVSV para a realização de dois períodos de acesso a aquisição (PAA) um de 24 horas e outro de 48 horas. Após estes períodos de aquisição as moscas-brancas foram transferidas para 30 plantas de batata ‘Agata’ e 30 de ‘Asterix’, comprovadas previamente como livres de ToYVSV. Dessas plantas, 15 ‘Agatas’ e 15 ‘Asterix’ receberam de 1 a 10 indivíduos de *B. tabaci* seguindo a distribuição de indivíduos de acordo com o delineamento mostrado na Figura 3 para um PAI de 24 horas, e as outras 15 ‘Agatas’ e 15 ‘Asterix’ receberam as moscas-brancas, de acordo com a mesma distribuição, para um PAI de 48 horas.



**Figura 3.** Distribuição de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1, nas plantas de batata, nos testes de transmissão de ToYVSV. Os 15 círculos representam cada uma das plantas de batata e os números no interior destes representam o número de inseto em cada uma das plantas de batata

Os indivíduos foram mantidos em confinamento sobre a folha de batata por meio de uma gaiola do tipo *clip cage* (Figura 4) para reduzir a movimentação, o espaço de alimentação e controlar o período de acesso a inoculação (PAI) de 24 horas e 48 horas.



**Figura 4.** Gaiola tipo *clip cage* em folha de batata 'Agata' confinando *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1

Após os devidos PAI de 24 horas e 48 horas, os espécimes de *B. tabaci* foram retirados das gaiolas, *clip cage* (Figura 4) e submetidos ao protocolo de extração de DNA total de mosca-branca e PCR, e a análise dos produtos obtidos foi realizada em gel de agarose a 1% para obtenção do resultado parcial do teste de transmissão.

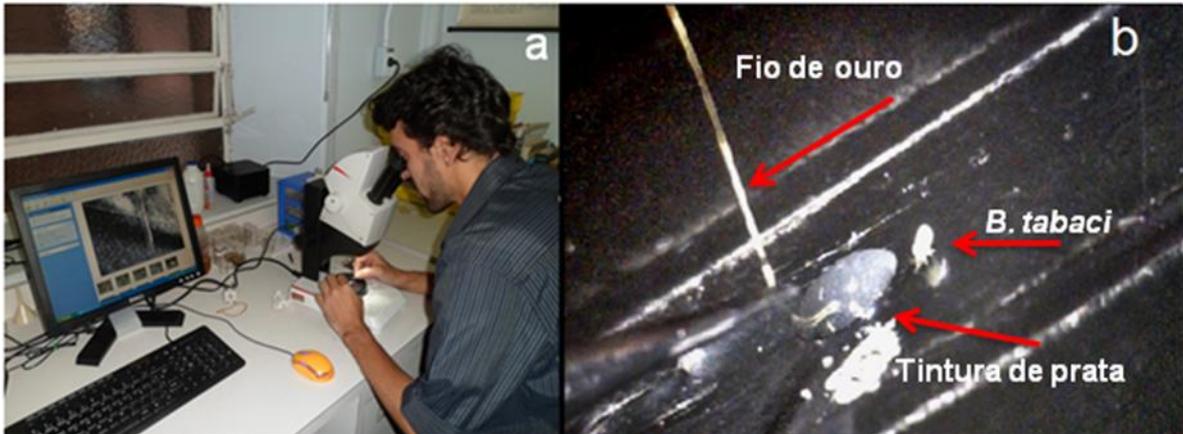
Após 15 e 30 dias do teste de transmissão, as plantas utilizadas nos testes foram submetidas ao protocolo de extração de DNA total de plantas, PCR e a análise dos produtos obtidos foi observada em gel de agarose a 1%. Para detectar a presença do vírus. Esses períodos de tempo, 15 e 30 dias, são aqueles nos quais, de acordo com a literatura, o ToYVSV leva para se replicar na planta hospedeira, induzir sintomas e ser detectado por PCR (COLARICCIO *et al.*, 2007).

Como controle negativo foram utilizadas moscas-brancas que não adquiriram o vírus, ou seja, os insetos foram transferidos da colônia diretamente para as duas cultivares de plantas de batata, seguindo o mesmo delineamento mostrado na Figura 3. Extração de DNA total, PCR e análise do produto obtido foram, também, realizados para validação do ensaio.

Para testar a hipótese de uma possível correlação entre simbioses e transmissão viral, foi realizado o levantamento dos simbioses presentes na colônia de *B. tabaci*. Para isso, todas as amostras de DNA extraídos dos testes de transmissão, mesmo que tenham apresentado resultado negativo para a presença de ToYVSV, foram avaliados quanto a presença de bactérias simbioses.

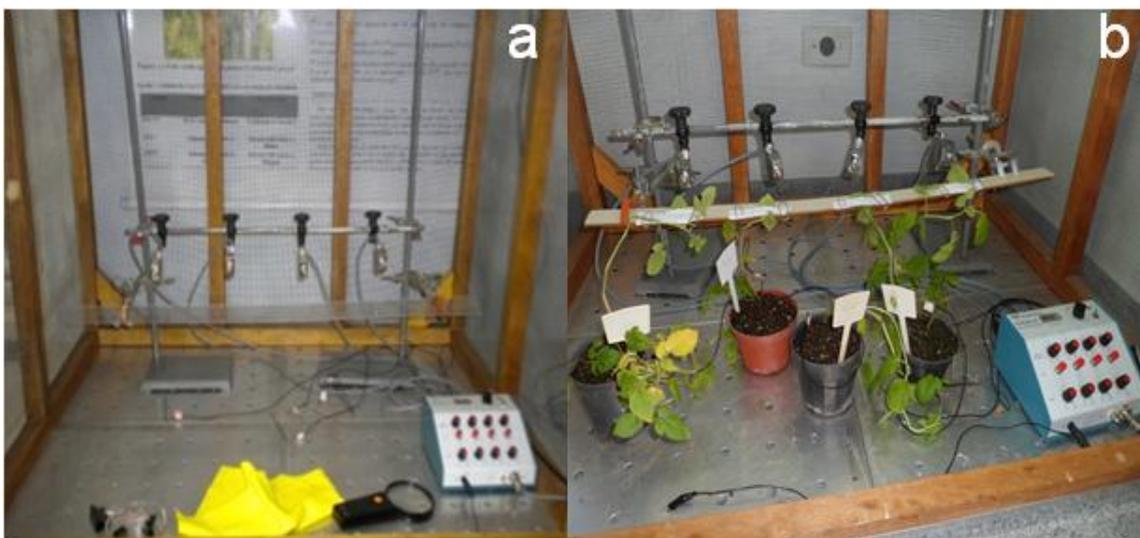
#### **4.4. Comportamento alimentar de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 em ‘Agata’ e ‘Asterix’ utilizando EPG**

As moscas-brancas adultas foram retiradas da colônia com o auxílio de um sugador entomológico e submetidas à  $-5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 3 minutos para imobilização. Em seguida com o auxílio de um pincel, foram colocadas sobre uma placa de Petri com gelo para reduzir sua movimentação. Utilizando-se uma pinça cruzada de ponta fina e um estilete entomológico, sob um microscópio estereoscópico Leica EZ4 D com iluminação LED (Figura 5a), foi fixado sobre o dorso do tórax do inseto, um fio de ouro, de aproximadamente 1,5 – 3,0 cm de comprimento x 10 – 12,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Para a fixação, utilizou-se uma gota de tintura de prata condutora (16034 Pelco Collodia Silver, CA, E.U.A.) (Figura 5b). O fio foi, então, conectado aos eletrodos de cobre (3,0 cm de comprimento x 1,0 mm de diâmetro). Por sua vez, os eletrodos foram ligados ao computador provido com o software responsável pelo registro dos gráficos gerados.



**Figura 5.** a) Realização da fixação do fio de ouro em um espécime de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1; b) Detalhe de indivíduo adulto com fio de ouro a ser fixado com pintura de prata para realização dos ensaios de *Electrical Penetration Graph* (EPG)

Para a realização do monitoramento eletrônico foi utilizado o equipamento EPG Giga-4, em gaiola de Faraday, acoplado a um computador para a aquisição e análise dos dados utilizando-se o programa Stylet Dataq Di158U, para obtenção de ondas específicas, *Electrical Penetration Graphs* (Figura 6).



**Figura 6.** a) Gaiola de Faraday com o equipamento EPG Giga 4; b) a mesma gaiola com as plantas de batata e com os espécimes de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 acoplados ao sistema

Os insetos foram submetidos ao jejum de 1 hora, com o fio de ouro aderido, antes de iniciar o registro. Após o jejum dos insetos, foi realizada a calibração do equipamento utilizando-se um amplificador gráfico, especificando os 4 canais e a duração do registro (4 horas), para o referido equipamento (Giga-4), acoplado a um computador. As plantas apresentavam o segundo par de folíolos completamente desenvolvidos, eram pertencentes ao mesmo lote e foram submetidas ao mesmo tratamento de adubação e irrigação, padronizando o experimento. As plantas de batata foram oferecidas aos insetos em vasos de 10 cm de diâmetro, e colocou-se no substrato um eletrodo de cobre de 10 cm de comprimento e 0,2 cm de diâmetro; após o término dos ajustes, os insetos foram colocados sobre o lado abaxial da folha e iniciou-se o processo de aquisição dos dados. Os dados de registro de onda de EPG foram armazenados diretamente no computador (TJALLINGII, 1985; PRADO, 1997).

Para a realização desta fase do experimento, foram utilizados espécimes de *B. tabaci* mantidos no laboratório, adultos e livres de vírus. O delineamento experimental foi composto por seis tratamentos, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 60 minutos e 240 minutos, com 15 indivíduos de *B. tabaci* por tratamento.

Os eventos estudados no EPG foram: tempo até introdução de estilete (C); tempo até a chegada ao floema (E1 e ou E2) e número de Pd's (queda de potencial referente à penetração em célula vegetal, picada de prova). Sendo que estes padrões seguem descritos na Tabela 1.

#### **4.4.1. Análise estatística dos dados de EPG**

A análise estatística foi realizada separando os parâmetros em sequenciais e não sequenciais, calculados nos registros de EPG utilizando-se o MS Excel workbook (versão 4.4.1), desenvolvido por Sarria e colaboradores (2009). Após esta fase, os resultados foram submetidos à análise estatística de comparação entre médias. Quando as médias obtidas resultaram em valor normal, elas foram comparadas por meio do teste-t student a nível de 5% e, para as médias não normais, utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Witney U-test a nível de significância de 0,05. Os cálculos foram realizados pela utilização do software SPSS v21 (SPSS, 2012).

**Tabela 1.** Tipos de onda e correlações para análise de EPG (adaptado de SALAS, 2004; GARZO, 2002; PRADO, 1997)

<b>Tipo de onda</b>	<b>Sub-fases</b>	<b>Tecido vegetal envolvido</b>	<b>Atividade de <i>Bemisia tabaci</i></b>	<b>Frequência</b>
<b>C</b>	-	Caminhamento intercelular; Epiderme	Atividades durante a inserção intracelular do estilete. Provavelmente em busca dos tecidos vasculares	<b>0,2 – 0,3 Hz</b>
<b>Pd</b>	-	Todas as células vivas	Penetração de estiletes maxilares no interior de uma célula	<b>0,02 Hz</b>
	I		Perfuração da parede celular pelos estiletes	<b>Queda brusca de potencial</b>
	II-1		Egestão (inoculação de vírus não persistentes)	<b>Potencial negativo</b>
	II-2		Não definido	<b>Potencial negativo</b>
	II-3		Ingestão (aquisição de vírus não persistentes)	<b>Potencial negativo</b>
	III		Retirada dos estiletes do citoplasma celular	<b>Rápida subida de potencial</b>
<b>E</b>	-	-	Ação da bomba salivar	-
	E1	Fase floemática forçada; Extracelular	Salivação no floema e inoculação de vírus persistentes	<b>2 - 4 Hz</b>
	E2	Fase floemática contínua; Elementos de vaso	Ingestão floemática e salivação (aquosa) e aquisição de vírus persistentes	<b>2 - 4 Hz</b>
<b>G</b>	-	Xilema	Ingestão ativa	<b>4 – 6 Hz</b>

## 4.5. Análise molecular

### 4.5.1. Extração de DNA total das plantas

Amostras foliares das plantas de batata utilizadas nos testes de transmissão de ToYVSV foram submetidas à extração de DNA total conforme descrito por Dellaporta, Wood e Hicks (1983), com adaptações.

Um grama de tecido foliar de cada amostra foi triturado com auxílio de pistilo com ponta cônica, em presença de nitrogênio líquido dentro de microtubos de 1,5mL. Ao microtubo foi adicionado 500µL de tampão de extração de DNA (NaCl 0,5 M, EDTA 0,05 M, Tris-HCl 0,1M pH 8,0), 33µL de solução de SDS a 20% e 3µL de β-mercaptoetanol. A mistura foi homogeneizada e os tubos foram incubados por 1 hora a 65°C em banho seco sob agitação de 1500 r.p.m. A seguir, foram adicionados 500µL da mistura de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1). Os microtubos foram agitados por inversão e centrifugados a 13000G por 15 minutos a 4°C. Os sobrenadantes obtidos foram transferidos para novos microtubos de 1,5mL, aos quais foram adicionados 400µL de isopropanol. Após agitação lenta por inversão, os microtubos foram centrifugados a 13000G por 10 minutos e os sobrenadantes foram descartados. Aos pellets foram adicionados 500µL de etanol 70%, e os microtubos agitados em vortex e centrifugados a 13000G por 5 minutos. Os sobrenadantes foram descartados e os pellets foram secos a 36°C por 30 minutos. Os DNAs foram resuspendidos em 30µL de água de osmose reversa autoclavada e armazenados a -20°C até a realização da PCR com iniciadores específicos para o ToYVSV (Tabela 2).

Amostras de folhas sadias de batata foram incluídas no procedimento acima para serem utilizadas como controle negativo.

#### 4.5.2. Extração de DNA total de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1

Indivíduos de *B. tabaci* utilizados nos testes de transmissão foram submetidos à extração de DNA total, seguindo a distribuição descrita na Figura 3, de acordo com o procedimento descrito por Metha e colaboradores (1994), com adaptações.

As moscas-brancas, distribuídos de acordo com a Figura 3, foram colocados em microtubos de 1,5mL com 200µL de tampão de extração TE (Tris-EDTA 0,1M, pH 9,0, 1% SDS) e então congeladas a -20°C. Após 30 minutos, as moscas-brancas foram trituradas com auxílio de pistilo com ponta cônica e aos microtubos foram adicionados 1µL de proteinase K (50µg/mL) e 33µL de solução SDS a 20%. As misturas foram homogeneizadas e os microtubos incubados por 1 hora a 65°C em banho seco com agitação de 1500 r.p.m. A seguir, aos microtubos foram adicionados 350µL da mistura de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1) e agitados por inversão. As amostras foram então mantidas a -20°C. Após 1 hora os microtubos foram centrifugados a 13000G por 15 minutos a 4°C. Os sobrenadantes foram transferidos para novos microtubos de 1,5mL, onde foram adicionados 200µL da mistura de clorofórmio:fenol (1:1). Após centrifugação a 13000G por 15 minutos a 4°C, foram adicionados 500µL de etanol absoluto e os microtubos foram agitados por inversão. Após 15 minutos a -20°C, as amostras foram centrifugadas a 13000G por 15 minutos a 4°C. Os sobrenadantes foram descartados e os DNAs precipitados foram lavados com etanol 70% e centrifugados a 13000G por 15 minutos a 4°C. Dos sobrenadantes foram novamente descartados e os pellets secos a 36°C por 30 minutos. Os DNAs foram resuspendidos em 30µL de água de osmose reversa autoclavada e armazenados a -20°C até a realização da PCR.

Moscas-brancas não virulíferas foram incluídas no procedimento acima para serem utilizadas como controle negativo em reações de PCR.

#### 4.5.3. Avaliação do ToYVSV em plantas de batata e tomate e em *B. tabaci* e das bactérias simbiotes a *B. tabaci* por PCR (Polymerase Chain Reaction)

Para a detecção do ToYVSV e das bactérias simbiotes, *Portiera aleyrodidarum*, *Hamiltonella* spp., *Rickettsia* spp. e *Wolbachia* spp., foram realizada PCR com DNA extraído de plantas e de moscas-brancas.

A detecção da população de simbiotes relacionados à colônia de *B. tabaci* utilizada no presente trabalho foi realizada no Laboratório de Quarentena “Costa Lima” da Embrapa Meio Ambiente em Jaguariúna em colaboração com a pesquisadora Dra. Simone Prado.

Os iniciadores específicos utilizados na PCR estão relacionados na Tabela 2.

Os reagentes utilizados nas reações de amplificação constaram de: 2,0µL de DNA total, 17,2µL de água osmose reversa autoclavada, 2,5µL de tampão de reação NeoBio, 0,2µL da enzima Taq (1U) DNA polimerase NeoBio, 0,5µL de dNTP's a 10 mM, 0,8µL do iniciador específico anti-senso (R) e 0,8µL do iniciador específico senso (F), a 10mM.

Os reagentes foram submetidos a: 94°C por 3 minutos para desnaturação inicial, 30 ciclos de 94°C por 1 minuto, X°C por 1 minuto, 72°C por 2 minutos, e um ciclo de extensão final de 72°C por 5 minutos, em um termociclador da marca Axygen modelo Maxygene. A temperatura de anelamento, identificada acima como “X”, variou de acordo com os iniciadores específicos utilizados conforme descrito na Tabela 2. As concentrações dos reagentes seguiu o protocolo descrito por Rojas e colaboradores (1993).

Os produtos da PCR foram analisados em gel de agarose a 1%, contendo 0,5mg/mL de brometo de etídeo e visualizados em fotodocumentador Major Science.

**Tabela 2.** Iniciadores específicos utilizados nas PCR

Alvo	Iniciador / regiões	Sequência	°C Anelamento	Referência
<b>ToYVSV</b>	PAL1v1978 - R	5' – GCATCTGCAGGCCAC ATYGTCTTYCCNGT - 3'	55°C	Rojas <i>et al.</i> , 1993
	PAR1c496 - F	5' - AATACTGCAGGGCTTYCTRTACATRGG - 3'		
<b>Portiera aleyrodidarum</b>	16 S rRNA - F	5' - CGCCCGCCGCGCCCGCGCCCGTC CCGCCGCCCCGCCCCG - 3'	50°C	Gottlieb <i>et al.</i> , 2006
	16 S rRNA - R	5' - CCGTCAATTCMTTTGAGTTT - 3'		
<b>Hamiltonella spp.</b>	16 S rRNA - F	5' - TGAGTAAAGTCTGGAATCTGG - 3'	50°C	Zochori-Fein <i>et al.</i> , 2002
	16 S rRNA - R	5' - AGTTCAAGACCGCAACCTC - 3'		
<b>Rickettsia spp.</b>	16 S rRNA - F	5' - GCTCAGAACGAACGCTATC - 3'	50°C	Gottlieb <i>et al.</i> , 2006
	16 S rRNA - R	5' - GAAGGAAAGCATCTCTGC - 3'		
<b>Wolbachia spp.</b>	16 S rRNA - F	5' - CGGGGAAAAATTTATTGCT - 3'	45°C	Zochori-Fein <i>et al.</i> , 2002
	16 S rRNA - R	5' - AGCTGTAATACAGAAAGTAAA - 3'		

#### 4.6. Estudos sobre controle biológico de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 com *Amblydromalus limonicus*

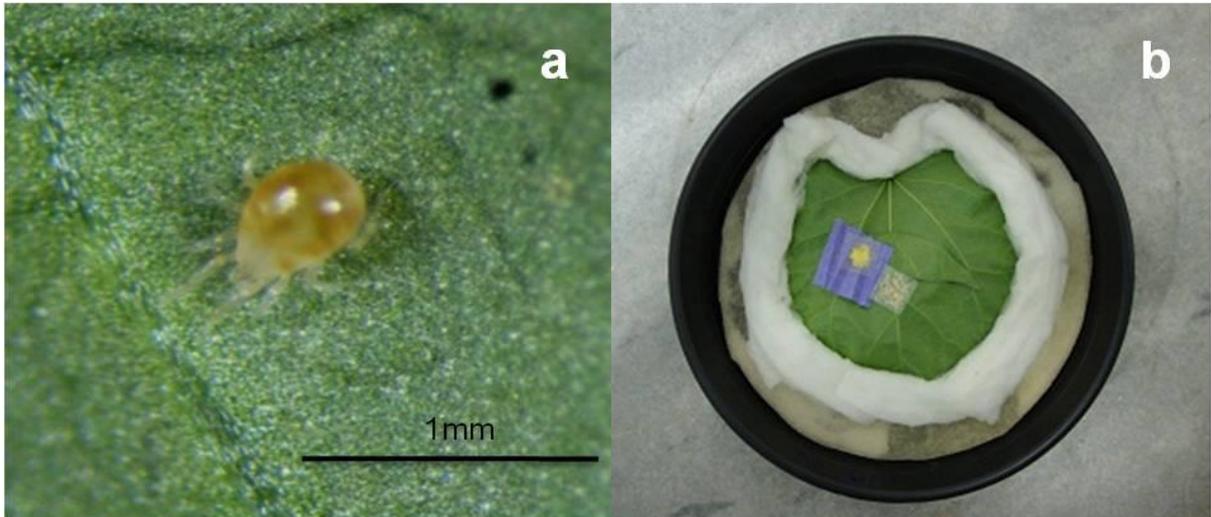
##### 4.6.1. Obtenção da população de ácaros predadores

A população do ácaro predador, *A. limonicus* foi obtida em cultivo comercial de framboesa no município de Campos do Jordão, São Paulo, em novembro de 2014. Os predadores foram mantidos em arenas de folha de feijão-de-porco [*Canavalia ensiformis* (L.)] infestadas com ácaro-rajado (*Tetranychus urticae* Koch), no Laboratório de Acarologia, do Centro Experimental do Instituto Biológico, em Campinas, SP (Figura 7). A colônia de ácaro predador foi mantida com pólen de mamona e infestada com *T. urticae* para não haver uma tendência para alimentação com *B. tabaci* (GRECO; SANCHEZ; LILJESTROM, 2005).



**Figura 7.** Criação de ácaros predadores da espécie *Amblydromalus limonicus*

Para o preparo das arenas de criação, uma folha de feijão-de-porco desenvolvida foi colocada sobre camada de poliuretano em uma bandeja plástica (22 cm de diâmetro) (Figura 7). Para evitar a fuga de ácaros (Figura 8a), a borda da folha foi coberta com uma tira de algodão hidrófilo umedecido (Figura 8b).



**Figura 8.** a) Fêmea adulta do ácaro predador *Amblydromalus limonicus*; b) arena de criação

#### 4.6.2. Capacidade de predação de ovos de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 por *Amblydromalus limonicus*

Para realização dos testes de predação, foram preparadas arenas de folha de feijão-de-porco de forma semelhante à descrita anteriormente, porém, dividindo-se a folha em quatro partes (arenas de aproximadamente 9 cm<sup>2</sup>), com tiras de algodão hidrófilo umedecido (1cm de largura) (Figura 9).



**Figura 9.** Arenas utilizadas para experimento sobre capacidade de predação de ovos de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 por *Amblydromalus limonicus*

Colocou-se uma fêmea adulta do ácaro predador por arena (9 cm<sup>2</sup>), para diferentes proporções de ovos de *B. tabaci*. Foram utilizados ovos de *B. tabaci* proveniente da criação em laboratório, em plantas de couve, batata e tomate. Os ovos de mosca-branca foram retirados das plantas hospedeiras (principalmente tomate) com auxílio de estilete e transferidos para as arenas de folha feijão de porco.

Foram testadas as seguintes proporções de predador:presa: 1:5; 1:10; 1:20 e 1:30. As avaliações foram realizadas diariamente sob estereomicroscópio (aumento de até 60 vezes), por 5 dias consecutivos, contando-se os ovos consumidos pelo predador e repondo-se os ovos predados a cada 24 horas, visando manter a mesma densidade inicial de presas. Não foram considerados os dados do primeiro dia para reduzir a interferência da alimentação anterior. As arenas foram mantidas a  $25 \pm 3^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $70 \pm 10\%$ .

O experimento foi inteiramente casualizado com vinte repetições. Os dados sobre o número de ovos de *B. tabaci* predados (consumidos) por dia foram analisados utilizando-se ANOVA (análise de variância) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância.

Foram realizadas análises de regressão não linear para comparar os dados de número de ovos de *B. tabaci* oferecidos como presas e de ovos consumidos por *A. limonicus*.

#### **4.6.3. Influência de *Amblydromalus limonicus* sobre a infestação de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 em plantas de batata**

O experimento foi baseado na metodologia descrita por Silva e colaboradores (2008), para estudo de resistência de diferentes genótipos de plantas de batata a *B. tabaci*. Plantas de batata de ambas as cultivares foram transplantadas para 16 vasos, sendo 8 por cultivar, contendo terra orgânica. As infestações artificiais foram realizadas quando as plantas apresentavam um par de folhas desenvolvidas.

As plantas das duas cultivares foram colocadas lado a lado, por um período de 48 horas, em casa-de-vegetação com elevada infestação de *B. tabaci*, em plantas de diferentes espécies (tomate, couve, batata). Após esse período, as plantas das duas cultivares foram retiradas do local e colocadas separadamente por cultivar em duas gaiolas de acrílico (65 x 50 x 50) com duas laterais de tecido de "Voil". Para 50% dos vasos (4 vasos) foi feita a introdução de 20 fêmeas adultas de *A. limonicus*. Dois dias (48 horas) após a introdução dos predadores, foi feita a contagem do número de ovos de *B. tabaci* em uma área de 2,5 cm x 2,5 cm (6,25 cm<sup>2</sup>), da face abaxial de 4 folíolos coletados por planta de batata.

Os dados foram submetidos à análise de variância (One-way ANOVA), comparando-se os tratamentos pelo teste *t* a 5% de probabilidade.

#### **4.6.4. Sensibilidade de ácaros predadores a inseticidas utilizados para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1**

Foram testados alguns inseticidas utilizados para o controle de *B. tabaci* no Brasil, além de inseticidas e/ou acaricidas recomendados para o controle de pragas em batata no país (MAPA, 2016): como o espiromesifeno (cetoenol); tiametoxam, imidacloprido (neonicotinóides); deltametrina, lambda-cialotrina (piretróide); clorfenapir (análogo de pirazol); acefato (organofosforado); abamectina (avermectina) e diafentiuron (feniltiouréia).

##### **4.6.4.1. Testes toxicológicos com *Amblydromalus limonicus***

Utilizou-se um método de contato e resíduo de pulverização em superfície, recomendado como padrão pelo Grupo de Trabalho “Pesticidas e Artrópodes Benéficos”, da Organização Internacional de Controle Biológico e Integrado de Plantas e Animais Nocivos/Seção Regional do Paleártico Oeste para testar efeitos adversos dos produtos sobre os ácaros predadores (HASSAN *et al.*, 1994; FERLA; MORAES, 2006).

Foram preparadas arenas de folha de feijão-de-porco, colocando-se um disco de folha (3 cm), sobre papel de filtro umedecido, em placas de Petri de 9cm de diâmetro. Colocou-se uma tira de algodão umedecido ao redor do disco de folha para evitar a fuga dos ácaros predadores. Cinco fêmeas de *A. limonicus* foram tomadas ao acaso, com pincel e transferidas da unidade de criação para cada disco de folha.

Realizou-se uma aplicação sobre as arenas de folha com 2 mL de calda, utilizando-se Torre de Potter (Burkard Scientific, Uxbridge, UK), calibrada à pressão de 0,703 kg/cm<sup>2</sup>.

Após o tratamento, cada fêmea de *A. limonicus* foi transferida para uma arena de acrílico transparente de 2 cm de diâmetro interno por 1 cm de altura, contendo um disco de folha de feijão-de-porco (2 cm de diâmetro) tratado previamente com o respectivo agroquímico, seguindo a metodologia descrita anteriormente (pulverização em torre de Potter). As arenas foram fechadas com filme de PVC transparente para evitar a fuga dos ácaros predadores.

*A. limonicus* foi alimentado com pólen de mamona e com exemplares de todos os estádios de *T. urticae*, colocados sobre as arenas.

Cada teste teve duração de até oito dias, contando-se e retirando-se diariamente as fêmeas mortas. Os discos sobre os quais os ácaros foram mantidos não foram trocados

durante a realização do teste. Os ovos postos foram transferidos com pincel das arenas tratadas para outros discos, igualmente tratados, onde foram mantidos para avaliação de viabilidade (FERLA; MORAES, 2006).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com nove tratamentos e 10 repetições (6 arenas/repetição/tratamento).

O efeito adverso total foi calculado levando-se em conta a mortalidade das fêmeas no tratamento, corrigida em função da mortalidade na testemunha, e o efeito na reprodução (HASSAN *et al.*, 1985; OVERMEER, 1988; BAKKER, 1992). Foram considerados válidos somente os testes em que a mortalidade na testemunha foi inferior a 20% (BAKKER, 1992). A fórmula utilizada para o cálculo do efeito total foi  $E = 100\% - (100\% - Mc) \times Er$ , na qual E = efeito total, Mc = mortalidade corrigida (ABBOTT, 1925) e Er = efeito na reprodução. O efeito na reprodução foi calculado pela divisão da oviposição das fêmeas em cada tratamento pela oviposição média na testemunha ( $Er = R_{tratamento}/R_{testemunha}$ ). A oviposição média por fêmea (R) foi obtida através da relação:  $R = \text{total de ovos viáveis}/\text{número de fêmeas vivas no final do teste}$ .

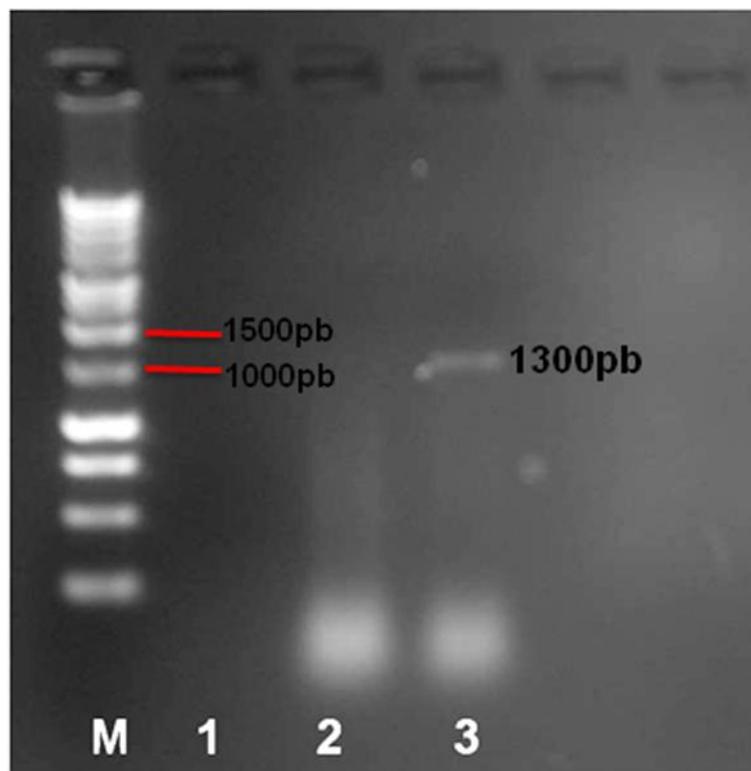
O valor do efeito total obtido para cada produto foi classificado em uma escala de 1 a 4, conforme critérios estabelecidos pela IOBC/WPRS (BAKKER, 1992; HASSAN *et al.*, 1994), sendo classe 1:  $E < 30\%$  (inócuo, não nocivo); classe 2:  $30\% < E < 79\%$  (levemente nocivo); classe 3:  $80\% < E < 99\%$  (moderadamente nocivo) e classe 4:  $E > 99\%$  (nocivo).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Confirmação da identificação do vírus

O produto de 1300 pb obtido na PCR com iniciadores específicos para begomovírus (Figura 10) foi purificado com QIAquick Gel Extraction Kit (Quiagen) e enviado para sequenciamento automático de DNA (método de Sanger) em sequenciador 3500 XL (Genetic Analyzer).

As sequências obtidas (Figura 11) (senso e anti-senso) foram submetidas ao programa de busca em rede BLAST +2.4.0 (Basic Local Alignment Search Tool, disponível em [www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST.cgi](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST.cgi)), programa MEGABLAST, para encontrar sequências homólogas às obtidas neste trabalho, na base de dados disponíveis no “GenBank”. Essa busca resultou em identidades maiores que 88% entre a sequência do ToYVSV utilizado nos experimentos deste trabalho e aquelas de ToYVSV depositadas no “GenBank” (Figura 12).



**Figura 10.** Eletroforese em gel de agarose 1%: marcador de peso molecular 1Kb (DNA Ladder Norgen) (M); controle negativo (todos os reagentes exceto DNA) (1); *Solanum lycopersicum* sadia (2); *S. lycopersicum* infectada com ToYVSV (3)

>Begomo-F  
 TCATTACCCTCATGATTATACTAATAGGTCCTTCCGGCCGCGCAGCGGCA  
 CCCCTTCCGAAATACATCAGCCATTGCTGCATCTCATCAGGAACGTG  
 AGTAAAGGAAGATAATTCAAATAGAGGGACCCATGGGGCTGGAGCCTTTG  
 CAAATATTTTTGGACATGTGATTTGATTTTTATCCAAATGAAGAACAATA  
 TCTCTAGGTTGTCTTCTTTAATATATTTAAGGCCCTGGATAGATTTTC  
 TGCGTTTAGAACCCTTGCATAAGTGTCTTGGCAGTTTGGCAGCCTCCCTC  
 TTGCTGATCTCCATCGATCTGGAATTTCCAAAATCAATGAAGTCTCCG  
 TCTTTTTCCATGTAGGTCCTGACGTCGGACGAGCTTTTAGTCCCTGAAT  
 GTTTGGATGGAAATGTGCTGACCCTGTTGGGGATACCAAGTCGAAGAATC  
 GTTGATCTGGCATTGAAATTTGCCCTTGAATTTGAATAAGCACATGGAGA  
 TGAGGTTCCCATCTTCTGTGAAATTCCTGTTACACGAATAAATTTCTT  
 GTTTGTTGGTGTTTAAGTGCCTGTAATTTGGGAAAGTGTTCCTCTTTG  
 GTTAATGAACAATGAGGGTATGTAAGGAAGAAATTTTTTGCATTTACAG  
 TGAAACGCTTTGGTGGTGTCAATTTAGTAAATTTGAAGATGAGACCCGAT  
 AGCTCTCCTTCAAACCTGGCGAAATGAATTTGGGAAATGGGTCTCAATAT  
 ATAGTAGAGTCCATTTATAGAAATAAATGCCACGTGGCGGGCCATCCG  
 ATATAATATTACCCGGAATGCCGCCGAATTTTTGTAAGTGGCTCCCC  
 ACCTGTTGAGTGACCAATCAGATTTGTGCTCGGACC GGCTATTTTATC  
 TTCGAAAATAACCTTTTACGCCCTAAAGTTGCTTACAGCTTGGCTATA  
 AATTAGAACCATTCCCGTAGGCTGCCGAACCATACCTTTAATCAATTGG  
 CCAAAGCGAGAATTGTCCTCCA

>Begomo-R  
 TTAAAAAGCATATACACAGACTTAAACAGAAACGCTTACCACACGGTG  
 TGTAATACCATTACCACGCTGTCACATCAGATATACACATCACCTTGCCA  
 AGATGAGAAATGTCAATGACGTTGCTCATAGGATTGAACTTTACATGGGCC  
 TTCACACCCCTTTAGGAACATCAGGCCCTCTCAACGTACGATATATCTGG  
 GCTTCCGTACATGGGCCCTTTTACCCCAAGCATCCCGCTTGGGTATACCT  
 CCCCAGGTGAATAATTAGAAGAGCGGGATACCTTGTGGTCCCTGCCAC  
 TATACGCCATGAGGCATCTCGCTTTGGCATTTTGAATTAAGATATGTGCA  
 CCAC TTACGAATGTCTAATTTATAACAAC TTTAACACTTAGCGCCTAAAT  
 ATTTTCAAATAAATAACCGTCCAGGACACAATCTGATTGGTCACTCACAG  
 TGGGACCAC TTAACAAAATCGCGGCCATCCGGTAATATTATATCCGGAT  
 GGCCGCCAGTGGCAATTATTTCTATAATGGACTCTATATATATTGAG  
 ACCATTCCCAATTTATTTGCCAAGTTTGAAGGAGAGC TATCGGTCT  
 CATCTTCAAATTTACTAAAATGACACCACCAAGC GTTTCACGTGAAATG  
 CAAAAAATTTCTTCC TTACATACCCCTATTGTTCAATTAACCAAAGGGA  
 AACACTTTCCCAATACAGGCAC TTAACAAACCAACAAACAAAGAAATTT  
 ATTCGTGTAACCAGAGAATTTACGGAAGATGGGGAAACCTCATCTCCAT  
 GTGCTTATTTCAATTTGAAAGCAATTTCAAATGCCAGAAATCAACGATT  
 TCTTCGACTTTGATATCCCCAACCAACGTCAGCACAATTTCCATCAAAC  
 ATTTAGGAGCTAAAAGCTGCTTGCAGCTCAGCCATGATGAAAAGGA  
 CGAGACTTCCATTGGAATTTTGAAGTTTCCAGATCGATTGGCAGATCAGC  
 AAGCAGGCTTGGCCAAACTG

**Figura 11.** a) Sequência senso do begomovírus ToYVSV - isolado tomate utilizado no presente trabalho; b) sequência anti-senso do mesmo vírus

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<a href="#">Tomato yellow vein streak virus isolate BR:Pda7.05 segment DNA-A, complete sequence</a>	1357	1357	79%	0.0	98%	<a href="#">KC706654.1</a>
<a href="#">Tomato yellow vein streak virus isolate BR:Pda6.05 segment DNA-A, complete sequence</a>	1357	1357	79%	0.0	98%	<a href="#">KC706653.1</a>
<a href="#">Tomato yellow vein streak virus isolate BR:Pda54.05 segment DNA-A, complete sequence</a>	1357	1357	79%	0.0	98%	<a href="#">KC706652.1</a>
<a href="#">Tomato yellow vein streak virus isolate BR:Pda50.05 segment DNA-A, complete sequence</a>	1357	1357	79%	0.0	98%	<a href="#">KC706650.1</a>
<a href="#">Tomato yellow vein streak virus isolate BR:Pda46.05 segment DNA-A, complete sequence</a>	1357	1357	79%	0.0	98%	<a href="#">KC706648.1</a>

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<a href="#">Tomato yellow vein streak geminivirus isolate IAC replication-associated protein (AC1) and coat protein (AV1) genes, partial cds</a>	1422	1422	97%	0.0	93%	<a href="#">AY829113.1</a>
<a href="#">Tomato yellow vein streak virus isolate G-22 from Brazil segment DNA-A, complete sequence</a>	1411	1411	97%	0.0	93%	<a href="#">EF459696.1</a>
<a href="#">Tomato yellow vein streak geminivirus Rep protein (rep) gene, complete cds and coat protein (cp) gene, partial cds</a>	1177	1177	97%	0.0	88%	<a href="#">J79998.1</a>

**Figura 12.** a) Sequências homólogas à senso obtida neste trabalho; b) sequências homólogas a sequência anti-senso obtida no presente trabalho. Após busca em rede com o programa MEGABLAST no 'GenBank'

## 5.2. Determinação do número mínimo de indivíduos de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 necessários para a transmissão do ToYVSV

Embora tenha sido comprovada a presença de ToYVSV nas plantas de tomate onde as moscas-brancas realizaram os PAA por 24 horas e 48 horas, o vírus não foi detectado, por PCR, nos insetos utilizados nos testes de transmissão. As plantas de batata 'Agata' e 'Asterix' não apresentaram sintomas característicos do vírus, após 15 e 30 dias dos testes de transmissão, e nem resultados positivos quando avaliadas por PCR nestes mesmos períodos (Tabelas 3 e 4).

**Tabela 3.** Resultados dos testes de transmissão de ToYVSV para duas cultivares de *Solanum tuberosum*, Agata e Asterix, com PAA e PAI de 24 h e três repetições em cada experimento, avaliados por PCR

Nº de indivíduos de <i>B. tabaci</i> / planta	Cultivar de batata	Nº de plantas infectadas / inoculadas	Presença de ToYVSV / Nº de indivíduos de <i>B. tabaci</i>
1	Agata	0/3	0/3
2	Agata	0/3	0/6
3	Agata	0/3	0/9
5	Agata	0/3	0/15
10	Agata	0/3	0/30
1	Asterix	0/3	0/3
2	Asterix	0/3	0/6
3	Asterix	0/3	0/9
5	Asterix	0/3	0/15
10	Asterix	0/3	0/30

PAA: Período de Acesso a Aquisição; PAI: Período de Acesso a Inoculação;

ToYVSV: *Tomato yellow vein streak virus*

**Tabela 4.** Resultados dos testes de transmissão de ToYVSV para duas cultivares de *Solanum tuberosum*, Agata e Asterix, com PAA e PAI de 48 h e três repetições em cada experimento, avaliados por PCR

Nº de indivíduos de <i>B. tabaci</i> / planta	Cultivar de batata	Nº de plantas infectadas / inoculadas	Presença de ToYVSV / Nº de indivíduos de <i>B. tabaci</i>
1	Agata	0/3	0/3
2	Agata	0/3	0/6
3	Agata	0/3	0/9
5	Agata	0/3	0/15
10	Agata	0/3	0/30
1	Asterix	0/3	0/3
2	Asterix	0/3	0/6
3	Asterix	0/3	0/9
5	Asterix	0/3	0/15
10	Asterix	0/3	0/30

PAA: Período de Acesso a Aquisição; PAI: Período de Acesso a Inoculação;

ToYVSV: *Tomato yellow vein streak virus*

Firmino (2007) relata a taxa de transmissão de ToYVSV de 75% entre plantas de tomates 'Santa Cruz Kada Gigante', utilizando 15 moscas-brancas por planta com PAA e PAI de 24 horas. A ausência de transmissão observada nos experimentos realizados poderia ser atribuída ao pequeno número de insetos por planta. Entretanto, Colariccio e colaboradores (2007) relataram alta taxa de transmissão, de plantas de tomate para tomate, utilizando 10 moscas-brancas por plantas de tomates 'Carmen', com um PAA de 24 horas e PAI de 48 horas. Este mesmo número de insetos foi avaliado neste trabalho.

Marubayashi (2009) relatou haver uma baixa taxa de eficiência na transmissão de ToSRV, uma espécie de *Begomovirus*, quando a transmissão envolvia espécies de plantas hospedeiras diferentes. Este autor observou que, quando moscas-brancas se alimentavam em plantas de tomates 'Santa Clara' infectadas, a taxa de transmissão para as plantas de pimentão 'Magda', envolvendo 1, 5, 10, 20, 25 ou 50 moscas-brancas, foi de 6,6%, 0%, 23,3%, 26,6%, 50% e 66,6%, respectivamente, com PAA de 24 horas e PAI de 48 horas. As plantas infectadas recebidas para servirem de fontes de inóculo para o desenvolvimento deste trabalho também eram de plantas de tomates da mesma cultivar utilizada por Marubayashi (2009), ou seja, 'Santa Clara', o que poderia também explicar a falta de sucesso nas tentativas de transmissão para plantas de batata.

Uma vez que não se obteve uma explicação embasada na literatura que pudesse explicar a ausência de transmissão do ToYVSV por moscas-brancas, optou-se por testar a hipótese, já descrita, da relação entre presença ou ausência de bactérias simbiotes a *B. tabaci*, que secretam proteínas homólogas a GroEL, e o seu envolvimento em interações de aquisição, retenção, translocação e transmissão de partículas virais pelo inseto vetor. Estudos anteriores já testaram esta hipótese e demonstraram interações entre begomovírus e proteínas homólogas a GroEL dentro da mosca-branca (KLIOT *et al.*, 2013; SU *et al.*, 2013; KLIOT *et al.*, 2014).

Recentemente, vários estudos sobre a efetividade na transmissão de begomovírus vêm sendo realizados, juntamente com o levantamento e mapeamento da população de simbiotes de *B. tabaci*. Alguns desses estudos revelam uma dependência de bactérias simbióticas e de proteínas secretadas por elas para que ocorra a translocação da partícula viral pelo corpo do inseto (SU *et al.*, 2013; KLIOT *et al.*, 2014; Van den HEUVEL *et al.*, 1994; 1999).

Um dos mais clássicos e estudados exemplos é a interação entre proteínas secretadas por bactérias simbiotes de artrópodes e partículas virais, como a que ocorre entre o *Potato leafroll virus* (PLRV), um *Poleovirus* da família *Luteoviridae*, a proteobactéria *Buchnera aphidicola* e o afídeo *Acyrtosiphon pisum*. Nesta interação, a bactéria primária *B. aphidicola*, essencial ao afídeo, secreta uma proteína homóloga a GroEL que, por sua vez,

se liga ao PLRV e o auxilia no processo de sua aquisição, translocação e transmissão (Van den HEUVEL *et al.*, 1994; 1999).

### **5.3. Identificação da população de simbioses de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1**

O DNA extraído dos indivíduos de *B. tabaci* provenientes dos experimentos de transmissão, foram utilizados para a detecção do ToYVSV e para a detecção de simbioses.

Entre os oito simbioses já descritos para *B. tabaci* fizeram parte deste estudo quatro deles: *Portiera aleyrodidarum*, *Rickettsia* spp., *Hamiltonella* spp. e *Wolbachia* spp., sendo *P. aleyrodidarum* descrito como um simbiote primário obrigatório que auxilia na nutrição do inseto hospedeiro, enquanto os demais são simbioses secundários que podem ou não estar presentes no corpo do inseto (CHIEL *et al.*, 2009; BING *et al.*, 2013; PINHEIRO *et al.*, 2015).

Os resultados da identificação de simbioses presentes nos indivíduos de *B. tabaci* utilizados no presente trabalho estão relacionados nas Tabelas 5 e 6, e nas Tabelas 7 e 8 se encontram os dados das Tabelas 5 e 6 de forma reduzida.

**Tabela 5.** Resultados das amostras do teste de 24 horas após avaliadas por PCR para as bactérias simbiotes de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1

<b>Amostras</b>	<b><i>Portiera aleyrodidarum</i></b>	<b><i>Hamiltonella</i> spp.</b>	<b><i>Rickettsia</i> spp.</b>	<b><i>Wolbachia</i> spp.</b>
01 - 01 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	+	+	-	-
02 - 01 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	-	-	-	-
03 - 01 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	-	-	-	-
04 - 02 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	-	-	-	-
05 - 02 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	-	-	-	-
06 - 02 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	-	-	-	-
07 - 03 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	+	+	-	-
08 - 03 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	-	+	-	-
09 - 03 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	-	-	-	-
10 - 05 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	+	+	-	-
11 - 05 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	+	+	-	-
12 - 05 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	-	-	-	-
13 - 10 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	-	-	-	-
14 - 10 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	-	-	-	-
15 - 10 Mosca PAA/PAI 24hs em Agata	+	-	-	-
31 - 01 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	+	+	-	-
32 - 01 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	+	+	-	-
33 - 01 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	-	-	-	-
34 - 02 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	-	+	-	-
35 - 02 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	+	+	-	-
36 - 02 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	-	-	-	-
37 - 03 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	+	+	-	-
38 - 03 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	-	-	-	-
39 - 03 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	-	-	-	-
40 - 05 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	+	+	-	-
41 - 05 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	+	-	-	-
42 - 05 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	+	+	-	-
43 - 10 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	-	+	-	-
44 - 10 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	-	+	-	-
45 - 10 Mosca PAA/PAI 24hs em Asterix	+	+	-	-

**Tabela 6.** Resultados das amostras do teste de 48 horas após avaliadas por PCR para as bactérias simbiotes de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1

<b>Amostras</b>	<b><i>Portiera</i> <i>aleyrodidarum</i></b>	<b><i>Hamiltonella</i> spp.</b>	<b><i>Rickettsia</i> spp.</b>	<b><i>Wolbachia</i> spp.</b>
16 - 01 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	+	-	-	-
17 - 01 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	+	-	-	-
18 - 01 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	-	+	-	-
19 - 02 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	-	+	-	-
20 - 02 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	-	-	-	-
21 - 02 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	+	+	-	-
22 - 03 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	+	+	-	-
23 - 03 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	-	-	-	-
24 - 03 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	-	+	-	-
25 - 05 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	-	-	-	-
26 - 05 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	+	+	-	-
27 - 05 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	+	+	-	-
28 - 10 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	+	+	-	-
29 - 10 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	-	-	-	-
30 - 10 Mosca PAA/PAI 48hs em Agata	-	-	-	-
46 - 01 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	+	+	-	-
47 - 01 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	-	-	-	-
48 - 01 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	+	+	-	-
49 - 02 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	+	-	-	-
50 - 02 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	+	-	-	-
51 - 02 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	-	+	-	-
52 - 03 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	+	-	-	-
53 - 03 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	+	-	-	-
54 - 03 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	-	-	-	-
55 - 05 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	+	-	-	-
56 - 05 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	+	+	-	-
57 - 05 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	+	-	-	-
58 - 10 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	-	-	-	-
59 - 10 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	+	+	-	-
60 - 10 Mosca PAA/PAI 48hs em Asterix	+	+	-	-

**Tabela 7.** Detecção de bactérias simbiotes em indivíduos de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 alimentadas em planta de tomate ‘Santa Clara’ infectada por ToYVSV e transferidas para inoculação de plantas de batata com PAA/PAI de 24 horas

Cultivar	PAA / PAI 24 horas						Nº de amostras positivas / total de indivíduos avaliados	PAA / PAI 24 horas						Nº de amostras positivas / total de indivíduos avaliados
	Agata							Asterix						
Indivíduos de <i>B. tabaci</i> por repetição	1	2	3	5	10		1	2	3	5	10			
<b>Bactérias simbiotes</b>														
<i>Portiera aleyrodidarum</i>	1/3	0/6	3/9	10/15	30/30	44/63	2/3	2/6	3/9	15/15	30/30	52/63		
<i>Hamiltonella</i> spp.	1/3	0/6	6/9	10/15	10/30	27/63	2/3	4/6	3/9	15/15	10/30	34/63		
<i>Wolbachia</i> spp.	-	-	-	-	-	0/63	-	-	-	-	-	0/63		
<i>Rickettsia</i> spp.	-	-	-	-	-	0/63	-	-	-	-	-	0/63		

**Tabela 8.** Detecção de bactérias simbiotes em indivíduos de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 alimentadas em planta de tomate ‘Santa Clara’ infectada por ToYVSV e transferidas para inoculação de plantas de batata com PAA/PAI de 48 horas

Cultivar	PAA / PAI 48 horas						Nº de amostras positivas / total de indivíduos avaliados	PAA / PAI 48 horas						Nº de amostras positivas / total de indivíduos avaliados
	Agata							Asterix						
Indivíduos de <i>B. tabaci</i> por repetição	1	2	3	5	10		1	2	3	5	10			
<b>Bactérias simbiotes</b>														
<i>Portiera aleyrodidarum</i>	2/3	2/6	3/9	10/15	10/30	27/63	2/3	4/6	6/9	15/15	20/30	47/63		
<i>Hamiltonella</i> spp.	1/3	4/6	6/9	10/15	10/30	31/63	2/3	2/6	0/9	5/15	20/30	29/63		
<i>Wolbachia</i> spp.	-	-	-	-	-	0/63	-	-	-	-	-	0/63		
<i>Rickettsia</i> spp.	-	-	-	-	-	0/63	-	-	-	-	-	0/63		

Em trabalhos anteriores já foi sugerido que as colônias de *B. tabaci* deveriam ser divididas de acordo com os simbiontes presentes nos indivíduos, pois estudos recentes revelam que simbiontes interferem em diversas atividades e até mesmo em funções biológicas como: taxas de transmissão, resistência a parasitoides, altas temperaturas e a inseticidas (OLIVER *et al.*, 2003; RUSSELL; MORAN, 2006; KONTSEDALOV *et al.*, 2008; GOTTLIEB *et al.*, 2010; SU *et al.*, 2013; KLIOT *et al.*, 2014; PINHEIRO *et al.*, 2015).

A bactéria primária obrigatória, *P. aleyrodidarum*, esteve presente na maioria dos indivíduos de *B. tabaci*, apresentando um padrão de arraste no gel de agarose 1% seguindo a descrição feita para o iniciador específico, (GOTTLIEB *et al.*, 2006) e seguiu a porcentagem de presença correspondente ao evidenciado por Guo e colaboradores (2014). Embora a bactéria seja descrita como obrigatória, não significa que a mosca-branca não sobreviva na ausência da mesma, porém, ela se desenvolve de forma diferente, necessitando de uma alimentação mais reforçada e contínua, pois há relatos de que a bactéria secreta para a mosca-branca aminoácidos e carotenoides essenciais para o seu desenvolvimento, auxiliando no aumento da taxa reprodutiva e de oviposição (WILKINSON; DOUGLAS, 1996; PINHEIRO *et al.*, 2015;).

Nas Tabelas 7 e 8 os resultados obtidos para a bactéria simbiote secundária do gênero *Hamiltonella* foram menores do que as obtidas no trabalho de Kliot e colaboradores (2014) que reportaram a bactéria em 100% das moscas-brancas testadas. Su e colaboradores (2013) e Gottlieb e colaboradores (2010) relataram a importância de *Hamiltonella*, comparando uma população de *B. tabaci* com o simbiote e outra sem, obtendo 60% a mais na transmissão utilizando a população com simbiote do que a população que não apresentava o simbiote. Su e colaboradores (2013) descreveram a bactéria *Hamiltonella* como sendo obrigatória para a transmissão de begomovírus devido a uma proteína homóloga a GroEL produzida por esta bactéria. Esta proteína auxilia na passagem do vírus da câmara filtro do inseto para a hemolinfa, onde a proteína “camufla” a partícula viral para que esta possa circular, até atingir a glândula salivar acessória e assim ser transmitida para outra planta (WHITFIELD *et al.*, 2015; KLIOT *et al.*, 2013).

Os resultados evidenciaram a ausência da bactéria simbiote secundária do gênero *Rickettsia*, que segundo Kliot e colaboradores (2014) é de suma importância para a transmissão de begomovírus. Estes autores analisaram as diferenças no potencial de transmissão, de plantas de tomate para tomate, entre duas populações de *B. tabaci* onde uma delas continha a bactéria do gênero *Rickettsia* e a outra não, e constataram uma diferença na taxa de aquisição/transmissão sendo de 79% na população de moscas-brancas que continha a bactéria simbiote, enquanto que, a população sem a bactéria apresentou uma taxa de transmissão de apenas 41%.

A bactéria simbiote secundária do gênero *Wolbachia* também não foi detectada nas amostras analisadas. Esta bactéria tem sido frequentemente descrita como uma presença característica em populações de *B. tabaci* biótipo Q - MED (SKALJAC *et al.*, 2013). Em levantamento bibliográfico realizado, não foram encontrados trabalhos associando *Wolbachia* à transmissão de begomovírus. Entretanto, esta bactéria tem sido descrita como simbiote secundário de diversos artrópodes, como o mosquito *Aedes aegypti*, inibindo a replicação dos vírus da dengue e chikungunya (MOREIRA *et al.*, 2009; KLIOT *et al.*, 2014).

Su e colaboradores (2013) e Kliot e colaboradores (2014) relatam a dependência de proteínas secretadas por simbioses secundários na transmissão de begomovírus. Levando em consideração a ausência de *Rickettsia* e a baixa porcentagem de ocorrência de *Hamiltonella*.

Su e colaboradores (2013) e Kliot e colaboradores (2014) desenvolveram seus trabalhos com o begomovírus TYLCV relatado que possui um único segmento de DNA, e no caso deste trabalho a espécie ToYVSV tem dois segmentos de DNA (ICTV, 2015).

Czosnek e colaboradores (2002) descrevem que os números de segmentos de DNA do begomovírus, não interferem no processo de aquisição, retenção, transmissão e nem mesmo na relação entre a partícula viral e as proteínas secretadas pelos simbioses secundários envolvidas na translocação interna do vírus pelo inseto vetor.

#### **5.4. Comportamento alimentar de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 em ‘Agata’ e ‘Asterix’ utilizando EPG**

Observou-se variação significativa para NP, NC, NProvas, TTNP, TMNP, TTC, TMC, NPantesE e TNFloem ( $f < 0,05$ ); sendo que; os dados estatisticamente não significativos ( $f > 0,05$ ) foram aqueles que não apresentaram valores, ou não apresentaram variação entre os valores obtidos, NE1, NE2, TTE1, TME1, TTE2, TME2, TTFloem e TMFloem (Tabelas 9 e 10).

Tabela 9. Variáveis avaliadas utilizando-se o *Electrical penetration graphics* em 'Agata'

Variáveis	Tempo total de duração do teste (minutos)						f
	5	15	30	45	60	240	
<b>Valores Não Sequenciais</b>							
<b>NP</b>	3,0±0,45a	4,26±0,72a	3,0±0,6b	1,8±0,3b	3,0±0,6b	11,4±3,0a	0,024
<b>NC</b>	1,8±0,27abc	2,4±0,54abc	1,8±0,6ac	0,6±0,12a	0,6±0,06a	5,4±1,8c	0,032
<b>NE1</b>	0,0±0,0a	0,36±0,24a	0,18±0,06a	0,18±0,12a	0,06±0,06a	0,24±0,24a	0,580
<b>NE2</b>	0,0±0,0a	0,18±0,12a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,6±0,6a	0,206
<b>NProvas</b>	2,4±0,45a	3,6±0,6a	2,4±0,6ab	1,2±0,3ab	2,4±0,6ab	10,8±3,0a	0,037
<b>Valores Sequenciais</b>							
<b>TTNP</b>	0,26±0,41a	8,48±1,36a	23,82±2,24ab	38,12±3,09b	45,07±4,87bc	194,54±11,42c	0,034
<b>TMNP</b>	0,83±0,16a	3,46±0,10ab	11,60±2,62bc	24,37±4,11c	19,39±4,02c	45,77±15,62c	0,045
<b>TTC</b>	1,74±0,33a	1,01±1,27ab	3,26±1,18a	4,02±1,48a	14,66±4,85ab	45,41±11,39b	0,002
<b>TMC</b>	0,85 ±0,14a	2,82±0,94ab	0,23±1,17a	3,48±1,42ab	14±4,84b	10,91±2,92b	0,017
<b>TTE1</b>	0,0±0,0a	1,07±0,74a	2,90±1,99a	3,20±2,95a	0,23±0,23a	2,02±2,02a	0,551
<b>TME1</b>	0,0±0,0a	0,35±0,24a	2,90±1,99a	1,72±1,48a	0,23±0,23a	0,50±0,50a	0,536
<b>TTE2</b>	0,0±0,0a	0,50±0,34a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	5,01±5,01a	0,216
<b>TME2</b>	0,0±0,0a	0,04±0,29a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	5,01±5,01a	0,216
<b>NPantesE</b>	2,71±0,41a	8,40±0,14a	23,51±2,31ab	36,42±3,51b	45,07±4,87bc	190,05±14,38c	0,049
<b>TFNFloem</b>	0,12±0,08a	13,41±1,08ab	27,09±1,99b	41,79±2,95bc	59,76±0,23cd	232,95±7,04d	0,023
<b>TTFloem</b>	0,0±0,0a	1,58±1,08a	2,90±1,99a	3,20±2,95a	0,23±0,23a	7,04±7,04a	0,555
<b>TMFloem</b>	0,0±0,0a	0,75±0,01a	2,90±1,99a	1,72±1,48a	0,23±0,23a	1,76±1,76a	0,542

\*Dados paramétricos: NP: Número de eventos de não prova; NC: Número de eventos de caminamento intercelular; NE1: Número de eventos de alimentação floemática forçada; NE2: Número de eventos de alimentação floemática contínua; NProvas: Número de eventos de picada de prova; Dados não paramétricos: TTNP: Tempo total passado em não prova; TMNP: Tempo médio passado em não prova; TTC: Tempo total passado em caminamento (parênquima); TMC: Tempo médio passado em caminamento; TTE1: Tempo total passado em alimentação floemática forçada; TME1: Tempo médio passado em alimentação floemática forçada; TTE2: Tempo total passado em alimentação floemática contínua; TME2: Tempo médio passado em alimentação floemática contínua; NPantesE: Tempo passado em não prova antes da fase floemática; TFNFloem: Tempo de fase não floemática; TTFloem: Tempo total passado em fase floemática; TMFloem: Tempo médio passado em fase floemática.

**Tabela 10.** Variáveis avaliadas utilizando-se o *Electrical penetration graphics* em 'Asterix'

Variáveis	Tempo total de duração do teste (minutos)						f
	5	15	30	45	60	240	
<b>Valores Não Sequenciais</b>							
<b>NP</b>	1,26±0,15a	1,5±0,25a	1,73±0,38a	2,20±0,61a	2,66±0,78ab	8,53±1,6b	0,010
<b>NC</b>	0,46±0,19a	0,60±0,25a	1,0±0,42a	1,13±0,54a	1,26±0,52ab	7,53±1,68b	0,024
<b>NE1</b>	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	1,0
<b>NE2</b>	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	1,0
<b>NProvas</b>	0,46±0,19a	0,73±0,33a	1,0±0,42a	1,46±0,64ab	1,26±0,52ab	7,53±1,68b	0,021
<b>Valores Sequenciais</b>							
<b>TTNP</b>	3,76±0,54a	11,25±1,46abc	21,15±2,92abc	31,65±0,33c	43,97±4,91cd	194,87±12,96d	0,009
<b>TMNP</b>	3,70±0,56a	10,48±1,71ab	1,92±3,39ab	26,39±0,33b	33,3±6,58b	67,41±23,46b	0,045
<b>TTC</b>	1,23±0,54a	3,74±1,46a	8,84±2,92ab	13,34±4,33ab	16,02±4,91ab	45,12±12,96b	0,002
<b>TMC</b>	0,94±0,45a	2,50±1,12a	6,53±2,56a	8,42±3,76a	12,49±4,6a	11,05±6,59a	0,078
<b>TTE1</b>	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	1,0
<b>TME1</b>	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	1,0
<b>TTE2</b>	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	1,0
<b>TME2</b>	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	1,0
<b>NPantesE</b>	3,76±0,06a	11,26±1,46ab	21,15±2,92abc	31,65±4,33bc	43,97±4,91cd	183,76±17,01d	0,016
<b>TFNFloem</b>	5,00±0,0a	15,0±0,0ab	30,0±0,0bc	45,0±0,0cd	60,0±0,0de	240,0±0,0e	0,021
<b>TTFloem</b>	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	1,00
<b>TMFloem</b>	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	1,00

\*Dados paramétricos: NP: Número de eventos de não prova; NC: Número de eventos de caminhamento intercelular; NE1: Número de eventos de alimentação floemática forçada; NE2: Número de eventos de alimentação floemática contínua; NProvas: Número de eventos de picada de prova; Dados não paramétricos: TTNP: Tempo total passado em não prova; TMNP: Tempo médio passado em não prova; TTC: Tempo total passado em caminhamento (parênquima); TMC: Tempo médio passado em caminhamento; TTE1: Tempo total passado em alimentação floemática forçada; TME1: Tempo médio passado em alimentação floemática forçada; TTE2: Tempo total passado em alimentação floemática contínua; TME2: Tempo médio passado em alimentação floemática contínua; NPantesE: Tempo passado em não prova antes da fase floemática; TFNFloem: Tempo de fase não floemática; TTFloem: Tempo total passado em fase floemática; TMFloem: Tempo médio passado em fase floemática.

Nas Tabelas 9 e 10, os números de NP de 'Agata' foi maior do que em 'Asterix', o NC na primeira cultivar é maior do que o evidenciado para 'Asterix' (Tabela 10) até o período 30 minutos. A partir dos 45 minutos houve uma inversão destes valores que indicaram uma maior prova na 'Asterix'. A ocorrência deste fato não demonstra necessariamente uma resistência, pois em 'Agata' os insetos deixam a fase de caminamento intercelular (C) e passam a fase de alimentação floemática (E), fato este ausente na 'Asterix'. Estes valores obtidos também se assemelham aos obtidos por Pereira (2016), para plantas de 'Agata' sadias.

Na Tabela 10 os números de NP observados evidenciam a inicial preferência alimentar inicial pela 'Asterix', fato este que pode ser explicado pelos dados de TTNP, sendo o NP menor e o TTNP maior do que os dados evidenciados para 'Agata'. Quando comparados os valores de NP e TTNP com aqueles obtidos por Pereira (2016) que trabalhou com plantas de batata 'Agata' sadias e infectadas, utilizando períodos de 8 horas nos testes de EPG podemos notar uma semelhança nos valores obtidos para a cultivar em questão.

O número de provas (NProvas) foi maior em 'Agata' do que em 'Asterix', verificou-se o aumento destes valores conforme houve um aumento do tempo de contato com a planta hospedeira, sendo que os maiores valores ocorreram com 240 minutos. Estes valores não se diferenciaram significativamente (Tabela 9).

A fase de alimentação floemática forçada (NE1) ocorreu em poucas ocasiões e apenas para 'Agata', não ocorrendo para 'Asterix', mesmo com os valores observados em 'Agata' não houve diferença significativa para as duas cultivares. E estes mesmos valores também corroboram com os obtidos por Pereira (2016).

Não houve fase de alimentação floemática contínua (NE2, TTE2 e TME2) para 'Asterix'. Esta fase ocorreu apenas em 'Agata' (Tabela 9) verificando-se que poucos insetos, esporadicamente se alimentaram de forma contínua em vasos do floema, tecido da planta nos quais, a presença das partículas virais dos *Begomovirus* ocorrem em maior concentração, se replicam e translocam com maior eficiência e frequência (ALBUQUERQUE, 2012).

A ocorrência dos eventos não sequenciais relacionados aos tecidos do floema (NE1 e NE2) em 'Agata' foi baixa e corroborou com os dados de Pereira (2016). Verificou-se nesta cultivar baixos valores de variáveis sequenciais para TTFloem e TMFloem (Tabela 9).

De uma maneira geral houve maior preferência e facilidade dos insetos pelas plantas de 'Agata', mesmo com valores baixos para todas as variáveis avaliadas (Tabela 9).

O valor obtido para NPantesE pode denotar uma possível resistência das plantas de 'Asterix' a *B. tabaci*. Silva e colaboradores (2008) também verificaram uma menor preferência alimentar de *B. tabaci* por 'Asterix' quando comparada com 'Agata'.

Na Tabela 10 não houve ocorrência de eventos relacionados a ingestão em fase floemática (NE1 e NE2) em 'Asterix', portanto não houve tempos de alimentação floemática (TTE1, TME1, TTE2, TME2, TTFloem e TMFloem). Considerando que os *Begomovirus* se encontram em maior concentração nos tecidos floemáticos, fase em que ocorre a inoculação e aquisição pelo vetor com prolongada alimentação forçada (E1) inoculação, e aquisição do vírus em alimentação contínua (E2). A ausência destas fases pode determinar a não transmissão dos begomovírus dependendo das plantas avaliadas (ALBUQUERQUE, 2012; TOLOY, 2015; PEREIRA, 2016).

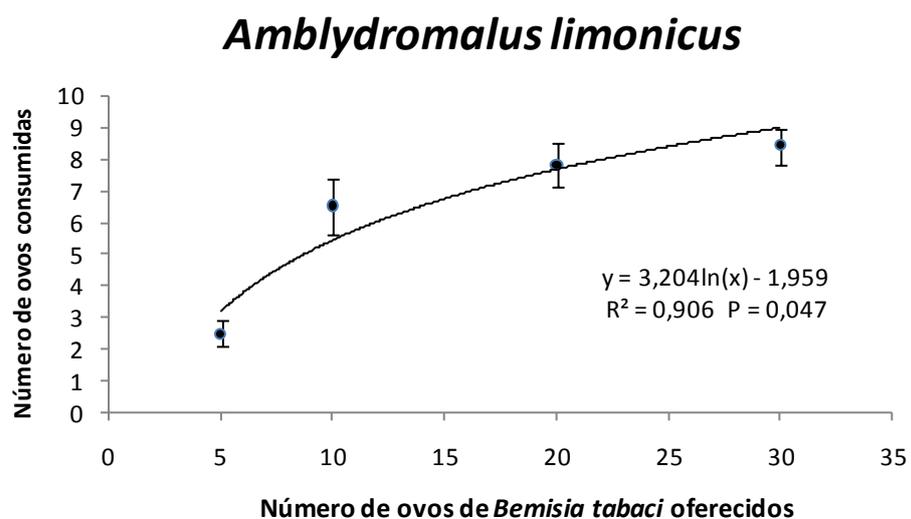
Na 'Agata', o tempo de alimentação em fase floemática foi reduzido (TTE1, TME1, TTE2, TME2) (Tabelas 9 e 10), o que pode ter comprometido a aquisição de partículas virais, e mesmo com a ocorrência da bactéria simbiote primária *Portiera aleyrodidarum*, associada a alimentação, nutrição, reprodução e oviposição e da bactéria secundária *Hamiltonella* spp. associada a transmissão de begomovírus e resistência a parasitoides, (KLIOT *et al.*, 2013; SU *et al.*, 2013; KLIOT *et al.*, 2014) (Tabela 7 e 8). No presente trabalho não foi constatada a transmissão do ToYVSV mesmo na presença das bactérias simbiotes de *B. tabaci*.

## 5.5. Estudos de controle biológico de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 com *Amblydromalus limonicus*

### 5.5.1. Capacidade de predação de ovos de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 por *Amblydromalus limonicus*

Os resultados indicam elevado potencial de predação de ovos de *B. tabaci* por *A. limonicus*. Observou-se correlação significativa ( $p = 0,047$ ) entre as densidades de ovos de mosca-branca oferecidos e o número de ovos consumidos por *A. limonicus*, com tendência de aumento na taxa de predação, acompanhando o aumento no número de ovos de *B. tabaci* oferecidos. As maiores taxas de consumo foram observadas para densidades de ovos entre 10 e 30 ovos por arena, chegando a 8,4 ovos por fêmea do predador por dia (Figura 13).

O valor de consumo diário de ovos de *B. tabaci* obtido para *A. limonicus* foi superior ao reportado por Fouly e colaboradores. (2011) para *A. swirskii* (3,8 ovos/fêmea/dia). As densidades de ovos de *B. tabaci* oferecidos por fêmea do predador foi de 4 a 12 ovos por dia, o que pode ter influenciado na menor taxa de consumo observada para *A. swirskii* por esses autores.



**Figura 13.** Taxa de consumo (médias  $\pm$  EP) de ovos de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 por dia por fêmea adulta de *Amblydromalus limonicus*, em arenas de folha de feijão-de-porco

Observou-se uma taxa de oviposição entre 0,71 e 1,1 ovos por fêmea de *A. limonicus* por dia, quando alimentadas com ovos de *B. tabaci*, em densidades entre 10 e 30 ovos por arena, não havendo diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) na oviposição para as três densidades de ovos. Esses resultados indicam que ovos de *B. tabaci* representam uma boa fonte de alimento para o ácaro predador.

Para *A. swirskii*, considerado um dos ácaros predadores mais efetivos para o controle biológico de *B. tabaci*, a taxa de oviposição variou de 0,8 a 1,5 ovos por fêmea por dia (FOULY *et al.*, 2011) quando alimentado com ovos de mosca-branca, sendo semelhante ao observado para *A. limonicus*, no presente experimento.

### 5.5.2. Influência de *Amblydromalus limonicus* sobre a infestação de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 em plantas de batata

Os resultados indicam bom potencial de uso de *A. limonicus* para o controle de *B. tabaci* em cultivo de batata. Os ácaros predadores conseguiram reduzir em até 80% a densidade de ovos de *B. tabaci* em plantas de batata, em apenas 48 horas após a sua liberação (Tabela 11).

**Tabela 11.** Densidades de ovos de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 em duas cultivares de batata, com presença e ausência do ácaro predador *Amblydromalus limonicus*

Cultivar	Tratamento	Número de ovos	
		de <i>B. tabaci</i> / folíolo (6,25 cm <sup>2</sup> )	% Redução
Agata	Com predador	3,2 ± 1,1 a	80,2%
	Sem predador	16,2 ± 2,5 c	-
Asterix	Com predador	7,9 ± 1,9 b	57,3%
	Sem predador	18,5 ± 3,1 c	-

Observou-se maior efetividade de *A. limonicus* no controle das moscas-brancas em plantas da 'Agata', em comparação com a 'Asterix'. O menor desempenho do ácaro predador em 'Asterix' pode estar relacionado à presença de maior número de tricomas, que podem afetar o deslocamento e a capacidade de predação desses inimigos naturais (COLLIER *et al.*, 2007). De acordo com Silva e colaboradores (2012), o número de tricomas glandulares em folhas de 'Asterix' é quase o dobro (1,93 vezes) do observado para 'Agata'. O número de tricomas simples também é maior (1,61 vezes) em 'Asterix'.

As densidades de ovos de *B. tabaci* foram semelhantes em folhas de 'Agata' e 'Asterix' (Tabela 11), corroborando os resultados de Silva e colaboradores (2012), que também não detectaram diferenças nas taxas de oviposição desta mosca-branca nas duas cultivares de batata. De acordo com esses autores, os tricomas glandulares presentes em folhas de batata não representam um fator adverso significativo para a redução na oviposição de *B. tabaci*.

### 5.5.3. Testes toxicológicos com *Amblydromalus limonicus*

Os resultados indicam diferenças significativas na suscetibilidade de *A. limonicus* aos diferentes agroquímicos avaliados. Os compostos mais prejudiciais ao ácaro predador foram os do grupo dos piretróides (deltametrina e lambda-cialotrina), que causaram mortalidades de 100% em fêmeas adultas do fitoseídeo (Tabela 12).

Braun e colaboradores (1987) também mencionaram a alta toxicidade de inseticidas piretróides (permetrina) aos ácaros da espécie *A. limonicus*.

**Tabela 12.** Toxicidade de agrotóxicos sobre fêmeas adultas de *Amblydromalus limonicus*, em folhas de feijão-de-porco, em bioensaio de contato direto e residual

Produto técnico	Concentração g de i.a.*/ 100L	M <sub>c</sub> <sup>1</sup>	Sobreviventes 100% - M <sub>c</sub>	E <sub>r</sub> <sup>2</sup>	E <sup>3</sup>	Classe <sup>4</sup>
Abamectina	2,25	95,0	5,0	0,90	95,5	3
Acefato	75,0	48,2	51,8	0,95	48,2	2
Clorfenapir	22,5	98,0	2,0	0,90	98,2	3
Deltametrina	1,0	100,0	0,0	0,00	100,0	4
Espiromesifeno	18,0	7,5	92,5	0,90	16,8	1
Imidacloprido	1,50	15,0	85,0	0,28	76,2	3
Lambda- cialotrina	40,0	100,0	0,0	0,00	100,0	4
Tiametoxam	5,0	25,1	64,9	0,85	44,8	2
Diafentiuron	100,0	65,0	35,0	0,68	76,2	2

<sup>1</sup>Mortalidade corrigida: M<sub>c</sub>; <sup>2</sup>Efeito na reprodução: E<sub>r</sub>= R trat. / R test.; <sup>3</sup>Efeito total: E%=100% -(100%-M<sub>c</sub>) x E<sub>r</sub>; <sup>4</sup>Classes de toxicidade segundo IOBC/WPRS. - \*Concentração do produto formulado (mL/100 L)

Os inseticidas clorfenapir, abamectina, diafentiuron e acefato afetaram significativamente a população de *A. limonicus*, sendo classificados como moderadamente nocivos (HASSAN *et al.*, 1985).

Os produtos menos prejudiciais aos ácaros predadores foram espiromesifeno, imidacloprido e tiametoxam, que foram classificados como inócuos ou levemente nocivos, mostrando-se promissores para o manejo de *B. tabaci* em cultivo de batata, em associação com o uso de *A. limonicus* (KNIGHT *et al.*, 1990).

Uma baixa toxicidade de espiromesifeno também foi observada para o ácaro predador *Neoseilus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) (SATO *et al.*, 2011).

## 6. CONCLUSÕES

Levando em consideração todos os fatores envolvidos no processo de transmissão de begomovírus por *Bemisia tabaci*, podemos considerar que diferentes fatores interferiram no resultado das transmissões sendo eles, o número de moscas-brancas, a diferença de espécies entre a planta fonte de vírus e a planta alvo, e a não detecção de simbioses considerados importantes no processo de transmissão.

Também é possível concluir que houve pouca taxa de ocorrência de alimentação floemática, e que quando houve esta ocorreu por um curto período de tempo, de acordo com os dados de EPG, fato este que pode ter acarretado a não aquisição das partículas virais pelo inseto vetor.

O ácaro predador *Amblydromalus limonicus* mostra-se promissor para o controle biológico de *Bemisia tabaci* biótipo B – MEAM 1 em plantas de batata.

Os inseticidas piretróides, deltametrina e lambda-cialotrina, mostram-se nocivos ao predador *Amblydromalus limonicus*.

Os agroquímicos espiromesifeno, imidacloprido e tiametoxam, mostram-se pouco prejudiciais a *Amblydromalus limonicus*, podendo ser úteis para o manejo de *Bemisia tabaci* em cultivo de batata.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABACUS CONCEPTS. Statview II. **Berkeley**, 1987.

ABACUS CONCEPTS. Super ANOVA. **Berkeley**, 1989.

ABBA - Associação brasileira da batata. Variedades. Disponível em: <  
[http://www.abbabatatabrasileira.com.br/abatata\\_variedades.htm](http://www.abbabatatabrasileira.com.br/abatata_variedades.htm)>. Acesso em: 10 ago 2015.

ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p.265-267, 1925.

ALBUQUERQUE, L. C., VARSANI, A., FERNANDES, F. R., PINHEIRO, B., MARTIN, D. P., FERREIRA, P. D. T. O. & INOUE-NAGATA, A. K. Further characterization of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. **Archives of virology**, v.157, n.4, p.747-752, 2012

ALBUQUERQUE, L. C., VARSANI, A., FERNANDES, F. R., PINHEIRO, B., MARTIN, D. P., FERREIRA, P. D. T. O., INOUE-NAGATA, A. K. Further characterization of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. **Archives of virology**, v.157, n.4, p.747-752, 2012.

ANDREATTA, A. Uma perspectiva do que ocorreu no setor nos últimos dez anos. **Batata Show**, v.16, p.25-27, 2006.

ANTONY, B.; PALANISWAMIM, S.; HENNEBERRY, T.J. *Encarsia transvena* (Hymenoptera: Aphelinidae) development on different *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae) instars. **Environmental Entomology**, College Park, v.32, n.3, p.584-591, 2003.

ÁVILA, A. C; MELO, P. E; LEITE, L. R; INOUE-NAGATA, A. K. Ocorrência de vírus em batata em sete estados do Brasil. **Horticultura Brasileira**, v.27, p.490-497, 2009.

BAKKER, F.M. . Side-effect test for phytoseiids and their rearing methods. **IOBC/WPRS Bulletin**, v.15, n.3, p.61-81, 1992.

BARBOSA, J.C.; BARRETO, S.D.S.; INOUE-NAGATA, A.K.; REZENDE, J.A.M. Characterization and experimental host range of a Brazilian tomato isolate of *Tomato severe rugose virus*. **Journal of Phytopathology**, v.159, n.9, p.644-646, 2011

BARBOSA, L.D.F.; MARUBAYASHI, J.M.; DE MARCHI, B.R.; YUKI, V.A.; PAVAN, M.A.; MORIONES, E.; KRAUSE-SAKATE, R.. Indigenous American species of the *Bemisia tabaci*

complex are still widespread in the Americas. **Pest management science**, v.70, n.10, p.1440-1445, 2014

BEDFORD, I.D.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; ROSELL, R.C.; MARKHAM, P.G. Geminivirus transmission and biological characterisation of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. **Annals of Applied Biology**, v.125, n.2, p.311-325, 1994.

BERGER, P.; GERMAN, T. Biotechnology and resistance to potato viruses. In: LOEBENSTEIN, G.; BERGER, P.H.; BRUNT, A.A.; LAWSON, R.H. (eds). Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes. **Dordrecht**: Klumer Academic Publishers, p.341-363, 2001.

BING, X. L.; YANG, J.; ZCHORI-FEIN, E.; WANG, X.W.; LIU, S.S. Characterization of a newly discovered symbiont of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Applied and Environmental Microbiology**, v.79, n.2, p.569-575, 2013.

BIOBEST – Sustainable Crop Management. Biobest introduces Dyna-Mite®: a new predatory mite strategy in rose. Disponível em: <http://www.biobestgroup.com/nieuws/289/3/0/>. Acesso em: 10 mar. 2015

BIOBEST – SUSTAINABLE CROP MANAGEMENT. Biobest introduces Dyna-Mite®: a new predatory mite strategy in rose. Disponível em: <http://www.biobestgroup.com/nieuws/289/3/0/>. Acesso em: 10 mar. 2015.

BONANI, J.P.; FERERES, A.; GARZO, E.; MIRANDA, M.P.; APPEZZATO-DA-GLORIA, B.; LOPES, J.R.S. Characterization of electrical penetration graphs of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, in sweet orange seedlings. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.134, n.1, p.35-49, 2010.

BONDAR, G. Aleyrodídeos do Brasil (2ª. Contribuição). **Boletim do laboratório de Pathologia Vegetal**, Bahia, v.5, p.37, 1928.

BRAUN, A.R.; GUERRERO, J.M.; BELLOTTI, A.C.; WILSON, L.T. Evaluation of possible nonlethal side effects of permethrin used in predator exclusion experiments to evaluate *Amblyseius limonicus* (Acari: Phytoseiidae) in biological control of cassava mites (Acari: Tetranychidae). **Environmental Entomology**, v.16, n.4, p.1012-1018, 1987.

BROWN, J.K. The biology and molecular epidemiology of the Geminiviridae subgroup III. In: STACEY, G.E; KEEN, N.T. (eds). **Plant-Microbe Interactions**, p.125-195, 1997.

BROWN, J.K.; FAUQUET, C.M.; BRIDDON, R.W.; ZERBINI, F M.; MORIONES, E., NAVAS-CASTILLO, J. Family Geminiviridae. In: KING, A.M.Q.; ADAMS, M.J.; CARSTENS, E.B.; LEFKOWITZ, E. (Eds.). **Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**, San Diego: Elsevier, 2012. p.351-373.e52.

BROWN, J. K; BIRD, J. Whitefly-transmitted *geminiviruses* and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease*. 76(3): 220- 225. 1992.

BROWN, J.K; FROHLICH, D.R.; ROSELL, R.C. The sweet potato or silver leaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex. **Annual Review of Entomology**, v.40, p.511-534, 1995.

CAMERON, R.; LANG, E.B.; ANNAN, I.B.; PORTILLO, H.E.; ALVAREZ, J.M. Use of fluorescence, a novel technique to determine reduction in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) nymph feeding when exposed to benevia and other insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v.106, p.597-603, 2013.

CARVALHO DIAS, C.A.D. **Cultura da batata**. 1993.

CAVALCANTE, A.C.C. Ácaros predadores da família Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) para o controle do biótipo B da mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) no Brasil. Tese (Doutorado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 2014.

CHIEL, E.; GOTTLIEB, Y.; ZCHORI-FEIN, E.; MOZES-DAUBE, N.; KATZIR, N.; INBAR, M.; GHANIM, M. Biotype-dependent secondary symbiont communities in sympatric populations of *Bemisia tabaci*. **Bulletin of Entomological Research**, v.97, n.4, p.407-413., 2007.

CHIEL, E.; INBAR, M.; MOZES-DAUBE, N.; WHITE, J.A.; HUNTER, M.S.; ZCHORI-FEIN, E. Assessments of fitness effects by the facultative symbiont *Rickettsia* in the sweetpotato whitefly (Hemiptera: Aleyrodidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.102, n.3, p.413-418, 2009.

CHOER, E. Origem e Evolução. In: PEREIRA, A. S; DANIELS, J. (Eds.). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Embrapa Clima Temperado. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003.

CHU, D.; ZHANG, Y.J.; BROWN, J.K.; CONG, B.; XU, B.Y.; WU, Q.J.; ZHU, G.R. The introduction of the exotic Q biotype of *Bemisia tabaci* from the Mediterranean region into China on ornamental crops. **Florida Entomologist**, v.89, n.2, p.168-174, 2006.

COLARICCIO, A.; EIRAS, M.; CHAVES, A.L.R.; BERGMANN, J.C.; ZERBINI, F.M.; HARAKAVA, R.; CHAGAS, C.M. *Tomato yellow vein streak virus*, a new begomovirus on tomato from Brazil: complete dna-a sequence and some molecular and biological features. **Journal of Plant Pathology**, p.385-390, 2007.

COLLIER, K.F.S.; ALBUQUERQUE, G.S.; LIMA, J.O.G.; PALLINI, A.; MOLINA-RUGAMA, A.J. *Neoseiulus idaeus* (Acari: Phytoseiidae) as a potential biocontrol agent of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in papaya: performance on different prey stage - host plant combinations. **Experimental and Applied Acarology**, v.41, p.27-36, 2007.

COSTA, A. S. Three whitefly-transmitted virus diseases of beans in São Paulo, Brazil. **FAO Plant Prot. Bull.** 13:121-130. 1965

CUI, L.; SUN, L.; SHAO, X.; CAO, Y.; YANG, D.; LI, Z.; YUAN, H. Systemic action of novel neonicotinoid insecticide IPP-10 and its effect on the feeding behaviour of *Rhopalosiphum padi* on wheat. **Pest management science**, v.66, n.7, p.779-785, 2010.

CZEPAK, C.; BORGES, J.D.; SANTOS, J.B.; SANTANA, H.G. Praga dos séculos: mosca-branca em tomate. **Revista Cultivar**, v.55, p.22-27, 2009.

CZOSNEK, H.; GHANIM, M.; GHANIM, M. The circulative pathway of begomoviruses in the whitefly vector *Bemisia tabaci* - insights from studies with Tomato yellow leaf curl virus. **Annals of Applied Biology**, v.140, n.3, p.215-231, 2002.

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

DELLAPORTA, S.L.; WOOD, J.; HICKS, J.B.A. Plant DNA Miniprep: Version II. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.1, n.4, p.19-21, 1983.

DINSDALE, A.; COOK, L.; RIGINOS, C.; BUCKLEY, Y. M.; DE BARRO, P. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. **Annals of the Entomological Society of America**, v.103, n.2, p.196-208, 2010.

DUFFUS, J.E. Whitefly transmission in plant viruses. In: **Current Topics I** Vector of squash leaf curl virus (SqLCV) Research Vol. 4K. HARRIS, F. (Ed), Springer Verlag, New York, p. 73-91. 1987.

FANCELLI, M.; VENDRAMIM, J.D.; LOURENÇÃO, A.L.; DIAS, C.T. Atratividade e preferência para oviposição de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biótipo B em genótipos de tomateiro. **Neotropical Entomology**, v.32, n.2, p.319-328, 2003.

FAO. Food and Agriculture Organization. FAO Stats. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/browse/Q/QC/E>. Acesso em 10 Jan. 2014

FARIA, J.C.; SOUZA-DIAS, J.A.C.; SLACK, S.A.; MAXWELL, D.P. A new geminivirus associated with tomato in the State of São Paulo. **Brazil.Plant Disease**, v.81, n.4, p.423-423. 1997.

FARIA, J.C.; BEZERRA, I.C.; ZERBINI, F.M.; RIBEIRO, S.G.; LIMA, M.F. Situação atual das geminiviroses no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.25,p.125-137, 2000.

FARIA, J.C.; SOUZA-DIAS, J.A.C.; SLACK, S.A.; MAXWELL, D.P. A new geminivirus associated with Tomato in the State of São Paulo, Brazil. **Plant Disease**, v.81, p.423-423, 1997.

FERERES, A.; PEREZ, P.; GAMENO, C.; PONZ, F. Transmission of Spanish pepper-PVY isolates by aphid vectors: epidemiological implications. **Environmental Entomology**, v.22, p.1260-1265, 1993.

FERLA, N.J.; MORAES, G.J. Seletividade de acaricidas e inseticidas a ácaros predadores (Acari: Phytoseiidae) encontrados em seringueira no centro-oeste do Brasil. **Ciência Rural**, v.36, n.2, p.357-362, 2006.

FIGUEIRA, A.R. Credenciamento do CIV-MG no Renascem abre novas perspectivas para a melhoria da qualidade da batata-semente produzida no Brasil. **Batata Show**, v.16, p.28, 2006.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de Olericultura** - Agrotecnologia Moderna na Produção e Comercialização de Hortaliças. Viçosa-MG: Editora UFV, 402p. 2000.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura**: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2ªEd. Viçosa: Editora UFV. 412p. 2003.

FIRMINO, A.C. Estudo da interação do *Tomato yellow vein streak vírus* (ToYVSV) e seu vetor *Bemisia tabaci* biótipo B e identificação de hospedeiras alternativas do vírus. 2007. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2007.

FONTES, F.V.H.M.; COLOMBO, C.A.; LOURENÇÃO, A.L. Caracterização molecular e divergência genética de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) em diferentes culturas e locais de cultivo. **Neotropical Entomology**, v.39, p.221-226. 2010.

FORTES, G.R.L., "Batata-semente pré-básica: Cultura de tecidos." O cultivo da batata na região sul do Brasil. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília: Embrapa, DF: p.421-433. 2003

FOULY, A.H.; AL-DEGHAIRI, M.A.; BAKY, N.F. ABDEL. Biological aspects and life tables of *Typhlodromips swirskii* (Acari: Phytoseiidae) fed *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyroididae). **Journal Entomology**, v.8, n.1, p.52-62, 2011.

FREITAS, D.M.S. *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) e *Tomato chlorosis virus* (ToCV): relações com a *Bemisia tabaci* biótipo B e eficiência de um inseticida no controle da transmissão do ToSRV. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 74p. 2012.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ. 920p. 2002.

GARZO, E.; SORIA, C.; GOMEZ-GUILLAMON, M.L.; FERERES, A. Feeding behavior of *Aphis gossypii* on resistant accessions of different melon genotypes (*Cucumis melo*). **Phytoparasitica**, v.30, n.2, p.129-140, 2002.

GERLING, D.; ALOMAR, O.; ARNÓ, J. Biological control of *Bemisia tabaci* using predators and parasitoids. **Crop Protection**, v. 20, p.779-799, 2001.

GERLING, D.; MOTRO, U.; HOROWITZ, R.; Dynamics of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) attacking cotton in the coastal plain of Israel. **Bulletin of Entomological Research**, v.70, p.213-219, 1980.

GIUSTO, A.B. Tecnologia do broto como propágulo na produção de minitubérculos de batata-semente: avaliação do elisa na detecção de quatro vírus regulamentados. Dissertação (Mestrado em Tecnologia da Produção agrícola), IAC, Campinas, 2006.

GOTTLIEB, Y., GHANIM, M., CHIEL, E., GERLING, D., PORTNOY, V., STEINBERG, S., KONTSEDALOV, S. Identification and localization of a *Rickettsia* sp. in *Bemisia tabaci*

(Homoptera: Aleyrodidae). **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, n.5, p.3646-3652, 2006.

GOTTLIEB, Y.; ZCHORI-FEIN, E.; MOZES-DAUBE, N., KONTSEDALOV, S., SKALJAC, M.; BRUMIN, M.; GHANIM, M. The transmission efficiency of *tomato yellow leaf curl virus* by the whitefly *Bemisia tabaci* is correlated with the presence of a specific symbiotic bacterium species. **Journal of Virology**, v.84, n.18, p.9310-9317, 2010.

GRECO, N.M.; SÁNCHEZ, N.E.; LILJESTHRÖM, G.G. *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) as a potential control agent of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): Effect of pest/predator ratio on pest abundance on strawberry. **Experimental and Applied Acarology**, v 37, p. 57-66, 2005.

GUO, H., QU, Y., LIU, X., ZHONG, W., FANG, J. Female-biased symbionts and *tomato yellow leaf curl virus* infections in *Bemisia tabaci*. **PloS one**, v.9, n.1, e84538, 2014.

HAJI, F.N.; LIMA, M.F.; MATTOS, M.A. de; MOREIRA, A.N.; ALENCAR, J.A. de; BARBOSA, F.R.; KILL, L.H.P. Plantas hospedeiras de *Bemisia argentifolli* Bellows & Perring em áreas cultivadas das regiões do Submédio do Vale São Francisco e Setão Central Pernambucano. 2001. 13 p. **Embrapa Semi-árido. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 55. Disponível em: <[http://www.cpatsa.embrapa.br:8080/public\\_eletronica/downloads/BPD55.pdf](http://www.cpatsa.embrapa.br:8080/public_eletronica/downloads/BPD55.pdf)>. Acesso em: 10 agosto 2015.

HANSEN, A. K., MORAN, N. A. Aphid genome expression reveals host–symbiont cooperation in the production of amino acids. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.108, n.7, p.2849-2854, 2011.

HARRISON, B.D. Advances in *geminivirus* research. **Annual Review of Phytopathology**, v.23, p.55-82, 1985.

HASSAN, S.A.; BIGLER, F.; BLAISINGER, P.; BOGENSHÜTZ, H.; BRUN, J.; CHIVERTON, P.; DICKLER, E.; EASTERBROOK, M.A.; EDWARDS, P.J.; ENGLERT, W.D.; FIRTH, S.I.; HUANG P.; INGLESFIELD, D.; KLINGAUF, F.; KÜHNER C.; OVERMEER, W.P.J.; PLEVOETS, P.; REBOULET, J.N.; RIECKMANN, W.; SAMSOE-PETERSEN, L.; SHIRES, S. W.; STÄUBLI, A. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.3, p.589-592, 2001.

HASSAN, S.A.; BIGLER, F.; BOGENSCHUTZ, H.; BOLLER, E.; BRUN, J.; CALIS, J.N.M.; COREMANS-PELSENEER, J.; DUSO, C.; GROVE, A.; HEIMBACH, U.; HELYER, N.; HOKKANEN, H.; LEWIS, G.B.; MANSOUR, F.; MORETH, L.; POLGAR, L.; SAMSOE-

PETERSEN, L.; SAUPHANOR, B.; STAUBLI, A.; STERK, G. ; VAINIO, A.; Van de VEIRE, M.; VIGGIANI, G.; VOGT, H. Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/WPRS – Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". **Entomophaga**, v.39, p.107-119, 1994.

HAWKES, J.G.; FRANCISCO-ORTEGA, J. The early history of the potato in Europe. **Euphytica**, v.70, p.12-17, 1993.

HOGENHOUT, S.A.; Van Der WILK, F.; VERBEEK, M.; GOLDBACH, R.W.; Den HEUVEL, J.F. Identifying the Determinants in the Equatorial Domain of *Buchnera* GroEL Implicated in Binding *Potato Leafroll Virus*. **Journal of Virology**, v.74, n.10, p.4541-4548, 2000.

HOLBROOK, F.R. Aldicarb and thiofanox: effect on the feeding activity of green peach aphids. **Journal of Economic Entomology**, v.70, p.742-744, 1977.

HOOGERBRUGGE, H.; CALVO, J.; Van HOUTEN, Y.; BELDA, J.E.; BOLCKMANS, K. Biological Control of the Tobacco Whitefly *Bemisia tabaci* with the predatory mite *Amblyseius swirskii* in sweet pepper crops. **IOBC/WPRS Bulletin**, v.28, n.1, p.119- 122, 2005.

IBGE. Indicadores IBGE. Estatística da Produção Agrícola, 2010. Disponível em: [www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr\\_201012.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_201012.pdf). Acesso em 10 Jan. 2015.

ICTV - International Committee on Taxonomy of Viruses. Disponível em: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>. Acesso em: 22 Out. 2015.

INBAR, M.; GERLING, D. Plant-mediated interactions between whiteflies, herbivores, and natural enemies. **Annual Review of Entomology**, v.53, p.431-448, 2008.

JADOSKI, S.O.; LOPES, É.C.; MAGGI, M.F.; SUCHORONCZEK, A.; SAITO, L.R.; DENEGA, S. Método de determinação da área foliar da cultivar de batata 'Agata' a partir de dimensões lineares. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.6 (Supl.1), p.2545-2554, 2012.

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

KLIOT, A.; CILIA, M.; CZOSNEK, H.; GHANIM, M. Implication of the bacterial endosymbiont *Rickettsia* spp. in interactions of the whitefly *Bemisia tabaci* with *Tomato yellow leaf curl virus*. **Journal of virology**, v.88, n.10, p.5652-5660, 2014.

KLIOT, A., GHANIM, M. The role of bacterial chaperones in the circulative transmission of plant viruses by insect vectors. **Viruses**, v.5, n.6, p.1516-1535, 2013.

KNAPP, M.; HOUTEN, Y. Van; HOOGERBRUGGE, H.; BOLKMANS, K. *Amblydromalus limonicus* (Acari: Phytoseiidae) as a biocontrol agent: literature review and new findings. **Acarologia**, Paris, v.53, n.2, p.191-202, 2013. Symposium of EURAAC 7, Vienna, 2012.

KNIGHT, A.L.; BEERS, E.H.; HOYT, S.C.; RIEDL, H. Acaricide bioassay with spider mites (Acari: Tetranychidae) on pome fruits: evaluation of methods and selection of discrimination concentrations for resistance monitoring. **Journal of Economic Entomology**, v.83, n.5, p.1752-1760, 1990.

KOMATSU, S.S.; NAKANO, O. Estudos visando ao manejo do ácaro da leprose em citros através do ácaro predador *Euseius concordis* (Acari: Phytoseiidae). **Laranja**, v.9, n.1, p.125-146, 1988.

KONTSEDALOV, S., ZCHORI-FEIN, E., CHIEL, E., GOTTLIEB, Y., INBAR, M., GHANIM, M. The presence of *Rickettsia* is associated with increased susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides. **Pest Management Science**, v.64, n.8, p.789-792, 2008.

KOPPERT – Biological Systems. Swirski-mite. Disponível em: <http://www.koppert.com/products/products-pests-diseases/swirski-mite/>. Acesso em: 15 abr. 2015

LA POINTE, S.L.; TINGEY, W.M. Feeding response of the green peach aphid (Homoptera: Aphididae) to potato glandular trichomes. **Journal of Economic Entomology**, v.77, p.386-389, 1984.

LACERDA, J.T.; CARVALHO, R.A. Descrição e manejo integrado da mosca-branca (*Bemisia* spp.) transmissora de geminivirus em culturas econômicas. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v.2, n.2, p.15-22, 2008.

LEFEUVRE, P.; MARTIN, D.P.; HARKINS, G.; LEMEY, P.; GRAY, A.J.; MEREDITH, S.; HEYDARNEJAD, J. The spread of *Tomato yellow leaf curl virus* from the Middle East to the world. **PLoS Pathog**, v.6, n.10, e1001164, 2010.

LEGNARO, A.; SÁBIO, R.P. Batata 2007: resultados positivos a partir de março. **Hortifruti Brasil**, v.64, p.12-15, 2007.

LEONARD, S.H.; HOLBROOK, F.R. Minimum acquisition and transmission times for potato leaf roll virus by the green peach aphid. **Annals of the Entomological Society of America**, v.71, n.4, p.493-495, 1978.

LIU, B., YAN, F., CHU, D., PAN, H., JIAO, X., XIE, W. ZHANG, Y. Difference in feeding behaviors of two invasive whiteflies on host plants with different suitability: implication for competitive displacement. **International Journal Of Biological Sciences**, v.8, n.5, p.697, 2012.

LOPES, C.A.; BUSO, J.A. **Cultivo da batata (*Solanum tuberosum* L.)**. Brasília: Embrapa-Hortaliças, 1997.

LOURENÇÃO, A. Histórico e danos de *Bemisia argentifolii* no Brasil. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 16. **Resumos**. Salvador, BA. p.8-9, 1997.

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

LOURENÇÃO, A.L.; SAKATE, R.K.; VALLE, G.E. *Bemisia tabaci* biótipo B. In: VILELLA, E.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Pragas Introduzidas no Brasil**: insetos e ácaros. Piracicaba: FEALQ, 2014.

LOURENÇÃO, A.L.; FANCELLI, M.; VENDRAMIM, J.D.; DIAS, C.T.S. Atratividade e preferência para oviposição de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biótipo B em genótipos de tomateiro. **Neotropical Entomology**, v.32, n.2, 2003.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Agrofit: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 20 Jan. 2014.

MARTÍN, B.; COLLAR, J.L.; TJALLINGII, W.F.; FERERES, A. Intracellular ingestion and salivation by aphids may cause the acquisition and inoculation of non-persistently transmitted plant viruses. **Journal of General Virology**, v.78, p.2701-2705, 1997.

MARTIN, J.H.; MOUND, L.A. An annotated check list of whiteflies (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae). **Zootaxa**, v.1492, p.1-84, 2007.

MARUBAYASHI, J.M. Interação de *Tomato severe rugose virus* com *Bemisia tabaci* biótipo B, a acessos de *Capsicum* spp. e ocorrência de espécies de mosca-branca no Estado de

São Paulo. 109 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Faculdade De Ciências Agrônômicas Universidade Estadual “Julio Mesquita Filho” Botucatu. 2009.

MARUBAYASHI, J.M.; YUKI, V.A.; ROCHA, K.C.G.; MITUTI, T.; PELEGRINOTTI, F.M.; FERREIRA, F.Z.; KRAUSE-SAKATE, R. 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.

McLEAN, D.L; KINSEY, M.G. A technique for electronically recording aphid feeding and salivation. **Nature**, v.202, p.1358-1359, 1964.

McMURTRY, J.A.; CROFT, B.A. Life-styles of phytoseiid mites and their roles in biological control. **Annual Review of Entomology**, v.42, p.291-321, 1997.

MEHTA, P.; WYMAN, J.A.; NAKHLA, M.K.; MAXWELL, D.P. Transmission of *tomato yellow leaf curl* Geminivirus by *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). **Journal of Economic Entomology**, v.87, n.5, p.1291-1297, 1994.

MORAES, G.J. de; McMURTRY, J.A.; DENMARK, H.A. **A catalog of the mite family Phytoseiidae**: References to taxonomy, synonymy, distribution and habitat. Brasília: EMBRAPA-DDT. 1986. 353p.1986

MORAES, G.J. de; FLECHTMANN, C.H.W. **Manual de acarologia**. Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto: Holos, 308p. 2008.

MOREIRA, L.A.; ITURBE-ORMAETXE, I.; JEFFERY, J.A.; LU, G.; PYKE, A.T.; HEDGES, L.M.; HUGO, L.E. A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, Chikungunya, and Plasmodium. **Cell**, v.139, n.7, p.1268-1278, 2009.

MOREIRA, M.A.B. Hospedeiros alternativos da mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo "B" (Hemiptera: Aleyrodidae) no Rio Grande do Norte. 2001. 12 p. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Circular Técnica. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/370883>. Acesso em: 12 ago. 2015.

MORRA, M.R.; PETTY, I.T. Tissue specificity of geminivirus infection is genetically determined. **The Plant Cell**, v.12, n.11, p.2259-2270. 2000.

MOUND, L. D; HALSEY, S. H. Whitefly of the world: a systematic catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data. New York: British Mus. National History and John Wiley & Sons, 340p. 1978.

NARANJO, S.E.; CASTLE, S.J.; DE BARRO, P.J.; LIU, S. Population dynamics, demography, dispersal and spread of *Bemisia tabaci*. In: STANSLY, P.A.; NARANJO, S.E. (Ed.). **Bemisia**: bionomics and management of a global pest. Dordrecht; Heidelberg; New York; London: Springer, p.185-226, 2010.

NAUEN, R. Behaviour modifying effects of low systemic concentrations of imidacloprid on *Myzus persicae* with special reference to an antifeeding response. **Pesticide Science**, v.44, n.2, p.145-153, 1995.

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

NICASTRO, R.L.; ARTHUR, V.; SILVA, M.Z. da; SATO M.E. Biologia do ácaro predador *Typhlodromalus limonicus* (Garman & McGregor) (Acari: Phytoseiidae) em folhas de morangueiro infestadas com o ácaro fitófago *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). In: Simpósio de Controle Biológico, 12. São Paulo. **Resumos**. 2011.

NOMIKOU, M.; JANSSEN, A.; SCHRAAG, R.; SABELIS, M.W. Phytoseiid predators as potential biological control agents for *Bemisia tabaci*. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v.25, p.271-291, 2001

OLIVER, K.M.; RUSSELL, J.A.; MORAN, N.A.; HUNTER, M.S. Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.100, p.1803-1807, 2003.

OVERMEER, W.P.J. Laboratory method for testing side-effects of pesticides on the predacious mites *Typhlodromus pyri* and *Amblyseius potentillae* (Acari: Phytoseiidae). **IOBC/WPRS Bulletin**, v.11, n.4, p.65-69, 1988.

PAN, H.P.; LI, X.C.; GE, D.Q.; WANG, S.L.; WU, Q.J.; XIE, W.; ZHANG, Y.J. Factors affecting population dynamics of maternally transmitted endosymbionts in *Bemisia tabaci*. **PloS one**, v.7, n.2, e30760, 2012

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle biológico: terminologia. In: PARRA, J.R.P. **Controle biológico no Brasil**: parasitoides e predadores. São Paulo: Manole, p. 1-16. 2002.

PEREIRA, L.S. Interações *Bemisia tabaci* biótipo B e *Tomato chlorosis vírus* em clones de batata. 69p. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônomo de Campinas. Campinas, 2016.

PIJNAKKER, J.; MESSELINK, G. *Typhlodromips swirskii*, un auxiliaire prometteur en culture de concombre. **PHM Rev. Hort.**, v. 471, p.35-39, 2005.

PINHEIRO, P. V., KLIOT, A., GHANIM, M., CILIA, M. Is there a role for symbiotic bacteria in plant virus transmission by insects?. **Current Opinion in Insect Science**, v.8, p.69-78, 2015.

PRADO, E. Aphid-plant interactions at phloem level, a behavioural study. Thesis, Wagenigen, Holanda. 110 p. 1997.

RABELLO, A.R.; QUEIROZ, P.R.; SIMÕES, K.C.; HIRAGI, C.O.; LIMA, L.H.C.; OLIVEIRA, M. R.V.; MEHTA, A. Diferenciação de biótipos de *Bemisia tabaci* utilizando PCR-RFLP e sequenciamento da região ITS1 rDNA. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. 2005

RAMAN, K.V; TINGEY, W.M; GREGORY, T. Potato glycoalkaloids: effect on survival and feeding behavior of the potato lefhopper. **Journal of Economic Entomology**, v.72, p.337-341, 1979.

RIBEIRO, S.G.; AMBROZEVIĆIUS, L.P.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; CALEGARIO, R.F.; FERNANDES, J.J.; LIMA, M.F.; MELLO, R.N.; ROCHA, H.C.; ZERBINI, F.M. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomovírus in Brazil. **Archives of Virology**, v.148, p.281-295, 2002.

RODITAKIS, E.; RODITAKIS, N.E.; TSAGKARAKOU, A. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Crete. **Pest management science**, v.61, n.6, p.577-582, 2005.

ROJAS, M.R.; GILBERTSON, R.L.; MAXWELL, D.P. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. **Plant disease**, v.77, n.4, p.340-347, 1993.

RUSSELL, J.A.; MORAN, N.A. Costs and benefits of symbiont infection in aphids: variation among symbionts and across temperatures. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v.273, n.1586, p.603-610, 2006.

- SALAS, F.J.S. Comportamento de *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) e transmissão de estirpes de *Potato Virus Y* (PVY) em diferentes cultivares de batata. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. 2004.
- SALAS, F.J.S.; LOPES, J.R.S.; FERRERES, A. Resistência de cultivares de batata a *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.39, n.6, 2010.
- SALAS, F.J.S.; PACIENCIA, M.L.B.; FERRERES, A. Hospedeiras alternativas de *Bemisia tabaci* associadas à cultura de batata na região de Capão Bonito/SP. **Batata Show**, n.33, p.12-15, 2012.
- SALGUEIRO, V. Perspectivas para el manejo del complejo moisca blanca – viroses. In: HILGE, L.; ARBOLEDA, O. **Las moscas blancas (Homoptera, Aleyroididae) en America Central y Caribe**. Turrialba: CATIE, 1993, p. 20-26 (CATIE Informe Técnico 205), 1993.
- SARRIA, E.; CID, M.; GARZO, E.; FERRERES, A. Workbook for automatic parameter calculation of EPG data. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.67, p.35-42, 2009.
- SATO, M.E.; SILVA, M.Z.; RAGA, A.; CANGANI, K.G.; VERONEZ, B.; NICASTRO, R.L. Spiromesifen toxicity to the spider mite *Tetranychus urticae* and selectivity to the predator *Neoseiulus californicus*. **Phytoparasitica**, v. 39, p. 437-445, 2011.
- SIEGEL, S. Nonparametric statistic for the behavioral sciences. New York: McGraw-Hill, Inc., 1956.
- SILVA, A.G.A.; GONÇALVES, C.R.; GALVÃO, D.M.; GONÇALVES, A.J.L.; GOMES, J.; SILVA, M.N.; SIMONI, L. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitos e predadores**. Insetos, hospedeiros e inimigos naturais, Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura. v.1, p.2.1968. 622 p.
- SILVA, G.O.; CASTRO, C.M.; TERRES, L.R.; ROHR, A.; SUINAGA, F.A. Desempenho agrônômico de clones elite de batata. **Horticultura Brasileira**, v.30, n.3, 2012.
- SILVA, M.S.; LOURENÇÃO, A.L.; DE SOUZA-DIAS, J.A.C.; MIRANDA FILHO, H.D.S.; RAMOS, V.J.; SCHAMMASS, E.A. Resistance of potato genotypes (*Solanum* spp.) to *Bemisia tabaci* biotype B. **Horticultura Brasileira**, v.26, n.2, p.221-226, 2008.
- ŠKALJAC, M.; ŽANIĆ, K.; HRNČIĆ, S.; RADONJIĆ, S.; PEROVIĆ, T.; GHANIM, M. Diversity and localization of bacterial symbionts in three whitefly species (Hemiptera: Aleyrodidae)

from the east coast of the Adriatic Sea. **Bulletin of entomological research**, v.103, n.1, p.48-59, 2013.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Viroses da Batata. **DBO Agrotecnologia**, São Paulo, p.15-20, 2008.

SOUZA-DIAS, J.A.C. Viroses de batata e suas implicações na produção de batata semente no estado de São Paulo. **Summa Phytopathology**, v.21, p.264-266, 1996.

SOUZA-DIAS, J.A.C.; SAWASAKI, H.; PERNAMBUCO, P.C.A.; ELIAS, L.M. *Tomato severe rugose virus*: Another Begomovirus causing leaf deformation and mosaic symptoms on potato in Brazil. **Plant Disease**, v.92, p.487-487, 2008b.

SPSS IBM Statistics SPSS 21.0 Package for Mac. Chicago (USA): SPSS, 2012.

STEVENSON, J.; TUSET, J.J.; VANWETSWINKEL, G.; Van ZON, Q. Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/ WPRS working group "Pesticides and Beneficial Organisms". **EPPO Bulletin**, Oxford, v.15, p.214-255, 1985.

STEVENSON, R; LORIA, R; FRANC, G.D; WEINGARTNER, D.P. **Compendium of Potato Diseases**. St. Paul: The American Phytopathological Society. 2001. 134p.

SU, Q., OLIVER, K. M., PAN, H., JIAO, X., LIU, B., XIE, W., ZHOU, X. Facultative symbiont *Hamiltonella* confers benefits to *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), an invasive agricultural pest worldwide. **Environmental entomology**, v.42, n.6, p.1265-1271, 2013.

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

TIMMERMANS, M.C.P.; PREMDAS, O.; MESSING, J. Geminiviruses and their uses as extrachromosomal replicons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.45, p.79-112, 1994.

TIWARI, S.P.; NEMA, S.; KHARE, M.N. Whitefly, a strong transmitter of plant viruses. **International Journal of Phytopathology**, v.2, n.2, p.102-120, 2013.

TJALLINGII, W.F. Electrical nature of recorded signals during stylet penetration by aphids. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.38, p.177-186, 1985.

TOLOY, R.S. Período mínimo para a aquisição do *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) por *Bemisia tabaci* biótipo B em tomateiros e identificação de sítios de aquisição do vírus. Tese (doutorado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2015.

Van Den HEUVEL, J.F.; HOGENHOUT, S.A.; Van Der WILK, F. Recognition and receptors in virus transmission by arthropods. **Trends in Microbiology**, v.7, n.2, p.71-76, 1999.

Van Den HEUVEL, J.F.; VERBEEK, M.; Van Der WILK, F. Endosymbiotic bacteria associated with circulative transmission of potato leafroll virus by *Myzus persicae*. **Journal of General Virology**, v.75, n.10, p.2559-2565, 1994.

Van HELDEN, M.Y; TJALLINGII, W.F. Tissue localisation of lettuce resistance to the aphid *Nasonovia ribisnigri* using electrical penetration graphs. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.68, p.269-278, 1993.

Van HOUTEN, Y.M.; ROTHE, J.; BOLCKMANS, K.J.F. The generalist predator *Typhlodromalus limonicus* (Acari: Phytoseiidae): a potential biological control agent of thrips and whiteflies. **IOBC WPRS BULLETIN**, v.32, p.237-240, 2008.

Van HOUTEN, Y.M.; Van RIJN, P.C.J.; TANIGOSHI, L.K.; Van STRATUM, P.; BRUIN, J. Pre-selection of predatory mites to improve year-round biological control of western flower thrips in greenhouse crops. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.74, p.225-234, 1995.

Van HOUTEN, Y.; ROTHE, J; BOLCKMANS, K.J.F. The generalist predator *Typhlodromalus limonicus* a potential biological control agent of thrips and whiteflies. **Bulletin IOBC/WPRS**, v.32, p.237-240, 2008.

VILLAS BÔAS G.L.; CASTELO BRANCO, M. Manejo integrado da mosca-branca (*Bemisia tabaci*) em Sistema de produção Integrada de tomate indústria (PITI). Brasília: Embrapa Hortaliças. 2009. 15p. (Circular Técnica, 70).

WHITFIELD, A.E.; FALK, B.W.; ROTENBERG, D. Insect vector-mediated transmission of plant viruses. **Virology**, v.479-480, p.278-289, 2015.

WILKINSON, T.L.; DOUGLAS, A.E. The impact of aposymbiosis on amino acid metabolism of pea aphids. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.80, n.1, p.279-282. 1996.

WINER, B.J. Statical principles in experimental design. 2nd Edition. McGraw-Hill Inc. New York, 1971.

XU, J., LIN, K., & LIU, S.S. Performance on different host plants of an alien and an indigenous *Bemisia tabaci* from China. **Journal of Applied Entomology**, v.135, n.10, p.771-779, 2011

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

ZHANG, C.R.; SHAN, H. W.; XIAO, N.; ZHANG, F.D.; WANG, X.W.; LIU, Y.Q.; LIU, S.S. Differential temporal changes of primary and secondary bacterial symbionts and whitefly host fitness following antibiotic treatments. **Scientific Reports**, v.5, p.1598, 2015.

ZHANG, L.P.; ZHANG, Y.J.; ZHANG, W.J.; WU, Q.J.; XU, B.Y.; CHU, D. Analysis of genetic diversity among different geographical populations and determination of biotypes of *Bemisia tabaci* in China. **Journal of Applied Entomology**, v.129, n.3, p.121-128, 2005.