



***Ferrisia virgata* (Cockerell): vetora do *Piper yellow mottle virus* da pimenteira do reino.**

Monitoramento

Alessandra de Jesus Boari¹; Ana Carolina Sonsim de Oliveira¹; Ernesto Prado²; Késsia de Fátima Cunha Pantoja³; Cristiane Melo de Sousa³

¹ Embrapa Amazônia Oriental – Trav. Enéas Pinheiros s/n, Marco, 66095-100 Belém-PA, ajboari@cpatu.embrapa.br, ² EPAMIG – Campus da UFLA, CP 37, 37200-000, Lavras-MG - epradoster@gmail.com, ³ UFRA – Avenida Perimetral, 250, 1Belém - PA, 66077-830, carolsonsims@hotmail.com; cris.ufra@hotmail.com; kessiapantoja@yahoo.com.br;

RESUMO

A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) pode ser infectada pelos vírus *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Piper yellow mottle virus* (PYMoV), e podem causar grandes perdas na produção. Os sintomas causados por estes vírus são clorose, mosqueado, mosaico, clareamento de nervuras, deformação foliar, nanismo e redução da produção de frutos. O CMV é transmitido por pulgões enquanto que o PYMoV por cochonilhas. Há relato da associação da espécie de cochonilha *Pseudococcus elisae* com pimenteira do reino com sintomas de viroses no estado do Pará, mas não há comprovação de que é vetor do PYMoV. A identificação da espécie transmissora é importante para a elaboração de estratégias de controle, além de auxiliar nos estudos referentes à interação vírus-vetor. O objetivo deste trabalho foi identificar as espécies vetoras do PYMoV associadas à cultura da pimenta do reino, além de estudar hospedeiras multiplicadoras de cochonilhas. Foram identificadas as cochonilhas *Ferrisia virgata* (Cockerell) e *Planococcus minor* Maskell em pimenteiros do reino. A batata inglesa, batata doce e inhame propiciaram a criação de *P. minor*, enquanto que a palmeira *Chamaedorea elegans*, rebenta pedra (*Phyllanthus niruri* L.) e gladiolo (*Gladiolus* sp.) o de *F. virgata*. O PYMoV foi detectado,

por meio de PCR, em espécime das cochonilhas *F. virgata* e *P. minor* que se alimentaram anteriormente em plantas infectadas, entretanto observou-se a transmissão do vírus apenas pela *F. virgata*.

Palavras-chave: *Ferrisia virgata* L., PCR, poda.

ABSTRACT

***Ferrisia virgata* (Cockerell): vector of *Piper yellow mottle virus* on black pepper.**

Black pepper plants (*Piper nigrum* L.) can be infected by Cucumber mosaic virus (CMV) and *Piper yellow mottle virus* (PYMoV) either causing major yield losses. Symptoms caused by those viruses are chlorosis, mottling, mosaic, vein discoloration, leaf distortion, stunting and reduced numbers of berries per spike. CMV is transmitted by aphids and PYMoV by mealybugs. There are reports of a mealybug, *Pseudococcus elisae* associated to black pepper plants showing symptoms of viral diseases in the State of Para, but there is no evidence whether it is PYMoV virus vector or not. Species identification is important for establishing strategies for the control of diseases and to study the virus-vector interactions. The main goal of this study was to identify the vector species associated to PYMoV on black

pepper. Mealybugs, *Ferrisia virgata* and *Planococcus minor* were identified as PYMoV virus-vector in black pepper. Potatoes, sweet potatoes and yams enabled the establishment of *P. minor*, while the palm *Chamaedorea elegans*, stone bust (*Phyllanthus niruri* L.) and gladiolus leaves (*Gladiolus* sp.) are colonized by *F. virgata*.

PYMoV was detected by PCR in individuals mealybugs of *F. virgata* and *P. minor* previously fed on infected plants. However, virus transmission from pepper to pepper was obtained only through *F. virgata*.

Keywords: *Ferrisia virgata* L., PCR, transmission

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma especiaria condimentar de grande importância para o comércio agrícola internacional, sendo o Vietnã o maior produtor e exportador, seguido da Índia, Indonésia e Brasil. A produção brasileira de pimenta do reino, prevista para a safra 2009/2010, é de 35 mil toneladas, 90% produzidas no Pará, onde os maiores polos produtores são Castanhal, Tomé-Açu e Baião. O setor gera cerca de 25 mil empregos diretos e 100 mil indiretos. Durante a colheita, que dura de três a quatro meses, são mobilizadas 50 mil pessoas. Na última safra, a cultura gerou ao estado do Pará uma receita de US\$ 90 milhões. De 1999 a 2008 foram US\$ 783 milhões (Sampaio, 2009). Os estados do Espírito Santo, Bahia, Minas Gerais, Maranhão, Ceará e Paraíba são responsáveis por cerca de 10% da produção brasileira. A produtividade média, que já foi de 3 a 3,5 ton/ha, hoje é de 2,5 ton/ha devido, principalmente às doenças e dentre elas as viroses.

No Brasil, já foram relatados os vírus *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Piper yellow mottle virus* (PYMoV) e um isométrico ainda não identificado, sendo os dois primeiros verificados no estado do Pará. O CMV, pertencente ao gênero *Cucumovirus*, é transmitido por mais de 60 espécies de pulgões de maneira não circulativa. Foi relatado causando doenças em mais de 1.000 espécies de plantas, dentre elas, a pimenteira-do-reino, onde causa sintomas de mosaico, deformação foliar, clorose de nervuras, definhamento da planta e dano na produção. Na década de 90 foram detectadas partículas baciliformes em plantas de pimenta-do-reino no Pará, causando os sintomas de deformação foliar, mosqueado, clareamento das nervuras, manchas cloróticas e redução da produção de frutos (Albuquerque *et al.*, 1999). Posteriormente, foi diagnosticado como sendo de *Piper yellow mottle virus* (Brioso *et al.*, 2000). Há relatos de plantas com sintomas de viroses nas principais áreas produtoras do Pará, Tomé-Açu, Santa Izabel do Pará, Acará, Mocajuba, São Francisco do Pará, Peixe Boi, Altamira, Abaetetuba e Baião, agravando as perdas de produção da cultura.

Na Índia, Silva *et al.* (2002) verificaram que este vírus é transmitido pela cochonilha *Planacoccus citri* e pelo percevejo de renda *Corythucha ciliata* e, segundo Bhat *et al.* (2003), pela cochonilha *Ferrisia virgata*, por enxertia e mecanicamente. Já, no Brasil, Duarte *et al.* (2000) verificaram que a cochonilha *Pseudococcus elisae* se encontrava associada às plantas com sintomas de mosqueado. Mas nenhum teste de transmissão foi realizado para confirmá-la como vetora do PYMoV.

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi identificar as espécies vetoras do PYMoV associadas à cultura da pimenta do reino.

Os resultados obtidos darão subsídios à elaboração de estratégias de controle da virose de pimenta do reino bem como permitir estudos referentes à interação vírus-vetor.

MATERIAL E MÉTODOS

Cochonilhas foram coletadas do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) e de lavouras de pimenta do reino no estado do Pará. Essas foram multiplicadas a partir de um espécime de cochonilha. Após colonização essas foram identificadas por taxonomista. Foram identificadas as cochonilhas *Ferrisia virgata* (Cockerell) e *Planoccocus minor* Maskell. Para realização do teste de transmissão do vírus foi preciso inicialmente estudar hospedeiras promissoras para multiplicação das cochonilhas. Foram testadas diferentes hospedeiras para a criação das cochonilhas. Para *P. minor* testou-se mudas de pimenta do reino em casca de arroz queimada, mudas de helicônia, folhas destacadas de pimenta do reino e helicônia, raiz de batata doce, inhame e tubérculo de batata inglesa; para *F. virgata* testou-se a multiplicação em tubérculo de batata, pimenta do reino, muda de palmeira, rebenta pedra e gladiolo. Após multiplicação das cochonilhas *P. minor* e *F. virgata*, essas foram colocadas para alimentar (aquisição do vírus) em folha infectada destacada e em mudas infectadas pelo PYMoV, respectivamente, por 24 horas. Em seguida, dez espécimes de cochonilhas foram transferidas para cada muda de pimenta do reino das cultivares Apra e Kuthiravally de cerca de um mês de idade e mantidas por 24 horas para permitir a transmissão do vírus. Para *P. minor* foram testadas a transmissão em 35 mudas e para *F. virgata* 8 mudas. Três meses após foi feita a avaliação da transmissão por meio da sintomatologia e por teste de PCR utilizando primers específicos. Para o teste de PCR fez-se a extração de ácido nucléico a partir de folhas novas, segundo o protocolo de Gibbs & Mackenzie (1997), modificado. Em seguida, fez-se o teste de PCR e para isso foram utilizados 3 μ l do ácido nucléico, 3 μ l do tampão de reação 10X, 1,5 μ l de MgCl₂ (25 mM), 0,25 μ l de dNTP (10 mM), 0,15 μ l da Taq DNA Polimerase, 0,25 μ l dos primers específicos para PYMoV e 16,6 μ l de água ultra-pura. A reação consistirá de 30 ciclos de 94 °C, 49,5 °C e 72 °C, com duração de um minuto além de uma extensão de 72 °C por 10 minutos. Fragmentos de DNA foram observados e fotografados sob luz UV após a corrida eletroforética em gel de agarose (1,0%) e coloração em GelRed.

Foi feito o teste de PCR para PYMoV das cochonilhas *F. virgata* e *P. minor* da criação para comprovação de estarem isentas do vírus. Também foi feito o teste de PCR a partir de cochonilhas que se alimentaram por cerca de 24 horas em folha infectada pelo PYMoV para comprovação da aquisição do PYMoV. O teste de PCR foi feito a partir de um espécime de cochonilha.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para *P. minor* a melhor hospedeira de criação testada foi a batata inglesa brotada e em seguida, o inhame e batata doce. A criação de *P. minor* e *F. virgata* em mudas de pimenta do reino é viável apenas nos períodos chuvosos nas condições de estufa em Belém-PA quando a temperatura é mais amena. No período do ano mais quente a população é praticamente eliminada nas condições de estufa. As plantas palmeira, quebra pedra e o gladiolo são ótimas multiplicadora da cochonilha *F. virgata* desde que condicionadas em ambientes livre de sol direto e chuva.

Não foi detectada a presença do PYMoV em cochonilhas da criação por meio do PCR, mas este foi detectado tanto em um espécime de *F. virgata* como *P. minor* após alimentação por 24 horas em planta infectada, comprovando aquisição do vírus pelas

cochonilhas e a alta sensibilidade da técnica para detecção. Entretanto, só foi comprovada a transmissão do PYMoV para mudas de pimenta do reino quando se testou a espécie *F. virgata* (Figura 1). Das oito tentativas de transmissão três foram positivas por PCR (Figura 2). Em nenhuma das plantas inoculadas e mesmo nas positivas no PCR observou-se sintomas após três meses de inoculação. Provavelmente, o aparecimento dos sintomas ocorre com o desenvolvimento das plantas e/ou nas suas progênies, pois sabe-se que os sintomas se agravam a medida que se multiplicam plantas de propagação vegetativa infectadas por vírus. Bhat *et al.* (2003), também relataram a cochonilha *Ferrisia virgata* como transmissora do PYMoV na Índia.

Talvez a não transmissão do PYMoV pelo *P. minor* se deva ao fato do seu aparelho sugador ser cerca de 3 vezes maior que o seu comprimento. A manipulação pode estragar o estilete. Além, o tempo de inoculação, 24 horas, pode ser curto demais para a cochonilha atingir o floema. Tem sido observado estas podem demorar mais tempo para atingir a fase floemática. Os testes da transmissão continua, pois a *P. minor* parece ser a espécie predominante na cultura de pimenta do reino.

P. minor é uma praga importante de mais de 250 culturas pertencentes a cerca de 80 famílias cultivadas na África, Austrália, Ásia e regiões Neárticas, Neotropicais e Orientais (Venette & Davis 2004). Entre as culturas atacadas e de maior expressão econômica pode-se citar a banana, os citros, o cacau, o café, o milho, a uva, a manga, a batata, a berinjela, algodão e a soja (Reddy & Seetharama 1997, Lit Jr. *et al.* 1998, Reddy *et al.* 1999, Santa-Cecília *et al.* 2002, Venette & Davis 2004, Bastos *et al.* 2007). E por isso merece ser mais estudada com relação a transmissão do PYMoV.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e FINEP pelo apoio financeiro e bolsas.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE FC; TRINDADE DR; POLTRONIERI LS; DUARTE, ML R; BRIOSO PST; REZENDE JAM; KITAJIMA EW. 1999. Evidências preliminares da ocorrência do vírus do mosqueado da pimenteira-do-reino (*Piper yellow mottle virus* - PYMoV) no Brasil. Anais ... In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, XXII, 36. Anais... Jaboticabal: UNESP. P. 36.
- BASTOS CS; ALMEIDARP; VIDAL NETO FC; ARAÚJO GP. 2007. Ocorrência de *Planococcus minor* Maskell (Hemiptera: Pseudococcidae) em algodoeiro no Nordeste do Brasil. *Neotropical entomologia* 36: 625-628.
- BHAT AI; DEVASAHAYAM S; SARMA YR; PANT RP 2003. Association of a Badnavirus in black pepper (*Piper nigrum* L.) transmitted by mealbug. *Current Science*, 84, n.12, p.1547-1550,.
- BRIOSO PST; POZZER L; SILVA S; KITAJIMA EW; POLTRONIERI, LS; DUARTE MLR. 2000. Amplificação de fragmento específico do PYMoV a partir de pimenta do reino. In: XXXIII Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Anais ... Belém - PA. SBF: p. 438.

DUARTE MLR; ALBURQUEQUE FC, POLTRONIERI LS; TRINDADE DR; KITAJIMA EW; BRIOSO PST. *Mosqueado amarelo da pimenta-do-reino*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000, 20 p. (Embrapa Amazônia Oriental, Documentos, 62).

GIBBS A; MACKENZIE A. 1997. A primer pair for amplifying part of the genome of all potyvirids by RT-PCR. *Journal of virology methods* 63: 9-16.

LIT JR IL, LIT CM; CALILUNG VJ. 1998. The mealybugs (Pseudococcidae, Coccoidea, Hemiptera) in the Philippines. *Philippine Entomology* 12: 29-41.

REDDY KB; SEETHARAMA HG. 1997. Integrated management of mealybugs in coffee. *Indian Coffee* 61: 26-28.

REDDY KB; BHAT PK; NAIDU R. 1999. Suppression of mealybugs and green scale infesting coffee with natural enemies in Karnataka. *Pest Management and Economic Zoology* 5: 119-121.

SAMPAIO L. Comunidade Internacional debaterá a produção de pimenta do reino. Disponível em <http://www.sagri.pa.gov.br/?q=node/292>, acessado em 03 de maio de 2010.

SANTA-CECÍLIA, LVC, REIS PR; JC. 2002. Souza. Sobre a nomenclatura das espécies de cochonilhas-farinhas do cafeeiro nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo. *Neotropical Entomology* 31: 333-334.

SILVA DPP DE; JONES P; SHAW MW. 2002. Identification and transmission of *Piper yellow mottle virus* and *Cucumber mosaic virus* infecting black pepper (*Piper nigrum*) in Sri Lanka, *Plant Pathology* 51: 537-545.

VENNETE RC; DAVIS EE. 2004. Mini risk assessment passionvine mealybug: *Planococcus minor* (Malkell) [Pseudococcidae: Hemiptera]. Saint Paul, University of Minnesota, 30p.



Ferrisia virgata (Cockerell): vetora do *Piper yellow mottle virus* da pimenteira do reino.



Figura 1. *Ferrisia virgata* (Cockerell), vetora de *Piper yellow mottle virus* em pimenteira do reino. (*Ferrisia virgata* (Cockerell), vector of *Piper yellow mottle virus* on black pepper).

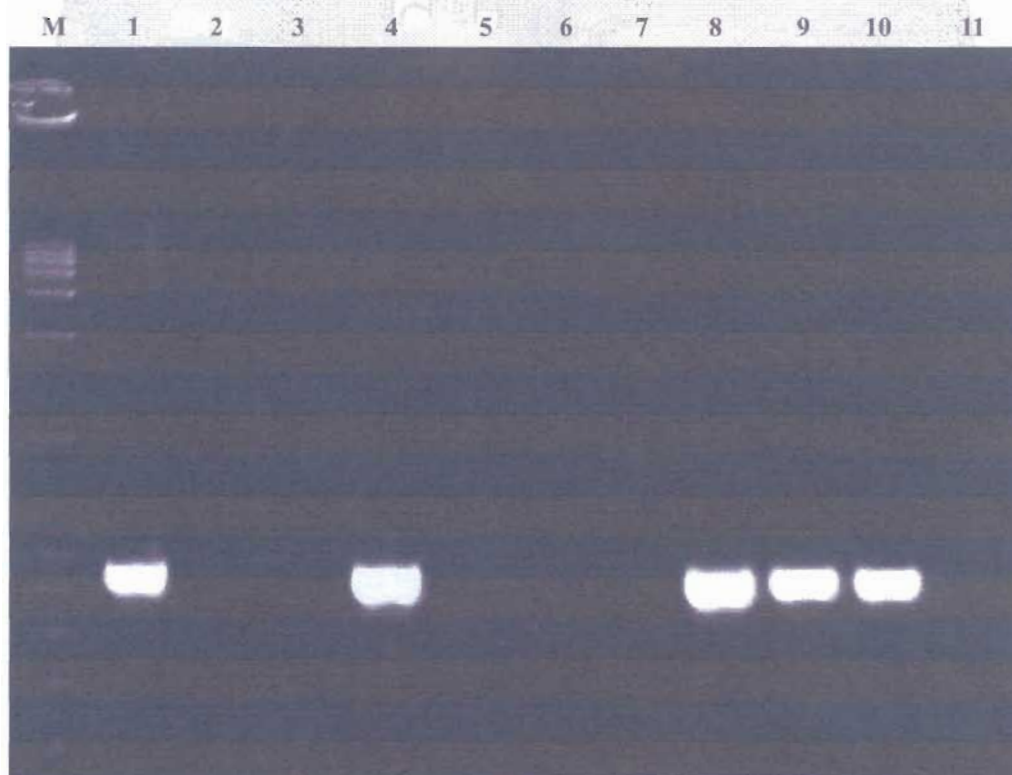


Figura 2. Produtos do PCR de PYMoV. M. Marcador plus 1 kb ladder; 1 e 10. Controle positivo PYMoV; 2. Controle sadio; 3-9 e 11. Transmissão com *Ferrisia virgata*. (PCR products of PYMoV. M. Plus 1kb ladder; 1 and 10. Positive control, Negative control, 3-9 and 11. Transmission with *Ferrisia virgata*.) Belém-PA Embrapa Amazônia Oriental, 2010.