

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Trigo  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# **Workshop: Cooperação Internacional Embrapa/INTA**

**Passo Fundo, Brasil - 17 e 18 de setembro de 2013**

**Livro de Resumos**

*Douglas Lau  
Graciela Ana María Truol  
Paulo Roberto Valle da Silva Pereira  
Denise Navia Magalhães Ferreira  
Vanina Maria Alemandri  
María Fernanda Mattio  
Editores Técnicos*

*Embrapa  
Brasília, DF  
2013*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Trigo  
Rodovia BR 285, km 294  
Caixa Postal 451  
Telefone: (54) 3316-5800  
Fax: (54) 3316-5802  
99001-970 Passo Fundo, RS  
www.cnpt.embrapa.br  
cnpt.sac@embrapa.br

**Unidade responsável pelo conteúdo e edição:**

Embrapa Trigo

**Comitê de Publicações**

**Presidente**

*Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi*

**Vice-Presidente**

*João Carlos Haas*

**Membros**

*Douglas Lau, Flávio Martins Santana,  
Elene Yamazaki Lau, Joseani Mesquita  
Antunes, Maria Regina Cunha Martins,  
Leandro Vargas, Renato Serena Fontaneli*

**Tratamento editorial**

*Vera Rosendo*

**Fotos da Capa**

*Douglas Lau* (sintomas causados por WSMV em trigo)  
*Paulo Roberto Valle da Silva Pereira*  
(*Aceria tosichella*)

**Capa**

*Fátima Maria De Marchi*

**Normalização bibliográfica**

*Maria Regina Cunha Martins*

**1ª edição**

1ª impressão (2013): 100 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Trigo

---

Workshop: Cooperação Internacional Embrapa / INTA (2013 : Passo Fundo, RS).

Livro de resumos... / Workshop: Cooperação Internacional Embrapa / INTA; editado por Douglas Lau ... [et al.]. – Brasília, DF : Embrapa, 2013.

68 p. ; 21 x 29 cm.

Projeto desenvolvido no Brasil e Argentina pela Embrapa e INTA para compreensão e manejo de um patossistema em expansão na América do Sul.

ISBN 978-85-7035-284-2

1. *Aceria tosichella*. 2. *Wheat streak mosaic virus*. 3. *High plains virus*. 4. *Triticum mosaic virus*. I. Lau, Douglas. II. Truol, Graciela Ana Maria. III. Pereira, Paulo Roberto Valle da Silva. IV. Ferreira, Denise Navia Magalhães. V. Alemandri, Vanina Maria. VI. Mattio, María Fernanda. VII. Título.

CDD: 633.119

# Editores Técnicos

## **Douglas Lau**

Pesquisador da Embrapa Trigo  
Rodovia BR 285, Km 294 - Caixa Postal 451  
99001-970 Passo Fundo, RS  
E-mail: douglas.lau@embrapa.br

## **Graciela Ana María Truol**

Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal  
(IFFIVE\_INTA). Camino 60 Cuadras Km 5 1/2 (5119)  
Córdoba, Argentina.  
E-mail: truol.graciela@inta.gob.ar

## **Paulo Roberto Valle da Silva Pereira**

Pesquisador da Embrapa Trigo  
Rodovia BR 285, Km 294 - Caixa Postal 451  
99001-970 Passo Fundo, RS  
E-mail: paulo.pereira@embrapa.br

## **Denise Navia Magalhães Ferreira**

Pesquisadora Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Parque Estação Biológica, final W5 Norte - Caixa Postal 02372  
70.770-917, Brasília, Brasil.  
E-mail: denise.navia@embrapa.br

## **Vanina Maria Alemandri**

Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal  
(IFFIVE\_INTA). Camino 60 Cuadras Km 5 1/2 (5119)  
Córdoba, Argentina.  
E-mail: valemandri@correo.inta.gov.ar

## **María Fernanda Mattio**

Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal  
(IFFIVE\_INTA). Camino 60 Cuadras Km 5 1/2 (5119)  
Córdoba, Argentina.  
E-mail: mfmattio@yahoo.com.ar

## Apresentação

Esta obra contém os trabalhos apresentados no workshop “Cooperação Internacional Embrapa/INTA” desenvolvido no âmbito dos projetos: “Projeto SEG: 03.11.22.005.00.00 - Monitoramento e diagnose do complexo *Aceria tosichella* e vírus transmitidos (*Wheat streak mosaic virus*, *High plains virus*, *Triticum mosaic virus*) – contribuição brasileira para a compreensão e manejo de um patossistema em expansão na América do Sul” e sua contrapartida na Argentina “Monitoreo y diagnóstico del complejo *Aceria tosichella* Keifer / *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y *High plains virus* (HPV), contribución argentina para la comprensión y manejo de un patosistema en expansión en Sud América”. O evento foi realizado na Embrapa Trigo em Passo Fundo, RS nos dias 17 e 18 de setembro de 2013. A coordenação dos projetos ocorre no Brasil pela Embrapa Trigo e na Argentina pelo INTA – IPAIVE.

# Sumário

## Resumo 1

### **El complejo *Aceria tosichella* Keifer *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y *High Plains virus* (HPV), situación en Argentina**

*Vanina Alemandri, María Fernanda Mattio, Analía Dumón, Evangelina Argüello Caro, Paola M. López Lambertini, Carlos Bainotti, Beatriz Formica, Sandra Mónica Rodríguez e Graciela Truol*..... 07

## Resumo 2

### **Prospección y evaluación de la incidencia y prevalencia de *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y *High plains virus* (HPV), y elaboración de mapas de presencia para ambos virus y su vector**

*Vanina Alemandri, María Fernanda Mattio, Evangelina Argüello Caro, Analía Dumón, Pablo Eduardo Abbate, Ana Clara Pontaroli, Carlos Bainotti e Graciela Truol* ..... 08

## Resumo 3

### **Mejoramiento de trigo para resistencia al *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y *High plains virus* (HPV). Desarrollo y evaluación de germoplasma argentino y brasileño en infecciones naturales y artificiales**

*Carlos Bainotti, Beatriz Formica, Marcelo Helguera, Leo Vanzetti, Jorge Fraschina, Jose H. Salines, Enrique Alberione, Dionisio Gómez, Guillermo Donaire, Ana Clara Pontaroli, Vanina Alemandri e Graciela Truol*..... 11

## Resumo 4

### **Caracterización de la diversidad genética del *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) en Argentina**

*Vanina Alemandri, Paola M. López Lambertini e Graciela Truol* ..... 15

## Resumo 5

### **Determinación de la diversidad de secuencias a nivel nuclear y mitocondrial de poblaciones de *Aceria tosichella* Keifer vectores de *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y *High plains virus* (HPV) en Argentina**

*Vanina Alemandri, Graciela Truol, Renata Santos de Mendonça e Denise Navia* ..... 19

## Resumo 6

### **Endosimbiontes de *Aceria tosichella* Keifer e interacción vector-virus-planta**

*María Fernanda Mattio, Vanina Alemandri e Graciela Truol* ..... 23

## Resumo 7

### **O patossistema *Aceria tosichella* e vírus transmitidos no Brasil**

*Douglas Lau, Paulo Roberto Valle da Silva Pereira, Denise Navia Magalhães Ferreira, Jurema Schons, Talita Bernardon Mar, Marcio Martinello Sanches e Norton Polo Benito* ..... 27

## Resumo 8

### **Mapeamento da distribuição geográfica do ácaro-do-enrolamento-do-trigo *Aceria tosichella* Keifer (Prostigmata: Eriophyidae) no Brasil**

*Paulo Roberto Valle da Silva Pereira, Douglas Lau e Denise Navia*..... 29

Resumo 9

**Parâmetros de infestação do ácaro-do-enrolamento-do-trigo *Aceria tosichella* Keifer (Prostigmata: Eriophyidae) em gramíneas hospedeiras**

*Paulo Roberto Valle da Silva Pereira, Douglas Lau e Denise Navia*..... 33

Resumo 10

**Caracterização molecular de populações do ácaro do enrolamento do trigo, *Aceria tosichella* Keifer, na América do Sul**

*Denise Navia, Renata Santos de Mendonça, Paulo Roberto Valle da Silva Pereira, Graciela Truol e Douglas Lau* ..... 38

Resumo 11

**Monitoramento da distribuição de vírus transmitidos por *A. tosichella* no Brasil**

*Douglas Lau, Talita Bernardon Mar, Paulo Roberto Valle da Silva Pereira e Jurema Schons*..... 45

Resumo 12

**Caracterização biológica e molecular de isolados de *Wheat streak mosaic virus* no Brasil**

*Talita Bernardon Mar, Douglas Lau, Jurema Schons e Paulo Roberto Valle da Silva Pereira*..... 50

Resumo 13

**Reação de cultivares brasileiras de trigo ao *Wheat streak mosaic virus***

*Douglas Lau e Paulo Roberto Valle da Silva Pereira* ..... 55

Resumo 14

**Desenvolvimento de métodos eficiente de detecção para WSMV e HPV para uso de estações quarentenárias**

*Márcio Martinello Sanches e Thais Pereira Martins*..... 60

Resumo 15

**Probabilidade de estabelecimento do Ácaro do Enrolamento do Trigo, *Aceria tosichella* Keifer, no Brasil**

*Norton Polo Benito, Denise Navia, José Wagner da Silva Melo, Graciela Truol, Paulo Roberto Valle da Silva Pereira e Douglas Lau* ..... 64

## El complejo *Aceria tosichella* Keifer *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y *High Plains virus* (HPV), situación en Argentina

Vanina Alemandri<sup>1</sup>, María Fernanda Mattio<sup>1</sup>, Analía Dumón<sup>1</sup>, Evangelina Argüello Caro<sup>1</sup>, Paola M. López Lambertini<sup>1</sup>, Carlos Bainotti<sup>2</sup>, Beatriz Formica<sup>2</sup>, Sandra Mónica Rodríguez<sup>2</sup> e Graciela Truol<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Patología Vegetal - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (IPAVE-INTA). Camino 60 cuadras Km. 5 ½ (X5020ICA), Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Marcos Juárez. INTA. Ruta 12, Km 2, (2580) Marcos Juárez, Córdoba, Argentina.

El cultivo de trigo en la actualidad es el cereal de invierno de mayor importancia económica en el país, tanto por la superficie sembrada, 3,8 millones de ha, (LABOURT, 2013) como por la producción de granos (13,87 millones de toneladas). La producción de trigo es afectada por diferentes factores limitantes, tanto abióticos como bióticos. Entre los primeros revisten gran importancia el déficit hídrico y nutricional, y temperaturas extremas en estados críticos del cultivo. Entre los bióticos se destacan las enfermedades fúngicas y virales. Entre ellas, *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y *High Plains virus* (HPV) afectan el cultivo de trigo y usualmente se encuentran en infecciones mixtas, ya que ambas son transmitidos por *Aceria tosichella* Keifer (Wheat curl mite, WCM), el cual produce el enrollamiento de la hoja de trigo. En Argentina se han detectado ambos virus y su vector. Hasta el momento la presencia de WSMV se ha reportado en 8 provincias argentinas. Además de trigo, este virus se ha detectado en otras gramíneas cultivadas o espontáneas en Argentina, tales como *Avena sativa* L., *Hordeum vulgare* L., *Zea mays* L., *Setaria italica* (L.) Beauv., *Digitaria sanguinalis* L., *Echinochloa crusgalli* L., *Panicum* sp., *Brachiaria* sp., *Grama* sp., *Cynodon dactylon* L. y *Sorghum halepense* L. En el año 2006 se identificó por primera vez en el país el *High Plains virus* (HPV), actualmente conocido como *Wheat mosaic virus* (WMoV) en Corral de Bustos (Córdoba) y posteriormente en la provincia de Bs. As. Es frecuente encontrar ambas virosis en infecciones mixtas, ya que *A. tosichella* puede transmitir ambos virus produciendo un daño más severo. El objetivo general del proyecto es conocer la situación del complejo *A. tosichella* Keifer / *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y *High Plains virus* (HPV) en Argentina, relacionada a la presencia de ambos virus, y a la caracterización del ácaro y de los virus transmitidos, y estimar su impacto por medio de la evaluación de la susceptibilidad de cultivares de trigo para establecer medidas de manejo adecuadas a estas enfermedades.

### Referencias

LABOURT, S. A. Tendencias y oportunidades de la cadena del trigo. **Agropost online**, n. 127, ago./ sep. 2013. Disponible em: <<http://www.cpia.org.ar/agropost/201308/notaopinion1.html>>. Consultado el 15/09/13.

## Prospección y evaluación de la incidencia y prevalencia de *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y *High Plains virus* (HPV), y elaboración de mapas de presencia para ambos virus y su vector

Vanina Alemandri<sup>1</sup>, María Fernanda Mattio<sup>1</sup>, Evangelina Argüello Caro<sup>1</sup>, Analía Dumón<sup>1</sup>, Pablo Eduardo Abbate<sup>2</sup>, Ana Clara Pontaroli<sup>2</sup>, Carlos Bainotti<sup>3</sup> e Graciela Truol<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Patología Vegetal - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (IPAVE-INTA). Camino 60 cuadras Km. 5 ½ (X5020ICA), Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Balcarce. INTA. CC 276 (7620) Balcarce, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Marcos Juárez. INTA. Ruta 12, Km 2, (2580) Marcos Juárez, Córdoba, Argentina.

### Introducción

El complejo de virus transmitidos por el ácaro *Aceria tosichella* Keifer afecta cultivos de cereales en todo el mundo. Entre ellos se destacan, *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y *Wheat mosaic virus* (WMoV) en cultivos de trigo y otros cereales. WMoV anteriormente fue nombrado como *High Plains virus* (HPV) y actualmente se propone, (aunque aún no fue aceptado) como *Maize red stripe virus*, MRSV (SKARE et al., 2006; TRUOL, 2009).

Si bien las pérdidas de rendimiento causadas por *A. tosichella* pueden alcanzar el 30% en cultivos de trigo (HARVEY et al., 2002), el principal daño es causado por las virosis que transmite. El WSMV es el agente causal de una de las enfermedades virales más importante en trigo (FRENCH; STENGER, 2003; SANCHEZ-SANCHEZ et al., 2001). Debido a que WSMV y HPV son transmitidos por el mismo vector, son frecuentes las infecciones mixtas, dificultando de esta manera la estimación de pérdidas asociadas a cada virus (SKARE et al., 2006).

Se ha demostrado que WSMV se transmite por semilla en trigo, jugando un papel importante en la introducción del virus en nuevas áreas (HILL et al., 1974, JONES et al., 2005, LANOISELET et al., 2008). En Australia, se reportó que el porcentaje de transmisión por semilla de WSMV en trigo fue de 1,5%, similar a lo obtenido en Argentina (SAGADIN et al., 2008). Es importante considerar la relevancia del intercambio de semillas, ya sea en áreas donde aún no fueron detectadas estas virosis, o en aquellas donde se encuentren, con la posibilidad de introducción de cepas más virulentas.

Entre las estrategias de manejo de estas enfermedades se destaca el control de las poblaciones de los ácaros vectores. Debido a que *A. tosichella* no puede sobrevivir más de 24 horas sin alimentarse, es importante el control de malezas gramíneas y plantas espontáneas de trigo, principalmente durante el período que transcurre entre la cosecha del maíz quien actúa como puente verde y la siguiente siembra de trigo. En Argentina, en las localidades de Jesús María y Marcos Juárez se ha mostrado la presencia de WSMV en maíces y trigos espontáneos respectivamente (SAGADIN; TRUOL, 2007). Asimismo, se detectó HPV en maíces espontáneos en lotes de trigo de la provincia de Córdoba (SAGADIN et al., 2009). Por otra parte, separar la fecha de siembra del trigo de la cosecha de maíz disminuye las posibilidades de que insectos infectados pasen a los nuevos lotes (TRUOL, 2009).

En este trabajo se presentan los resultados de una prospección de estas dos virosis en las provincias de Córdoba, Buenos Aires y Salta, en el período 2011 en cultivos de trigo y los de su incidencia en la localidad de Balcarce según cultivar y cinco fechas de siembra.

## **Materiales y Métodos**

### *Prospección 2011:*

Se realizaron muestreos al azar y/o dirigidos en cultivos de trigo en distintos puntos geográficos de la región triguera argentina (Córdoba, Buenos Aires y Salta) durante la campaña 2011. Se tomaron 30 hojas por lote cuando el muestreo fue al azar. Como método de detección viral se aplicó la técnica serológica de DAS-ELISA con sueros específicos para ambos virus (Agdia Inc., USA). Las lecturas de absorbancia se realizaron a 405nm utilizando un espectrofotómetro (Kayto RT-2100 C). Se consideraron como enfermas las plantas que superaron el límite de corte, resultante de la media de absorbancia de los testigos sanos más tres veces el desvío estándar. Se determinó la incidencia (nº de plantas enfermas/ nº de plantas analizadas) de WSMV y HPV en el caso de los lotes con muestreos al azar. Cuando se recolectaron solamente plantas con síntomas se determinó presencia de la enfermedad. Se muestrearon diferentes cultivares de trigo u otros hospedantes aledaños a lotes de trigo (sorgo de alepo, triticale, maíz espontáneo, cebada, *Avena fatua*, Pasto ovido) y se establecieron los valores de incidencia de ambas virosis para cada localidad muestreada.

### *Incidencia según fecha de siembra y cultivar en Balcarce:*

Se realizó un muestreo en un ensayo de evaluación de cultivares de trigo en cinco fechas de siembra, en la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) en Balcarce, durante el período 2011. Cada parcela consistió de un surco de 1 m de largo. Se determinó la incidencia (nº de plantas enfermas/ nº de plantas analizadas) de WSMV y HPV. Las plantas estuvieron en condiciones naturales de infección según la presión de inóculo presente en el lugar. Las cinco fechas de siembra analizadas fueron: 1º= 10/6/11, 2º= 7/7/11, 3º= 20/7/11, 4º= 2/8/11, 5º= 16/8/11. Como método de detección viral se aplicó la técnica serológica de DAS-ELISA, como se describió anteriormente. Se empleó la técnica estadística análisis de correspondencia para la exploración de los datos. Se utilizó el software estadístico InfoStat.

## **Resultados**

Se detectaron ambos virus en las tres provincias estudiadas. En Salta se observaron mayores valores de incidencia de HPV en diferentes cultivares. Por el contrario, en Córdoba los mayores valores de incidencia se obtuvieron para WSMV, especialmente en Marcos Juárez. En Buenos Aires se observaron altos valores de incidencia de HPV en cebada en Balcarce y en trigo Baguette 31 en Otamendi. Se detectaron infecciones mixtas en un 14%, 25% y 37% en las provincias de Salta, Córdoba y Buenos Aires respectivamente.

El análisis de correspondencia realizado evidenció que las fechas de siembra 1º, 2º y 3º están asociadas a la presencia de los dos virus (WSMV y WMoV), mientras que las fechas 4º y 5º están asociadas a plantas sanas.

Por otra parte, los cultivares BioINTA 3005, Klein Chajá, Baguette 18, Baguette 19, triticale Espinillo y cebada Scarllet están asociados a plantas enfermas (WSMV y HPV) en las fechas de siembra 1º, 2º y 3º. Por el contrario, los cultivares Buck SY100, Buck Taitá, ACA 201, Baguette 30 y BioINTA 2005 están asociados a plantas sanas en las fechas 4º y 5º.

## **Discusión y Conclusiones**

Durante el período 2011, HPV se detectó con mayor incidencia en las provincias de Salta y Buenos Aires, mientras que las mayores incidencias de WSMV fueron detectadas en Córdoba. La

detección de HPV en maíz espontáneo, Sorgo de alepo, triticale, *Avena fatua* y Pasto ovillo, y la de WSMV en cebada, muestra la importancia de la presencia de estos hospedantes en la epidemiología de estas dos enfermedades, actuando como reservorio tanto del vector como de los virus.

Por otra parte, se observó una asociación entre presencia de las dos virosis con las tres primeras fechas de siembra. Esto remarca la importancia de separar la fecha de siembra del trigo de la cosecha de maíz disminuyendo las posibilidades de que insectos infectados pasen a los nuevos lotes. Por tal motivo, serían recomendables las fechas de siembra 4° y 5° como estrategia en el manejo de WSMV y WMoV. De la misma manera, el análisis mostró una asociación entre diferentes cultivares con presencia de enfermedad.

## Referencias

- FRENCH, R.; STENGER, D. C. Evolution of *Wheat Streak Mosaic Virus*: dynamics of population growth within plants may explain limited variation. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 41, p. 199-214, 2003.
- HARVEY, T. L.; MARTIN, T. J.; SEIFERS, D. L. Wheat yield reduction due to Wheat Curl Mite (Acari: Eriophyidae) infestations. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, Washington, v. 19, n. 1, p. 9-13, 2002.
- HILL, J. H.; MARTINSON, C. A.; RUSSELL, W. A. Seed transmission of maize dwarf mosaic and wheat streak mosaic viruses in maize and response of inbred lines. **Crop Science**, Madison, v. 14, n. 1, p. 232-235, 1974.
- JONES, R. A. C.; COUTTS, B. A.; MACKIE, A. E.; DWYER, G. I. Seed transmission of *Wheat streak mosaic virus* shown unequivocally in wheat. **Plant Disease**, Beltsville, v. 89, n. 10, p. 1048-1050, 2005.
- LANOISELET, V. M.; HIND-LANOISELET, T. L.; MURRAY, G. M. Studies on the seed transmission of *Wheat streak mosaic virus*. **Australian Plant Pathology**, Melbourne, v. 37, n. 6, p. 584-588, 2008.
- SAGADIN, M.; RODRÍGUEZ, S.; TRUOL, G. Detección de *High Plains virus* (HPV) en maíces espontáneos creciendo en lotes de trigo de la Provincia de Córdoba, Argentina. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE FITOPATOLOGÍA, 15.; CONGRESO CHILENO DE FITOPATOLOGÍA, 18., 2009. Santiago, Chile. **Resúmenes...** Santiago: Asociación Latinoamericana de Fitopatología y Sociedad Chilena de Fitopatología, 2009. p. 300.
- SAGADIN, M. B.; RODRÍGUEZ, S. M.; TRUOL, G. **Transmisión por semillas de *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) en infecciones naturales y experimentales**. Córdoba: INTA - IFFIVE, 2008. (Informe n. 8).
- SAGADIN, M. Y.; TRUOL, G. Maíz como reservorio del *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) que afecta al trigo en Argentina. Maize as reservoir of *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) that affects to the wheat in Argentina. **Fitopatología Brasileira**, Brasília, DF, v. 32, p. 249, ago. 2007. Suplemento. Edição dos Resumos do XL Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Maringá, ago. 2007.
- SANCHEZ-SANCHEZ, H.; HENRY, M.; CARDENAS-SORIANO, E.; ALVIZO-VILLASANA, H. F. Identification of *Wheat streak mosaic virus* and its vector *Aceria tosichella* in Mexico. **Plant Disease**, Beltsville, v. 85, n. 1, p. 13-17, 2001.
- SKARE, J. M.; WIJKAMP, I.; DENHAM, I.; REZENDE, J. A. M.; KITAJIMA, E. W.; PARK, J.; DESVOYES, B.; RUSH, C. M.; MICHELS, G.; SCHOLTHOF, K. G.; SCHOLTHOF, H. B. A new eryophid mite-born membrane-enveloped virus-like complex isolated from plants. **Virology**, New York, v. 347, n. 2, p. 343-353, 2006.
- TRUOL, G. **Enfermedades virales asociadas al cultivo de trigo en Argentina: reconocimiento, importancia, formas de transmisión y manejo**. [S. l.]: Ed. Autor, 2009. 77 p.

## Mejoramiento de trigo para resistencia al *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y *High Plains virus* (HPV). Desarrollo y evaluación de germoplasma argentino y brasileño en infecciones naturales y artificiales

Carlos Bainotti<sup>1</sup>, Beatriz Formica<sup>1</sup>, Marcelo Helguera<sup>1</sup>, Leo Vanzetti<sup>1</sup>, Jorge Frascina<sup>1</sup>, Jose H. Salines<sup>1</sup>, Enrique Alberione<sup>1</sup>, Dionisio Gómez<sup>1</sup>, Guillermo Donaire<sup>1</sup>, Ana Clara Pontaroli<sup>2</sup>, Vanina Alemandri<sup>3</sup> e Graciela Truol<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Marcos Juárez. INTA. Ruta 12, Km 2, (2580) Marcos Juárez, Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Balcarce. INTA. CC 276 (7620) Balcarce, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Patología Vegetal - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (IPAVE-INTA). Camino 60 cuadras Km. 5 ½ (X5020ICA), Córdoba, Argentina.

### Introducción

El virus del mosaico estriado del trigo (*Wheat streak mosaic virus*, WSMV, *Potyviridae* - *Tritimovirus*) se identificó por primera vez en Argentina en el año 2002 por investigadores del INTA - IPAVE (Instituto de Patología Vegetal) CIAP (Centro de Investigaciones Agropecuarias) (TRUOL et al., 2004). Esta enfermedad fue declarada plaga no cuarentenaria por el Servicio Nacional de Sanidad según Disposición 9/2003 (SENASA).

Desde el 2002 hasta el 2012 se han observado a campo diferentes grados de ataque de esta enfermedad incluido ataques de alta incidencia y severidad en cultivos de trigo. La región triguera argentina también es afectada por otros virus como el virus del enanismo de la cebada "*Barley yellow dwarf virus*" (BYDV), a menudo presente en infecciones combinadas con WSMV en los últimos años.

El único vector conocido de esta enfermedad es el ácaro *Aceria tosichella* (Prostigmata, Eriophyidae) "Wheat Curl Mite" (WCM) (MAHMOOD et al., 1997; SLYKHUIS, 1955). También es de destacar que en Argentina se han reportado casos de transmisión por semilla (TRUOL, 2009).

El control de enfermedades virales se basa en el uso estrategias de manejo preventivo de la enfermedad y en el desarrollo de resistencia genética en cultivares. El desarrollo y uso de trigo resistente o tolerante es la estrategia más eficiente y económica y se basa en la evaluación sistemática de germoplasma para determinar su comportamiento frente a la enfermedad e identificar fuentes de resistencia. La evaluación anual dentro del programa de mejoramiento permite eliminar los materiales susceptibles y seleccionar los resistentes. La actividad interdisciplinaria entre mejoradores, biotecnólogos, patólogos, virólogos, entomólogos, ecofisiólogos, agrónomos, etc. es clave para lograr avances en el desarrollo de variedades con tolerancia o resistencia a virosis.

### Materiales y Métodos

El Grupo de Mejoramiento, Biotecnología y Patología de trigo de la EEA Marcos Juárez junto al Grupo de Interacción Vector-enfermedades virales de trigo del IPAVE, realizan una serie de actividades con el objetivo de caracterizar y desarrollar germoplasma de trigo con resistencia al WSMV: a - Caracterización anual de germoplasma de trigo argentino y brasileño a campo y en invernáculo con inoculaciones artificiales e infección natural frente a WSMV y HPV en

Marcos Juárez, Balcarce y fuera de estación en Balcarce, y en invernáculo en IPAVE Córdoba.  
b - Introducción de fuentes de resistencia a virus y al vector y desarrollo de germoplasma resistente, mediante selección asistida por marcadores moleculares, el cual es evaluado frente a aislamientos locales de los virus y vector.

#### *Fuentes de resistencia genética a la enfermedad*

##### *Resistencia genética al virus WSMV*

Gen Wsm-1. Origen: *Thinopyrum intermedium* como translocación o sustitución cromosómica. Materiales donores: CI17881/82/83/84/85/86 (DAVIS et al., 2006; SHARP et al., 2002; TYLER et al., 1985; WELLS et al., 1982) KS93WGRC27, MACE (GRAYBOSCH et al., 2009). Características: efectivo a temperaturas por encima de los 18°C. Existen marcador disponible para selección asistida del gen en poblaciones segregantes (TALBERT et al., 1996).

Gen Wsm-2. Origen: *Thinopyrum intermedium* como translocación o sustitución cromosómica. Materiales donores: CO 960293-2, pedigree PI222668/TAM107//CO850034 y RonL, pedigree Trego/CO960293 (HALEY et al., 2002, MARTIN et al., 2007). Características: pierde efectividad por encima de los 18°C en cultivo.

Gen Wsm-3. Origen: *Thinopyrum intermedium* como translocación o sustitución cromosómica. Material donador: KS12WGGRC59 confiere resistencia a WSMV entre 18°C - 24°C y a TriMV a 18°C pero no efectivo sobre los 24°C. Germoplasma en trámite de introducción al Programa de mejoramiento.

##### *Resistencia genética al vector WCM*

###### *Gen Cmc3 translocación 1A/1R de Secale cereale L.*

Materiales donores: AMIGO, TAM107 (HARVEY et al., 1999; MALIK et al., 2003; MARTIN et al., 1984). Características: Ubicado en el cromosoma 1A como translocación 1AL/1RS. Puede utilizarse esta translocación para selección indirecta del gen por la técnica de A-PAGE.

###### *Gen Cmc4 Origen: Aegilops tauschii (Coss.) Schmal.*

Materiales donores: KS96WGRC40, pedigree KS93U69\*3/TA2397, KS93U69, pedigree TAM107\*3/TA2460 (MALIK et al., 2003). Características: Ubicado en el cromosoma 6DS, es el más efectivo de los genes de resistencia a colonización de WCM. Puede utilizarse el microsatélite xgdm141 para selección asistida del gen en poblaciones segregantes (MALIK et al., 2003). [Germoplasma en trámite de introducción al Programa de mejoramiento.]

## **Resultados y Discusión**

Se caracterizaron anualmente 15 variedades y líneas de trigo argentino, 4 poblaciones F3 – 4 con genes de resistencia introducidos en germoplasma local, 4 líneas con diferentes fuentes de resistencia introducidas y 30 variedades brasileñas a campo y en invernáculo con inoculaciones artificiales con vector infectado con virus e infección natural. Durante el año 2013 se recibió nuevo germoplasma brasileño, el cual será incorporado el próximo año de evaluación.

Se caracterizó germoplasma utilizando marcadores moleculares asociados a fuentes de resistencia a la enfermedad.

Se desarrolló germoplasma mediante cruzamientos utilizando diferentes fuentes de resistencia con diferentes fondos genéticos con material local adaptado y se realizó selección asistida por

marcadores moleculares de individuos portadores de los genes Wsm-1 y Cmc3 en poblaciones segregantes (piramidización). Se lograron cuatro poblaciones F5 con 250, 500, 500 y 100 líneas, respectivamente. A futuro se sumaran los genes Wsm-3 y Cmc4.

Los resultados de evaluación de cultivares argentinos y brasileros en el período 2011 y 2012 en infecciones artificiales y naturales evidenciaron diferentes comportamientos según aislamientos, poblaciones de ácaros, cultivares e interacción con el ambiente.

En base a los avances obtenidos y la relevancia de la enfermedad es importante que estas actividades se continúen en Argentina e inicien en otros países productores de trigo del Cono Sur.

## Referencias

DAVIS, L. A.; GRAYBOSCH, R. A.; PETERSON, C. J.; BAENZIGER, P. S.; HEIN, G. L.; BEECHER, B. B.; MARTIN, T. J. Agronomic and quality effects in winter wheat of a gene conditioning resistance to *Wheat streak mosaic virus*. **Euphytica**, Wageningen, v. 152, n. 1, p. 41-49, 2006.

GRAYBOSCH, R. A.; PETERSON, C. J.; BAENZIGER, P. S.; BALTENSBERGER, D. D.; NELSON, L. A.; JIN, Y.; KOLMER, J.; SEABOURN, B.; FRENCH, R.; HEIN, G.; MARTIN, T. J.; BEECHER, B.; SCHWARZACHER, T.; HESLOP-HARRISON, P. Registration of 'Mace' Hard Red Winter Wheat. **Journal of Plant Registrations**, Madison, v. 3, n. 1, p. 51-56, 2009.

HALEY, S. D.; MARTIN, T. J.; QUICK, J. S.; SEIFERS, D. L.; STROMBERGER, J. A.; CLAYSHULTE, S.; CLIFFORD, B. L.; PEAIRS, F. B.; RUDOLPH, J. B.; JOHNSON, J. J.; GILL, B. S.; FRIEBE, B. Registration of CO960293-2 wheat germplasm resistant to *Wheat streak mosaic virus* and Russian wheat aphid. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 4, p. 1381-1382, 2002.

HARVEY, T. L.; SEIFERS, D. L.; MARTIN, T. J.; BROWN-GUEDIRA, G.; GILL, B. S. Survival of wheat curl mite on different sources of resistance in wheat. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 6, p.1887-1889, 1999.

MAHMOOD, T.; HEIN, G. L.; FRENCH, R. C. Development of serological procedures for rapid and reliable detection of *Wheat streak mosaic virus* in a single wheat curl mite. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 3, p. 250-253, 1997.

MALIK, R.; BROWN-GUEDIRA, G. L.; SMITH, C. M.; HARVEY, T. L.; GILL, B. S. Genomics, molecular genetics & biotechnology, Genetic Mapping of wheat curl mite resistance genes Cmc3 and Cmc4 in common wheat. **Crop Science**, Madison, v. 43, n. 2, p. 644-650, 2003.

MARTIN, T. J.; FRITZ, A. K.; SEIFERS, D.; SHROYER, J. P. **RonL hard white wheat**. Manhattan: Kansas State University - Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service, 2007. L-926. Disponible em: <<http://www.ksre.ksu.edu/bookstore/pubs/L926.pdf>>. Consultado el 15/09/13.

MARTIN, T. J.; HARVEY, T. L.; BENDER, C. G.; SEIFERS, D. L. Control of wW4, 1984.

SHARP, G. L.; MARTIN, J. M.; LANNING, S. P.; BLAKE, N. K.; BREY, C. W.; SIVAMANI, E.; QU, R.; TALBERT, L. E. Field Evaluation of transgenic and classical sources of *Wheat streak mosaic virus* resistance. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 1, p. 105-110, 2002.

SLYKHUIS, J. T. ñ Keifer (Acarina:Eriophyidae) in relation to the spread of *wheat streak mosaic*.

**Phytopathology**, St. Paul, v. 45, n. 3, p. 116-128, 1955.

TALBERT, L. E.; BRUCKNER, P. L.; SMITH, L. Y.; SEARS, R.; MARTIN, T. J. Development of PCR markers linked to resistance to *Wheat streak mosaic virus* in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 93, n. 3, p. 463-467, 1996.

TRUOL, G. **Enfermedades virales asociadas al cultivo de trigo en Argentina**: reconocimiento, importancia, formas de transmisión y manejo. [S. l.]: Ed. Autor, 2009. 77 p.

TRUOL, G.; SAGADIN, M.; ARNEODO, J.; BAINOTTI, C.; GIMENES MONJE, J. L.; MURÚA, L. **Enfermedades virales asociadas al cultivo de cereales de invierno: detección de *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) en trigos de Argentina**. Córdoba: INTA - IFFIVE, 2004. (Informe n. 2). Proyecto Estratégico de INTA "Siembra Directa" n° 52 522103 14011.

TYLER, J. M. ; WEBSTER, J. A.; SMITH, E. L. Biotype E greenbug resistance in *Wheat streak mosaic virus*-resistant wheat germplasm lines. **Crop Science**, Madison, v. 25, n. 4, p. 686-688, 1985.

WELLS, D. G.; KOTA, R. S.; SANDHU, H. S.; GARDNER, W. S.; FINNEY, K. F. Registration of one disomic substitution line and five translocation lines of winter wheat germplasm resistant to *Wheat streak mosaic virus*. **Crop Science**, Madison, v. 22, n. 6, p. 1277-1278, 1982.

## Caracterización de la diversidad genética del *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) en Argentina

Vanina Alemandri<sup>1</sup>, Paola M. López Lambertini<sup>1</sup> e Graciela Truol<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Patología Vegetal - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (IPAVE-INTA). Camino 60 cuadras Km. 5 ½ (X5020ICA), Córdoba, Argentina.

### Introducción

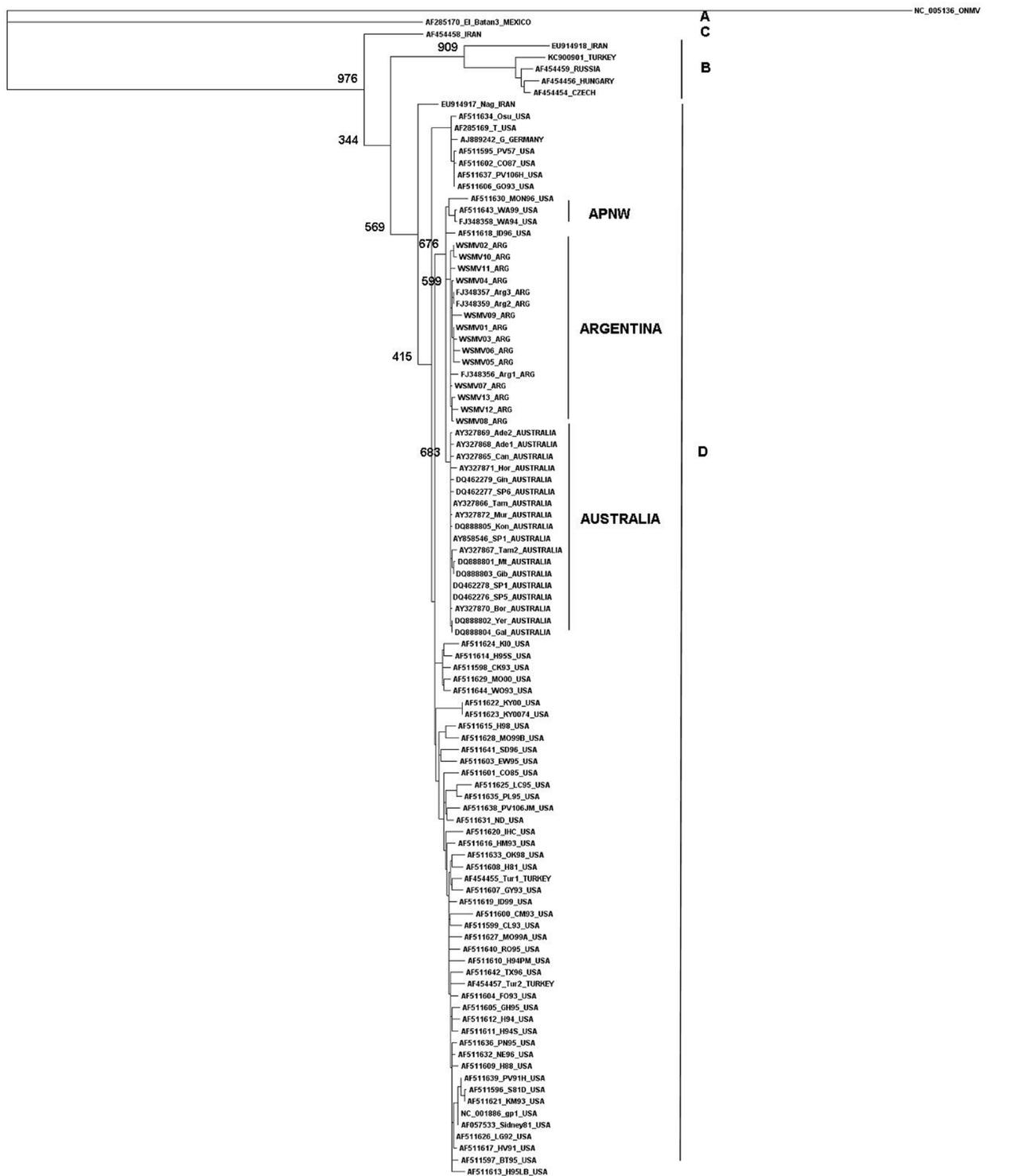
El *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) es el agente causal de una de las enfermedades más importante en el cultivo de trigo a nivel mundial. Este virus es naturalmente transmitido por el ácaro *Aceria tosichella* Keifer (Wheat Curl Mite = WCM) (SLYKHUIS, 1955). El WSMV es la especie tipo del género *Tritimovirus* en la familia Potyviridae (STENGER et al., 1998). Los virus del género *Tritimovirus* son filogenéticamente distantes de los *Rymovirus* transmitidos igualmente por ácaros eriófidios (SALM et al., 1996). La organización del genoma de WSMV es básicamente la misma que la de los *Potyvirus* transmitidos por áfidos. Está constituido por un segmento de ssRNA sentido positivo de aproximadamente 9384 nucleótidos, el cual es traducido como una única poliproteína (CHOI et al., 2000, 2002). Del procesamiento de la misma se derivan hasta 10 proteínas maduras (P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, VPg, NIa, NIb, y CP) (CHOI et al., 2002; STENGER et al., 2006). Entre las principales estrategias para el manejo de la enfermedad se destaca la utilización de genotipos de trigo con resistencia genética a este virus. Conocer la diversidad genética del WSMV en Argentina aportará al entendimiento de la epidemiología y ecología de este patosistema y al desarrollo de germoplasma de trigo con resistencia a este virus. El objetivo del presente trabajo fue establecer las relaciones filogenéticas de aislamientos de WSMV argentinos.

### Materiales y Métodos

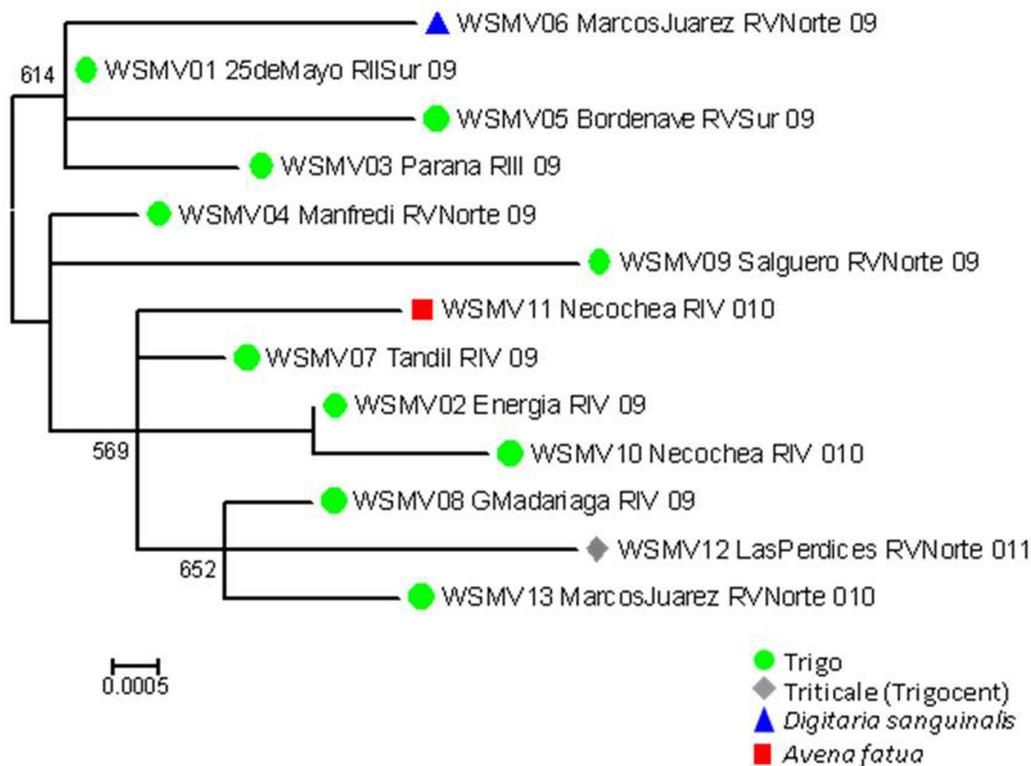
Se realizaron muestreos dirigidos en cultivos de trigo y hospedantes alternativos en la provincia de Buenos Aires, Entre Ríos y Córdoba durante el período 2009-2011. Se recolectaron plantas con síntomas de mosaico estriado característicos del WSMV. Se confirmó la infección viral en hojas de trigo mediante DAS-ELISA con antisueros específicos para WSMV (Agdia). Se realizó la extracción de RNA total de planta empleando un kit comercial Macherey-Nagel (MN). Se llevaron a cabo reacciones de RT-PCR para amplificar el genoma completo de WSMV. El producto de PCR de cada aislamiento se corrió en un gel de agarosa 1% y la banda obtenida de aproximadamente 9384 pb se purificó de gel de agarosa y secuenció mediante la tecnología 454/Roche GS FLX (INDEAR). Para los análisis filogenéticos se utilizó un fragmento de 1047 pb correspondiente a la cápside proteica (CP). Se utilizaron las 13 secuencias generadas en este estudio y 86 secuencias correspondientes a la CP de WSMV disponibles en GenBank. La secuencia de *Oat necrotic mottle virus* (ONMV) con número de acceso NC\_005136 fue utilizada como outgroup. Se alinearon las secuencias empleando Muscle. Se obtuvo un árbol en red y se realizó un test phi para examinar evidencia de recombinación utilizando el programa SplitsTree4. Se realizó el análisis filogenético con los algoritmos de Maximum Likelihood (ML) y Neighbor-Joining (NJ) empleando PhyML y MEGA 5.05 respectivamente. Para seleccionar el mejor modelo se empleó jModelTest. Se utilizó el modelo GTR + I + G para ML y Tamura-Nei para NJ. Del mismo modo, se realizaron los análisis filogenéticos utilizando solo las secuencias argentinas generadas en este trabajo. Los árboles fueron visualizados con FigTree v1.3.1 y MEGA 5.05.

## Resultados y Discusión

Se logró la amplificación del genoma completo de 13 aislamientos de WSMV provenientes de diferentes regiones trigueras argentinas. Los análisis filogenéticos se realizaron con las secuencias correspondientes a la CP del WSMV. No se observó conflictos en el árbol de red construido con el programa SplitsTree4 y el test phi ( $p = 0.1298$ ) demostró que no hay evidencia estadísticamente significativa de recombinación. Recientemente, se ha reportado 9 aislamientos de WSMV recombinantes en Estados Unidos (ROBINSON; MURRAY, 2013). En los árboles filogenéticos de ML, todos los aislamientos argentinos forman un grupo monofilético dentro del clado denominado D para este virus. Además, los aislamientos argentinos de WSMV comparten un ancestro común reciente con los aislamientos de Australia y con los aislamientos ID96 (Idaho), MON96 (Montana), WA99 y WA94 de Washington de la región del Pacífico noroeste de Estados Unidos (APNW). Ningún aislado argentino se agrupó con los aislados de Europa Central (Fig. 1). La topología general de los árboles filogenéticos inferidos por Maximum-Likelihood y Neighbor-Joining resultó similar. Los aislamientos de WSMV provenientes de trigo y recolectados de la de Región triguera IV y V Norte están más relacionados entre si que con los del grupo correspondientes a los aislamientos de la región II Sur, III y V Sur de la Argentina. No se observó que los aislamientos de WSMV se agruparan de acuerdo a su hospedante (Fig. 2).



**Figura 1.** Árbol filogenético Maximum-likelihood (ML) realizado con modelo GTR+I+G construido a partir de 99 secuencias correspondientes a la CP de WSMV. Solo se muestran los valores de bootstrap >500.



**Figura 2.** Árbol filogenético Maximum-likelihood (ML) realizado con modelo Tamura-Nei construido a partir de 13 secuencias correspondientes a la CP de aislamientos argentinos de WSMV. Solo se muestran los valores de bootstrap >500.

## Referencias

- CHOI, I. R.; HORKEN, K. M.; STENGER, D. C.; FRENCH, R. Mapping of the P1 proteinase cleavage site in the polyprotein of *Wheat streak mosaic virus* (genus Tritimovirus). **Journal of General Virology**, Cambridge, v. 83, n. 2, p. 443-550, 2002.
- CHOI, I. R.; STENGER, D. C.; MORRIS, T. J.; FRENCH, R. A plant virus vector for systemic expression of foreign genes in cereals. **The Plant Journal**, Oxford, v. 23, n. 4, p. 547-555, 2000.
- ROBINSON, M. D.; MURRAY, T. D. Genetic variation of *Wheat streak mosaic virus* in the United States Pacific Northwest. **Phytopathology**, St. Paul, v. 103, n. 1, p. 98-104, 2013.
- SALM, S. N.; REY, M. E. C.; RYBICKI, E. P. Phylogenetic justification for splitting the *Rymovirus* genus of the taxonomic family Potyviridae. **Archives of Virology**, New York, v. 141, n. 11, p. 2237-2242, 1996.
- SLYKHUIS, J. T. *Aceria tulipae* Keifer (Acarina, Eriophyidae) in relation to the spread of wheat streak mosaic. **Phytopathology**, St. Paul, v. 45, n. 3, p. 116-128, 1955.
- STENGER, D. C.; HALL, J. S.; CHOI, I. R.; FRENCH, R. Phylogenetic relationships within the family Potyviridae: *Wheat streak mosaic virus* and *Brome streak mosaic virus* are not members of the genus *Rymovirus*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 88, n. 8, p. 782-787, 1998.
- STENGER, D. C.; HEIN, G. L.; FRENCH, R. Nested deletion analysis of *Wheat streak mosaic virus* HC-Pro: mapping of domains affecting polyprotein processing and eriophyid mite transmission. **Virology**, New York, v. 350, n. 2, p. 465-474, 2006.

## Determinación de la diversidad de secuencias a nivel nuclear y mitocondrial de poblaciones de *Aceria tosichella* Keifer vectores de *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y *High plains virus* (HPV) en Argentina

Vanina Alemandri<sup>1</sup>, Graciela Truol<sup>1</sup>, Renata Santos de Mendonça<sup>2</sup> e Denise Navia<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Patología Vegetal - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (IPAVE-INTA). Camino 60 cuadras Km. 5 ½ (X5020ICA), Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>Laboratório de Quarentena Vegetal, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, final W5 Norte, Cx. Postal 02372, 70.770-917, Brasília, Brazil.

### Introducción

Los virus transmitidos por ácaros, *Wheat streak mosaic virus* (WSMV), *High Plains virus* (HPV) (también citado como *Wheat mosaic virus*, WMoV) y *Triticum mosaic virus* (TriMV) constituyen una importante limitación para la producción de trigo. El ácaro eriófito *Aceria tosichella* Keifer (Wheat Curl Mite = WCM) es el único vector conocido que transmite estos virus (SEIFERS et al., 1997; SLYKHUIS, 1955). Diferencias genéticas y ecológicas descritas en estudios previos soportan el concepto de que WCM es un complejo de especies (MILLER et al., 2013; SKORACKA et al., 2012). Los mismos estudios indicaron que los ácaros recolectados en trigo se dividen en dos linajes genéticos distintos. Estos resultados son consistentes con previos estudios genéticos conducidos en Australia y Estados Unidos (CAREW et al., 2009; SEIFERS et al., 2002). En Argentina se han caracterizado las primeras poblaciones de *A. tosichella* recolectadas desde trigo, indicando que están presentes los dos linajes descritos anteriormente (MILLER et al., 2013; SKORACKA et al., 2012). Entre las principales estrategias para el manejo de estas virosis se destaca la utilización de genotipos de trigo con resistencia genética al virus y al vector. Resulta fundamental conocer la variabilidad del ácaro vector en Argentina para el entendimiento de la epidemiología y ecología de los mismos, esenciales para el desarrollo de germoplasma de trigo con resistencia a WSMV y HPV. En este trabajo fue analizado un mayor número de muestras con el objetivo de investigar en más detalle la variabilidad de *A. tosichella* en Argentina.

### Materiales y Métodos

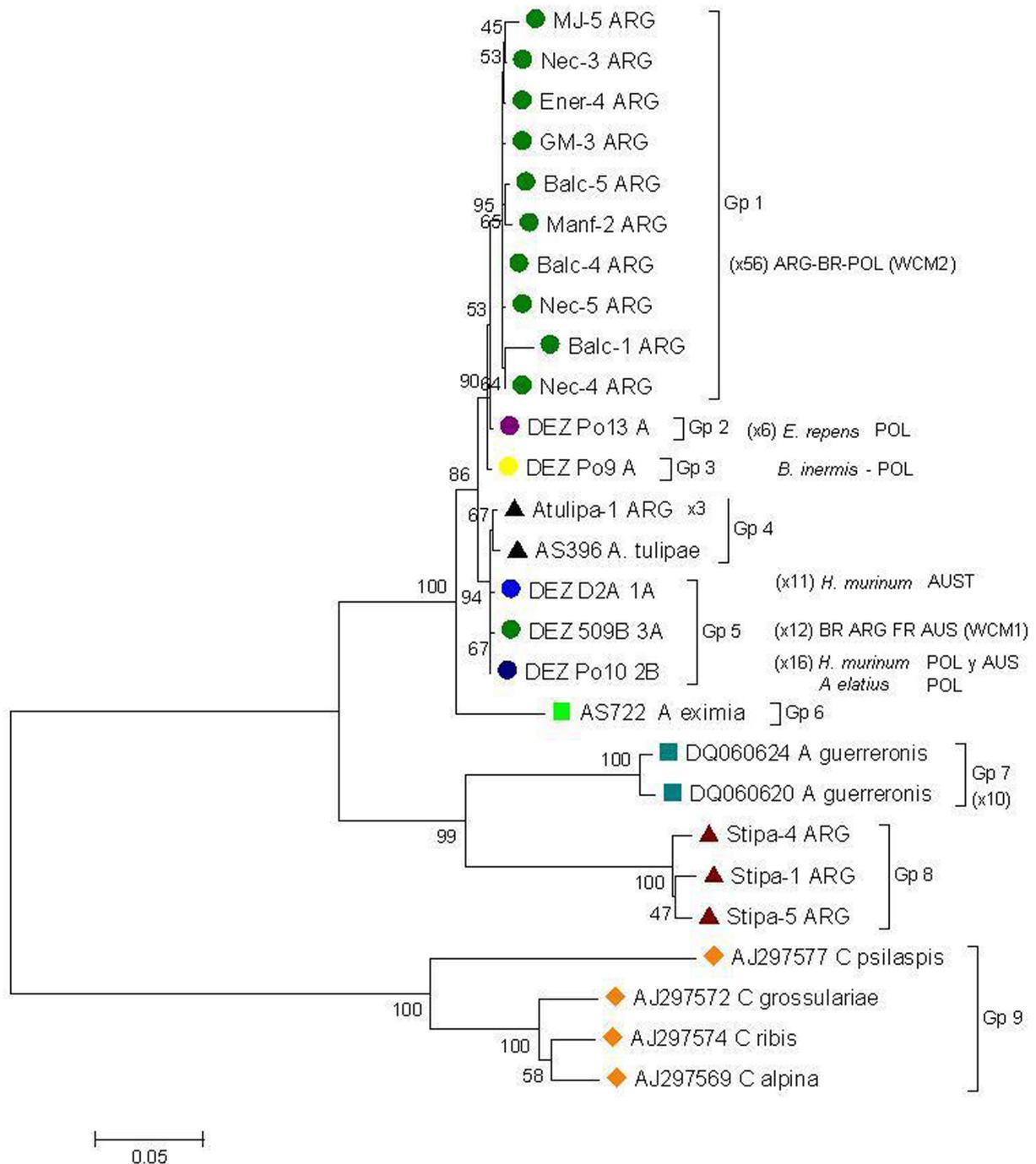
Se realizaron muestreos dirigidos en cultivos de trigo en seis localidades de la provincia de Buenos Aires (25 de Mayo, Energía, Bordenave, Tandil, General de Madariaga y Necochea), una en Entre Ríos (Paraná) y cuatro en Córdoba (Manfredi, Marcos Juárez, Salguero y Las Perdices) durante el período 2009 y 2010. Se recolectaron plantas con síntomas característicos de WSMV. Se establecieron poblaciones de ácaros, colocando hojas infectadas (confirmando la infección viral mediante DAS-ELISA con antisueros específicos para WSMV, Agdia Inc., USA), en macetas con plantas de trigo asintomáticas recién emergidas. Éstas fueron mantenidas en sala de cría bajo condiciones de  $25 \pm 3$  °C y fotoperíodo de 16 hs. de luz, hasta la aparición de síntomas que evidenciaron el establecimiento de la colonia (entre 8-15 días). Los adultos de *A. tosichella* fueron recogidos bajo lupa y preservados en etanol 100% para los análisis moleculares. Con el fin de corroborar una adecuada extracción de DNA y amplificación de las regiones estudiadas utilizando un solo ácaro por tubo, se realizó la extracción de DNA en forma individual y utilizando grupos de 10 y 25 ácaros por tubo. La extracción de DNA se realizó mediante el método de Chelex (CAREW et al., 2004). Para realizar la molienda de los ácaros se utilizaron tips modificados. Se realizó PCR con iniciadores específicos para amplificar dos regiones genómicas independientes, la 16S

de mtDNA y una región Internal Transcribed Spacer (ITS) de rDNA. La metodología empleada fue similar a la utilizada por Navia et al. (2005) en estudios realizados con *Aceria guerreronis* Keifer. La amplificación a través de PCR de la región ITS fue realizada utilizando primers localizados respectivamente en la extremidad 3' de 18rDNA y en la extremidad 5' de 28S. El fragmento 16S fue amplificado utilizando los primers LR-J 12887F y 16SWCMR. Tres reacciones de PCR fueron realizadas para cada muestra de DNA y los productos de estas reacciones fueron reunidos y purificados utilizándose el kit QIAquick PCR® (Qiagen). El producto fue secuenciado directamente. Para el análisis filogenético se utilizaron las secuencias generadas en este estudio y las correspondientes a ITS y 16S de poblaciones de *A. tosichella* de Australia, Polonia, Brasil y Argentina disponibles en GenBank. Las secuencias fueron alineadas utilizando el programa de alineamiento múltiple de secuencias ClustalW (THOMPSON et al., 1994) implementado en Bioedit ver. 7.0.4 (HALL, 1999). Se empleó DnaSP v5 para la determinación del número de haplotipos. El análisis filogenético de los haplotipos encontrados se realizó mediante la utilización del programa MEGA ver. 5, con el algoritmo de Neighbor Joining (NJ), empleando el modelo Maximum Composite Likelihood y Tamura-Nei para ITS y 16S respectivamente.

### **Resultados y Discusión**

Se corroboró una adecuada extracción de DNA y amplificación de la región ITS y 16S utilizando un solo ácaro por tubo, así como también con grupos de 10 y 25 ácaros. En todos los casos, se obtuvo la banda esperada de 987 pb y 400 pb para ITS y 16S respectivamente.

Se identificaron 27 haplotipos ITS entre las 134 secuencias ITS analizadas y 18 haplotipos 16S entre las 87 secuencias 16S analizadas. Los resultados preliminares del análisis filogenético indicaron que las poblaciones de *A. tosichella* de trigo de Argentina son muy similares entre sí, agrupándose en uno de los dos linajes descritos anteriormente en América del Sur. Asimismo, estas poblaciones resultaron en el mismo grupo que poblaciones de *A. tosichella* de trigo de Polonia, Brasil y Australia (Fig. 1). Se continuará este estudio empleando otros métodos de análisis filogenéticos e incorporando nuevas secuencias.



**Figura 1.** Árbol filogenético obtenido por análisis Neighbour-Joining (NJ) realizado con modelo Maximum Composite Likelihood.

## Referencias

CAREW, M. E.; GOODISMAN, M. A. D.; HOFFMANN, A. A. Species status and population genetic structure of grapevine eriophyoid mites. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 111, n. 2, p. 87-96, 2004.

CAREW, M. E.; SCHIFFER, M.; UMINA, P.; WEEKS, A.; HOFFMANN, A. Molecular markers indicate that the wheat curl mite, *Aceria tosichella* Keifer, may represent a species complex in Australia. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 99, n. 5, p. 479-486, 2009.

HALL, T. A. BIOEDIT: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, Oxford, v. 41, p. 95-98, 1999.

MILLER, A. D.; SKORACKA, A.; NAVIA, D.; SANTOS DE MENDONCA, R.; SZYDO, W.; SCHULTZ, M. B.; SMITH, C. M.; TRUOL, G.; HOFFMANN, A. A. Phylogenetic analyses reveal extensive cryptic speciation and host specialization in an economically important mite taxon. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Amsterdam, v. 66, n. 3, p. 928-940, 2013.

NAVIA, D.; MORAES, G. J. de; RODERICK, G.; NAVAJAS, M. The invasive coconut mite, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae): origin and invasion sources inferred from mitochondrial (16S) and nuclear (ITS) sequences. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 95, n. 6, p. 505-516, 2005.

SEIFERS, D. L.; HARVEY, T. L.; LOUIE, R.; GORDON, D. T.; MARTIN, T. J. Differential transmission of isolates of the *High Plains virus* by different sources of wheat curl mites. **Plant Disease**, Beltsville, v. 86, n. 6, p. 138-142, 2002.

SEIFERS, D. L.; HARVEY, T. L.; MARTIN, T. J.; JENSEN, S. G. Identification of the Wheat curl mite as the vector of the *High Plains virus* of corn and wheat. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 10, p. 1161-1166, 1997.

SKORACKA, A.; KUCZYNSKI, L.; SANTOS DE MENDONCA, R.; DABERT, M.; SZYDŁO, W.; KNIHINICKI, D.; TRUOL, G.; NAVIA, D. Cryptic species within the wheat curl mite *Aceria tosichella* (Keifer) (Acari: Eriophyoidea), revealed by mitochondrial, nuclear and morphometric data. **Invertebrate Systematics**, Collingwood, v. 26, n. 4, p. 417-433, 2012.

SLYKHUIS, J. T. *Aceria tulipae* Keifer (Acarina, Eriophyidae) in relation to the spread of wheat streak mosaic. **Phytopathology**, St. Paul, v. 45, n. 3, p. 116-128, 1955.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through weighting position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, London, v. 22, n. 22, p. 4673-4680, 1994.

## Endosimbiontes de *Aceria tosichella* Keifer e interacción vector-virus-planta

María Fernanda Mattio<sup>1</sup>, Vanina Alemandri<sup>1</sup> e Graciela Truol<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Patología Vegetal - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (IPAVE-INTA). Camino 60 cuadras Km. 5 ½ (X5020ICA), Córdoba, Argentina.

### Introducción

*Aceria tosichella* Keifer (Eriophyidae) es vector de *Wheat streak mosaic virus* (WSMV), *High Plains virus* (HPV) y *Triticum mosaic virus* (TriMV) (SEIFERS et al., 1997; SLYKHUIS, 1955). Estos virus están presentes en trigo de Argentina (TRUOL, 2009) y pueden ser transmitidos simultáneamente por el ácaro provocando infecciones mixtas. Los avances en biología molecular permitieron evidenciar diferentes linajes de *A. tosichella* (CAREW et al., 2009; SEIFERS et al., 2002). En Australia se detectaron dos linajes con diferencias en su capacidad para transmitir WSMV (CAREW et al., 2009, SCHIFFER et al., 2009). Los primeros estudios con *A. tosichella* de Argentina (SE de la provincia de Buenos Aires y de la provincia de Córdoba) agruparon a las poblaciones con integrantes de ambos linajes australianos (SKORACKA et al., 2012). En *Bemisia tabaci* Gennadius, vector de geminivirus en soja, se menciona algo similar. La diversidad de simbiontes bacterianos varía entre los grupos de mosca blanca e influye sobre la capacidad para transmitir virus y la resistencia a insecticidas entre otras características (XIE et al., 2012). Últimamente, los trabajos sobre microorganismos endosimbiontes han aumentado, sobre todo en lo relacionado al rol que cumplen en la transmisión de virus por insectos. Dichas investigaciones reflejan interacciones en las que las bacterias favorecen la transmisión de virus, como se demostró en moscas blancas y áfidos para geminivirus y luteovirus, respectivamente (HOGENHOUT et al., 1998; MORIN et al., 2000). También se mencionan relaciones en las que los simbiontes interfieren con la replicación del virus (TEIXEIRA et al., 2008; FRENTIU et al., 2010). Sin embargo, los estudios aplicados a ácaros vectores son escasos y la mayoría se refieren a grupos distintos a los eriófidos. La obtención de poblaciones aposimbióticas (sin simbiontes) de *Brevipalpus phoenisis* (Tenuipalpidae) permitió comenzar con la evaluación del rol que *Cardinium* desempeña en la transmisión de *Citrus leprosis virus* (CiLV) en Brasil (NOVELLI et al., 2008). *Cardinium* y *Wolbachia*, son bacterias endosimbiontes ampliamente distribuidas entre los artrópodos y causan alteraciones reproductivas en sus hospedantes que pueden ser consideradas para el desarrollo de herramientas de control biológico de artrópodos vectores. En este contexto, desde el 2005, nuestro grupo de trabajo se ha dedicado al estudio de las interacciones que se establecen entre deléfidos vectores de fijivirus y *Wolbachia*. Dicho estudio informó sobre la disminución de la eficiencia de transmisión de un virus fitopatógeno que afecta al maíz, cuando los insectos vectores fueron tratados con antibiótico (MATTIO, 2011).

En la actualidad, se incluyen cultivares de trigo resistentes en los programas de manejo de WSMV, HPV y TriMV, debido a que no se recomienda la aplicación de productos. Dado que *A. tosichella* puede transmitir estos patógenos simultáneamente, constituye un modelo interesante para estudiar las interacciones que se establecen entre virus, su vector y la planta hospedante, e identificar posibles vías de acción para controlar las enfermedades que estos virus provocan en los cultivos de trigo. El presente trabajo planteó como objetivos conocer las bacterias

endosimbiontes de poblaciones argentinas de *A. tosichella* y evaluar su rol en la transmisión de virus fitopatógenos.

## **Materiales y Métodos**

Inicio de población de *A. tosichella* libre de virus. Se tomaron hojas con síntomas de la presencia de ácaros de una población proveniente de la provincia de Buenos Aires. Debido a la ausencia de transmisión transovárica de los virus transmitidos por *A. tosichella*, se tomaron aproximadamente 15 huevos bajo lupa estereoscópica y se colocaron sobre una plántula de trigo cv BioINTA 3005. La elección de este cultivar se debió a que se observó una buena respuesta de los ácaros y un rápido establecimiento de la colonia, evidenciando rápidamente un enrollamiento de sus hojas. Esa primera plántula de trigo, en estado de desarrollo de 2 hojas expandidas, fue acondicionada dentro de una caja de Petri durante 3 o 4 días. Luego fue transplantada a un pote plástico transparente que contenía 10 plántulas más, para permitir la multiplicación de los adultos. Las plantas se cambiaron cada 10 días. Se mantuvieron las plantas en condiciones controladas de luz y temperatura (16 h de luz, 22 ±3 °C) cubiertas por tela voile, para evitar el ingreso de insectos contaminantes.

Detección de bacterias en *A. tosichella* mediante PCR. Se trabajó con cinco poblaciones de ácaros provenientes de diferentes regiones del área triguera argentina. Se tomaron grupos de 10 adultos de cada población y se colocaron en microtubos de 0,5 ml. Se realizó la extracción de los ácidos nucleicos empleando proteinasa K y resina Chelex 5% (CAREW et al., 2004). Se utilizaron cebadores para el gen 16 S ribosomal de Eubacterias (O'NEILL et al., 1992) para evidenciar la presencia de bacterias. Además, se evaluó la presencia de *Cardinium* mediante la amplificación con cebadores específicos (NAKAMURA et al., 2009).

## **Resultados y Discusión**

Se obtuvieron adultos de *A. tosichella* a partir de huevos provenientes de plantas de trigo que presentaban síntomas de virosis y cuya presencia se demostró por serología. Una vez que se consiguió la emergencia de adultos, se evidenció un rápido establecimiento de la colonia sobre el cultivar BioINTA 3005. Se visualizó el síntoma característico de hojas acartuchadas con gran cantidad de ejemplares adultos y huevos en su interior. Hasta el momento se cuenta con 14 generaciones. Porciones de hojas de estas plantas se conservaron a -20 °C para ser analizados posteriormente por serología y PCR para corroborar la ausencia de HPV, TriMV y WSMV.

Dos de las cinco poblaciones de ácaros provenientes de distintas regiones trigueras de Argentina analizadas mediante PCR resultaron positivas para el gen ribosomal de Eubacterias, amplificando un fragmento de 1150 pb que coincidió con el tamaño esperado. Sin embargo, ninguna de las muestras analizadas amplificó el gen 16 S específico de *Cardinium*. Actualmente se continúan los trabajos orientados a la búsqueda de bacterias simbiotes mediante la amplificación del gen 16 S ribosomal de Eubacterias, clonación de los productos obtenidos y posterior secuenciación.

## Referencias

- CAREW, M. E.; GOODISMAN, M. A. D.; HOFFMANN, A. A. Species status and population genetic structure of grapevine eriophyoid mites. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 111, n. 2, p. 87-96, 2004.
- CAREW, M.; SCHIFFER, M.; UMINA, P.; WEEKS, A.; HOFFMANN, A. Molecular markers indicate that the wheat curl mite, *Aceria tosichella* Keifer, may represent a species complex in Australia. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 99, n. 5, p. 479-486, 2009.
- FRENTIU, F. D.; ROBINSON, J.; YOUNG, P. R.; MCGRAW, E. A.; O'NEILL, S. L. *Wolbachia*-Mediated resistance to Dengue virus infection and death at the cellular level. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 5, n. 10, p. e13398, 2010.
- HOGENHOUT, S. A.; VAN DER WILK, F.; VERBEEK, M.; GOLDBACH, R. W.; VAN DEN HEUVEL, J. F. *Potato leafroll virus* binds to the equatorial domain of the aphid endosymbiotic GroEL homolog. **Journal of Virology**, Washington, v. 72, n. 1, p. 358-365, 1998.
- MATTIO, M. F. *Mal de Río Cuarto virus* (MRCV): Identificación de delfácidos vectores en áreas no endémicas y estudio del rol de los endosimbiontes en la transmisión experimental. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba, 2011. 203 p.
- MORIN, S.; GHANIM, M.; SOBOL, I.; CZOSNEK, H. The GroEL protein of the whitefly *Bemisia tabaci* is implicated in the circulative transmission of *Tomato yellow leaf curl virus*. **Virology**, New York, v. 256, n. 1, p. 75-84, 2000.
- NAKAMURA, Y.; KAWAI, S.; YUKUHIRO, F.; ITO, S.; GOTOH, T.; KISIMOTO, R.; YANASE, T.; MATSUMOTO, Y.; KAGEYAMA, D.; NODA, H. Prevalence of *Cardinium* bacteria in planthoppers and spider mites and taxonomic revision of "Candidatus *Cardinium hertigi*" based on detection of a new *Cardinium* group from biting midges. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 75, n. 21, p. 6757-6763, 2009.
- NOVELLI, V. M.; FREITAS-ASTÚA, J.; SEGATTI, N.; MINEIRO, J. L. C.; ARTHUR, V.; BASTIANEL, M.; HILF, M. E.; GOTTWALD, T. R.; MACHADO, M. A. Effects of radiation (Cobalt-60) on the elimination of *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) *Cardinium* endosymbiont. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 45, n. 3/4, p. 147-153, 2008.
- O'NEILL, S.; GIORDANO, R.; COLBERT, A. M. E.; KARR, T. L.; ROBERTSON, H. M. 1992. 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States**, Washington, DC, v. 89, n. 7, p. 2699-2702, 1992.
- SCHIFFER, M.; UMINA, P.; CAREW, M.; HOFFMANN, A.; RODONI, B.; MILLER, A. The distribution of wheat curl mite (*Aceria tosichella*) lineages in Australia and their potential to transmit *Wheat streak mosaic virus*. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 155, n. 3, p. 371-379, 2009.
- SEIFERS, D. L.; HARVEY, T. L.; LOUIE, R.; GORDON, D. T.; MARTIN, T. J. Differential transmission of isolates of the *High Plains virus* by different sources of wheat curl mites. **Plant Disease**, St. Paul, v. 86, n. 3, p. 138-142, 2002.

SEIFERS, D. L.; HARVEY, T. L.; MARTIN, T. J.; JENSEN, S. G. Identification of the Wheat curl mite as the vector of the *High Plains virus* of corn and wheat. *Plant Disease*, St. Paul, v. 81, n. 10, p. 1161-1166, 1997.

SKORACKA, A.; KUCZYNSKI, L.; SANTOS DE MENDONCA, R.; DABERT, M.; SZYDŁO, W.; KNIHINICKI, D.; TRUOL, G.; NAVIA, D. Cryptic species within the wheat curl mite *Aceria tosichella* (Keifer) (Acari: Eriophyoidea), revealed by mitochondrial, nuclear and morphometric data. **Invertebrate Systematics**, Collingwood, v. 26, n. 4, p. 417-433, 2012.

SLYKHUIS, J. T. *Aceria tulipae* Keifer (Acarina, Eriophyidae) in relation to the spread of wheat streak mosaic. **Phytopathology**, St. Paul, v. 45, n. 3, p. 116-128, 1955.

TEIXEIRA, L.; FERREIRA, A.; ASHBURNER, M. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster*. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 6, n. 12, p. e1000002, 2008.

TRUOL, G. **Enfermedades virales asociadas al cultivo de trigo en Argentina**: reconocimiento, importancia, formas de transmisión y manejo. [S. l.]: Ed. Autor, 2009. 77 p.

XIE, W.; MENG, Q-S.; WU, Q-J.; WANG, S-L.; YANG, X.; YANG, N-N.; LI, R-M.; JIAO, X.; PAN, H-P.; LIU, B-M.; SU, Q.; XU, B-Y.; HU, S-N.; ZHOU, X-G.; ZHANG, Y-J. Pyrosequencing the *Bemisia tabaci* transcriptome reveals a highly diverse bacterial community and a robust system for insecticide resistance. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 7, n. 4, p. e35181, 2012.

## O patossistema *Aceria tosichella* e vírus transmitidos no Brasil

Douglas Lau<sup>1</sup>, Paulo Roberto Valle da Silva Pereira<sup>1</sup>, Denise Navia Magalhães Ferreira<sup>2</sup>, Jurema Schons<sup>3</sup>, Talita Bernardon Mar<sup>3</sup>, Márcio Martinello Sanches<sup>2</sup> e Norton Polo Benito<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Trigo, BR 285, km 294, CEP 99001-970, Passo Fundo- RS, Brasil. <sup>2</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, final W5 Norte, Cx. Postal 02372, 70.770-917, Brasília, Brasil. <sup>3</sup>Universidade de Passo Fundo, BR 285, São José, CEP: 99052-900, Passo Fundo-RS, Brasil.

O ácaro do enrolamento do trigo, *Aceria tosichella*, Keifer (Prostigmata: Eriophyidae) e as espécies de vírus transmitidas constituem um complexo que afeta o cultivo de cereais em várias partes do mundo. O principal dano do ácaro decorre da sua habilidade de transmitir diferentes espécies de vírus, sendo as mais importantes *Wheat streak mosaic virus* (WSMV - Potyviridae, Tritimovirus), *High plains virus* (HPV - provavelmente um grupo de vírus emergente com algumas características de tenuivirus e tospovirus) e a mais recentemente detectada *Triticum mosaic virus* (TriMV - Potyviridae, com dois gêneros novos propostos Susmovirus ou Poacevirus). Embora o complexo represente uma preocupação para agricultores e pesquisadores a pelo menos seis décadas, ele continua a representar um desafio. Nas áreas com maior histórico, como por exemplo, a América do Norte, nos anos 1990 houve um agravamento do impacto econômico causado pelo complexo com possível ressurgência de HPV. Soma-se a isto a detecção de novas espécies de vírus como TriMV, que provoca sintomas similares a WSMV e foi detectado por ser capaz de infectar plantas de trigo cv RonL resistente a WSMV. Na região das Grandes Planícies, WSMV é responsável por reduções da produtividade médias anuais de cerca de 5% com perda completa em áreas localizadas. Na Austrália e América do Sul, onde este complexo foi detectado na última década ele representa um novo desafio a produção de cereais. As dificuldades encontradas no manejo decorrem da complexidade deste patossistema sendo que tanto cuidados culturais como a resistência genética necessários para minimizar as perdas. Nas próximas páginas estão relatados avanços no conhecimento deste patossistema com base em estudos empreendidos desde 2006, em um esforço do qual vem participando uma equipe multidisciplinar de pesquisadores (virologistas, acarologistas e melhoristas) brasileiros (Embrapa Trigo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e Universidade de Passo Fundo) e Argentinos (INTA IPAVE, Estação Experimental Agrícola de Marcos Juarez e Estação Experimental Agrícola de Balcarce). O monitoramento a campo realizado desde 2006 indica que o complexo está em expansão na América do Sul. O número de localidades com ocorrência de *A. tosichella* e o número de hospedeiros ampliaram, sendo que além do norte e noroeste do Rio Grande do Sul, há detecção positiva também no oeste de Santa Catarina e Centro-Sul do Paraná. Pelo menos duas linhagens de *A. tosichella* estão presentes no Brasil e Argentina e há outras espécies de *Aceria* em trigo, cuja correta identificação é necessária para permitir futuros estudos de seu impacto epidemiológico. Em 2006, o único vírus descrito na América do Sul era o WSMV, sendo posteriormente relatado o HPV e mais recentemente há indícios de TriMV (ambos na Argentina). No Brasil, o WSMV foi detectado e a população viral assemelha-se a Argentina, o que sugere a introdução a partir de uma fonte comum ou migração do vírus entre estes países. No sul do Brasil permanece o desafio da correta diagnose pois várias espécies de vírus (Furovirus, Bymovirus entre outros) transmitidos por plasmodioforomicetos presentes no solo também causam mosaico. O nível de resistência dos genótipos atualmente empregados

nas áreas com ocorrência de *A. tosichella* vem sendo caracterizado revelando que as cultivares brasileiras são suscetíveis. Assim, se considerado apenas o fator hospedeiro, o nível de dano potencial por este complexo no Brasil é alto. Também foram conduzidos estudos de análise de risco, considerando fatores ambientais. Por último, continua sendo crítica a capacidade de detecção do vírus em estações quarentenárias. A taxa de transmissão de WSMV e HPV através de sementes é baixa e isso dificulta a detecção dos mesmos em lotes de sementes importadas. O Serviço de Quarentena do Cenargen recebe grande escala de amostras de trigo de alto risco por serem oriundas de países como Argentina e México onde o patossistema está plenamente estabelecido. É necessário validar métodos de detecção dos vírus em pontos de entrada no país para fortalecer o sistema de defesa agropecuária.

A série de trabalhos a seguir relata o monitoramento do complexo *Aceria tosichella* - vírus transmitidos sob os aspectos de distribuição espacial, população hospedeira, análise da variabilidade do vetor e do vírus e segurança fitossanitária para o Brasil. Visando o enfrentamento deste complexo, descreve-se ferramentas de diagnose e detecção aplicáveis a serviços quarentenários e a avaliação da reação de genótipos de trigo ao complexo de forma a caracterizar os cultivares de trigo com potencial para uso no manejo do complexo *Aceria*/víroses associadas.

## Mapeamento da distribuição geográfica do ácaro-do-enrolamento-do-trigo *Aceria tosichella* Keifer (Prostigmata: Eriophyidae) no Brasil

Paulo Roberto Valle da Silva Pereira<sup>1</sup>, Douglas Lau<sup>1</sup> e Denise Navia<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Trigo, BR 285, km 294, CEP 99001-970, Passo Fundo- RS, Brasil. <sup>2</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, final W5 Norte, Cx. Postal 02372, 70.770-917, Brasília, Brasil.

### Introdução

*Aceria tosichella* Keifer, comumente conhecido como ácaro-do-enrolamento-do-trigo, ocorre principalmente em trigo, mas populações podem se desenvolver em sorgo, cevada, milho, aveia, centeio e milheto, além de um grande número de gramíneas (Poaceae) de menor importância econômica. Este ácaro está disperso nas principais regiões produtoras de trigo ao redor do mundo: América do Norte, Europa, Ásia, Oriente Médio e Oceania (NAVIA et al., 2013). No Brasil, *A. tosichella* foi detectado pela primeira vez em 2006, em quatro municípios da região noroeste do estado do Rio Grande do Sul, tendo trigo como hospedeiro (PEREIRA et al., 2009). Desde então, levantamentos anuais em lavouras vem sendo conduzidos para monitorar a distribuição geográfica de *A. tosichella* nas regiões tritícolas do Sul do Brasil. O presente trabalho apresenta resultados de levantamentos realizados entre os anos de 2009 a 2012.

### Material e Métodos

Os levantamentos foram conduzidos nos estados do Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC), Paraná (PR) e Mato Grosso do Sul (MS) durante os anos 2009 a 2011 e em 2012, com exceção do MS, em pontos georreferenciados de 174 municípios com aptidão tritícola, sendo coletadas amostras de trigo, aveia, cevada, triticales, milho e azevém, bem como de outras espécies de Poaceae presentes nas cercanias de áreas cultivadas. Neste período foram coletadas 1175 amostras, compreendendo 30 espécies pertencentes a 23 gêneros de Poaceae (Tabela 1).

As amostras de gramíneas coletadas foram compostas por colmos aleatoriamente colhidos em uma área de 100 x 5 m ao longo da borda das lavouras. Para a extração dos ácaros, as amostras foram lavadas em uma solução de água + detergente (1%) seguida por peneiramento. Este método consiste na submersão das folhas em uma solução detergente, agitação para promover a liberação dos ácaros presentes e peneiramento da solução em uma bateria de peneiras com aberturas de 0,710 mm (24 mesh) e 0,038 mm (400 mesh), nesta ordem. O material retido pela peneira de 400 mesh foi coletado e armazenado em frascos plásticos, devidamente identificados, contendo álcool 70%. As amostras foram examinadas sob microscópio estereoscópico (aumento de 40 vezes) e quando da detecção de ácaros eriofídeos, estes foram montados em preparações microscópicas permanentes, usando o meio de Berlese modificado, para posterior identificação taxonômica.

**Tabela 1.** Lista das espécies de Poaceae amostradas para monitoramento do ácaro-do-enrolamento-do-trigo *Aceria tosichella* (Keifer). Brasil, 2009-2012.

Espécie		Espécie	
1.	<i>Andropogon bicornis</i> Capim rabo-de-burro	12.	<i>Eragrostis plana</i> Capim anone
2.	<i>Aristida longiseta</i> Capim barba-de-bode	13.	<i>Hordeum vulgare</i> Cevada
3.	<i>Avena sativa</i> Aveia branca	14.	<i>Lolium multiflorum</i> Azevém
	<i>A. strigosa</i> Aveia preta	15.	<i>Paspalum notatum</i> Grama forquilha
4.	<i>Axonopus compressus</i> Grama missioneira	16.	<i>Pennisetum americanum</i> Pasto italiano
5.	<i>Brachiaria decumbens</i> Capim braquiária		<i>P. clandestinum</i> Capim quicuio
	<i>B. plantaginea</i> Papuã		<i>P. purpureum</i> Capim elefante
6.	<i>Bromus catharticus</i> Cevadilha	17.	<i>Rhynchelytrum repens</i> Capim favorito
7.	<i>Cenchrus echinatus</i> Capim carrapicho	18.	<i>Secale cereale</i> Centeio
8.	<i>Chloris barbata</i>	19.	<i>Setaria geniculata</i> Capim rabo-de-raposa
	<i>C. polydactyla</i>	20.	<i>Sorghum bicolor</i> Sorgo
9.	<i>Cynodon dactylus</i> Grama seda		<i>S. halepense</i> Capim massambará
10.	<i>Digitaria horizontalis</i> Milhã	21.	<i>Triticum aestivum</i> Trigo
	<i>D. insularis</i> Capim amargoso	22.	X <i>Triticosecale</i> Wittmack Triticale
11.	<i>Eleusine indica</i> Capim pé-de-galinha	23.	<i>Zea mays</i> Milho

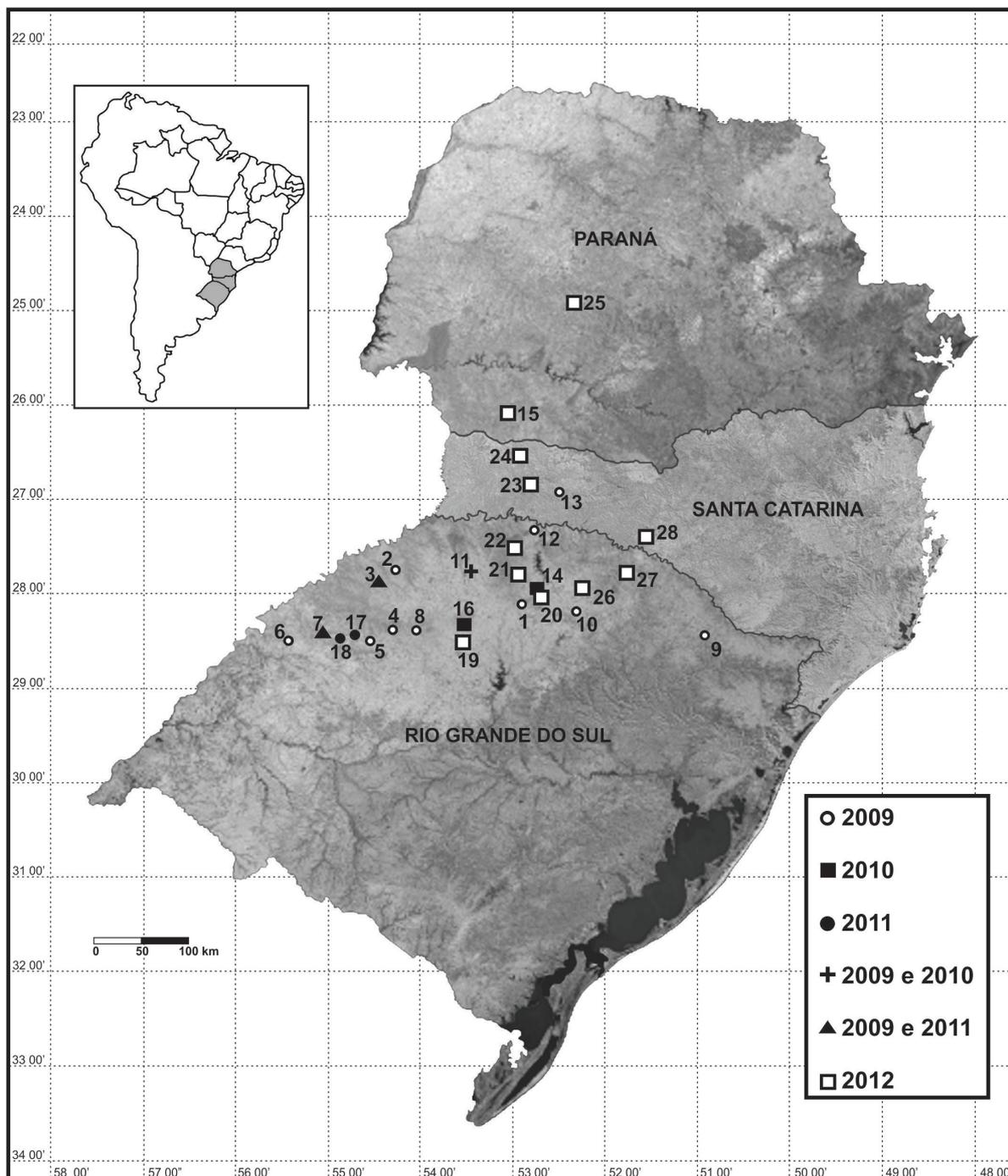
## Resultados

Desde a detecção de *A. tosichella* no Rio Grande do Sul em 2006, houve ampliação da sua distribuição no Brasil, com novos registros de ocorrência para o RS, e expansão para Santa Catarina (Xaxim, Quilombo, Novo Horizonte e Zortéa) e Paraná (Francisco Beltrão e Palmital) (Figura 1). De forma geral, observa-se a detecção de amostras positivas nos meses com temperaturas mais altas, sendo a maioria em trigo e azevém (Tabela 2). Devido a gama de hospedeiros deste ácaro ser ampla, estes podem agir como “pontes verdes espaço-temporais”, facilitando o processo de disseminação natural e contribuindo de forma importante não só para infestações de *A. tosichella* na cultura do trigo, como também para a sua dispersão para novas áreas.

Embora a distribuição de *A. tosichella* no Brasil tenha ampliado desde a sua detecção em 2006, bem como aumentado o número de hospedeiros, até o momento as populações encontradas nas amostras positivas são pequenas, não sendo observados a campo danos ocasionados pelo ácaro.

**Tabela 2.** Lista de localidades e espécies de Poaceae em que o ácaro-do-enrolamento-do-trigo *Aceria tosichella* (Keifer) foi detectado. Brasil, 2009-2012.

<b>Localidade</b>	<b>Estado</b>	<b>Data</b>	<b>Hospedeiro</b>
Almirante Tamandaré do Sul	RS	19/3/09	<i>Digitaria horizontalis</i>
Três de Maio	RS	19/3/09	<i>Digitaria horizontalis</i>
Santa Rosa	RS	19/3/09	<i>Triticum aestivum</i>
Santa Rosa	RS	19/3/09	<i>Digitaria insularis</i>
Santo Angelo	RS	19/3/09	<i>Chloris polydactyla</i>
Santo Angelo	RS	19/3/09	<i>Pennisetum americanum</i>
São Miguel das Missões	RS	20/3/09	<i>Brachiaria plantaginea</i>
São Miguel das Missões	RS	20/3/09	<i>Avena sativa</i>
Santo Antonio das Missões	RS	20/3/09	<i>Brachiaria plantaginea</i>
Santo Antonio das Missões	RS	20/3/09	<i>Digitaria insularis</i>
São Luiz Gonzaga	RS	20/3/09	<i>Andropogon bicornis</i>
Ijuí	RS	20/3/09	<i>Sorghum halepense</i>
Vacaria	RS	23/4/09	<i>Lolium multiflorum</i>
Coxilha	RS	27/4/09	<i>Triticum aestivum</i>
Almirante Tamandaré do Sul	RS	20/7/09	<i>Lolium multiflorum</i>
Palmeira das Missões	RS	20/7/09	<i>Lolium multiflorum</i>
Nonoai	RS	25/8/09	<i>Triticum aestivum</i>
Xaxim	SC	25/8/09	<i>Lolium multiflorum</i>
Pontão	RS	27/4/10	<i>Brachiaria decumbens</i>
Francisco Beltrão	PR	28/4/10	<i>Eleusine indica</i>
Palmeira das Missões	RS	5/10/10	<i>Triticum aestivum</i>
Panambi	RS	7/10/10	<i>Lolium multiflorum</i>
Panambi	RS	7/10/10	<i>Triticum aestivum</i>
Santa Rosa	RS	14/9/11	<i>Triticum aestivum</i>
São Miguel das Missões	RS	15/9/11	<i>Triticum aestivum</i>
São Luiz Gonzaga	RS	15/9/11	<i>Triticum aestivum</i>
São Luiz Gonzaga	RS	15/9/11	<i>Triticum aestivum</i>
Panambi	RS	18/7/12	<i>Triticum aestivum</i>
Pontão	RS	27/8/12	<i>Triticum aestivum</i>
Ronda Alta	RS	27/8/12	<i>Triticum aestivum</i>
Trindade do sul	RS	27/8/12	<i>Triticum aestivum</i>
Quilombo	SC	27/8/12	<i>Triticum aestivum</i>
Novo Horizonte	SC	27/8/12	<i>Triticum aestivum</i>
Palmital	PR	28/8/12	<i>Triticum aestivum</i>
Getúlio Vargas	RS	25/9/12	<i>Triticum aestivum</i>
Cacique Doble	RS	25/9/12	<i>Triticum aestivum</i>
Zortéa	SC	25/9/12	<i>Triticum aestivum</i>



**Figura 1.** Distribuição geográfica do ácaro-do-enrolamento-do-trigo *Aceria tosichella* Keifer (Prostigmata: Eriophyidae) no Brasil. Período 2009-2012.

## Referências

NAVIA, D.; MENDONÇA, R. S.; SKORACKA, A.; SZYDŁO, W.; KNIHINICKI, D.; HEIN, G. L.; PEREIRA, P. R. V. S.; TRUOL, G.; LAU, D. Wheat curl mite, *Aceria tosichella*, and transmitted viruses: an expanding pest complex affecting cereal crops. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 59, n. 1/2, p. 95-143, 2013.

PEREIRA, P. R. V. S.; NAVIA, D.; SALVADORI, J. R.; LAU, D. Occurrence of *Aceria tosichella* in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, n. 5, p. 539-542, 2009.

## Parâmetros de infestação do ácaro-do-enrolamento-do-trigo *Aceria tosichella* Keifer (Prostigmata: Eriophyidae) em gramíneas hospedeiras

Paulo Roberto Valle da Silva Pereira<sup>1</sup>, Douglas Lau<sup>1</sup> e Denise Navia<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Trigo, BR 285, km 294, CEP 99001-970, Passo Fundo- RS, Brasil. <sup>2</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, final W5 Norte, Cx. Postal 02372, 70.770-917, Brasília, Brasil.

### Introdução

*Aceria tosichella* Keifer, comumente conhecido como ácaro-do-enrolamento-do-trigo, ocorre principalmente em trigo, mas populações podem se desenvolver em sorgo, cevada, milho, aveia, centeio e milheto, além de um grande número de gramíneas (Poaceae) de menor importância econômica. Este ácaro está disperso nas principais regiões produtoras de trigo ao redor do mundo: América do Norte, Europa, Ásia, Oriente Médio e Oceania (NAVIA et al., 2013). O ciclo evolutivo de *A. tosichella* compreende os estágios de ovo, larva ninfa e adulto, que em condições favoráveis se completa entre 8 e 10 dias (NAVIA et al., 2013). Segundo Jeppson et al. (1975), todos os estágios de *A. tosichella* podem ser encontrados nas plantas hospedeiras durante o inverno. Condições de temperaturas amenas (24° a 27 °C) e de alta umidade parecem ser ideais para o ótimo desenvolvimento deste ácaro (COUTTS et al., 2008; SCHIFFER et al., 2009; SOMSEN; SILL, 1970).

Como a gama de hospedeiros de *A. tosichella* compreende em sua maioria gramíneas anuais, seu ciclo no campo é afetado pelo padrão de desenvolvimento de seus hospedeiros e a dispersão de hospedeiro para hospedeiro é necessária para sobreviver ao longo do ano (NAVIA et al., 2013). Na América do Norte, as populações de *A. tosichella* que se estabelecem em trigo no outono, sobrevivem ao inverno e apresentam pico populacional na primavera e início do verão, podendo também colonizar o trigo plantado na primavera causando danos principalmente pela transmissão de viroses (GILLESPIE et al., 1997). No verão, o milho é um dos hospedeiros que podem servir de ponte verde para as culturas de inverno (NAULT; STYER, 1969).

As formas de dispersão comumente associadas ao ácaro-do-enrolamento-do-trigo são o caminhamento e a dispersão pelo vento, devido ao seu pequeno tamanho e a presença do lobo caudal, que possibilita ao ácaro permanecer ereto aguardando correntes de vento (LINDQUIST; OLDFIELD, 1996; NAULT; STYER, 1969). Após a chegada em um hospedeiro, o ácaro se estabelece nas partes mais protegidas da planta, o que evita a ação de predadores e reduz a desidratação e o desalojamento (chuva e vento) (NAVIA et al., 2013). Segundo Gillespie et al. (1997), para as condições dos EUA, em trigo as populações começam a aumentar assim que ocorre a emergência da espiga, chegando ao ápice quando a cultura se aproxima da maturação, aumentando, desta maneira, a probabilidade de sucesso da dispersão do ácaro para outros locais.

Nas condições brasileiras este ácaro está distribuído em regiões dos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, entretanto não se conhece o efeito dos fatores relacionados com sua dispersão, desenvolvimento populacional e relações com hospedeiros em condições de campo. Este trabalho apresenta resultados de levantamento realizado durante o ano de 2012, em condições de campo, para monitorar os parâmetros de infestação de *A. tosichella* ao longo do ano, em local onde sua presença foi detectada.

## Material e Métodos

O levantamento foi conduzido em uma área de aproximadamente 2 ha no município de Coxilha, RS (Lat.: - 28° 11' 15,74685"; Long.: - 52° 19' 28,28488"), composta por plantios de aveia, trigo, triticale, centeio, milho e sorgo além de poáceas invasoras, principalmente azevém, papuã e milhã. Ao longo do ano foram realizadas 25 coletas quinzenais, de 17/jan a 19/dez/2012, sendo retiradas 40 amostras por data de coleta, resultando em um total de 998 amostras georreferenciadas, compreendendo 20 espécies pertencentes a 18 gêneros de Poaceae (Tabela 1).

**Tabela 1.** Lista das espécies de Poaceae amostradas para monitoramento de parâmetros de infestação do ácaro-do-enrolamento-do-trigo *Aceria tosichella* (Keifer), Coxilha, RS, Brasil, 2012.

Espécie		Espécie	
1.	<i>Avena sativa</i> Aveia branca	9.	<i>Eragrostis plana</i> Capim anone
	<i>A. strigosa</i> Aveia preta	10.	<i>Hordeum vulgare</i> Cevada
2.	<i>Axonopus</i> sp. Capim mimoso	11.	<i>Lolium multiflorum</i> Azevém
3.	<i>Brachiaria decumbens</i> Capim braquiária	12.	<i>Paspalum notatum</i> Grama forquilha
	<i>B. plantaginea</i> Papuã	13.	<i>Secale cereale</i> Centeio
4.	<i>Bromus catharticus</i> Cevadilha	14.	<i>Setaria geniculata</i> Capim rabo-de-raposa
5.	<i>Digitaria horizontalis</i> Milhã	15.	<i>Sorghum bicolor</i> Sorgo
6.	<i>D. insularis</i> Capim amargoso	16.	<i>Triticum aestivum</i> Trigo
7.	<i>Eleusine indica</i> Capim pé-de-galinha	17.	X <i>Triticosecale</i> Wittmack Triticale
8.	<i>Eustachys distichophyla</i>	18.	<i>Zea mays</i> Milho

As amostras de gramíneas coletadas foram compostas por colmos aleatoriamente colhidos. Para a extração dos ácaros, as amostras foram lavadas em uma solução de água + detergente (1%) seguida por peneiramento. Este método consiste na submersão das folhas em uma solução detergente, agitação para promover a liberação dos ácaros presentes e peneiramento da solução em uma bateria de peneiras com aberturas de 0,710 mm (24 mesh) e 0,038 mm (400 mesh), nesta ordem. O material retido pela peneira de 400 mesh foi coletado e armazenado em frascos plásticos, devidamente identificados, contendo álcool 70%. As amostras foram examinadas sob microscópio estereoscópico (aumento de 40 vezes) e quando da detecção de ácaros eriofídeos, estes foram montados em preparações microscópicas permanentes, usando o meio de Berlese modificado, para posterior identificação taxonômica.

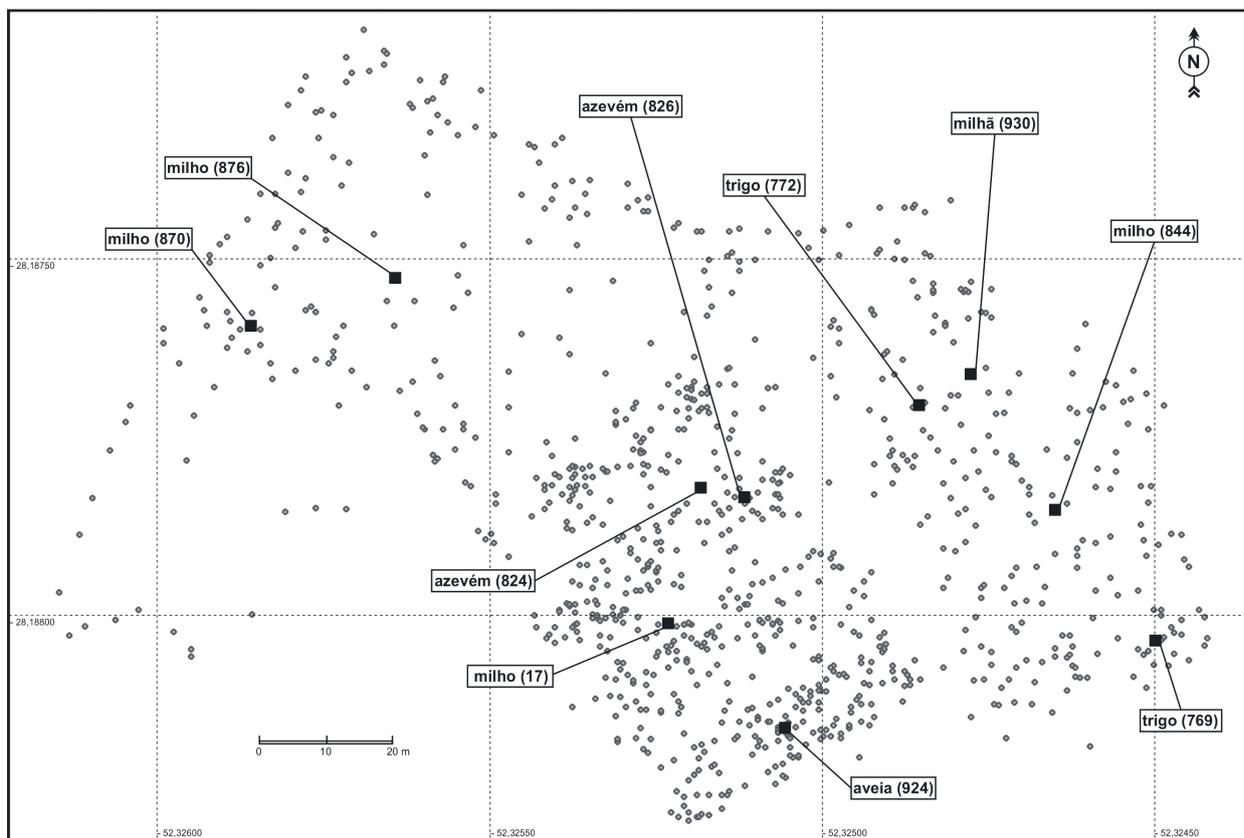
## Resultados

Durante o período de monitoramento (jan. a dez. 2012) foram detectadas 10 amostras com a presença de *A. tosichella*: milho (4), azevém (2), trigo (2), aveia preta (1) e milhã (1). O número de indivíduos encontrados foi baixo, máximo de 11 indivíduos por amostra (Tabela 2 e Figura 1).

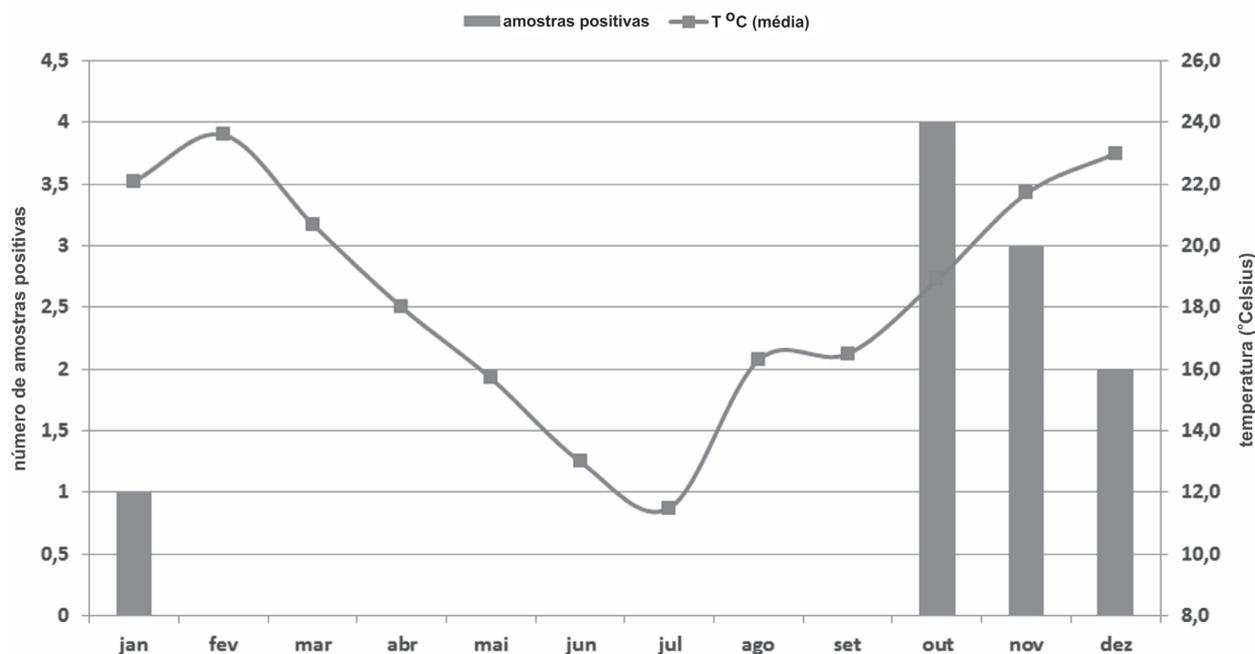
**Tabela 2.** Hospedeiros em que foi detectada a presença de *Aceria tosichella* (Keifer) no monitoramento de parâmetros de infestação do ácaro-do-enrolamento-do-trigo, Coxilha, RS, Brasil, 2012.

Amostra	Latitude	Longitude	Data	Hospedeiro	Nº. indiv.
17	-28 11' 15,08013"	-52 19' 28,98112"	17/01/2012	milho	3
769	-28 11' 15,17264"	-52 19' 26,34486"	10/10/2012	trigo	1
772	-28 11' 13,97457"	-52 19' 27,62537"	10/10/2012	trigo	2
824	-28 11' 14,40297"	-52 19' 28,80364"	24/10/2012	azevém	1
826	-28 11' 14,44617"	-52 19' 28,57000"	24/10/2012	azevém	11
844	-28 11' 14,50737"	-52 19' 26,89025"	07/11/2012	milho	2
870	-28 11' 13,57859"	-52 19' 31,23182"	07/11/2012	milho	1
876	-28 11' 13,33378"	-52 19' 30,46863"	07/11/2012	milho	1
924	-28 11' 15,58377"	-52 19' 28,33384"	05/12/2012	aveia preta	1
930	-28 11' 13,81977"	-52 19' 27,35105"	05/12/2012	milhã	6

Embora apenas, aproximadamente, 1% das amostras coletadas tenham sido positivas para o ácaro, estas detecções estão relacionadas com os períodos do ano em que as temperaturas são mais altas (Figura 2). Este fato está de acordo com os trabalhos de Coutts et al. (2008), Gillespie (1997), Schiffer et al. (2009), Somsen e Sill (1970) que relacionam os períodos mais quentes do ano como mais adequados para o desenvolvimento e dispersão de *A. tosichella*. Levando-se em consideração que: a) as populações de *A. tosichella* detectadas no campo são baixas, mas que sua distribuição no Brasil está ampliando para o norte, em direção às regiões mais quentes do Paraná; b) poáceas hospedeiras como aveia, azevém e milho podem sobreviver o ano inteiro no campo (cultivadas ou voluntárias), servindo como pontes verdes para a dispersão deste ácaro; e c) as condições de clima da região sul do Brasil não são as ideais para o seu desenvolvimento ótimo, mas permitem a sua sobrevivência; regiões tritícolas com temperaturas amenas como no norte do Paraná e nos estados de Mato Grosso do Sul, São Paulo, Goiás e Minas Gerais podem se tornar críticas caso *A. tosichella* se estabeleça. Desta maneira, tanto estudos de parâmetros de infestação e dispersão como o monitoramento de sua distribuição geográfica em condições brasileiras devem ser mantidos e estimulados de forma a acumular conhecimento para combater preventivamente este patossistema.



**Figura 1.** Monitoramento de parâmetros de infestação do ácaro-do-enrolamento-do-trigo *Aceria tosichella* (Keifer). Mapa da área de monitoramento, com o total de pontos amostrados e pontos positivos, Coxilha, RS, Brasil, 2012.



**Figura 2.** Monitoramento de parâmetros de infestação do ácaro-do-enrolamento-do-trigo *Aceria tosichella* (Keifer). Número de amostras positivas coletadas em relação à época do ano, Coxilha, RS, Brasil, 2012.

## Referências

- COUTTS, B. A.; STRICKLAND, G. R.; KEHOE, M. A.; SEVERTSON, D. L.; JONES, R. A. C. The epidemiology of *Wheat streak mosaic virus* in Australia: case histories, gradients, mite vectors, and alternative hosts. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 59, n. 9, p. 844-853, 2008.
- GILLESPIE, R. L.; ROBERTS, D. E.; BENTLEY, E. M. Population dynamics and dispersal of wheat curl mites (Acari: Eriophyidae) in North Central Washington. **Journal of Kansas Entomological Society**, Lawrence, v. 70, n. 4, p. 361-364, 1997.
- LINDQUIST, E. E.; OLDFIELD, G. N. **Evolution of eriophyoid mites in relation to their host plants**. In: LINDQUIST, E. E.; SABELIS, M. W.; BRUIN, J. (Ed.). Eriophyoid mites: their biology, natural enemies and control. Amsterdam: Elsevier Science, 1996. p. 277-300.
- JEPPSON, L. R.; KEIFER, H. H.; BAKER, E. W. **Mites injurious to economic plants**. Berkeley: University of California Press, 1975. 614 p.
- NAULT, L.R.; STYER, W.E. The dispersal of *Aceria tulipae* and three other grass-infesting Eriophyid mites in Ohio. **Annals of the Entomological Society of America** **62**:1446–1455, 1969.
- NAVIA, D.; MENDONÇA, R. S.; SKORACKA, A.; SZYDŁO, W.; KNIHINICKI, D.; HEIN, G. L.; PEREIRA, P. R. V. S.; TRUOL, G.; LAU, D. Wheat curl mite, *Aceria tosichella*, and transmitted viruses: an expanding pest complex affecting cereal crops. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 59, n.1/2, p. 95-143, 2013.
- SCHIFFER, M.; UMINA, P.; CAREW, M.; HOFFMANN, A.; RODONI, B.; MILLER, A. The distribution of wheat curl mite (*Aceria tosichella*) lineages in Australia and their potential to transmit *wheat streak mosaic virus*. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 155, n. 3, p. 371-379, 2009.
- SOMSEN, H. W.; SILL JR, W. H. **The wheat curl mite, *Aceria tulipae* Keifer, in relation to epidemiology and control of wheat streak mosaic**. Manhattan: Kansas State University, 1970. 16 p. (Research Publication, 162).

## Caracterização molecular de populações do ácaro do enrolamento do trigo, *Aceria tosichella* Keifer, na América do Sul

Denise Navia<sup>1</sup>, Renata Santos de Mendonça<sup>1</sup>, Paulo Roberto Valle da Silva Pereira<sup>2</sup>, Graciela Truol<sup>3</sup> e Douglas Lau<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, final W5 Norte, Cx. Postal 02372, 70.770-917, Brasília, Brasil. <sup>2</sup>Embrapa Trigo, BR 285, km 294, CEP 99001-970, Passo Fundo- RS, Brasil. <sup>3</sup>Instituto de Patología Vegetal - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (IPAVE-INTA). Camino 60 cuadras Km. 5 ½ (X5020ICA), Córdoba, Argentina.

### Introdução

Alguns ácaros fitófagos da família Eriophyidae podem assumir status de praga em agroecossistemas por causarem danos diretos às plantas hospedeiras, devido à alimentação de colônias numerosas; ou indiretos, devido à transmissão de fitopatógenos. Entre os ácaros vetores está o ácaro do enrolamento do trigo, *Aceria tosichella* Keifer, vetor de ao menos quatro fitovírus (NAVIA et al., 2013). Entre os vírus transmitidos por *A. tosichella* destaca-se o *Wheat streak mosaic virus* (WSMV), um problema chave para a cultura do trigo, com altas taxas de infecção e causando sérias perdas na América do Norte, Eurásia e Oriente Médio (TSYPLENKOV; SAULICH, 2008; VELANDIA et al., 2010). Na última década *A. tosichella* e os vírus transmitidos foram também detectados na Austrália e na América do Sul, onde já estão afetando importantes áreas tritícolas (COUTTS et al., 2008; TRUOL; SAGADÍN, 2008).

O ácaro do enrolamento do trigo, *A. tosichella*, tem sido tradicionalmente considerado como uma única espécie. Entretanto diversos autores tem levantado a hipótese de que, em realidade, esse ácaro represente um complexo de espécies crípticas e/ou linhagens biológicas. O ácaro do enrolamento do trigo tem sido relatado infestando cerca de 80 gramíneas (Poaceae) em 48 gêneros (NAVIA et al., 2013). Por isso, é considerado uma exceção entre os eriofiídeos, os quais em sua grande maioria infestam uma única planta hospedeira. É possível que, ao invés de *A. tosichella* apresentar um amplo espectro de hospedeiros, cada uma das espécies no complexo seja especializada em um grupo de gramíneas hospedeiras. Gibson (1957), Del Rosario e Sill (1965) e Slykhuis (1955) relataram a ocorrência de linhagens de *A. tosichella* associadas a plantas hospedeiras, baseada na performance ou capacidade de sobrevivência em diferentes gramíneas. Evidências da ocorrência de linhagens de *A. tosichella* também foram obtidas durante estudos de resistência de variedades de trigo e linhas de *Aegilops tauschii* Coss, assim como em sua eficiência na transmissão de vírus (HARVEY et al., 1995, 1999, 2001; MALIK et al., 2003; SEIFERS et al., 2002). A constatação da ocorrência de espécies crípticas em *A. tosichella* foi possível através da utilização de marcadores moleculares, os quais representam ferramentas poderosas para esclarecer problemas taxonômicos em Acarologia (NAVAJAS; NAVIA, 2010). Carew et al. (2009), a partir de sequências de DNA mitocondrial e nuclear, mostraram que *A. tosichella* de trigo e várias outras gramíneas hospedeiras na Austrália consistiam em pelo menos duas linhagens que poderiam representar espécies crípticas, já que não foram observadas evidências de intercâmbio genético entre as mesmas.

A existência de um complexo de espécies em *A. tosichella* tem implicações para o manejo dos

patossistemas em que o vetor é um componente chave. Espécies crípticas podem apresentar características biológicas e ecológicas particulares, e podem requerer medidas de manejo diferenciadas. No caso do ácaro do enrolamento do trigo, diferentes espécies/linhagens podem apresentar diferentes espectro de hospedeiros e taxas de crescimento em cada um deles; diferenças na eficiência de transmissão dos vírus associados e na relação com suas linhagens; diferenças na susceptibilidade a materiais genéticos de cereais que vêm sendo desenvolvidos para resistência aos patossistemas (NAVIA et al., 2013). Por isso, é fundamental o conhecimento sobre as linhagens/espécies do complexo *A. tosichella* presentes na América do Sul para a definição de estratégias de manejo dos patossistemas que compõe.

A caracterização molecular de populações de *A. tosichella* da Argentina e do Brasil foi realizada no escopo dos projetos "Monitoramento e diagnose do complexo *Aceria tosichella* e viroses transmitidas (*Wheat streak mosaic virus*, *High plains virus*) no Brasil e avaliação da resistência de cultivares para estimar o seu impacto na triticultura nacional (CNPq/MAPA/SDA N° 064/2008)" e " Monitoramento e diagnose do complexo *Aceria tosichella* e vírus transmitidos (*Wheat streak mosaic virus*, *High plains virus*, *Triticum mosaic virus*) – contribuição brasileira para a compreensão e manejo de um patossistema em expansão na América do Sul (Chamada 22/2011 - Cooperação Internacional Embrapa/INTA)". Esses estudos foram conduzidos como parte de um esforço internacional para a caracterização de populações do ácaro do enrolamento do trigo de diferentes continentes. Dessa forma, os resultados obtidos nos projetos foram comparados com os de populações da Europa, América do Norte, e Oceania, e publicados em Skoracka et al. (2012) e Miller et al. (2013). O presente trabalho tem como objetivo resumir e integrar as informações sobre a caracterização molecular de populações de *A. tosichella* da Argentina e do Brasil, publicadas nos artigos citados. Será também discutida a implicação dos resultados no manejo da praga e vírus transmitidos na América do Sul e apontadas linhas de pesquisa a serem exploradas.

## Material e Métodos

Foram caracterizadas populações de *A. tosichella* de uma localidade no Brasil (Passo Fundo, RS), coletadas três anos consecutivos; e de sete localidades na Argentina (Azul, Balcarce, La Galia, Ingeniero Otamendi e Lobería, Província de Buenos Aires; Corral de Bustos e Marcos Juárez, Província de Córdoba). Todas as populações estudadas foram coletadas em trigo. A extração de DNA foi realizada para um espécime individualizado e também para um pool de 20 indivíduos, de acordo com protocolo utilizado por Navia et al. (2005).

No primeiro estudo, cujos resultados foram publicados em Skoracka et al. (2012), foram analisadas sequências de um total de 25 populações. Além das populações da América do Sul, foram incluídas populações da Austrália, França, e Polônia. Os ácaros foram coletados em trigo e em mais cinco gramíneas dos gêneros *Arrhenaterum*, *Bromus*, *Elymus* e *Hordeum*. As regiões do genoma sequenciadas foram: 1) Citocromo Oxidase I (COI) do DNA mitocondrial, amplificada com os primers utilizados por Dabert et al. (2010), fragmentos de 605bp; 2) subunidade D2 do 28S, do DNA nuclear ribossomal, amplificada com os primers utilizados por Skoracka e Dabert (2010) e Sonnenberg et al. (2007), fragmentos de 511bp; 3) regiões Internal Transcribed Spacers I e II (ITS 1 e 2), do DNA nuclear ribossomal, amplificada com os primers utilizados por Navia et al. (2005), fragmentos de 900bp. Para as análises de variabilidade interespecífica foram utilizadas sequências de *Aceria tulipae* Keifer e *Aceria eximia* Sukhareva.

No segundo estudo, cujos resultados foram publicados em Miller et al. (2013), foram analisadas sequências de um total de 58 populações. Além das populações da América do Sul, foram incluídas populações da Austrália, Estados Unidos, França, Polônia, Síria, e Turquia. Além de trigo e triticale, nesses países foram obtidas amostras de 21 gramíneas dos gêneros *Agropyron*, *Arrhenaterum*, *Bromus*, *Cynodon*, *Dactylis*, *Digitaria*, *Elymus*, *Hordeum*, *Lolium*, *Panicum*, *Setaria*, *Urochloa* e *Vulpia*. As regiões do genoma sequenciadas foram: 1) 16S do DNA mitocondrial, amplificada com os primers utilizados por Carew et al. (2009), fragmentos de 400bp; 2) regiões Internal Transcribed Spacers I e II (ITS 1 e 2), do DNA nuclear ribossomal, amplificada com os primers utilizados por Navia et al. (2005), fragmentos de 900bp. 3) gene Adenine Nucleotide Transporter (ANT), do DNA nuclear, amplificada com os primers utilizados por Carew et al. (2009), fragmentos de 340bp. Para as análises de variabilidade interespecífica foram utilizadas sequências de *A. tulipae* e *Aceria guerreronis* Keifer.

Em ambos estudos, as sequências foram alinhadas utilizando-se Clustal W implementado em MEGA 5 (TAMURA et al., 2011) ou BIOEDIT ver 7.0.4 (HALL, 1999). A identificação dos haplótipos e o cálculo das distâncias genéticas entre sequências de nucleotídeos foram realizados em MEGA 4 e 5 (TAMURA et al., 2007, 2011). MrModeltest (NYLANDER, 2004) ou jModeltest ver. 0.1.1 (GUINDOM; GASCUEL, 2003) foram utilizados para escolha do modelo de substituição de nucleotídeos para cada região/gene. As análises filogenéticas foram conduzidas em MEGA 5 (NJ), PhyMI 3.0 (GUINDOM et al., 2010). As árvores filogenéticas, incluindo a de combinação dos diferentes conjuntos de dados, foram geradas em MrBayes 3.1.2 (RONQUIST; HUELSENBECK, 2003). Além disso, em Miller et al. (2013), a estimativa do tempo de divergência (MCMC) foi realizada em BEAST ver. 1.7.3 (DRUMMOND; RAMBAUT, 2007), e os testes para sinais filogenéticos, para averiguar se as linhagens são mais próximas entre si devido ao compartilhamento de planta hospedeira ou aleatoriamente, em Mesquite (MADDISON; MADDISON, 2011).

## Resultados e Discussão

No primeiro estudo, publicado em Skoracka et al. (2012), as sequências das populações da América do Sul resultaram em um único haplótipo/variante para as regiões COI e D2, e estes foram agrupados em um mesmo clado com populações de trigo da Polônia e de *Bromus catharicus* da Austrália. Diferentemente, entre as sequências ITS foram detectados dois variantes (I-1 e I-2) entre as populações sul-americanas, os quais foram agrupados em dois cladogramas genéticos com alto suporte, junto aos de populações de trigo da Polônia (I-1) e de trigo da França e Austrália (I-2). Os dois variantes da região ITS observados entre as populações da Argentina e do Brasil correspondem às linhagens filogenéticas observadas por Carew et al. (2009). As análises filogenéticas, baseadas em marcadores independentes (nucleares e mitocondriais), não suportam a monofilia das populações estudadas em Skoracka et al. (2012). *Aceria tulipae*, uma espécie morfologicamente muito próxima à *A. tosichella*, reconhecida como uma espécie biologicamente distinta associada a liliáceas, posicionou-se como grupo irmão, e não como grupo externo às populações estudadas. Em todas as árvores filogenéticas *A. tulipae* foi posicionada entre as linhagens de *A. tosichella*, indicando que esse táxon pertence ao mesmo complexo de espécies. As distâncias genéticas observadas entre as populações estudadas, para os três marcadores, correspondem a distâncias interespecíficas, e não à variabilidade intraespecífica. Os resultados do estudo confirmam a ocorrência de um complexo de espécies em *A. tosichella*, como observado por Carew et al. (2009), e evidenciam que as duas linhagens detectadas por esses autores na Austrália também estão presentes em trigo na América do Sul e na Europa.

No segundo estudo, publicado em Miller et al. (2013), a região mais variável foi a mitocondrial 16S. Nas 58 populações estudadas foram identificados 26 haplótipos, sendo que quatro desses foram encontrados na América do Sul (três na Argentina e dois no Brasil). Para o gene ANT foram identificados um total 21 variantes, sendo que dois foram encontrados na América do Sul, comuns à Argentina e ao Brasil. Para a região ITS foram identificados ao total 15 variantes, dois dos quais presentes na América do Sul, também comuns à Argentina e ao Brasil. As árvores filogenéticas dos três marcadores estudados apresentaram estrutura similar, com a presença de dois clados genéticos ancestrais, da mesma forma observada por Carew et al. (2009) e Skoraka et al. (2012), suportando a parafilia das populações estudadas e confirmando a ocorrência de um complexo de espécies.

A análise filogenética combinada dos três marcadores mostrou que dez das 23 gramíneas hospedeiras estudadas apresentavam um único haplótipo/variante associado, evidenciando a especificidade hospedeira de diversas linhagens. As linhagens associadas ao trigo são relativamente recentes, e muitos desses haplótipos/variantes estão presentes nas Américas, Europa e Oceania. O haplótipo/variante 1, predominante na América do Sul, tanto no Brasil quanto na Argentina, foi encontrado também associado a três espécies de *Bromus* - *B. catharticus*, *B. diandrus*, *B. hordaceus*-, a *Lolium rigidum* (azevém), e ao triticale. Além disso, nos clados dos haplótipos associados ao trigo, outros haplótipos/variantes também estavam associados a *B. catharticus* e *L. rigidum*. Esses resultados mostram que os haplótipos/variantes associados ao trigo e triticale podem infestar também gramíneas dos gêneros *Bromus* e *Lolium*. O fato desses haplótipos/variantes não terem sido encontrados em outras gramíneas pode indicar que o espectro de hospedeiros dos mesmos não seja tão amplo como relatado na literatura.

A determinação do espectro de hospedeiros do haplótipos/variantes associado ao trigo e vetor de viroses é fundamental para adoção de medidas de manejo, pois esses devem ser eliminados das áreas de cultura ou arredores, para que não sirvam como "ponte verde" entre duas safras, por poderem abrigar populações do vetor. No Brasil, além do trigo, foram listadas 17 gramíneas, de 14 gêneros, como hospedeiras de *A. tosichella*. Entre essas estão duas espécies de *Bromus* e *Lolium multiflorum*. É possível que os haplótipos/variantes associados ao trigo e vetores dos vírus não tenha como hospedeiras reprodutivas todas as gramíneas listadas como hospedeiras. Para esclarecer essa questão teria sido necessário realizar a caracterização molecular das populações associadas a todas as plantas hospedeiras, mas isso não foi possível devido à dificuldade de coleta de material biológico dessas outras gramíneas hospedeiras para as análises moleculares. A partir dos resultados até então obtidos, pode-se considerar que os haplótipos/variantes associados ao trigo no Brasil e Argentina podem infestar também gramíneas dos gêneros *Bromus* e *Lolium*. Portanto, no manejo cultural do patossistema essas plantas devem ser eliminadas das áreas de plantio e bordas. Para que esse conhecimento seja ampliado, será importante investir na caracterização das populações que infestam outras gramíneas na América do Sul. Também seria interessante a manutenção de colônias e estudos de biologia de *A. tosichella* em outras gramíneas.

De acordo Schiffer et al. (2009), nos experimentos de transmissão de WSMV pelas duas linhagens de *A. tosichella* associadas ao trigo (CAREW et al., 2009), somente WCM2 transmitiu o vírus em condições controladas. Essa linhagem vetora corresponde aos haplótipos 1 e 3 (análise combinada em Miller et al., 2013), os quais são dominantes da América do Sul, tanto no Brasil quanto na Argentina. Hein et al. (2012) avaliaram diferenças genéticas e eficiência de transmissão de dois vírus - WSMV e *High plains virus* (HPV) - entre populações de *A. tosichella* dos EUA e comparou as sequências ITS das mesmas com as populações da Austrália. Nos EUA também foram encontradas as duas linhagens principais do ácaro, as quais corresponderam às identificadas por Carew et al. (2009), na Austrália. Esses autores observaram que ambas as

linhagens são vetoras, mas a eficiência de transmissão do dois vírus foi diferente entre elas. Portanto, pode-se considerar que ao menos duas espécies do complexo *A. tosichella* capazes de transmitir vírus estão presentes na América do Sul. Será necessário caracterizar e avaliar a eficiência vetora das demais espécies do complexo *A. tosichella*, associadas a outras plantas hospedeiras, na transmissão de diferentes vírus.

A ocorrência dos mesmos haplótipos/variantes de *A. tosichella* associadas ao trigo e vetoras de fitovírus nos diferentes continentes suporta a importância de esforços internacionais para avançar na definição de medidas eficientes de manejo e para minimizar as perdas ocasionadas pelo(s) patossistema(s) *A. tosichella* e vírus transmitidos.

## Referências

CAREW, M.; SCHIFFER, M.; UMINA, P.; WEEKS, A.; HOFFMANN, A. Molecular markers indicate that the wheat curl mite, *Aceria tosichella* Keifer, may be a species complex in Australia. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 99, n. 5, p. 479-486, 2009.

COUTTS, B. A.; STRICKLAND, G. R.; KEHOE, M. A.; SEVERTSON, D. L.; JONES, R. A. C. The epidemiology of *Wheat streak mosaic virus* in Australia: case histories, gradients, mite vectors, and alternative hosts. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 59, n. 9, p. 844-853, 2008.

DABERT, M.; WITALINSKI, W.; KAZMIERSKI, A.; OLSZANOWSKI, Z.; DABERT, J. Molecular phylogeny of acariform mites (Acari, Arachnida): strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Amsterdam, v. 56, n. 1, p. 222-241, 2010.

DEL ROSARIO, M. S.; SILL, W. H. Physiological strains of *Aceria tulipae* and their relationships to transmission of *Wheat streak mosaic virus*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 55, n. 11, p. 1168-1175, 1965.

DRUMMOND, A. J.; RAMBAUT, A. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. **BMC Evolutionary Biology**, London, v. 7, p. 214, 2007.

GIBSON, W. W. **Biological and ecological studies of the wheat curl mite, *Aceria tulipae* (K.), on winter wheat in Kansas**. 1957. Dissertation (PhD) - Kansas State University, Manhattan.

GUINDON, S.; GASCUEL, O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. **Systematic Biology**, Oxford, v. 52, n. 5, p. 696-704, 2003.

GUINDON, S.; DUFAYARD, J. F.; LEFORT, V.; ANISIMOVA, M.; HORDIJK, W.; GASCUEL, O. New algorithms and methods to estimate maximum likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. **Systematic Biology**, Oxford, v. 59, n. 3, p. 307-321, 2010.

HALL, T. A. BIOEDIT: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, Oxford, v. 41, n. 1, p. 95-98, 1999.

HARVEY, T. L.; MARTIN T. J.; SEIFERS, D. L. Survival of five wheat curl mite *Aceria tosichella* Keifer (Acari: Eriophyidae) strains on mite resistant wheat. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 19, n. 8, p. 459-463, 1995.

HARVEY, T. L.; SEIFERS, D. L.; MARTIN, T. J.; BROWN-GUEDIRA, F. L.; GILL, B. S. Survival of wheat curl mites on different sources of resistance in wheat. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 6, p. 1887-1889, 1999.

HARVEY, T. L.; SEIFERS, D. L.; MARTIN, T. J. Host range differences between two strains of wheat curl mites (Acari: Eriophyidae). **Journal of Agriculture and Urban Entomology**, Charleston, v. 18, n. 1, p. 35-41, 2001.

HEIN, G. L.; FRENCH, R.; SIRIWETWIWAT, B.; AMRINE, J. Genetic characterization of North American populations of the wheat curl mite and dry bulb mite. **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v. 105, n. 5, p. 1801-1808, 2012.

MADDISON, W. P.; MADDISON, D. R. **Mesquite**: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75. 2011. Disponível em: <<http://mesquiteproject.org>>.

MALIK, R.; SMITH, C. M.; BROWN-GUEDIRA, G. L.; HARVEY, T. L.; GILL, B. S. Assessment of *A. tauschii* for resistance to biotypes of wheat curl mite (Acari: Eriophyidae). **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v. 96, n. 4, p. 1329-1333, 2003.

MILLER, A. D.; SKORACKA, A.; NAVIA, D.; SANTOS DE MENDONCA, R.; SZYDO, W.; SCHULTZ, M. B.; SMITH, C. M.; TRUOL, G.; HOFFMANN, A. A. Phylogenetic analyses reveal extensive cryptic speciation and host specialization in an economically important mite taxon. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Amsterdam, v. 66, n. 3, p. 928-940, 2013.

NAVAJAS, M.; NAVIA, D. DNA-based methods for eriophyid mite studies: review, critical aspects, prospects and challenges. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 51, n. 1/3, p. 257-271, 2010.

NAVIA, D.; DE MORAES, G. J.; RODERICK, G.; NAVAJAS, M. The invasive coconut mite *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae): origin and invasion sources inferred from mitochondrial (16S) and nuclear (ITS) sequences. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 95, n. 6, p. 505-516, 2005.

NAVIA, D.; MENDONÇA, R. S.; SKORACKA, A.; SZYDŁO, W.; KNIHINICKI, D.; HEIN, G. L.; PEREIRA, P. R. V. S.; TRUOL, G.; LAU, D. Wheat curl mite, *Aceria tosichella*, and transmitted viruses: an expanding pest complex affecting cereal crops. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam v. 59, n. 1/2, p. 95-143, 2013.

NYLANDER, J. A. A. **MrModeltest v2**. Uppsala: Uppsala University, Evolutionary Biology Centre, 2004.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, n. 12, p. 1572-1574, 2003.

SCHIFFER, M.; UMINA, P.; CAREW, M.; HOFFMANN, A.; RODONI, B.; MILLER, A. The distribution of wheat curl mite (*Aceria tosichella*) lineages in Australia and their potential to transmit *Wheat streak mosaic virus*. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 155, n. 3, p. 371-379, 2009.

SEIFERS, D. L.; HARVEY, T. L.; LOUIE, R.; GORDON, D. T.; MARTIN, T. J. Differential transmission of isolates of the *High Plains virus* by different sources of wheat curl mites. **Plant Disease**, St. Paul, v. 86, n. 2, p. 138-142, 2002.

SKORACKA, A.; DABERT, M. The cereal rust mite *Abacarus hystrix* (Acari: Eriophyoidea) is a complex of species: evidence from mitochondrial and nuclear DNA sequences. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 100, n. 3, p. 263-272, 2010.

SKORACKA, A.; KUCZYNSKI, L.; MENDONÇA, R. S.; DABERT, M.; SZYDŁO, W.; KNIHINICKI, D.; TRUOL, G.; NAVIA, D. Cryptic species within the wheat curl mite *Aceria tosichella* (Keifer) (Acari, Eriophyoidea) revealed by mitochondrial, nuclear and morphometric data. **Invertebrate Systematics**, Collingwood, v. 26, n. 4, p. 417-433, 2012.

SLYKHUIS, J. T. *Aceria tulipae* Keifer (Acarina: Eriophyidae) in relation to the spread of wheat streak mosaic. **Phytopathology**, St. Paul, v. 45, n. 3, p. 116-128, 1955.

SONNENBERG, R.; NOLTE, A. W.; TAUTZ, D. An evaluation of LSU rDNA D1–D2 sequences for their use in species identification. **Frontiers in Zoology**, Frankfurt, v. 4, n. 6, p. 1-12, 2007.

TAMURA, K.; DUDLEY, J.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v. 24, n. 8, p. 1596-1599, 2007.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v. 28, n. 10, p. 2731-2739, 2011.

TRUOL, G.; SAGADIN, M. Virosis de los cereales detectadas en Argentina. In: WORKSHOP EN VIROSIS DE CEREALES TRANSMITIDAS POR EL ÁCARO *ACERIA TOSICHELLA* - *WHEAT STREAK MOSAIC VIRUS* Y HIGH PLAIN VIRUS - EN LOS PAÍSES DEL CONO SUR: SITUACIÓN, DETECCIÓN Y MANEJO. **Libro de resúmenes...** Balcarce: INTA-IFFIVE, 2008. p. 21–22.

TSYPLENKOV, A. E.; SAULICH, M. I. Distribution and severity zones of *Wheat streak mosaic virus* (WSMV). In: AFONIN, N. A.; GREENE, S. L.; DZYUBENKO, N. I.; FROLOV, A. N. (Ed.). **Interactive agricultural ecological atlas of Russia and neighboring countries: economic plants and their diseases, pests and weeds**. 2008. Disponível em: <[http://www.agroatlas.ru/en/content/related/Lonicera\\_edulis](http://www.agroatlas.ru/en/content/related/Lonicera_edulis)>. Acesso em: 23 de fevereiro de 2011.

VELANDIA, M.; REJESUS, R. M.; JONES, D. C.; PRICE, J. A.; WORKNEH, F.; RUSH, C. Economic impact of *Wheat streak mosaic virus* in the Texas High Plains. **Crop Protection**, Surrey, v. 29, n. 7, p. 699-703, 2010.

## Monitoramento da distribuição de vírus transmitidos por *A. tosichella* no Brasil

Douglas Lau<sup>1</sup>, Talita Bernardon Mar<sup>2</sup>, Paulo Roberto Valle da Silva Pereira<sup>1</sup> e Jurema Schons<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Trigo, BR 285, km 294, CEP 99001-970, Passo Fundo- RS, Brasil. <sup>2</sup>Universidade de Passo Fundo, BR 285, São José, CEP: 99052-900, Passo Fundo-RS, Brasil.

### Introdução

Dos vírus transmitidos por *Aceria tosichella* Keifer, o *Wheat streak mosaic virus* (Tritimovirus, Potyviridae) e o *High plains virus* (HPV) encontram-se distribuídos em várias regiões tritícolas da Argentina (TRUOL et al., 2004; TRUOL, 2009). Naquele país, existem condições ambientais que permitem o desenvolvimento de populações do ácaro que resultam em epidemias de ambos os vírus. No Brasil, *A. tosichella* era considerada praga quarentenária até 2008, quando foi oficialmente relatada (PEREIRA et al., 2009). Desde então, monitoramentos a campo em regiões tritícolas revelam que sua distribuição geográfica tem ampliado (vide resumos anteriores sobre o mapeamento da distribuição geográfica de *A. tosichella* no Brasil). As populações deste ácaro presentes no Brasil e na Argentina são muito similares (SKORAKA et al., 2012) o que pode indicar uma origem comum e/ou migração dado a proximidade dessas regiões. Assim, se há populações de *A. tosichella* da Argentina virulíferas é plausível supor que as populações brasileiras também sejam e que com o aumento da distribuição do vetor no Brasil também ocorra aumento da probabilidade de detecção dos vírus transmitidos. Neste trabalho, o monitoramento da ocorrência de vírus transmitidos por *A. tosichella* foi conduzido concomitantemente ao processo de monitoramento da população vetora. As amostras oriundas dos pontos de coleta foram destinadas além da avaliação da presença de *A. tosichella* para avaliação da presença de WSMV e HPV.

### Material e Métodos

Nos anos de 2009, 2010 e 2011 foram consideradas na análise 959 amostras oriundas de 187 pontos georreferenciados, nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e Mato Grosso do Sul, cobrindo 99 municípios das principais regiões produtoras de trigo destes estados. Em 2012, foram analisadas 216 amostras oriundas do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Foram utilizados como critérios diagnósticos a presença de sintomas de mosaico e amarellecimento nas plantas coletadas, testes sorológicos (DAS-ELISA), testes biológicos (inoculação em plantas hospedeiras) e testes moleculares.

*Procedimentos de coleta e processamento das amostras.* Para as coletas realizadas entre 2009 e 2011, o material para ELISA (folhas e colmos) era colocado em sacos plásticos e armazenados em caixas de isopor com gelo. O material para transplante (retirado com raízes) era colocado em sacos plásticos e umedecido para suportar a viagem. Em laboratório, o ELISA era aplicado diretamente a amostra de campo e, em caso de amostra positiva, o RNA total era extraído da planta correspondente que havia sido transplantada visando detecção do vírus por RT-PCR. Por motivos de suspeitas de reação cruzada quando da aplicação do teste sorológico, sobretudo em gramíneas nativas, adicionou-se uma etapa de inoculação em trigo. O trigo além de ser uma planta hospedeira que permite a detecção do vírus por exibição de sintomas, também garante uniformidade nos testes sorológico (evitando o problema de se trabalhar com diferentes hospedeiros). Infelizmente esta técnica pode ser aplicada apenas ao WSMV, que é facilmente

transmitido por inoculação mecânica, mas não ao HPV que não é transmitido por este método. Para as coletas do ano de 2012, as amostras de plantas foram colocadas em sacos plásticos e armazenados em caixas de isopor com gelo sendo submetidas a inoculação (detecção biológica) e testes sorológicos.

**Detecção biológica.** A fim de diagnosticar a presença de vírus (WSMV) (por método biológico) foram inoculadas plantas de trigo da cultivar BRS Guabiju (Figura 1A). A amostra de campo foi macerada em tampão fosfato de potássio (0,1M, pH 7,2) gelado com celite. O extrato vegetal tamponado foi inoculado nas folhas de plantas no estágio de três folhas expandidas, com auxílio de um algodão. Os sintomas foram observados de 15 a 30 dias após a inoculação. Após 30 dias da inoculação foi realizado DAS-ELISA. No ano de 2012, também foram realizadas inoculações em *Chenopodium amaranticolor* que exibe reações a outros vírus que causam mosaico em trigo.

**Detecção sorológica.** A detecção dos fitovírus *Wheat streak mosaic virus* e *High plains virus* em amostras de cereais foi realizada por DAS-ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) utilizando anti-soros da Agdia ([www.agdia.com](http://www.agdia.com)). Após a reação enzimática, a intensidade da coloração foi medida em leitora de placa de ELISA (TP-Reader), no comprimento de onda de 405 nm.

**Detecção molecular.** A detecção molecular foi realizada para amostras com absorvância superior a 1,5 vezes ao controle negativo, com sintomas típicos de mosaico estriado e/ou presença do ácaro ou sintomas em plantas inoculadas. A detecção molecular foi feita por meio de RT-PCR utilizando dois pares de oligonucleotídeos. Um par de oligonucleotídeos parecia no gene da capa protéica e outro no gene VPg-NIA. Os detalhes dos métodos moleculares empregados e testes de marcadores estão descritos em Mar et al. (2013).

## Resultados e Discussão

As amostras analisadas entre 2009 e 2011 resultaram no relato da ocorrência do WSMV no Brasil (MAR et al., 2013). Das 959 amostras coletadas nesse período, 450 foram inoculadas em trigo. Destas apenas duas reproduziram sintomas de mosaico estriado nas plantas inoculadas (Figura 1B). Estas amostras eram oriundas de plantas de casa de vegetação com fortes sintomas de mosaico estriado e com altas populações do ácaro *A. tosichella*. A partir de amostras de campo não foi possível reproduzir sintomas nas plantas de trigo inoculadas. A infecção por WSMV nas plantas de trigo sintomáticas foi confirmada por DAS-ELISA. RNA total foi extraído de 120 plantas com sintomas de mosaico. Por meio de RT-PCR foi possível detectar a presença de WSMV em 9 amostras (Tabela 1). Não foi possível amplificar HPV em nenhuma amostra. Apesar de por meio de RT-PCR ter sido obtida amplificação positiva para WSMV em 9 amostras, resultados positivos de detecção biológica por meio de inoculação vegetal tamponado (reprodução dos sintomas) seguido de confirmação por sorologia só foi possível para duas amostras. Ocorre que das 9 amostras cinco (485, 486, 912, 915, 1256) são oriundas de casa de vegetação, nas quais surtos de *Aceria tosichella*, com populações elevadas do ácaro, vem ocorrendo desde 2006. Para estas plantas obtém-se consistentemente bandas “intensas” na RT-PCR. Para as amostras de campo, o DAS – ELISA efetuado diretamente das plantas coletadas foi negativo ou duvidoso (com sinal pouco superior ao controle negativo), a inoculação nas plantas hospedeiras não reproduziu sintomas e as bandas na RT-PCR foram de fraca intensidade. É possível, para as plantas coletadas a campo, que o título viral esteja abaixo do limiar para detecção por sorologia e para a transmissão mecânica, mas suficiente para ser detectado por RT-PCR. Das amostras de campo com detecção de WSMV, apenas no ponto de São Luiz Gonzaga (amostra 1233) foi encontrado concomitantemente a presença de espécimes de *A. tosichella*. No entanto, os pontos RT-PCR positivos estão dentro da circunscrição da ocorrência de *A. tosichella* no Brasil.

Outro ponto importante a ser considerado na interpretação dos resultados é que embora o número de plantas hospedeiras com sintomas de mosaico seja elevado (sobretudo trigo), outros vírus causam sintomas similares. Em trigo, principalmente, é comum no sul do Brasil mosaico causado por vírus transmitidos por *Polymyxa graminis* (CAETANO, 1982).

HPV não foi detectado em nenhuma amostra analisada, porém no caso específico deste vírus o maior peso das análises recai sobre o teste sorológico. O teste biológico não é aplicável e para a RT-PCR não havia disponibilidade de um controle positivo.

Para o ano de 2012, mesmo nos pontos como ocorrência de *A. tosichella* (vide resumos anteriores sobre o mapeamento da distribuição geográfica de *A. tosichella* no Brasil) não foi detectado WSMV ou HPV em campo.

Considerando o total de amostras analisadas, e que os métodos sorológicos biológicos e moleculares sempre foram capazes de detectar WSMV quando de surtos em casa de vegetação, é razoável supor que a dificuldade para detecção de WSMV nos campos do Brasil se deve a sua baixa ocorrência, hipótese sustentada pelos dados da população do vetor (que igualmente se mantém em baixos níveis).

O número de plantas hospedeiras coletadas com sintomas de mosaico foi elevado (sobretudo trigo), indicando a necessidade de aprimorar diagnóstico para outros vírus.

HPV não foi detectado em nenhuma amostra analisada, porém no caso específico deste vírus o maior peso das análises recaiu sobre o teste sorológico. O teste biológico não é aplicável e para a RT-PCR somente recentemente foi demonstrada a eficácia de detecção.

## Referências

CAETANO VR (1982) Mosaico do trigo transmitido pelo solo '*Wheat Soilborne Mosaic Virus*' Tobamovirus. In: OSÓRIO, E. A. (Ed.). Trigo no Brasil. Campinas: Fundação Cargill, 2:563-570.

PEREIRA, P. R. V. S.; NAVIA, D.; SALVADORI, J. R.; LAU, D. Occurrence of *Aceria tosichella* in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, n. 5, p. 539-542, 2009.

SKORACKA, A.; KUCZYNSKI, L.; MENDONÇA, R. S.; DABERT, M.; SZYDŁO, W.; KNIHINICKI, D.; TRUOL, G.; NAVIA, D. Cryptic species within the wheat curl mite *Aceria tosichella* (Keifer) (Acari, Eriophyoidea) revealed by mitochondrial, nuclear and morphometric data. **Invertebrate Systematics**, Collingwood, v. 26, n. 4, p. 417-433, 2012.

MAR, T. B.; LAU, D.; SCHONS, J.; PEREIRA, P. R. V. S.; CARMINATTI, A. J. Identification and characterization of *Wheat Streak Mosaic Virus* Isolates in wheat-growing areas in Brazil. **International Journal of Agronomy**. Cairo, 2013. 6 p. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/983414>>.

TRUOL, G.; FRENCH, R.; SAGADIN, M.; ARNEODO, J. First report of *Wheat streak mosaic virus* infecting wheat in Argentina. **Australasian Plant Pathology**, Melbourne, v. 33, n. 1, p. 137-138, 2004.

TRUOL, G. **Enfermedades virales asociadas al cultivo de trigo en Argentina**: reconocimiento, importancia, formas de transmisión y manejo. [S. l.]: Ed. Autor, 2009. 77 p.



**Figura 1.** Detecção de WSMV por meio de inoculação em plantas de trigo. A - Visão geral de um ensaio. B - Plantas com sintomas de infecção por WSMV (direita) em relação a plantas controle (esquerda). Detalhes dos sintomas no quadro pequeno.

**Tabela 1.** Amostras positivas para WSMV nos anos de 2009, 2010 e 2011

<b>Código</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>	<b>Localidade</b>	<b>UF</b>	<b>Data</b>	<b>Hospedeiro</b>	<b>A. tosicHELLa</b>	<b>Sintoma</b>
485	-28°13'49,89"	-52°24'15,99"	Passo Fundo	RS	18/01/10	<i>T. aestivum</i>	P*	Mos**
486	-28°13'49,89"	-52°24'15,99"	Passo Fundo	RS	18/01/10	<i>T. aestivum</i>	P	Mos
912	-28°13'49,89"	-52°24'15,99"	Passo Fundo	RS	1/10/10	<i>T. aestivum</i>	P	Mos
913	-28°13'33,99"	-52°23'23,75"	Passo Fundo	RS	25/10/10	<i>T. aestivum</i>	ND	Mos
915	-28°13'49,89"	-52°24'15,99"	Passo Fundo	RS	24/1/11	<i>T. aestivum</i>	P	Mos
1233	-28°24'57,22"	-55°00'29,41"	São Luiz Gonzaga	RS	15/9/11	<i>T. aestivum</i>	P	Mos
1241	-28°54'48,00"	-54°15'28,00"	Jóia	RS	16/9/11	<i>T. aestivum</i>	ND	Mos
1254	-28°13'33,99"	-52°23'23,75"	Passo Fundo	RS	26/9/11	<i>T. aestivum</i>	ND	Mos
1256	-28°13'49,89"	-52°24'15,99"	Passo Fundo	RS	10/10/11	<i>T. aestivum</i>	P	Mos

\*P – presente; ND – não detectado

\*\* - Mos – mosaico

## Caracterização biológica e molecular de isolados de *Wheat streak mosaic virus* no Brasil

Talita Bernardon Mar<sup>1</sup>, Douglas Lau<sup>2</sup>, Jurema Schons<sup>1</sup> e Paulo Roberto Valle da Silva Pereira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Passo Fundo, BR 285, São José, CEP: 99052-900, Passo Fundo-RS, Brasil. <sup>2</sup>Embrapa Trigo, BR 285, km 294, CEP 99001-970, Passo Fundo- RS, Brasil.

### Introdução

O *Wheat streak mosaic virus* (WSMV - *Potyviridae*, *Tritimovirus*), transmitido pelo ácaro *Aceria tosichella* Keifer (Acaria: Eriophyidae), é considerado um dos vírus de maior importância econômica nas regiões de cultivo de trigo no mundo (NAVIA et al., 2013). Na América do Sul, o vírus foi detectado em 2002 na Argentina (TRUOL et al., 2004), onde posteriormente a presença do vetor foi confirmada (NAVIA et al., 2006). No Brasil, *A. tosichella* foi observado na região norte e noroeste do Rio Grande do Sul (NAVIA et al., 2013) e nos municípios de Passo Fundo e São Luíz Gonzaga plantas de trigo com sintomas da virose tiveram o agente etiológico identificado como WSMV através de sequências dos genes da capa proteica e VPg-Nia (MAR et al., 2013). O objetivo deste trabalho é descrever a caracterização sob os aspectos biológico e molecular da população de WSMV nessas regiões.

### Material e Métodos

A caracterização molecular dos isolados brasileiros foi realizada para seis sequências de nucleotídeos do gene da capa proteica e três sequências parciais da região VPg-Nia depositadas no GeneBank. As sequências dos isolados brasileiros foram comparadas com 13 isolados de WSMV disponíveis no GeneBank utilizando *Oat necrotic mottle virus* (ONMV - AY377938) como grupo externo. Um alinhamento para cada região sequenciada foi utilizado para a construção de uma árvore filogenética, pelo método de análise Neighbor-joining, gerada no MEGA com 1000 bootstraps. A caracterização biológica consistiu no estudo da gama de hospedeiro utilizando dois isolados (915 e 1256) inoculados via extrato vegetal tamponado (tampão fosfato de potássio 0,2M, pH 7) em quatro plantas de cada hospedeiro: *Chenopodium amaranticolor* Coste and Reyn, *Nicotiana tabacum* L., aveia (*Avena strigosa* Schreb.), cevada (*Hordeum vulgare* L.), milho (*Zea mays* L.), centeio (*Secale cereale* L. cv. BRS Serrano) três cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) Embrapa 16, BRS Guabiju e BRS Timbaúva, e dois triticales (x *Triticosecale* Witt.) BRS Saturno e BRS Ulisses. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, os sintomas sistêmicos foram avaliados e 20 dias realizou-se RT-PCR (MAR et al., 2013) para confirmar a presença do vírus. Também foi testada a reinoculação a partir de plantas inoculadas com o isolado 915 (exceto *Nicotiana tabacum*) para trigo (indicadora cv. Guabiju). A confirmação da infecção foi realizada por RT-PCR.

### Resultados e Discussão

Todos os isolados brasileiros, independentemente da região sequenciada ou localidade da coleta, apresentam 99 – 100% de identidade entre si e 99% de similaridade com o isolado Arg2 (FJ348359) da Argentina (Figura 1), onde a presença do WSMV foi relatada recentemente

(TRUOL et al., 2004). Assim como os isolados argentinos os isolados brasileiros agrupam-se no Clado D, possivelmente o vírus foi introduzido no Brasil a partir de uma fonte comum (semente) e/ou por migração direta (através do vetor) da Argentina. Os isolados brasileiros testados na caracterização biológica foram capazes de infectar trigo, cevada, aveia, centeio, triticale e milho e nenhuma eudicotiledônea (Tabela 1), a infecção foi confirmada por RT-PCR (Figura 2). Todos os hospedeiros infectados exibiram sintomas quando inoculados com pelo menos um dos isolados, exceto aveia. Os sintomas de mosaico induzidos pelo isolado 915 foram mais visíveis, as estrias longitudinais apresentaram-se numa coloração mais intensa, em maior número e cobrindo uma porção maior das folhas comparando com o isolado 1256. Em trigo e triticale os sintomas apresentaram-se mais precocemente e em maior frequência (6-8 dai). Todas as plantas de trigo infectadas exibiram pequenas lesões cloróticas nas folhas mais jovens evoluindo para estrias amarelas paralelas às nervuras das folhas que posteriormente fundiram-se formando um padrão de estrias verde e amarelas em linhas descontínuas típico de mosaico. O mosaico foi mais intenso na cv. Guabiju do que na cv. Embrapa 16 e cv. BRS Timbaúva respectivamente, indicando diferença na resposta a infecção entre essas cultivares (Figura 3 A, B e C). Em cevada e centeio observou-se um padrão de mosaico semelhante ao trigo, porém mais suave, expresso em poucas estrias de menor tamanho e distribuídas em poucas folhas (Figura 3E e F). Apenas duas plantas de milho exibiram sintomas de estrias brancas paralelas às nervuras das folhas em padrão de mosaico (Figura 3D), nessas plantas a infecção foi confirmada por RT-PCR, mas não foi possível retransmitir o isolado via extrato vegetal para a indicadora (Figura 2). É possível, como já observado por Sanchez-Sanchez et al. (2001), que o híbrido de milho utilizado não seja um bom hospedeiro. Sintomas necróticos já foram descritos em aveia (SANCHEZ-SANCHEZ et al., 2001), embora a aveia tenha se mostrado assintomática foi possível detectar RNA viral na planta inoculada e retransmitir via extrato vegetal para a indicadora (Figura 2). Sintomas necróticos foram observados apenas em triticale cv. BRS Ulisses quando inoculada com o isolado 915 (Figura 3H), as lesões apresentaram-se alongadas e circundadas por um bordo amarelo com halo interior e exterior cor de palha, distribuindo-se uniformemente por todas as folhas. A cv. BRS Saturno apresentou padrão de mosaico mosqueado (Figura 3G) em 44% das plantas em média, contrastando com 95,8 – 100% das plantas de BRS Ulisses inoculadas expressando mosaico ou sintomas necróticos. A variação observada na severidade e frequência dos sintomas entre as cultivares de trigo e triticale testadas indica que há variação na interação entre vírus e hospedeiro. Esta variação pode ser utilizada para a seleção de genótipos mais resistentes/tolerantes. Entretanto a população viral recentemente introduzida que se mostrou homogênea no estudo molecular induziu intensas reações diferenciais em um mesmo hospedeiro, indicando que pequenas mutações na população viral também poderão conferir habilidade de quebra rápida da resistência.

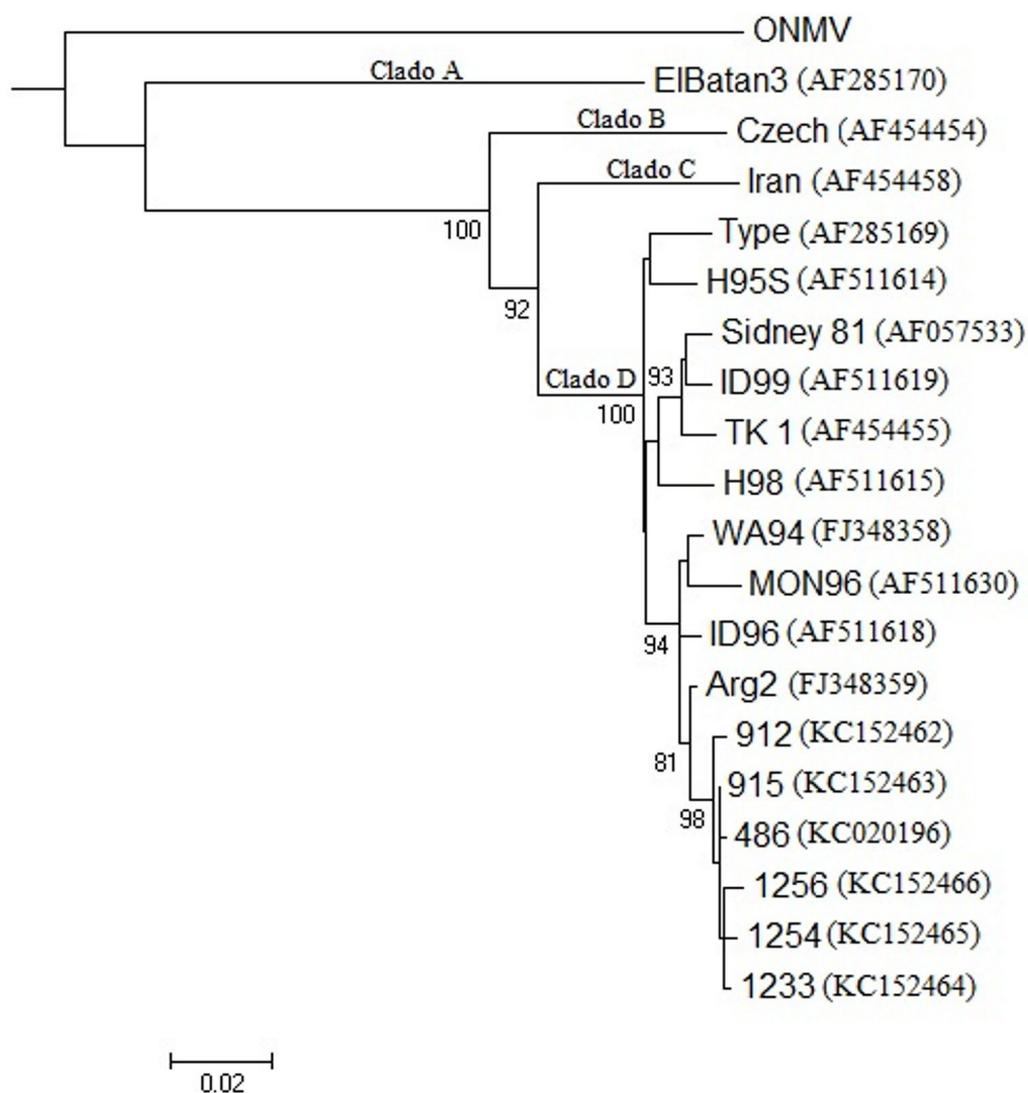
## Referências

- MAR, T. B.; LAU, D.; SCHONS, J.; PEREIRA, P. R. V. S.; CARMINATTI, A. J. Identification and characterization of *Wheat Streak Mosaic Virus* Isolates in wheat-growing areas in Brazil. **International Journal of Agronomy**. Cairo, 2013. 6 p. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/983414>>.
- NAVIA, D.; MENDONÇA, R. S.; SKORACKA, A.; SZYDŁO, W.; KNIHINICKI, D.; HEIN, G. L.; PEREIRA, P. R. V. S.; TRUOL, G.; LAU, D. Wheat curl mite, *Aceria tosichella*, and transmitted viruses: an expanding pest complex affecting cereal crops. *Experimental and Applied Acarology*, Amsterdam, v. 59, n. 1/2, p. 95-143, 2013.

NAVIA, D.; TRUOL, G.; MENDONÇA, R. S.; SAGADIN, M. *Aceria tosichella* Keifer (Acari: Eriophyidae) from *Wheat Streak Mosaic Virus*-infected wheat plants in Argentina. **International Journal of Acarology**, Michigan, v. 32, n. 2, p. 189-193, 2006.

SANCHEZ-SANCHEZ, H. M.; HENRY, M.; CARDENAS-SORIANO, E.; ALVIZO-VILLASANA, H. F. Identification of *Wheat streak mosaic virus* and its vector *Aceria tosichella* in Mexico. **Plant Disease**, St. Paul, v. 85, n. 1, p. 13-17, 2001.

TRUOL, G.; FRENCH, R.; SAGADIN, M.; ARNEODO, J. First report of *Wheat streak mosaic virus* infecting wheat in Argentina. **Australasian Plant Pathology**, Melbourne, v. 33, n. 1, p. 137-138, 2004.

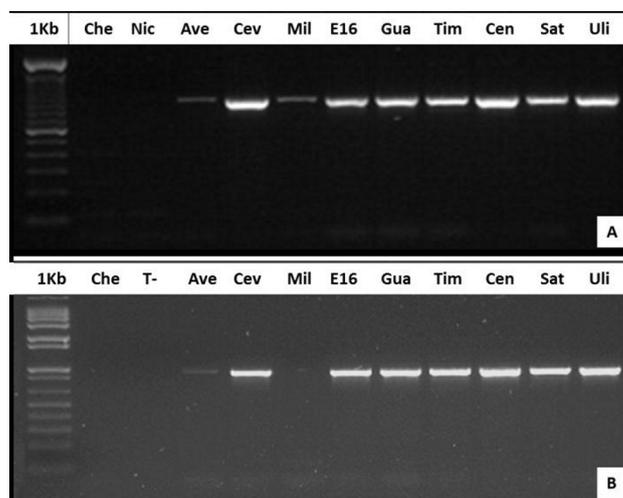


**Figura 1.** Árvore filogenética construída para a sequência de 828 nucleotídeos correspondente ao gene da capa proteica de WSMV utilizando método “neighbor-joining” baseada em 1000 bootstrap e enraizada com a sequência de *Oat necrotic mottle virus* (ONMV) como grupo externo. Comprimento dos ramos proporcional a distância genética, comprimento da barra de escala corresponde a distância genética de 0,02. São isolados brasileiros: 486, 912, 915 e 1256 coletados em casa de vegetação e 1233 coletado no município de São Luiz Gonzaga e 1254 em Passo Fundo.

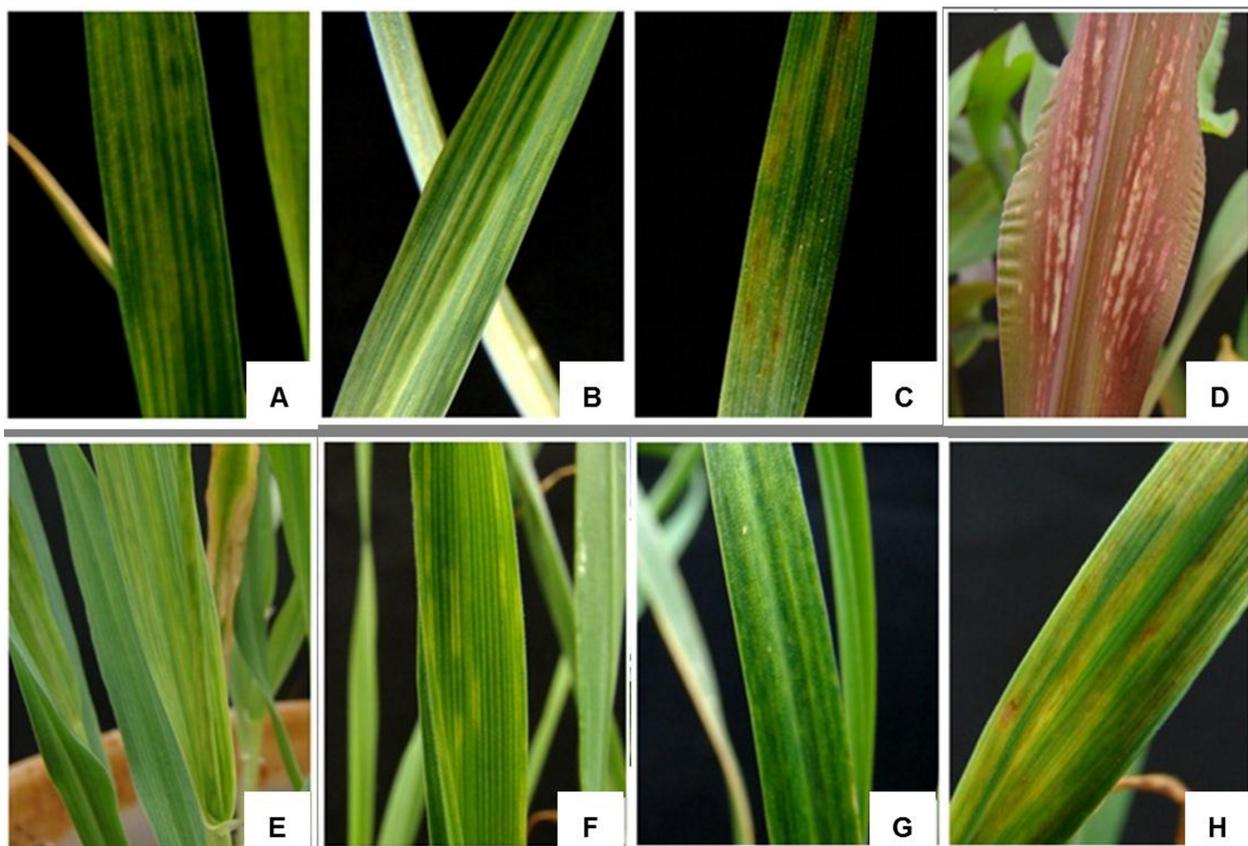
**Tabela 1.** Tipo e frequência de sintomas em hospedeiros inoculados com dois isolados brasileiros de WSMV

Espécies testadas	915			1256		
	sint	freq	%	sint	freq	%
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	-	0/4	0	-	0/4	0
<i>Nicotiana tabacum</i>	-	0/4	0	-	0/4	0
<i>Avena strigosa</i>	-	0/20	0	-	0/20	0
<i>Hordeum vulgare</i>	M	8/20	40	M	10/21	47,6
<i>Zea mays</i>	M	2/14	14,3	-	0/12	0
<i>T. aestivum</i> (cv. Embrapa 16)	M	21/21	100	M	24/24	100
<i>T. aestivum</i> (cv. BRS Guabiju)	M	21/21	100	M	19/19	100
<i>T. aestivum</i> (cv. BRS Timbaúva)	M	24/24	100	M	21/21	100
<i>Secale cereale</i> (cv. BRS Serrano)	M	5/20	25	M	9/19	47,4
x <i>Triticosecale</i> (cv. BRS Saturno)	M	10/21	47,6	M	10/24	41,7
x <i>Triticosecale</i> (cv. BRS Ulisses)	M; LN	20/20	100	M	23/24	95,8

M = mosaico; LN = lesão necrótica.



**Figura 2.** Fragmentos de 948 pb correspondente ao gene da capa proteica de WSMV amplificados (A) a partir de plantas hospedeiras inoculadas com o isolado 915 e (B) indicadora (trigo cv. BRS Guabiju) reinoculada com extrato vegetal das hospedeiras. Che – *Chenopodium amaranticolor*, Nic – *Nicotiana tabacum*, Ave – aveia, Cev – cevada, Mil – milho, E16 – trigo cv. Embrapa 16, Gua – trigo cv. BRS Guabiju, Tim – trigo cv. BRS Timbaúva, Cen – centeio, Sat – tritcale cv. BRS Saturno, Uli – tritcale BRS Ulisses, T- – trigo não infectado.



**Figura 3.** Sintomas sistêmicos causados pelo isolado 915 de WSMV em *Triticum aestivum* cv. BRS Guabiju (A), Embrapa 16 (B) e BRS Timbaúva (C), *Zea mays* (D), *Secale cereale* cv. BRS Serrano (E), *Hordeum vulgare* (F), × Triticosecale cv. BRS Saturno (G) e BRS Ulisses (H).

## Reação de cultivares brasileiras de trigo ao *Wheat streak mosaic virus*

Douglas Lau<sup>1</sup> e Paulo Roberto Valle da Silva Pereira<sup>1</sup>

Embrapa Trigo, BR 285, km 294, CEP 99001-970, Passo Fundo- RS, Brasil.

### Introdução

O vírus do mosaico estriado (*Wheat streak mosaic virus* WSMV - *Potyviridae*, *Tritimovirus*) foi recentemente detectado no Brasil (MAR et al., 2013). Em países em que ocorrem epidemias em lavouras de trigo os danos à produção podem atingir 100% (HADI et al., 2011). No Brasil, o ácaro vetor *Aceria tosichella* foi relatado em 2006 no noroeste do Rio Grande do Sul e desde então tem havido ampliação da sua área de ocorrência (NAVIA et al., 2013). Apesar disto não tem ocorrido epidemias de mosaico estriado nas lavouras brasileiras. Este trabalho objetivou avaliar a resistência de genótipos de trigo brasileiros ao WSMV o que permite ao mesmo tempo esclarecer se o fator hospedeiro tem impedido a ocorrência de epidemias de mosaico estriado e por outro levantar o potencial de dano deste vírus no Brasil. Foram avaliadas as cultivares do ensaio do Ensaio Estadual de Cultivares de Trigo do Rio Grande do Sul (EECT-RS) em 2012 que representam a maior parte dos genótipos em uso na região de maior ocorrência de *A. tosichella*.

### Material e Métodos

Foram avaliadas 37 cultivares de trigo: 32 cultivares do EECT-RS 2012 e cinco cultivares (BRS Timbaúva, Embrapa 16, BR 14, BR 35 e BRS Guabiju) rotineiramente utilizadas em trabalhos com viroses de trigo. Destas BRS Timbaúva, Embrapa 16 e BRS Guabiju já haviam sido previamente avaliadas como suscetíveis ao WSMV (MAR et al., 2013). O isolado viral utilizado, denominado 915 (GenBank: KC152463), é originário de trigo coletado em Passo Fundo em 2011 (S28 13' 49,89000"; O52 24' 15,99000"). O inóculo viral mantido congelado a -20 °C foi multiplicado em plantas de trigo cv BRS Guabiju. O ensaio foi realizado em condições de câmaras de crescimento de plantas da Embrapa Trigo entre novembro e dezembro de 2012. As cultivares de trigo foram semeadas em 19 de novembro de 2012 em copos plásticos (capacidade de 700 mL), cultivando-se cerca de 10 plantas por vaso. A inoculação ocorreu em três de dezembro (estádio de afilhamento). Para a preparação do inóculo, folhas de BRS Guabiju infectadas foram maceradas em tampão fosfato de potássio (0,2M, pH 7). As plantas a serem inoculadas foram pulverizadas com celite e esfregou-se o inóculo sobre as folhas de trigo. A avaliação visual dos sintomas foi realizada 14 dias após a inoculação, quando também foram colhidas folhas para DAS-ELISA. O DAS-ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) foi realizado utilizando anti-soros da Agdia ([www.agdia.com](http://www.agdia.com)) específicos para WSMV diluídos em uma proporção de 1:200 (v/v).

Uma estimativa dos danos aos componentes de rendimento causados por WSMV foi realizada para a cultivar BRS Guabiju. Plantas dessa cultivar, conduzidas e inoculadas como descrito acima foram transplantadas para vasos com capacidade de 7 litros e conduzidas até o final de ciclo. O dano à estatura de planta, à massa da parte aérea, massa de raiz, comprimento de raiz, número de grãos e peso total de grãos foi estimado por comparação entre o conjunto de plantas inoculadas (I) e de plantas não inoculadas (NI) conforme a fórmula:  $\text{Dano\%} = (NI - I)/(NI) \times 100$ .

## Resultados e Discussão

Todas as cultivares brasileiras de trigo avaliadas são suscetíveis ao WSMV, pois exibiram sintomas e foram soropositivas. Os sintomas eram evidentes duas semanas após a inoculação. Houve variação na intensidade dos sintomas. Os sintomas mais brandos eram de mosaico, e os sintomas mais severos eram expressos na forma de um forte amarelecimento (Tabela 1). Embora tenha ocorrido variação significativa de absorbância no DAS-ELISA, todas as cultivares obtiveram valores de ABS (405nm) superior ao controle positivo e 2,5 vezes superior ao controle negativo (Figura 1). Não houve relação evidente entre o tipo e severidade de sintomas e valores de Absorbância.

A cultivar BRS Guabiju quando infectada por WSMV exibiu inicialmente riscas esbranquiçadas nas folhas. Este sintomas progrediram para um mosaico generalizado, que posteriormente resultaram em amarelecimento das folhas. As plantas inoculadas em relação as não inoculadas apresentaram uma redução média de 46% da estatura, 40% no número de espigas, 73% na massa seca da parte aérea, 80% da massa de raízes, 70% do número de grãos e 76% do peso total de grãos.

O fato de o conjunto de cultivares mais empregadas nas áreas com ocorrência de *A. tosichella* no Brasil serem suscetíveis ao WSMV indica que a ausência de epidemias da virose no Brasil provavelmente não se deve ao fator hospedeiro. A resistência ao vetor não foi testada e, portanto, não pode ser excluída, mas os recorrentes surtos de *A. tosichella* em trigo em casas de vegetação sugerem que o trigo brasileiro permite boa multiplicação do ácaro. Assim, é possível que as condições de clima do sul do Brasil não sejam favoráveis ao vetor. A despeito disso, caso condições epidemiológicas favoráveis venham a ocorrer, o potencial de dano estimado por este trabalho é alto posto que as cultivares empregadas são suscetíveis.

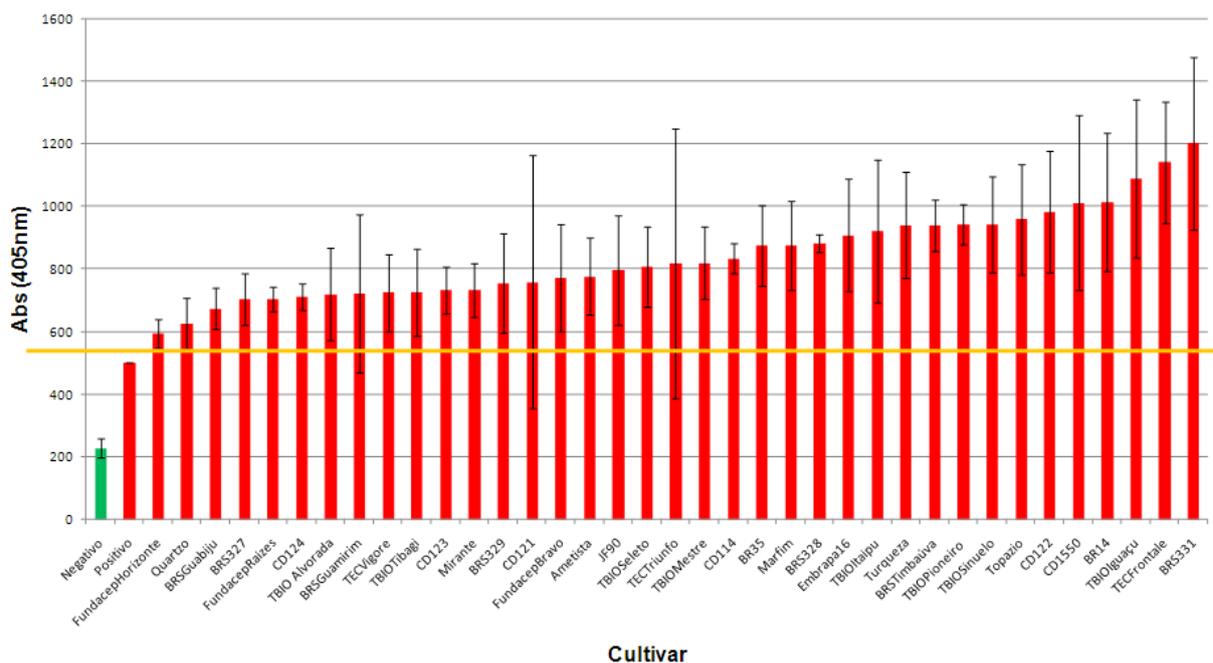
## Referências

- HADI, B. A. R.; LANGHAM, M. A. C.; OSBORNE, L.; TILMON, K. J. *Wheat Streak Mosaic Virus* on Wheat: Biology and Management. **Journal of Integrated Pest Management**, Annapolis, v. 2, n.1, p.1-5, 2011.
- MAR, T. B.; LAU, D.; SCHONS, J.; PEREIRA, P. R. V. S.; CARMINATTI, A. J. Identification and characterization of *Wheat Streak Mosaic Virus* Isolates in wheat-growing areas in Brazil. **International Journal of Agronomy**. Cairo, 2013. 6 p. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/983414>>.
- NAVIA, D.; MENDONÇA, R. S.; SKORACKA, A.; SZYDŁO, W.; KNIHINICKI, D.; HEIN, G. L.; PEREIRA, P. R. V. S.; TRUOL, G.; LAU, D. Wheat curl mite, *Aceria tosichella*, and transmitted viruses: an expanding pest complex affecting cereal crops. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 59, n. 1/2, p. 95-143, 2013.

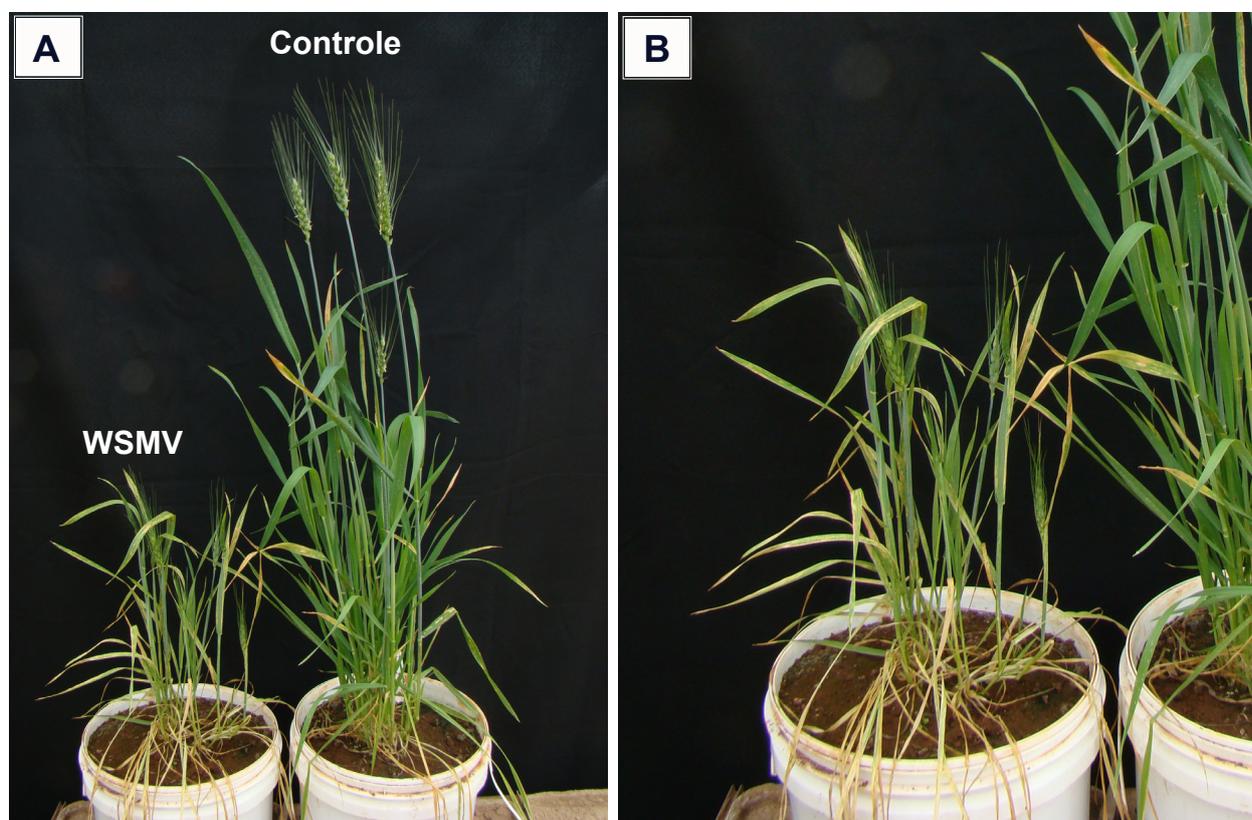
**Tabela 1.** Reação de cultivares brasileiras de trigo ao WSMV

Cultivar	Sintomas	Nota
BRS 327	Amarelecimento	4
CD 124	Mosaico	4
BRS Guamirim	Mosaico	4
BRS 329	Mosaico	4
CD 121	Mosaico	4
TEC Triunfo	Mosaico	4
BRS Timbaúva	Mosaico	4
TBIO Itaipu	Mosaico	7
BR 14	Amarelecimento	7
TBIO Tibagi	Mosaico	8
CD 114	Mosaico/Amarelecimento	8
BRS Guabiju	Mosaico/Amarelecimento	9
Embrapa 16	Mosaico	9
TBIO Pioneiro	Mosaico	9
CD 122	Mosaico/Amarelecimento	9
TBIO Alvorada	Mosaico	10
BR 35	Mosaico	10
CD 1550	Mosaico/Amarelecimento	10
Ametista	Mosaico	11
Quartzo	Mosaico	12
Mirante	Mosaico/Amarelecimento	12
TBIO Mestre	Mosaico	12
Marfim	Mosaico	12
Turqueza	Mosaico	12
TBIO Sinuelo	Mosaico	12
TEC Frontale	Mosaico/Amarelecimento	12
BRS 331	Mosaico/Amarelecimento	12
CD 123	Mosaico/Amarelecimento	13
BRS 328	Mosaico/Amarelecimento	13
JF90	Mosaico/Amarelecimento	14
TBIO Iguaçu	Mosaico/Amarelecimento	16
Fundacep Raizes	Mosaico/Amarelecimento	20
Topazio	Mosaico/Amarelecimento	20
TBIO Seletto	Mosaico/Amarelecimento	21
TEC Vigore	Mosaico/Amarelecimento	25
Fundacep Horizonte	Mosaico/Amarelecimento	26
Fundacep Bravo	Mosaico/Amarelecimento	32

## DAS – ELISA / WSMV:



**Figura 1.** DAS-ELISA para diagnóstico de WSMV em cultivares do Ensaio Estadual de Cultivares de Trigo do Rio Grande do Sul em 2012. Passo Fundo, 2012.



**Figura 2.** Sintomas de mosaico estriado causado por WSMV em BRS Guabiju. Passo Fundo, 2012. A - Comparativo entre plantas com vírus (esquerda) e sem vírus (direita). B - Detalhes dos sintomas nas plantas com vírus.

**Tabela 1.** Danos causados por WSMV aos componentes de rendimento

Nº Vaso	Plantas	Altura (cm)	Espigas	M. Seca		Comp	T. espigas (cm)	Nº Grãos	Massa		Peso grãos (g)
				(g)	P.raiz (g)				Raiz (cm)	Total (g)	
01-NI*	8	65	19n+0	31,7	3,0	15,4	6	440	34,6	13,542	
02-I**	7	34	12n+0	6,6	0,3	8,7	3,5	101	5,4	2,3	
03-I	8	30	12n+1an	7,3	0,8	9,9	4	111	8,1	2,6	
04-I	9	36	14n+1an	11,0	0,7	11,1	4	161	11,7	4,2	
05-I	9	35	16n+1an	11,8	0,7	12,0	4	175	12,5	4,4	
06-I	8	35	11n+1an	8,1	0,6	11,6	4,5	144	8,6	3,4	
07-I	8	39	8n+1an	9,0	0,4	10,3	5	115	9,5	3,0	
08-I	6	32	8n+4an	7,2	0,5	11,5	4,5	82	7,7	1,9	
09-I	8	38	10n	8,7	0,4	8,7	5	175	5,4	4,5	
Média I	7,9	34,9	11,4	8,7	0,6	10,5	4,3	133,0	8,6	3,3	
Dano%	-1,6	-46,3	-40,1	-72,5	-81,4	-32,0	-28,1	-69,8	-75,2	-75,7	

\*NI - Não inoculado com WSMV.

\*\*I - Inoculado com WSMV.

## Desenvolvimento de métodos eficientes de detecção para WSMV e HPV para uso de estações quarentenárias

Márcio Martinello Sanches<sup>1</sup> e Thais Pereira Martins<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, final W5 Norte, Cx. Postal 02372, 70.770-917, Brasília, Brasil.

### Introdução

O Laboratório de Quarentena Vegetal do Cenargen tem recebido grande quantidade de amostras trigo de alto risco, oriundas de países como Argentina, Estados Unidos e México onde o patossistema *Aceria tosichella* e vírus transmitidos está plenamente estabelecido. Além de receber amostras de germoplasma de milho que podem eventualmente conter esses vírus. As análises quarentenárias para vírus são realizadas através do plantio de sementes em casa-de-vegetação quarentenária para observação de sintomas e coleta de folhas para inoculação em gama de hospedeiros, testes sorológicos (ELISA) com kits comerciais e testes moleculares (RT-PCR). Como o patossistema não está estabelecido no Brasil, é necessário aprimorar e validar essas etapas da análise quarentenária em condições brasileiras, principalmente devido a baixa taxa de transmissão desses vírus por sementes (0,2 a 0,5% para WSMV e 0,016% para HPV) (JONES et al., 2005; LEBAS et al., 2005) dificultando a detecção dos mesmos em lotes de sementes importadas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e otimizar métodos para diagnóstico de WSMV e HPV para utilização em estações quarentenárias.

### Material e Métodos

Foram utilizados dois isolados de WSMV coletados em Passo Fundo-RS e dois isolados de HPV coletados na Argentina (Córdoba e Buenos Aires). O RNA das plantas infectadas foi extraído na Embrapa Trigo e INTA-Argentina, bem como a síntese de cDNA viral. Os isolados foram amplificados por PCR com oligonucleotídeos específicos (LEBAS et al., 2005; MAR, 2012), o produto de PCR clonado em plasmídeo pGEM-T easy (Promega) e enviados ao Laboratório de Quarentena Vegetal do Cenargen. Os testes de otimização para PCR convencional foram realizados com os seguintes oligonucleotídeos: WSMV-F/WSMV-R (MAR, 2012) e SB104/SB105 (JONES et al., 2005) para WSMV; HPV-F1/HPV-R1 (LEBAS et al., 2005) para HPV e TaActinF/TaActinR (MAR, 2012) para o gene da actina do hospedeiro (controle endógeno). Foram utilizados os plasmídeos recombinantes na diluição  $10^{-2}$  para os testes específicos para WSMV e HPV e cDNA de plantas de trigo para o teste de controle endógeno. Foram testadas concentrações de MgCl<sub>2</sub> variando de 1,5 a 4,5 mM e temperaturas de anelamento variando de 50 a 60°C. Os produtos de PCR foram visualizados através de eletroforese em gel de agarose corados com GelRed (Biotium). As condições otimizadas das reações para WSMV e HPV foram testadas em diluições seriadas dos plasmídeos de  $10^{-1}$  a  $10^{-10}$ . Métodos para diagnose através de real-time PCR utilizando o corante fluorescente SYBR Green foram desenvolvidos para WSMV, HPV e controle endógeno. Foram desenhados os oligonucleotídeos HPVFW414 (5' GAG TGC TGG TTT TTC TAA GGA GCA CA 3' e HPVREV565 (5' CTG ACC ATA GGT GCC ACA AGG TCT GA 3') para HPV. Para WSMV foram utilizados os oligonucleotídeos SB104/SB105 descritos por Jones et al. (2005) para PCR convencional. Para todas as reações foi utilizado o kit SYBR Green Master Mix numa plataforma Rotor Gene 5plex HRM (Qiagen). A concentração de oligonucleotídeo foi otimizada para cada

teste e as estas condições foram testadas em diluições seriadas dos plasmídeos em triplicata de  $10^{-2}$  a  $10^{-10}$ . Para a diagnose diretamente a partir de sementes, a extração do RNA foi comparada utilizando-se o método descrito por Sangha et al. (2010) com diferentes pesos de sementes e também os kits comerciais Rneasy (Qiagen) e Trizol (Invitrogen). Foram utilizadas sementes das cultivares de trigo BRS Guabijú, BRS Guamirim, BRS Timbaúva e Embrapa 16; de triticales BRS Ulisses e BRS Saturno; de milho e soja. A concentração e a qualidade do RNA extraído foi checada em espectrofotômetro nanodrop (Thermo Scientific) e através da amplificação do gene da actina por RT-PCR.

## Resultados e Discussão

As melhores condições de amplificação por PCR convencional para os conjuntos testados estão descritas na tabela 1. Estas condições permitiram a amplificação até a diluição de  $10^{-10}$  para o conjunto WSMVF/WSMVR, de  $10^{-6}$  para o conjunto SB104/SB105 e de  $10^{-3}$  para o conjunto HPV-F1/HPV-R1 (Figura 1). O método desenvolvido para diagnose por real-time PCR com SYBR Green para HPV mostrou eficiência de amplificação de 0,99 (Figura 2a), amplificando os isolados até a diluição de  $10^{-8}$ . A análise da curva de *melting* mostrou a presença de apenas um pico, demonstrando a especificidade do método. Não ocorreu a amplificação em amostras de trigo sadias. Para WSMV foi desenhando um par de oligonucleotídeos para real-time PCR, porém ocorreu amplificação em amostras sadias (dados não mostrados). Desta forma, utilizou-se o conjunto SB104/SB105 desenvolvido para PCR convencional. O conjunto mostrou eficiência de amplificação de 0,99 amplificando os isolados até a diluição de  $10^{-6}$  e também com apenas um pico na curva de *melting* (Figura 2b). No entanto, comparado a outros ensaios de real-time PCR e também aos resultados obtidos com PCR convencional, a sensibilidade do método ficou abaixo do esperado, provavelmente pelo tamanho do fragmento amplificado de cerca de 400 bp, acima do recomendado para ensaios de real-time PCR. Ambos os ensaios de real-time PCR foram otimizados com concentração final de cada oligonucleotídeo 0,5  $\mu$ M. O método descrito por Sangha et al. (2010) mostrou-se mais eficiente para extração de RNA diretamente a partir de sementes. Para sementes de soja e milho o peso de 0,5 g de sementes foi suficiente para garantir bom rendimento de RNA, embora para soja o peso de 1,2 g de sementes aumentasse o rendimento para 654 ng/ $\mu$ l. Para trigo obteve-se melhores resultados com 1,0 g de sementes da cultivar BRS Guamirim seca (53,9 ng/ $\mu$ l) e com 1,2 g de sementes da cultivar BRS Guabijú previamente umedecida (157,3 ng/ $\mu$ l). Para triticales o melhor resultado foi com 1,0 g de sementes de BRS Ulisses seca (164,8 ng/ $\mu$ l). A qualidade do RNA, mensurada através da razão A260/A280 apresentou valores próximos a 2,00 indicando ausência de contaminação por proteínas. O RNA das sementes foi testado em RT-PCR para o gene da actina, apresentando amplificação em torno de 500 bp como esperado. Apesar de não se obter sementes contaminadas com HPV e WSMV, testes com o RNA de sementes de soja infectadas com *Soybean mosaic virus* resultaram em detecção deste vírus através de RT-PCR convencional e real-time PCR (dados não mostrados). Os testes específicos para WSMV e HPV otimizados serão validados conforme metodologia preconizada pela *European and Mediterranean Plant Protection Organization* (EPPO).

## Referências

JONES, R. A. C.; COUTTS, B. A.; MACKIE, A. E.; DWYER, G. I. Seed transmission of *Wheat streak mosaic virus* shown unequivocally in wheat. **Plant Disease**, St. Paul, v. 89, n. 10, p. 1048-1050, 2005.

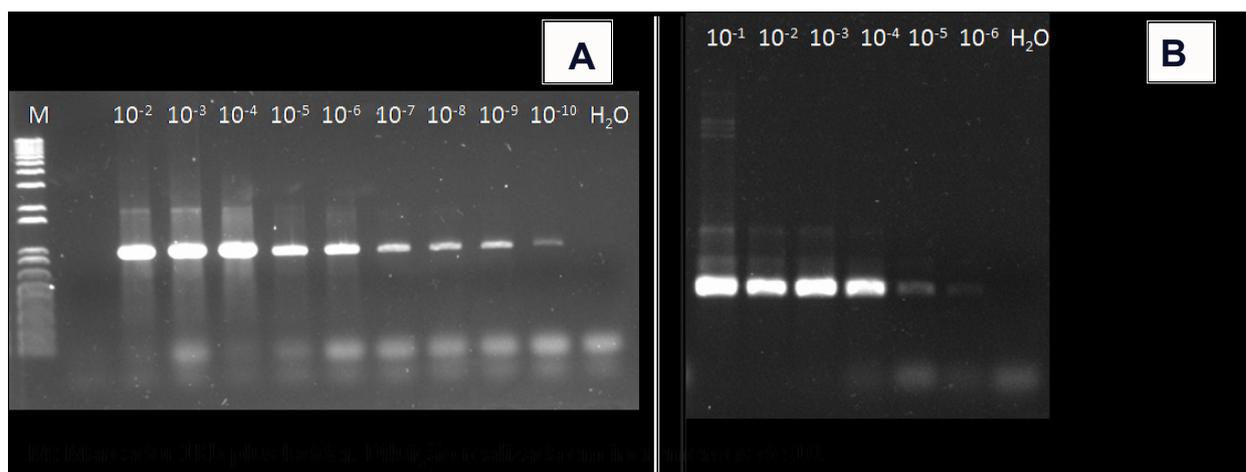
LEBAS, B. S. M.; OCHOA-CORONA, F. M.; ELLIOTT, D. R.; TANG, Z.; ALEXANDER, B. J. R. Development of an RT-PCR for *High Plains virus* indexing scheme in New Zealand post-entry quarantine. *Plant Disease*, St. Paul, v. 89, n. 10, p. 1103-1108, 2005.

MAR, T. B. **Ocorrência e caracterização do *Wheat streak mosaic virus* no Brasil**. 2012. 112 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo.

SANGHA, J. S.; GU, K.; KAUR, J.; YIN, Z. An improved method for RNA isolation and cDNA library construction from immature seeds of *Jatropha curcas* L. *BMC Research Notes*, v. 3, n. 126, p. 6, 2010.

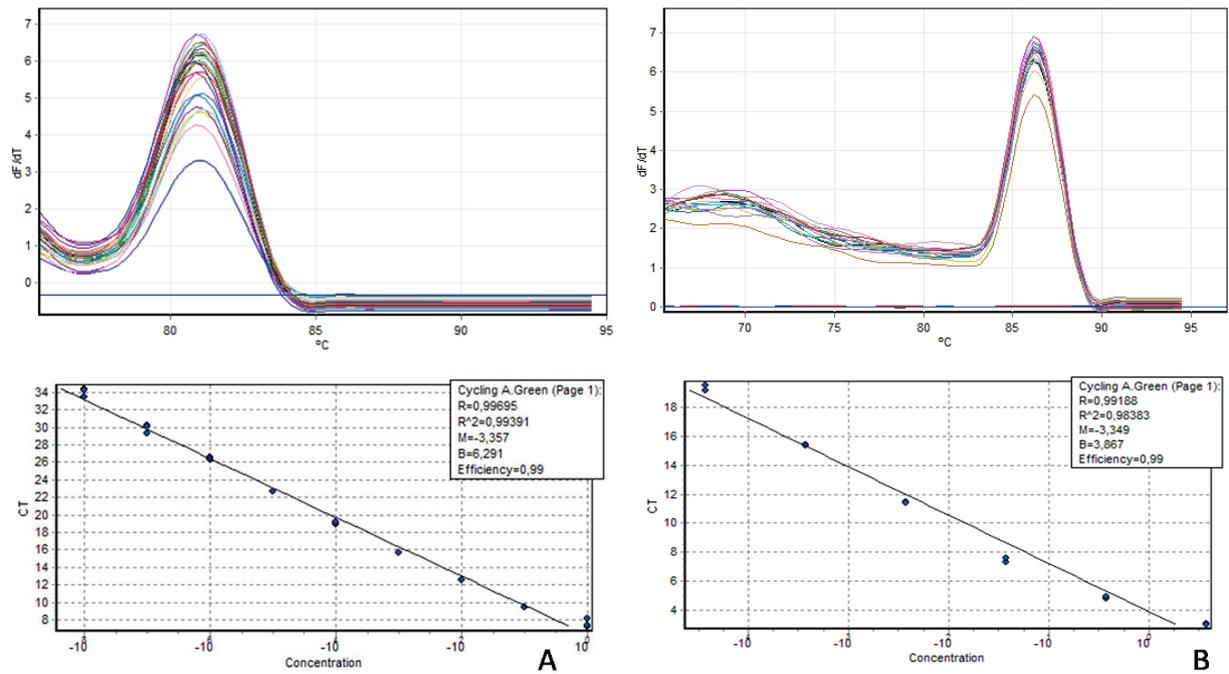
**Tabela 1.** Condições otimizadas para oligonucleotídeos específicos para WSMV, HPV e gene da actina.

Par de oligonucleotídeo	Conc. de MgCl <sub>2</sub> (mM)	Temp. de anelamento (°C)
WSMVF/WSMVR	2,25	57
SB104/SB105	1,5	57
HPV-F1/HPV-R1	1,5	50
TaActinF/TaActinR	4,5	50



M: Marcador 1Kb plus ladder. Diluição realizada em incrementos de 10.

**Figura 1.** Padrão eletroforético do PCR convencional usando diluição seriada com plasmídeos recombinantes. A - WSMVR/WSMVF; B - SB104/SB105.



**Figura 2.** Real-time PCR usando diluição seriada com plasmídeos recombinantes. A - HPV, B - WSMV. Figura superior: curva de *melting*. Figura inferior: curva padrão com valores de Cycle threshold (ct). A diluição foi efetuada com incrementos de 10.

## Probabilidade de estabelecimento do Ácaro do Enrolamento do Trigo, *Aceria tosichella* Keifer, no Brasil

Norton Polo Benito<sup>1</sup>, Denise Navia<sup>1</sup>, José Wagner da Silva Melo<sup>1</sup>, Graciela Truol<sup>2</sup>, Paulo Roberto Valle da Silva Pereira<sup>3</sup> e Douglas Lau<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, final W5 Norte, Cx. Postal 02372, 70.770-917, Brasília, Brasil. <sup>2</sup>Instituto de Patología Vegetal - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (IPAVE-INTA). Camino 60 cuadras Km. 5 ½ (X5020ICA), Córdoba, Argentina. <sup>3</sup>Embrapa Trigo, BR 285, km 294, CEP 99001-970, Passo Fundo- RS, Brasil.

### Introdução

O ácaro do enrolamento do trigo, *Aceria tosichella* Keifer (Prostigmata: Eriophyidae), é vetor de quatro importantes vírus fitopatogênicos que causam perdas em culturas de cereais, o *Wheat streak mosaic virus* (WSMV), o *High plains virus* (HPV), o *Brome streak mosaic virus* (BrSMV) e o *Triticum mosaics virus* (TriMV) (NAVIA et al., 2013). Alguns aspectos relacionados à bioecologia de *A. tosichella* favorecem a disseminação dos vírus: elevada capacidade de reprodução (sob condições ideais de temperatura, três milhões de indivíduos podem ser gerados em dois meses); necessidade de um curto período de tempo para o ácaro adquirir o vírus e tornar-se transmissor; alimentação em diferentes culturas de cereais, tendo mais de 90 gramíneas hospedeiras; alta capacidade de dispersão dentro de uma área ou região (SCHIFFER et al. 2009; NAVIA et al., 2013).

A primeira detecção do ácaro do enrolamento do trigo na América do Sul foi na Argentina, em 2004, em plantas de trigo infectadas por WSMV (NAVIA et al., 2006). No Brasil, o ácaro foi encontrado pela primeira vez em 2006, no estado do Rio Grande do Sul, em plantas de trigo (PEREIRA et al., 2009). Provavelmente, a entrada de *A. tosichella* no estado do Rio Grande do Sul se deu pela ação dos ventos ou por transporte humano não intencional. No país, o vírus WSMV foi detectado em cultivos de trigo no Rio Grande do Sul (MAR et al., 2013), entretanto, infecções severas em campo ainda não foram detectadas.

A indicação de áreas onde o ácaro apresenta maior probabilidade de estabelecimento no território brasileiro é extremamente importante tanto para a priorização de áreas para o monitoramento de ocorrência do patossistema quanto para a definição de medidas que minimizem seu impacto no país. Este trabalho teve como objetivo estimar a probabilidade de estabelecimento de *A. tosichella* no Brasil utilizando dois diferentes modelos de nicho ecológicos.

### Material e Métodos

Foram utilizados dois modelos de nicho ecológico, GARP (*Genetic Algorithm for Rules set Production*) with *Best subsets – Desktop implementation* e Máxima Entropia (rodados em programas diferentes, openModeller 1.1.0 e Maxent 3.3.3k, respectivamente). No modelo GARP foram utilizadas as seguintes configurações das regras: Proporção de ocorrências para teste [50], Total de execuções [20], Limite máximo de erros de omissão [100], Modelos sob limite de omissão [20], Limite de comissão [50], Tamanho da amostra de erro de comissão [999], Número máximo de linhas [1], Número máximo de gerações [400] Limite de convergência [0,01], Tamanho da população [50], Amostragem de pontos usados no teste de regras [2500] (ANDERSON et al., 2003). Para o modelo de Máxima Entropia foram utilizadas as regras: Auto características (características dependentes do tamanho da amostra), saída em formato logístico, gerações

aleatórias, cinco repetições com validação cruzada, valor de regularização [1], Máximo de interações [2000], Limite de convergência [10-5], número de máximo de pontos em background [20000] e método Jackknife para estimar quais as variáveis são as mais importantes para o modelo.

Foram utilizados 329 pontos de presença do ácaro distribuídos em 32 países nos continentes Americano, Europeu, Africano (presença do vírus transmitido por *A. tosichella*, Asiático e Oceania (NAVIA et al., 2013). Estas informações foram retiradas de publicações científicas que citam a coleta de *A. tosichella* ou a presença dos vírus que o ácaro transmite. Foram utilizadas as coordenadas de coleta (latitude, longitude) e quando as coordenadas não foram citadas foram utilizados os nomes dos lugares de coleta e, por meio da ferramenta *Google Earth*, foram encontradas as coordenadas aproximadas para estes locais. Não foram utilizadas informações de publicações que não apresentavam detalhes dos locais ou regiões de coleta.

Os pontos de presença do ácaro no Brasil não foram utilizados, porque apesar de relatado no Brasil o ácaro não apresenta elevadas populações e não foram relatados problemas no campo com estes ácaros e os vírus transmitidos, desta forma, a utilização desses pontos de presença forçaria os modelos a elevar a probabilidade de estabelecimento no território brasileiro.

Os dados climáticos utilizados foram Temperatura máxima, média e mínima, Precipitação, Altitude e os dados Bioclimáticos, BIO1 a BIO19 (WORLDCLIM..., 2013).

Para a padronização dos resultados dos dois modelos testados a probabilidade de estabelecimento foi dividida em seis classes para facilitar a comparação e o entendimento dos mapas (MARÇAL et al., 2013). A essas classes foi estabelecido um comportamento padrão para a dinâmica da população da praga. A classe 1 (0% de probabilidade) corresponde a áreas onde a praga não pode se estabelecer, mesmo que ocorra sua entrada nesta área; a classe 2 (até 20% de probabilidade) corresponde a áreas onde a praga pode se estabelecer sobrevivendo em alguns meses do ano e necessitando de constante reentrada de indivíduos para manutenção das populações; a classe 3 (até 40% de probabilidade) corresponde a áreas onde a praga pode se estabelecer, porém, seu desenvolvimento é lento e as populações são baixas, não causando danos; a classe 4 (até 60% de probabilidade) corresponde a áreas onde a praga pode se estabelecer e desenvolver com limitações, ocasionando danos nos períodos com condições climáticas favoráveis; a classe 5 (até 80% de probabilidade) corresponde a áreas onde a praga pode se estabelecer e tem condições climáticas favoráveis para desenvolvimento, ocasionando danos; e a classe 6 (até 100% de probabilidade) corresponde a áreas onde a praga pode se estabelecer e tem condições climáticas ótimas para seu desenvolvimento, podendo ocasionar “outbreaks”.

## Resultados e Discussão

Nos mapas dos dois modelos testados (Figura 1 - A, B) a Região Sul do Brasil apresenta probabilidade de estabelecimento de *A. tosichella*. Observa-se, entretanto, que no modelo GARP a probabilidade está nas classes alta e muito alta, enquanto que no modelo de Máxima Entropia a probabilidade está nas classes muito baixa e com alguns pontos nas classes baixa e média o que condiz com as pequenas e isoladas populações de ácaros encontradas, até o momento, na Região Sul (vide resumo anterior sobre o mapeamento da distribuição geográfica de *A. tosichella* no Brasil).

Os resultados obtidos através do modelo GARP sugerem que o ácaro do enrolamento do trigo e os vírus associados poderão ter impacto sobre a cultura do trigo, visto que a Região Sul constitui a principal região tritícola do país. No modelo de Máxima Entropia para as áreas que apresentaram baixa ou média probabilidade de estabelecimento, é difícil prever se os vírus transmitidos por *A. tosichella* poderão se dispersar e assumir relevância, pois não há informações precisas sobre o tamanho da população do vetor para que ocorram epidemias.

Além do fator climático, a dispersão e o estabelecimento do ácaro na Região Sul do Brasil dependem de outras condições que não foram quantificadas na elaboração dos mapas, como

a presença e continuidade de plantas hospedeiras durante todo o ano, e a presença barreiras naturais para a dispersão do ácaro, como rios e serras.

Os resultados apresentados para a Argentina e Uruguai, em ambos os modelos GARP e Máxima entropia, estão de acordo com as informações de ocorrência de *A. tosichella* e/ou vírus associados nesses países. Na Argentina, as regiões centro-leste, ao sul de Buenos Aires, e a região de Córdoba, ao norte de Buenos Aires, apresentaram as classes de probabilidade alta e muito alta para o estabelecimento do ácaro, o que corresponde a regiões que tem apresentado problemas com infestações dos vírus WSMV e HPV, chegando a 100% de perdas (TRUOL; SAGADIN, 2008a, 2008b).

Esses resultados iniciais apontam a necessidade de uma maior investigação para esclarecer a real possibilidade de *A. tosichella* ocasionar danos no Brasil. Alguns fatores são importantes na análise desses resultados e para as investigações futuras:

1. é necessário trabalhar com outras informações e ajustes para melhorar a acurácia dos mapas nos modelos GARP e Máxima entropia, como por exemplo a obtenção de dados climáticos de um maior número de estações meteorológicas e posterior ajuste de alguns parâmetros utilizados nos modelos;
2. trabalhar nos modelos GARP e Máxima entropia atribuindo um peso para cada ponto de presença do ácaro, considerando que para cada região onde ele é relatado os níveis de infestação e danos ocasionados são diferentes;
3. realizar testes com outros modelos de distribuição de espécies, que trabalham com dados biológicos, por exemplo Climex, sendo necessário obter dados mais detalhados da biologia e da dinâmica populacional do ácaro, em laboratório e campo;
4. o resultado do modelo não pode ter muito elementos que sejam restritivos a delimitação da distribuição da espécie, porque espécies invasoras, em geral, tem grande plasticidade climática e de hospedeiros.

## Referências

ANDERSON, R. P.; LEW, D.; PETERSON, A. T. Evaluating predictive models of species distributions: criteria for selecting optimal models. *Ecological Modelling*, Amsterdam, v. 162, n. 3, p. 211-232. 2003.

MAR, T. B.; LAU, D.; SCHONS, J.; PEREIRA, P. R. V. S.; CARMINATTI, A. J. Identification and characterization of *Wheat Streak Mosaic Virus* Isolates in wheat-growing areas in Brazil. *International Journal of Agronomy*. Cairo, 2013. 6 p. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/983414>>.

MARÇAL, G. G.; HAMADA, E.; BENITO, N. P.; NAVIA, D.; OLIVEIRA, T. C. de. Proposta metodológica para avaliação dos impactos das mudanças climáticas em pragas quarentenárias: estudo de caso em praga do coqueiro no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 16., 2013, Foz do Iguaçu. Anais... São José dos Campos: INPE, 2013. p. 4383-4389.

NAVIA, D.; MENDONÇA, R. S. de; SKORACKA, A.; SZYDŁO, W.; KNIHINICKI, D.; HEIN, G. L.; PEREIRA, P. R. V.; TRUOL, G.; DOUGLAS, L. The wheat curl mite, *Aceria tosichella*, and transmitted viruses: an expanding pest complex affecting cereal crops. *Experimental and Applied Acarology*, Amsterdam, v. 59, n. 1/2, p. 95-143, 2013.

NAVIA, D.; TRUOL, G.; MENDOÇA, R. S.; SAGADIN, M. *Aceria tosichella* Keifer (Acari: Eriophyidae) from *Wheat streak mosaic virus*-infected wheat plants in Argentina. *International Journal of Acarology*, Michigan, v. 32, n. 2, p. 189-193. 2006.

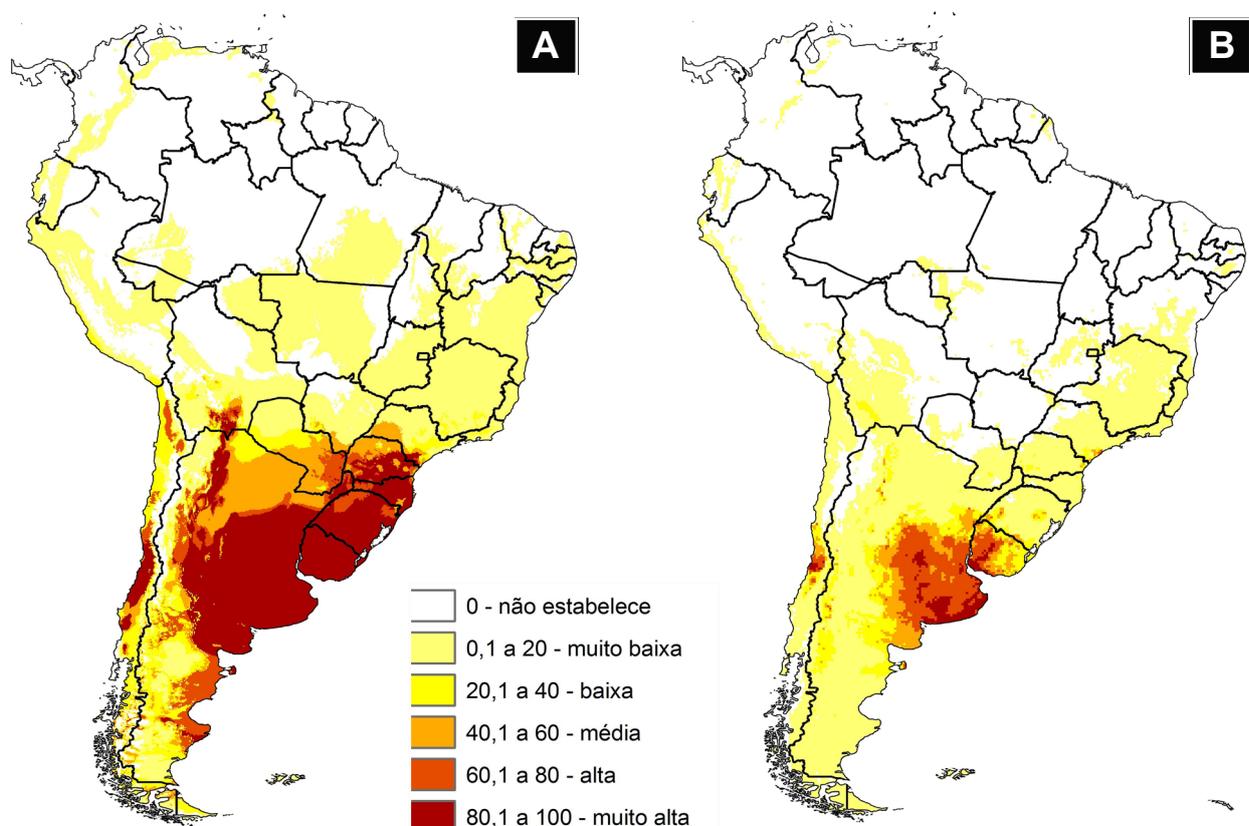
PEREIRA, P. R. V. S.; NAVIA, D.; SALVADORI, J. R.; LAU, D. Ocurrence of *Aceria tosichella* in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 44, n. 5, p. 539-542, 2009.

SCHIFFER, M.; UMINA, P.; HOFFMANN, A.; RODONI, B.; MILLER, A. The distribution of wheat curl mite (*Aceria tosichella*) lineages in Australia and their potential to transmit *Wheat streak mosaic virus*. *Annals of Applied Biology*, Cambridge, v. 155, n. 3, p. 371-379, 2009.

TRUOL, G.; SAGADIN, M. Presencia de High plain virus (HPV) nueva enfermedad del cultivo de trigo em La Provincia de Buenos Aires. In: CONGRESO NACIONAL DE TRIGO, 7., 2008, Santa Rosa. Resúmenes... Santa Rosa INTA-UNIPALM, 2008a. 4 p.

TRUOL, G.; SAGADIN, M. Presencia del *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) y *High Plains virus* (HPV) en la Provincia de Córdoba. In: CONGRESO ARGENTINO DE FITOPATOLOGÍA, 1., 2008, Cordoba. Libro de resúmenes... Cordoba: Asociación Argentina de Fitopatólogos, 2008b. p. 275.

WORLDCLIM - Global Climate Data. Disponível em: <<http://www.worldclim.org/bioclim>>. Acesso em: 15 de setembro de 2013.



**Figura 1.** Probabilidade de estabelecimento de *Aceria tosichella* Keifer no Brasil. A - Mapa utilizando modelo GARP with Best subsets – Desktop implementation (Genetic Algorithm Rules) no programa opeModeller 1.1.0. B - Mapa utilizando modelo de Máxima Entropia no programa Maxent 3.3.3k.