



**Universidade Federal do Tocantins
Campus de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal**

ANANIAS PINTO DE QUEIROZ

**Trips (Thysanoptera: Thripidae): Identificação de
espécies e vírus associado à cultura da melancia**

**GURUPI – TO
2015**



**Universidade Federal do Tocantins
Campus de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal**

ANANIAS PINTO DE QUEIROZ

Tripes (Thysanoptera: Thripidae): Identificação de espécies e vírus associado à cultura da melancia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar

**GURUPI – TO
2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

Q3t Queiroz, Ananias Pinto de.
Tripos (Thysanoptera: Thripidae): Identificação de espécies e vírus
associado à cultura da melancia. / Ananias Pinto de Queiroz.
—Gurupi, TO, 2015.

98 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do
Tocantins — Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-
Graduação (Mestrado) em Produção Vegetal, 2015.
Orientador: Raimundo Wagner de Souza Aguiar

1. *Citrullus lanatus*. 2. Thysanoptera. 3. *Groundnut ringspot vírus*
(GRSV). 4. *Tospovirus*. I. Título

CDD 635

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS — A reprodução total ou
parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste
documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos
direitos do autor (Lei n° 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo
184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha
catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) a
utor(a).**



Universidade Federal do Tocantins
Campus de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

Ata nº 10/2015

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE ANANIAS PINTO DE QUEIROZ, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS

Aos 28 dias do mês de julho do ano de 2015, às 14:00 horas, no(a) Sala de 15 do Bloco II, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Orientador Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar do Campus Universitário de Gurupi / Universidade Federal do Tocantins, Prof. Dr. Ildon Rodrigues do Nascimento do Campus Universitário de Gurupi / Universidade Federal do Tocantins, Prof. Dr. Julcemar Didonet do Campus Universitário de Gurupi / Universidade Federal do Tocantins, Prof. Dr. Gil Rodrigues dos Santos do Campus Universitário de Gurupi / Universidade Federal do Tocantins, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de Ananias Pinto de Queiroz, intitulada "**Tripes (Thysanoptera: Thripidae): Identificação de espécies e vírus associado à cultura da melancia**". Após a exposição, o discente foi arguido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo parecer favorável à aprovação, habilitando-o ao título de Mestre em Produção Vegetal.

Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dr. Ildon Rodrigues do Nascimento
Primeiro examinador

Dr. Julcemar Didonet
Segundo examinador

Dr. Gil Rodrigues dos Santos
Terceiro examinador

Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar
Universidade Federal do Tocantins
Orientador e presidente da banca examinadora

Gurupi, 28 de julho de 2015.

Dr. Rodrigo Ribeiro Fidelis
Coordenador do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal

Em especial à minha esposa **Pauliana Melo** por fazer parte da minha vida e sempre apoiar e incentivar a minha formação.

Aos meus pais, **Benvindo Queiroz e Eduvirgem Ferreira**, por terem me ensinado a buscar novos horizontes.

Ao meu irmão **Domingos** (*in memoriam*) pela amizade verdadeira e incentivo enquanto estive em nosso meio.

E ao Prof. **Raimundo Wagner** por ter se tornado um amigo no decorrer dessa pós-graduação.

Dedico

AGRADECIMENTO

Agradeço especialmente a Deus, por sempre me fazer acreditar em algo inexistente. Contudo, com dedicação e fé divinas, sempre consegui tornar as coisas realidade.

À minha esposa, Pauliana Silva de Melo de Queiroz, pela convivência diária e por está ao meu lado nos dias difíceis enfrentados durante os estudos, a qual sempre me apoia.

Aos meus pais, Benvindo Pinto de Queiroz e Eduvirgem Ferreira de Queiroz, por terem acreditado em meu potencial. Sabendo que eu poderia alcançar mais um degrau na minha formação acadêmica.

Aos meus irmãos por fazerem parte dessa conquista.

Aos meus sogros, José Hélio e Dona Francisca, pelos incentivos e apoio.

Ao prof. Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar pela orientação, pelos ensinamentos e por estar sempre me incentivando a buscar algo extraordinário.

À Universidade Federal do Tocantins (UFT) por estar me concedendo mais um título acadêmico.

A todos os professores que fizeram parte da minha formação no programa de Pós-graduação, em destaque aos Professores Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar, Dr.

Tarcísio Castro de Barros Alves Leal, Dr. Gil Rodrigues dos Santos e Dr. Rodrigo Ribeiro Fidelis.

A todos os amigos militares do 4º Batalhão de Polícia Militar (BPM) do estado do Tocantins, por ter me ajudado direta ou indiretamente na minha formação acadêmica. A 1º CIA do 4º BPM, em especial a Cabo PM Keila, Cabo PM Ludiana, Capitão PM Batista, Capitão PM Jaime e ao comandante dessa unidade, o Major PM Flávio, por terem colaborados nas minhas intensas trocas de plantões para conseguir cumprir com as responsabilidades do programa de Pós-graduação.

Ao prof. Dr. Bergman Ribeiro, da Universidade de Brasília (UnB), por ter aberto as portas do Laboratório de Biologia Molecular – Virologia, para que pudéssemos realizar nossos trabalhos práticos.

Aos alunos de Mestrado e Doutorado ali presentes, e ao Dr. Fernando Melo que colaboraram com meus conhecimentos.

Ao prof. Élisson Fabrício Bezerra Lima, da Universidade Federal do Piauí (UFPI), por ter colaborado nas identificações dos espécimes de tripes.

Ao prof. Wesley Nunes pela ajuda crucial nos ajustes desse trabalho.

À colega do curso de Mestrado em Biotecnologia, Giselly Alves, por ter colaborado com parte da produção desse trabalho.

E a todos os colegas da minha turma de Mestrado, e aos colegas do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da UFT, que de alguma forma me ajudaram na obtenção desse título.

RESUMO

A melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] é originária da África Central, e bastante cultivada por todo o mundo. No ano de 2012, a produção mundial dessa fruta foi 105.372.341 milhões de toneladas, enquanto que o Brasil produziu 2.079.547 milhões toneladas. A cultura da melancia é de suma importância econômica para o estado do Tocantins, com rendimentos no ano de 2013 de 98,5 milhões de reais. A melancia é susceptível à ação de patógenos, sendo as doenças virais de maior relevância. Os vírus do gênero *Tospovirus*, transmitidos exclusivamente por tripses vetores em diversas culturas, têm causado prejuízos de bilhões de dólares em custos de controle. Os tripses são encontrados em todas as regiões do Brasil, com altas infestações em cultivos de melancia, podendo causar danos diretos e/ou indiretos. Neste trabalho foram coletados espécimes de tripses nos municípios produtores de melancia do estado do Tocantins: Gurupi, Formoso do Araguaia, Lagoa da Confusão e Porto Nacional. A identificação dos caracteres morfológicos dos tripses foi realizada utilizando chave taxonômica apropriada com alterações para identificação das espécies. Parte dos insetos coletados foi realizada a extração de RNA total. Posteriormente, foi sequenciado o extraído com tecnologia de sequenciamento de nova geração (NGS). Foram identificadas três espécies de tripses nos quatro municípios produtores, *F. schultzei*, *F. tritici* e *F. insularis*, com predominância de infestação da espécie *F. schultzei*. Sendo esta a única entre as identificadas, que é considerada vetor de *Tospovirus*. Foi identificado nas amostras de tripses, o vírus *Groundnut ringspot virus* (GRSV), o qual é eficientemente transmitido por *F. schultzei*. Entre as espécies de tripses identificadas, *F. tritici* e *F. insularis*, são registradas pela primeira vez em cultivos comerciais de melancia no Brasil. *F. schultzei*, é a única com relatos de danos diretos e indiretos

causados em plantas de melancia, podendo ser considerada praga potencial à cultura, devido o alto nível populacional encontrado e por dificuldades no controle do tripses.

Palavras-chave: *Citrullus lanatus*; Thysanoptera; *Groundnut ringspot virus* (GRSV); *Tospovirus*.

ABSTRACT

The Watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] is originally from Central Africa, and cultivated worldwide. In 2012, the world production of this fruit was 105.372.341 million tons, while Brazil produced 2.079.547 million tons. The watermelon cropping is of paramount economic importance to the state of Tocantins, with revenues of 98.5 million, in 2013. Watermelon is susceptible to the action of microorganisms, and viral diseases presents most relevance. The *Tospovirus* genus, transmitted exclusively by thrips vectors in diverse crops, have caused losses of billions of dollars in cost control. Thrips are found in all regions of Brazil, with high infestations in watermelon crops, and may cause direct and/or indirect damages. In this work, it was collected thrips specimens from watermelon producers of municipalities in the state of Tocantins: Gurupi, Formoso do Araguaia, Lagoa da Confusão and Porto Nacional. The thrips identification of morphological characters was performed using appropriate taxonomic key with changes to species identification. In part of the collected insects, the total RNA extraction was performed. The extracted was subsequently sequenced with next-generation sequencing technology (NGS). Three species of thrips were identified in the four producing municipalities, *F. schultzei*, *F. tritici*, and *F. insularis*, with predominance of *F. schultzei*. Among the identified species, only *F. schultzei* is considered a vector of *Tospovirus*. In thrips samples it was identified the virus *Groundnut ringspot virus* (GRSV), which is efficiently transmitted by *F. schultzei*. Among the species of thrips identified, *F. tritici* and *F. insularis*, are registered for the first time in watermelon commercial crops in Brazil. *F. schultzei* is

the only one with reports of direct and indirect damage to watermelon plants and may be considered as a potential plague due the high population level found and difficulties in controlling it.

Keywords: *Citrullus lanatus*; Thysanoptera; *Groundnut ringspot virus* (GRSV); *Tospovirus*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	23
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	27
2.1 CULTURA DA MELANCIA	27
2.1.1 ORIGEM-HISTÓRICO	27
2.1.2 TAXONOMIA E ASPECTOS MORFOLÓGICOS.....	28
2.1.3 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	29
2.1.4 MELANCIA NO ESTADO DO TOCANTINS	30
2.1.5 PROBLEMAS FITOSSANITÁRIOS NA CULTURA DA MELANCIA ...	31
2.2 TRIPES (THYSANOPTERA: THRIPIDAE)	33
2.2.1 HISTÓRICO	33
2.2.2 TAXONOMIA.....	34
2.2.3 CICLO DE VIDA.....	36
2.2.4 TRIPES: INSETO-PRAGA	38
2.2.5 TRIPES ASSOCIADOS À CULTURA DA MELANCIA	39
2.3 VÍRUS DE PLANTA	41
2.3.1 FAMÍLIA <i>BUNYAVIRIDAE</i> : GÊNERO <i>TOSPOVIRUS</i>	42
2.3.2 <i>TOSPOVIRUS</i> TRANSMITIDOS POR TRIPES	43
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
3.1 LOCAL	47
3.2 METODOLOGIA DE COLETA.....	47
3.3 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	49
3.4 PREPARO E IDENTIFICAÇÃO DOS ESPÉCIMES	50
3.4.1 MACERAÇÃO	50
3.4.2 DESIDRATAÇÃO DOS EXEMPLARES	51
3.4.3 MONTAGEM DAS LÂMINAS DE MICROSCOPIA	52
3.4.4 ETIQUETAGEM.....	53
3.4.5 IDENTIFICAÇÕES	54
3.5 IDENTIFICAÇÃO DE VÍRUS ASSOCIADOS À ESPÉCIE DE TRIPES OBTIDAS DE LAVOURAS COMERCIAIS DE MELANCIA DO ESTADO DO TOCANTINS	54
3.5.1 ENRIQUECIMENTO DAS AMOSTRAS DE VÍRUS PARA SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO (NGS).....	54

3.5.1.1 PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE HANK'S	55
3.5.1.2 ENRIQUECIMENTO RNA VIRAL	56
3.5.2 EXTRAÇÃO DO RNA TOTAL	57
3.5.3 QUANTIFICAÇÃO DE RNA VIRAL	58
3.5.4 SEQUENCIAMENTO DE RNA POR NGS	58
3.5.5 RT-PCR.....	58
3.5.6 ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS.....	60
3.5.7 ANÁLISE FILOGENÉTICA	60
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
4.1 INFESTAÇÕES DE TRIPE NAS FLORES E RAMOS APICAIS DAS PLANTAS DE MELANCIA	63
4.2 IDENTIFICAÇÕES DE TRIPE NA CULTURA DA MELANCIA.....	66
4.3 CHAVE PARA IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES	67
4.4 IDENTIFICAÇÃO DE VÍRUS ASSOCIADOS À ESPÉCIE DE TRIPE ..	79
4.5 ANÁLISE FILOGENÉTICA DO GRSV	83
4.6 IDENTIFICAÇÃO DE GRSV DE AMOSTRA DE TRIPE NO ESTADO DO TOCANTINS	86
5. CONCLUSÕES.....	89
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Número de insetos coletados nas flores e ramos apicais de plantas de melancia nos municípios produtores do estado do Tocantins: Lagoa da Confusão, Formoso do Araguaia, Porto Nacional e Gurupi.	64
Tabela 2: Quantidade de tripes coletados por municípios produtores de melancia do estado do Tocantins.	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diferenciação entre as subordens da Thysanoptera.....	35
Figura 2: Fases do ciclo de vida do trips na planta de melancia.....	37
Figura 3: Locais de coletas das amostras de trips em lavouras comerciais e localização dos municípios no estado do Tocantins.....	48
Figura 4: Esquema de demonstração das etapas de desidratação dos trips para posterior identificação dos espécimes.....	51
Figura 5: Montagem de lâminas de microscopia de trips para identificação	53
Figura 6: Número de espécimes de trips coletados em flores e ramos apicais das plantas de melancia por municípios produtores.....	65
Figura 7: Espécies de trips identificadas nos municípios produtores de melancia no estado do Tocantins.....	66
Figura 8: Caracteres morfológicos que identificam a espécie <i>Frankliniella schultzei</i> (coloração marrom) presente na cultura de melancia no estado do Tocantins.....	70
Figura 9: Caracteres morfológicos para identificação da espécie <i>Frankliniella tritici</i> presente na cultura da melancia no estado do Tocantins	71
Figura 10: Caracteres morfológicos para identificação da espécie <i>Frankliniella insularis</i>	72
Figura 11: Infestação de trips em flores de melancia nas lavouras comerciais.....	74
Figura 12: Plantas, folhas e fruto expressando sintomatologia de vírus em cultivo comercial de melancia no estado do Tocantins.....	76
Figura 13: Sequências de nucleotídeos do segmento RNA S do GRSV	

obtidas do pool de tripes coletadas no sistema de cultivo no estado do Tocantins83

Figura 14: Árvore filogenética obtida a partir do alinhamento da sequência da proteína do nucleocapsídeo85

Figura 15: Identificação de GRSV a partir de RT-PCR em amostras de tripes obtidas em cultivo comerciais de melancia no estado do Tocantins86

1. INTRODUÇÃO

A melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] é de grande importância socioeconômica em todo o mundo, gerando emprego com o uso intenso de mão-de-obra e rendimentos econômicos satisfatórios. No ano de 2012, somente o país da China, o maior produtor, obteve \$ 7.573.345 de dólares com a produção de melancia. Enquanto que o Brasil, na quarta posição, obteve rendimentos de \$ 236.899 milhões de dólares. Nesse mesmo ano, a produção mundial de melancia foi de 105.372.341 toneladas, superando as safras anteriores (FAO, 2013). No estado do Tocantins é o fruto mais produzido, o qual atingiu uma produção de 199.237 toneladas, com rendimentos de 98.5 milhões de reais (IBGE, PAM 2013).

As plantas de melancia são susceptíveis a ação de doenças como bactérias, fungos e vírus (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2007), as quais podem gerar aumento nos custos de produção dessa cultura. Entre essas doenças, a ação dos vírus é de maior relevância, devido ser transmitido exclusivamente por tripes (OLIVEIRA *et al.*, 2012; ULLMAN *et al.*, 1997), sendo proliferado facilmente nos cultivos comerciais de melancia. Tripes vetores de doenças virais tem causado

imensos prejuízos em todo o mundo, sendo bilhões de dólares em custos de controle (ULLMAN *et al.*, 1997).

Entre os insetos vetores tripses (Thysanoptera: Thripidae), algumas espécies são consideradas de maior importância no território brasileiro, sendo relatadas em campos de cultivos. Essas espécies são: *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895), *Thrips tabaci* (Lindeman, 1889), *Frankliniella schultzei* (Trybom, 1910), *Thrips palmi* (Karny, 1925), *Frankliniella zucchini* (Nakahara & Monteiro, 1999) e *Frankliniella insularis* (Franklin, 1908) (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2007; COSTA *et al.*, 2014; LEÃO *et al.*, 2014; LIMA *et al.*, 2013a; MONTEIRO, 2002; NAGATA *et al.*, 2004).

São encontrados em todos os continentes, com predominância em regiões neotropicais (HODDLE *et al.*, 2012). Esses insetos causam danos diretos à produção, durante a alimentação do tecido vegetal e indiretamente, por serem transmissores de vírus (KIRKI, 1997), afetando a qualidade e a produtividade dos frutos (AGUIAR *et al.*, 2015). Os fatores climáticos contribuem com a incidência e aumento populacional desses insetos praga, os quais transmitem os vírus do gênero *Tospovirus* (MOUND, 2005; PREMACHANDRA *et al.*, 2005).

O gênero *Tospovirus* pertence à família *Bunyaviridae*, sendo o único capaz de infectar plantas. Contudo os demais

gêneros dessa família, *Hantavirus*, *Orthobunyavirus*, *Pheblovirus*, *Nairovirus*, infectam vertebrados (ELLIOTT; WEBER, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2012). Vírus que replicam nas células vegetais têm como material genético, DNA ou RNA, sendo encapsidado por um envoltório protéico (NICAISE, 2014), e genoma tripartirdes, o qual formado por três segmentos de RNAs (S, M e L). Estes segmentos diferem pelo tamanho, sendo pequeno, médio e grande, respectivamente.

A ocorrência de *Tospovirus* em plantas cultivadas foi denominada de “spotted wilt”, observada na Austrália em 1915, e mais tarde associada à transmissão pelo tripses (PARRELA *et al.*, 2003; ULLMAN *et al.*, 1997). Com o avanço das pesquisas, foram identificados os vírus transmitidos por tripses, como por exemplo, *Groundnut ringspot virus* (GRSV) e *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLICV), os quais foram relatados infectando plantas de melancia (LEÃO *et al.*, 2014; GIAMPAN, 2007), com sintomatologias variadas, como folhas necróticas, pontuações cloróticas, bolhosidade, nanismo, entre outros (RILEY *et al.*, 2011).

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo identificar espécies de tripses e vírus associados à cultura da melancia no estado do Tocantins.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura da melancia

2.1.1 Origem-histórico

A melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] é originária das regiões tropicais da África Central, com registro de cultivo há mais de 5.000 anos. A variedade selvagem *Citrullus lanatus* var. *citróides* provavelmente originou a variedade *C. lanatus* var. *lanatus*, a qual é cultivada para o consumo humano (DIAS; REZENDE, 2010). Essa planta é cultivada em todas as partes do mundo, em regiões tropicais e subtropicais. No século XVI, foi introduzida na América pelos escravos e colonizadores europeus (DIAS; REZENDE, 2010).

No Brasil foi introduzida no estado da Bahia, sendo difundida para o restante do País. Os centros de diversidades da melancia no Brasil são Bahia, Pernambuco e São Vicente em São Paulo (CÔRREIA, 2010). A planta da melancia foi adaptada às condições climáticas brasileiras, sendo aprovado para o consumo no país pelo sabor apresentado, com destaque o alto teor de água e sacarose, além de fonte de vitaminas e minerais (CÔRREIA, 2010).

2.1.2 Taxonomia e aspectos morfológicos

A melancia pertence à família das *Curcubitaceae*, tribo *Benincaseae*, gênero *Citrullus*, espécie *Citrullus lanatus* e variedade *C. lanatus* var. *lanatus* (Almeida, 2003). A família das *Curcubitaceae* predomina nas regiões secas e quentes no mundo, sendo constituída de aproximadamente 118 gêneros e 825 espécies (Ameida, 2002). Além da melancia, existem outras *Curcubitaceae* de interesse econômico, como pepino (*Cucumis sativus*), melão (*Cucumis melo* L.), chuchu (*Sechium edule*), abóbora (*Cucurbita spp*) e bucha vegetal (*Luffa aegyptiaca*) (QUEIROZ, 2011).

A planta de melancia tem ciclo anual, variando de 70 a 120 dias, dependendo das variedades e condições climáticas. É uma planta herbácea de crescimento rasteiro com ramificações sarmentosas. O caule origina tanto ramos primários como secundários, sendo que nas espécies comerciais, o ramo principal dificilmente atinge 4,0 metros de comprimento. É uma planta alógama, a qual realiza preferencialmente polinização cruzada (acima de 95%), monóica, ou seja, flores masculinas e femininas no mesmo indivíduo (DIAS; REZENDE, 2010).

O fruto varia quanto ao tamanho, ao formato, à espessura da casca, a cor da casca e a cor da polpa, sendo o

fruto mais aceito no comércio o que apresenta polpa vermelha e formato arredondado.

2.1.3 Importância econômica

A melancia é uma fruta de enorme importância econômica no cenário agrícola mundial. É um fruto bastante apreciado em todo o mundo, o qual contribui para o investimento que resulta em aumento dos rendimentos anualmente. Em 2012, a produção mundial de frutas foi de 105.372.341 toneladas, superando a cultura da banana, com produção de 101.992.743 toneladas nesse mesmo ano (FAO, 2013).

Os maiores produtores de melancia do mundo em 2012 foram China, Turquia, Iran e Brasil, os quais produziram 70.000.000; 4.044.184; 3.800.000; 2.079.547 milhões de toneladas, respectivamente (FAO, 2013). No Brasil, em 2013, foram produzidas 2.163.501 toneladas, com menor produção somente em relação à laranja (17.549.536 ton) e banana (6.892.622 ton) (IBGE, PAM 2013). Nesse mesmo ano houve um aumento de 11,9% quando comparado com a produção de 2003, que correspondeu a um acréscimo de mais de 1.1 bilhões de reais (IBGE, PAM 2013).

A região nordeste é a maior produtora de melancia do Brasil, com a predominância de pequenos produtores. Contudo, o estado do Rio Grande do Sul apresentou maior produção em 2013, seguido pelo estado do Goiás, Bahia e Tocantins, com produções de 433.355, 245.270, 212.248, 199.237 toneladas, respectivamente (IBGE, PAM 2013).

2.1.4 Melancia no estado do Tocantins

O estado do Tocantins avançou fortemente na produção da melancia. O fator principal para esse avanço se deu devido à grande área contínua de várzea tropical, sendo a maior do Brasil, em torno de 1,2 milhões de hectares (SEAGRO, 2015). As áreas de várzeas proporcionam o uso do sistema de irrigação por inundação, que por sua vez, proporciona um cultivo rentável aos produtores, devido ao menor gasto com sistema de irrigação. Outro potencial para o cultivo da melancia no Tocantins é a disponibilidade hídrica com capacidade de irrigação de cerca de 4.800.000 hectares (SEAGRO, 2015).

Com as condições edafoclimáticas e manejo adequado, houve um rendimento médio em 2013 de 29.274 kg/ha, superando a média do Rio Grande do Sul (23.360 kg/ha),

maior produtor do País e a média nacional (23.511 kg/ha) (IBGE, PAM 2013).

Em 2013 no Tocantins foram produzidas 199.237 toneladas de fruto de melancia, com rendimentos de 98,5 milhões de reais. Resultado impactante na economia do Estado, pois em 2012 os rendimentos foram de 35,9 milhões de reais (IBGE, PAM 2013). Essa diferença corresponde a um aumento nos rendimentos do comércio com a fruta da melancia no Estado de 63,5%. Ainda, devido ao sistema de produção da cultura, ressalta-se a importância socioeconômica, pois a grande exigência de mão-de-obra gera renda e desenvolvimento para os municípios produtores.

2.1.5 Problemas fitossanitários na cultura da melancia

Os problemas fitossanitários são entraves que os produtores de melancia enfrentam devido essa planta ser susceptível a ação de doenças como bactérias, fungos e vírus. Atualmente já existe cultivares de melancia, do tipo Crimson Sweet, resistente ao ataque de doença bacteriana (podridão-apical, exceto quando causada por deficiência nutricional) e fúngica (antracnose), contudo sujeita a ação de viroses (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2007).

No Brasil existem alguns vírus que infectam áreas comerciais de melancia, ocasionando perdas tanto qualitativas como quantitativas nos frutos (AGUIAR *et al.*, 2015; NASCIMENTO *et al.*, 2011). A ação do vírus nas plantas de melancia é imediata, alterando a síntese proteica, o qual provoca alterações citológicas e estruturais da célula vegetal (DOMICIANO *et al.*, 2009).

O vírus consegue penetrar nas plantas sadias por meio do inseto vetor, ocasionando uma severidade sintomatológica. Essa severidade pode estar associada com a facilidade desses agentes infecciosos se propagarem de maneira sistêmica pela planta (AGUIAR *et al.*, 2015). A sintomatologia nas plantas quando infectado com *Tospovirus*, resulta em redução da expansão foliar, folhas necróticas, cloróticas, bolhosidade, nanismo e amarelecimento (RILEY *et al.*, 2011), com isso resulta em diversas alterações metabólicas como redução drástica da atividade enzimática, da fotossíntese, respiração, entre outros (SAMPOL *et al.*, 2003).

Vírus do gênero *Tospovirus* são transmitidos exclusivamente por tripses (ULLMAN *et al.*, 1997), sendo estes responsáveis por proliferar doenças virais entre plantas. Os tripses ao se alimentarem de uma planta virulenta, torna-se um inseto vetor. Esse inseto é muito pequeno, sendo bastante

difícil seu controle, com isso causa aumento nos custos de produção da cultura da melancia (AGUIAR *et al.*, 2013).

2.2 Tripes (Thysanoptera: Thripidae)

2.2.1 Histórico

Os tripes foram descritos primeiramente no ano de 1744 por De Geer, com o nome de *Phisapus*. Contudo, em 1758, Linnaeus descreveu quatro espécies e por conta própria, denominou em gênero chamado de tripes (LEWIS, 1997). A partir de então esses insetos assim conhecidos como tripes recebem nomeações regionais para as mais diversas espécies.

Já foram identificadas 6.018 espécies de tripes em diferentes regiões do mundo (HODDLE *et al.*, 2012). Os tripes estão divididos em 9 famílias, sendo 8 pertencentes à subordem Terebrantia e uma família pertencente a subordem Tubulifera. A subordem Terebrantia é constituída por 2.400 espécies, sendo que a família Thripidae que pertence a essa subordem, com quase 2.100 espécies registradas desse total. A subordem Tubulifera é composta por uma grande família, a Phlaeothripidae, a qual é constituída por 3.500 espécies descritas (MOUND; MORRIS, 2007; REYNAUD, 2010).

No Brasil já foram identificadas 545 espécies de tripes (MONTEIRO; LIMA, 2011), e em torno de 24 espécies são consideradas como causadoras de danos de forma direta e/ou indireta para as diversas plantas cultivadas, sendo 22 dessas espécies da subordem Terebrantia. Contudo, não são todas que causam prejuízos econômicos para a agricultura no País (MONTEIRO, 2002).

2.2.2 Taxonomia

Os tripes são insetos pertencentes à ordem Thysanoptera, composta por duas subordens (Terebrantia e Tubulifera), nove famílias (Merothripidae, Melanthripidae, Aeolothripidae, Fauriellidae, Stenurothripidae, Heterothripidae, Uzelothripidae, Thripidae e Phlaeothripidae), 6 subfamílias, 816 gêneros e 6.018 espécies (HODDLE *et al.*, 2012). A partir das subordens, inicia-se a diferenciação taxonômica das espécies de tripes, conforme Figura 1.

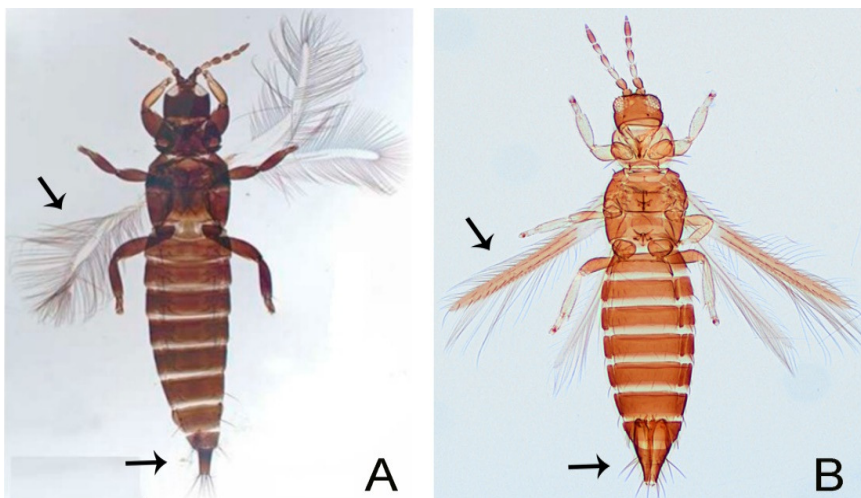


Figura 1: Diferenciação entre as subordens da Thysanoptera: (A) Tubulifera e (B) Terebrantia (SALMAN, 2013; MOUND; TREE, 2012). As setas indicam as diferenças dos caracteres morfológicos.

Para diferenciação das subordens, são avaliados caracteres morfológicos como o formato do último segmento abdominal, em que a subordem Tubulifera apresenta formato tubular e asas com cílios bastante alongados, enquanto que a subordem Terebrantia apresenta o último segmento em forma de cone e asas com cílios menores (MOUND; KIBBY, 1998).

As famílias (Merothripidae, Melanthripidae, Aeolothripidae, Fauriellidae, Stenurothripidae, Heterothripidae, Uzelothripidae, Thripidae) pertencem à subordem Terebrantia e a família Phlaeothripidae, pertence à subordem Tubulifera. A subfamília de maior importância é a Thripinae (Família Thripidae), possuindo 240 gêneros. Dentro dessa subfamília estão os dois gêneros de maior relevância, *Frankliniella* e

Thrips, por serem considerados pragas vetores de vírus em culturas (OLIVEIRA *et al.*, 2012), além dos danos causados nos tecidos vegetais.

Entre a grande diversidade de espécies de tripes encontradas no Brasil, as de maior relevância para as plantas cultivadas são *T. palmi*, *T. tabaci*, *F. schultzei*, *F. occidentalis*, *F. zucchini*, *F. insularis* (LIMA *et al.*, 2013a; MONTEIRO, 2002).

2.2.3 Ciclo de vida

O ciclo de vida dos tripes varia de acordo com a espécie, a temperatura e a planta hospedeira (COTE; DAY, 2015). O ciclo compreende seis fases, sendo a eclosão do ovo, a primeira e a segunda instar larval, a pré-pupa, a pupa e a adulto (Figura 2).

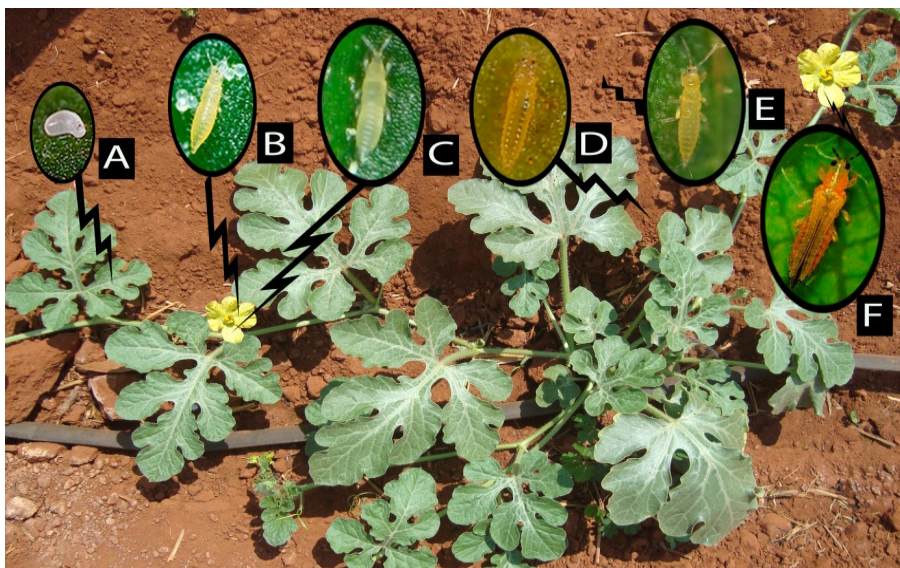


Figura 2: Fases do ciclo de vida do trips na planta de melancia: **(A)** ovo – com localização na folha e ramo da planta; **(B)** primeiro instar larval – no tecido foliar e nas flores; **(C)** segundo instar larval - nas folhas e nas flores **(D)** pré-pupa e **(E)** pupa - no solo e **(F)** adulto - localização nas flores e nos ramos apicais. (Foto da planta de melancia da região produtora de Uruana – GO. Fotos trips: Salmazo, 2011; Lowery, 2010; Farmergiles, 2011).

As fêmeas adultas depositam seus ovos no tecido das folhas, os quais eclodem em torno de três dias. Posteriormente, as duas fases larvais seguintes se alimentam por 4 ou 5 dias até se tornarem pré-pupa e, em seguida, pupa, que após dois dias atingem a fase adulta.

A espécie *F. occidentalis* possui ciclo de vida de aproximadamente 10 dias a 26,7 oC (COTE; DAY, 2015). O *F. schultzei* tem seu ciclo de aproximadamente 12,6 dias a 24,5 oC (KAKKAR *et al.*, 2014). Conforme registros, o ciclo de vida

dos tripses é diretamente influenciado pela temperatura, com variação entre 10 e 30 dias (LEWIS, 1997).

2.2.4 Tripses: inseto-praga

Os tripses possuem tamanhos variando de 1,0 mm a 2,0 mm de comprimento, com coloração amarelo-clara a amarelo-escuro brilhante, cabeça quadrangular, aparelho bucal do tipo raspador-sugador. Os insetos adultos possuem asas estreitas com longas franjas em suas margens, enquanto que os jovens são ápteros (HODDLE *et al.*, 2012; MICHEREFF FILHO *et al.*, 2010). Na fase adulta tem como hábito o comportamento dispersivo, o qual facilita a escolha da espécie vegetal hospedeira, além da ação do vento ajudar em sua locomoção (KIRK, 1997).

São insetos fitófagos, podendo ser encontrados em todas as partes das plantas, principalmente nas folhas e flores, com preferência pelas partes jovens. Durante a alimentação, através da sucção da seiva, o inseto causa dano direto, com a destruição celular do tecido vegetal, e, ainda, dano indireto, com a transmissão de vírus (KIRK, 1997; SOUZA *et al.*, 2010).

Os danos diretos nas plantas resultam em manchas necróticas, raspagem da epiderme do tecido vegetal, entre outros. Ocasionalmente, abortam flores e redução da

frutificação, devido se alimentarem do grão de pólen (KAKKAR *et al.*, 2014; RILEY *et al.*, 2011). Os danos indiretos ocasionados pela ação de *Tospovirus* resultam em vários sintomas como folhas deformadas, manchas em forma de anel, lesões necróticas, nanismo, amarelecimento (RILEY *et al.*, 2011), os quais resultam em prejuízos para as plantas cultivadas. Contudo, os tripses podem ser considerados benéficos, pois algumas espécies são agentes de controle biológico, por serem predadores de ácaros (KIRK, 1997).

Registros no Brasil relatam que os tripses têm como hospedeiros uma grande diversidade de espécies de monocotiledôneas (Poaceae, Orchidaceae, Arecaceae e Liliaceae) e dicotiledôneas (Asteraceae, Fabaceae, Solanaceae, Myrtaceae, Euphorbiaceae, Cucurbitaceae e Rosaceae) (ALVES-SILA; DEL-CLARO, 2010; MONTEIRO, 2002). Entre essas plantas hospedeiras, diversas espécies são de importância agrícola/econômica como feijão-caupi, algodão, berinjela, alface, melão, soja, rosa, fumo, tomate e melancia (LIMA *et al.*, 2013a).

2.2.5 Tripses associados à cultura da melancia

No cultivo da melancia no Brasil, algumas espécies têm causado prejuízos, especialmente o *T. tabaci*, *T. palmi* e *F.*

schultzei (COSTA *et al.*, 2014; MICHEREFF FILHO *et al.*, 2010; MONTEIRO *et al.*, 1999). As espécies *T. tabaci* e *T. palmi*, estão distribuídas geograficamente por todo o País, contudo com grande infestação no estado de São Paulo (MONTEIRO *et al.*, 1999). São encontrados na cultura da melancia durante todo o ciclo, causando prejuízos como redução fotossintética devido às manchas necróticas, à queda das folhas, além das cicatrizes nos frutos (MICHEREFF FILHO *et al.*, 2010), tornando-o impróprio comercialmente.

F. schultzei é encontrado em todas as partes do Brasil, incluindo importantes estados produtores de melancia como São Paulo e Rio Grande do Norte (CAVALLERI; MOUND, 2012; COSTA *et al.*, 2014; LEÃO *et al.*, 2014). Essa espécie é considerada praga em várias culturas, como soja, tomate, fumo e melão. Na cultura da melancia ainda é considerada praga potencial, por causar danos nos tecidos dos vegetais e nas partes florais, além de ser vetor de vírus, como o *Groundnut ringspot virus* (GRSV) (COSTA *et al.*, 2014; LIMA *et al.*, 2013b; NAGATA *et al.*, 2002).

No estado do Rio Grande do Norte, foi encontrada em lavouras de melancia a espécie *Haplothrips gowdeyi* (Franklin, 1908), contudo ainda não há relatos de danos diretos e/ou indiretos provocados nas plantas (COSTA *et al.*, 2014).

2.3 Vírus de planta

Vírus são agentes infecciosos que necessitam de uma célula hospedeira para poder se replicar, ou seja, são obrigatoriamente parasitas intracelulares (NICAISE, 2014). Os vírus são formados por um segmento genômico de ácidos nucleicos (DNA ou RNA) que codifica poucos genes e encapsidado por um envoltório de proteína. Esse envoltório ou capa proteica é denominado de capsídeo. O material genético viral em conjunto com capsídeo forma o nucleocapsídeo. Este nucleocapsídeo pode ser não envelopado, ou seja, apenas núcleo e capsídeo. Já o vírus envelopado apresenta um envoltório proteico com duas camadas lipídicas.

O ácido nucleico (DNA ou RNA) viral é protegido pelo envoltório proteico, o qual tem como função de proteção do material genético, e ainda possibilita outras funções como aderência, movimentação e simetria estrutural do vírus. De acordo com a classificação de David Baltimore, 1971, o genoma viral pode ser agrupado de acordo com suas formas, podendo ser vírus de RNA senso negativo (-ssRNA), RNA senso positivo (+ssRNA), podendo ser fita simples ou dupla, DNA fita simples (ssDNA) e DNA fita dupla (dsDNA) (WAGNER *et al.*, 2008).

O genoma viral envelopado ou não são transmitidos de plantas-plantas por meio de insetos vetores (NICAISE, 2014), podendo ainda ocorrer transmissão mecânica. Esse tipo de transmissão é devido lesões ocasionadas em vegetais, assim facilitando a entrada de vírus nas células do tecido das plantas.

2.3.1 Família *Bunyaviridae*: Gênero *Tospovirus*

A família *Bunyaviridae* consiste em vírus envelopados, compreendendo cinco gêneros: *Hantavirus*, *Orthobunyavirus*, *Pheblovirus*, *Nairovirus* e *Tospovirus*. Somente o gênero *Tospovirus* infecta plantas (ELLIOTT; WEBER, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2012). Os virions do gênero *Tospovirus* apresentam partículas, variando de 80 a 120 nm de diâmetro com formas esféricas. A partícula viral é composta por ácido nucleico (RNA) (5%), proteínas (70%), carboidratos (5%) e lipídios (20%) (PARRELA *et al.*, 2003). Isso demonstra o poder de ação do material genético do vírus, a fim de obter replicações e propagação dentro de células hospedeiras.

O *Tospovirus* apresenta segmento genômico de RNA fita simples (ssRNA) ambisense e sentido negativo, dividido em três segmentos (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Esses três segmentos são classificados de acordo com seu tamanho,

sendo L - “Large” (8.9 kb), M - “Medium”(4.8 kb) e S - “Small”(2.9 kb), os quais o RNA L é de sentido negativo, enquanto que os RNAs M e S são ambisenses (PAPPU *et al.*, 2009; PARRELA *et al.*, 2003).

Cada segmento genômico apresenta sua particularidade, o qual o segmento L codifica a proteína RNA Polimerase e RNA dependente (RdRp), o segmento M é precursor de duas glicoproteínas (Gn e Gc) e proteínas não estruturais (NSm), enquanto que o segmento S codifica a proteína N do nucleocapsídeo e outras proteínas não estruturais (NSs) (PAPPU *et al.*, 2009).

O segmento RNA L além de codificar RdRp, apresenta função necessária para a síntese de mRNA e replicação do RNA viral. O RNA M codifica a proteína NSm, a qual é envolvida no movimento de célula-a-célula do vírus. E o segmento RNA S codifica a proteína N, a qual é estrutural e reveste o fragmento de RNA genômico dando origem aos nucleicapsídeos (HULL, 2002; PARRELA *et al.*, 2003).

2.3.2 *Tospovirus* transmitidos por tripes

Os *Tospovirus* são transmitidos exclusivamente por tripes vetores de maneira persistente propagativa (OLIVEIRA *et al.*, 2012; PREMACHANDRA *et al.*, 2005; ULLMAN *et al.*,

1997). A aquisição ocorre com a ingestão do vírus, o qual circula pelas glândulas salivares, intestino anterior, médio e grosso do inseto, sendo propagado nas células epiteliais do intestino médio (ULLMAN *et al.*, 1997). Após a replicação e período de latência é transmitido pelo adulto e/ou larva de segundo instar (PETERS, 2008; PREMACHANDRA *et al.*, 2005; RILEY *et al.*, 2011).

Há registro de várias espécies de tripes consideradas vetores de *Tospovirus*, os quais pertencem aos seguintes gêneros da família Thripidae: *Thrips*, *Frankliniella*, *Ceratothripoides*, *Scirtothrips* e *Dictyothrips* (CIUFFO *et al.*, 2010; RILEY *et al.*, 2011). Contudo os de maiores potenciais na transmissão de *Tospovirus* são os gêneros *Thrips* e *Frankliniella* (ALVES-SILA; DEL-CLARO, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2012; PETERS, 2008). Dentre esses gêneros, as espécies vetores com relatos no Brasil são *T. palmi*, *T. tabaci*, *F. schultzei* e *F. occidentalis* (LEÃO *et al.*, 2014; MICHEREFF FILHO *et al.*, 2010; MONTEIRO *et al.*, 1999; NAGATA *et al.*, 2002).

São conhecidos sete tipos de *Tospovirus* transmitido por tripes, no Brasil: *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV), *Groundnut ringspot virus* (GRSV), *Iris yellow spot virus* (IYSV), *Chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV), *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV) e

Bean necrotic mosaic virus (BeNMV) (LEÃO *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2012; NAGATA *et al.*, 2002).

Na cultura da melancia há registros de *Groundnut ringspot virus* (GRSV) (LEÃO *et al.*, 2014) e *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV) (GIAMPAN, 2007). ZLCV é transmitido por *Frankliniella zucchini* (GIAMPAN *et al.*, 2009; NAKAHARA; MONTEIRO, 1999), e relatos mencionam que *F. schultzei* apresenta alta afinidade e eficiência na transmissão do GRSV, quando comparado com outros vetores (ALVES-SILA; DEL-CLARO, 2010; NAGATA *et al.*, 2002).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local

O presente trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal do Tocantins (UFT), no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (MIP) do Campus de Gurupi - Tocantins, situado a 11o 43' 45" S de latitude e 49o 04' 07" W de longitude. Pesquisa em conjunto com os Laboratórios de Entomologia, Campus Amílcar Ferreira Sobral, na Universidade Federal do Piauí (UFPI) e no Instituto Biológico – Virologia da Universidade de Brasília (UnB). Estudo realizado no período de Junho de 2013 a Julho de 2015, em diferentes municípios produtores de melancia no estado do Tocantins.

3.2 Metodologia de coleta

As coletas dos tripes foram realizadas em lavouras comerciais dos municípios de Gurupi (latitude 11o 43' 45" S e longitude 49o 04' 07" W), Formoso do Araguaia (latitude 11º 47' 48" S e longitude 49º 31' 44" W), Lagoa da Confusão (latitude 10º 47' 37" S e longitude 49º 37' 25" W), região sul do estado do Tocantins e em Porto Nacional (Latitude: 10º 42' 29" S e Longitude 48º 25' 02" W), região central do Estado (Figura 3).

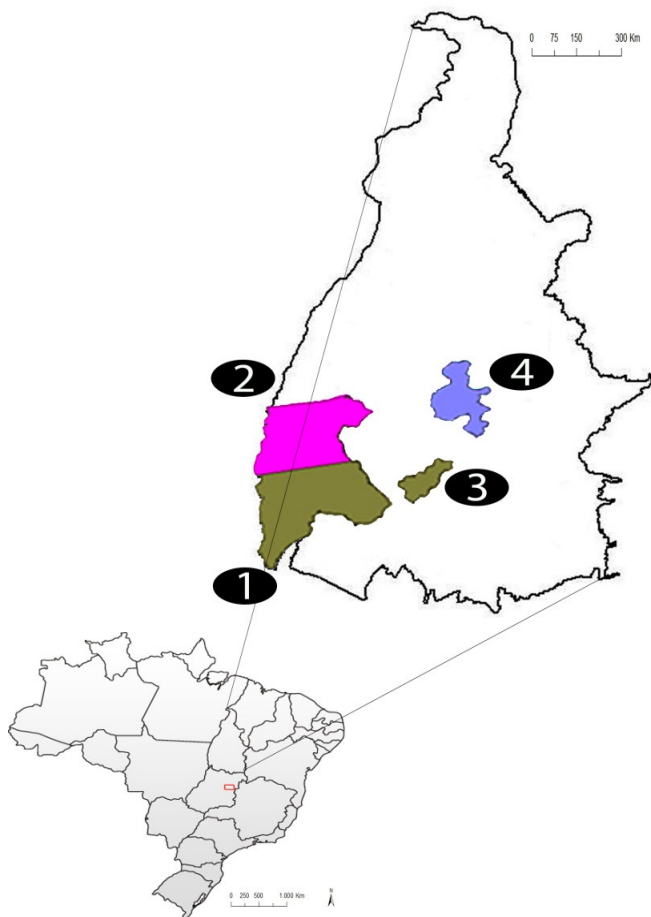


Figura 3: Locais de coletas das amostras de tripes em lavouras comerciais e localização dos municípios no estado do Tocantins: (1) Formoso do Araguaia; (2) Lagoa da Confusão; (3) Gurupi e (4) Porto Nacional.

Os procedimentos de coletas dos insetos foram realizadas de acordo como descrito por Waquil et al. (1986). Flores e partes apicais das plantas de melancia foram retiradas e colocadas em sacos de papel, sendo anotado o local e data de coleta e vedados. A coleta foi feita

preferencialmente nas plantas com sintomatologias características de viroses em diversos pontos da lavoura (caminhamento em zig-zag). Posteriormente as amostras foram processadas no laboratório de MIP, da UFT – Campus de Gurupi.

O levantamento de infestação de tripses foi realizado em 10 plantas ao acaso, sendo contabilizado o número de tripses por três flores e ramos apicais, obtendo-se as médias de insetos por local da planta coletada. As lavouras comerciais nos quatro municípios produtores foram plantadas com melancia do tipo Crimsom Sweet.

3.3 Processamento das amostras

No laboratório de MIP da UFT, as amostras foram colocadas no freezer à temperatura de -5 oC por 5 minutos antes da triagem, para facilitar o manuseio dos insetos. Durante a triagem, os tripses foram colocados em bandejas plásticas de coloração brancas para melhor visualização e posteriormente foram transferidos para tubos do tipo *ependorf* com RNA Later, para conservação dos espécimes. Em seguida foram encaminhadas ao Laboratório de Entomologia, da UFPI para montagem de lâminas de microscopia para posterior identificação.

3.4 Preparo e identificação dos espécimes

O método de preparo das lâminas de microscopia foi baseado na metodologia de Monteiro (1994), com a colaboração do Prof. Élisson Fabrício Bezerra Lima (UFPI).

3.4.1 Maceração

A maceração visa eliminar o conteúdo corporal dos tripses, possibilitando uma melhor visualização das características morfológicas a serem examinadas.

Foram colocados 30 insetos em uma placa de Petri contendo Etanol 60% e armazenado por 24 horas. Os indivíduos foram transferidos, então, para vidros de relógio contendo hidróxido de sódio (NaOH) 5%, espécimes claros foram deixados por 1 hora, já exemplares escuros, por mais de 4 horas. Durante este período: a) o abdômen do inseto foi perfurado entre as coxas posteriores com um estilete (feito com alfinete entomológico tamanho “00” recurvado em um ângulo de aproximadamente 90º, para facilitar o manuseio dos insetos sob estereomicroscópio) e, em seguida, o espécime foi levemente massageado para expelir os conteúdos do corpo; b) as pernas, antenas e asas foram distendidas.

Os exemplares foram transferidos do NaOH 5% para uma placa de Petri pequena contendo água destilada e, gradualmente, foi adicionado Etanol 50%. Os exemplares foram transferidos para outra placa de Petri com Etanol 60% e armazenados por 24 horas.

3.4.2 Desidratação dos exemplares

Para o processo de desidratação dos exemplares, os espécimes foram mergulhados em placa de Petri contendo diferentes soluções por determinados intervalos de tempo, como esquematizado na Figura 4.

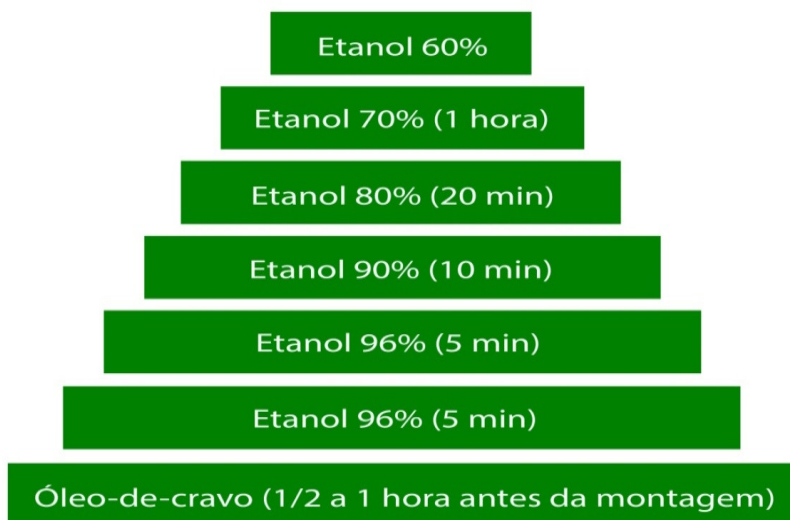


Figura 4: Esquema de demonstração das etapas de desidratação dos tripes para posterior identificação dos espécimes.

3.4.3 Montagem das lâminas de microscopia

A montagem das lâminas foi feita sob estereomicroscópio seguindo as etapas: uma lamínula limpa foi colocada sobre a mesa do estereomicroscópio; uma gota de bálsamo do Canadá foi colocada sobre o centro da lamínula, sendo nesse local, colocado um tripes em posição ventral. A quantidade de bálsamo foi suficiente para após a secagem, suportar a lamínula sem distorcer o espécime. As antenas, asas e pernas foram distendidas com o auxílio de estilete tamanho “00”.

Uma lâmina foi rebaixada sobre o espécime na lamínula, ocasionando o contato entre ambas. Com isso ocorre a colagem de lâmina e lamínula. Assim voltando o conjunto à posição normal (Figura 5). A técnica evita a formação de bolhas, que podem estragar as preparações microscópicas e facilita a distensão dos apêndices. O material montado foi colocado em estufa, à temperatura média de 40 °C, até a secagem.

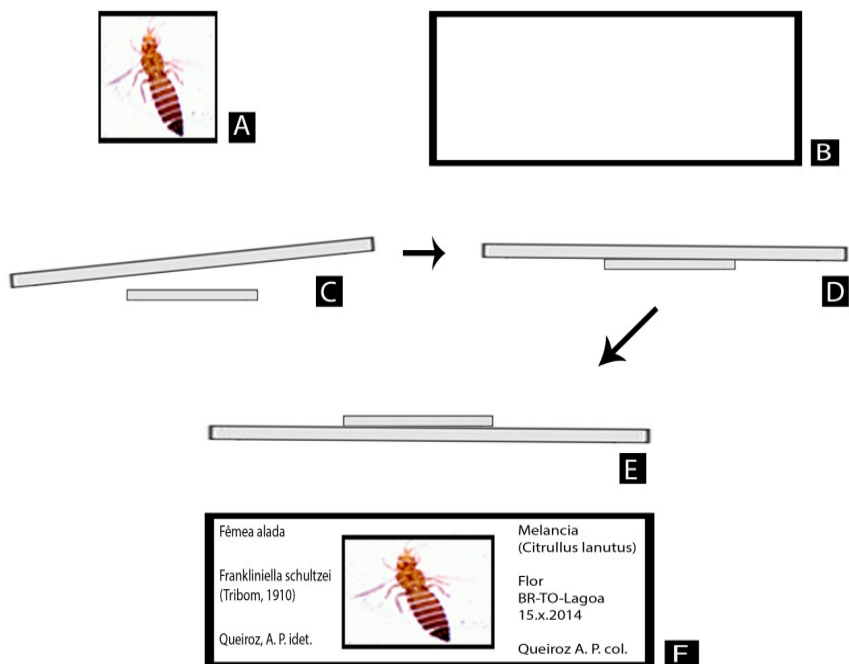


Figura 5: Montagem de lâminas de microscopia de tripes para identificação – (A) lamínula com o tripes distendido; (B) lâmina; (C) lâmina sobre lamínula; (D) lâmina em contato com lamínula; (E) lâmina em contato com lamínula em posição normal; e (F) lâmina de microscopia preparada e etiquetada.

3.4.4 Etiquetagem

As etiquetas foram preparadas e cada lâmina recebeu duas etiquetas autocolantes (Figura 4): Etiqueta direita: planta (nome comum e científico), local de coleta na planta, país, estado, município, data e nome do coletor; Etiqueta esquerda: sexo, identificação (gênero ou espécie) e nome do identificador.

3.4.5 Identificações

As identificações foram feitas com a colaboração do Prof. Élisson Fabrício Bezerra Lima (UFPI), e baseadas em chaves e descrições de espécies disponíveis em Mound e Kibby (1998), Hoddle e Mound (2003), Monteiro (1999), Mound e Ng (2009), Lima (2011), Monteiro et al. (2001), foi montada chave de identificação com algumas modificações.

Os espécimes foram visualizados utilizando a microscopia com o auxílio de uma câmera digital (Motic® 2000 2.0 MP) acoplada em um microscópio de luz (Nikon® E200). As figuras foram utilizadas para elaboração da chave modificada de identificação e caracterização das espécies, sendo processadas e editadas por meio dos programas HeliconFocus® 5.2 e Adobe® Photoshop® CS5. As pranchas de fotografias foram preparadas por meio do programa CorelDraw® X5.

3.5 Identificação de vírus associados à espécie de tripes obtidas de lavouras comerciais de melancia do estado do Tocantins

3.5.1 Enriquecimento das amostras de vírus para sequenciamento de nova geração (NGS)

A técnica de enriquecimento viral foi realizada de acordo com o protocolo de Candresse et al. (2014), com algumas modificações, sendo que esta etapa visa ao enriquecimento das amostras com RNA viral a ser obtido.

3.5.1.1 Preparação da solução de **Hank's**

Para realização desse procedimento foram preparados cinco soluções Hank's Stock Solutions (HBSS). Solução 1: Dissolvido em 90 ml de água destilada os seguintes reagentes: 8,0 gramas (g) de cloreto de sódio (NaCl); 0,4 g de cloreto de potássio (KCl) e 1,0 g de glucose, completado para 100 ml de água destilada. Solução 2: Dissolvido em 90 ml de água destilada os seguintes reagentes: 0,358 g fosfato dissódico (Na_2HPO_4) e 0,60 g de fosfato potássio monobásico (KH_2PO_4), completado para 100 ml de água destilada. Solução 3: Adicionado 0,72 g de cloreto de cálcio (CaCl_2) em 50 ml de água destilada. Solução 4: Adicionado 1,23 g de sulfato de magnésio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) em 50 ml de água destilada. Solução 5: Adicionado 0,35 g bicarbonato de sódio (NaHCO_3) em 10 ml de água destilada.

Foi preparado um Premix de Hank's Buffered Salt Solution (HBSS), sendo combinadas as soluções na seguinte ordem: 10,0 ml de solução 1 + 1,0 ml de solução 2 + 1,0 ml de

solução 3 + 86,0 ml de água destilada + 1,0 de solução 4. Foi misturada essa combinação do HBSS. Posteriormente, preparado a solução final de Hank's, sendo misturado 9,9 ml de Premix de Hank's + 0,1 ml da solução 5.

3.5.1.2 Enriquecimento RNA viral

Todo o material utilizado foi autoclavado e mantido em estufa por 12 horas para eliminação de contaminação secundária. Foram pesados 1,0 g de amostra de tripes e colocado em tubo *ependorf*. Foi adicionado nitrogênio líquido e macerado os insetos, logo em seguida, dissolvido em tampão 1,5 ml de solução de Hank's. Foi centrifugado por 5 minutos (min) a 3.000 g. Em seguida, o sobrenadante foi transferido para tubo novo e adicionado 5 ml de solução de Hank's. Centrifugado novamente por 5 min a 8.000 g. Posteriormente, foi recolhido o sobrenadante e filtrado em membrana 0,45 µm. Em seguida, o filtrado foi transferido para tubos de ultracentrifuga. Foi centrifugado a 150.000 g por 2,5 horas a 4 °C para concentração das partículas virais. Descartado o sobrenadante e o pellet foi suspenso em 200 µl de solução de Hank's. Em seguida, foi realizado o tratamento com DNase (10 ng/ml) e RNase (10 ng/ml) e preparação para a extração do RNA total.

3.5.2 Extração do RNA total

Foi realizada a extração de RNA total adotando o método Trizol® Reagents, de acordo com procedimentos descritos pelo protocolo do fabricante. As amostras tratadas foram armazenadas em tubo *ependorf* (2 ml). Foi adicionado 1,0 ml de Trizol® Reagents na amostra, homogeneizado e mantido no gelo. Foi vortexado por 1 minuto. A amostra ficou em repouso por 5 min com Trizol® Reagents em temperatura ambiente. Adicionado 200 µl de clorofórmio e agitado manualmente por 30 segundos, após foi deixado por 2 min em repouso. Centrifugado a 12.000 g por 15 min e transferido o sobrenadante para um tubo *ependorf* novo. Foram adicionados 500 µl de isopropanol e homogeneizado. Precipitado no gelo por 10 min, logo em seguida foi centrifugado a 12.000g por 10 min e posteriormente descartado o isopropanol com a pipeta. Adicionado 500 µl de etanol 75% para lavagem do material genético e centrifugado a 7.500g por 5 min. Foi descartado o etanol 75% com o uso da pipeta. Foram deixados os tubos *ependorf* sobre a bancada para secar o *pellet*, em temperatura ambiente e por fim ressuspendido esse *pellet* em 50 µl de água DEPC (Armazenado em freezer com temperatura de - 80 0C).

3.5.3 Quantificação de RNA viral

As amostras de RNA total extraídas foram quantificadas em Aparelho NanoVue Plus Spectrophotometer para quantificação de amostras de ácidos nucleicos e proteínas. Foram pipetados 2,0 µl de RNA diretamente sobre a placa de amostra para medição. Anotados as quantificações de RNA por amostras de cada região produtora de melancia.

3.5.4 Sequenciamento de RNA por NGS

As mostras do RNA total extraídas foram sequenciadas diretamente por Macrogen Inc., (Seul - Coréia do Sul), utilizando o sequenciador com tecnologia de sequenciamento nova geração (NGS).

3.5.5 RT-PCR

O RNA total extraído obtido dos tripes foram diluídos para realização da *Reverse transcription – polymerase chain reaction* (RT-PCR). Foram realizadas duas etapas de preparação das amostras. A primeira, confecção do cDNA, foi diluído 1,0 µl de RNA total em 9,0 µl de água “Milli-Q” previamente tratada com 0,1% de dietil pirocarbonato (DEPC).

Foram misturados com 1,0 µl do oligonucleotídeo randômico (NNNNNNN) (20mM). Posteriormente, foram adicionados 1,0 µl de dNTP's (10mM) e 12 µl de água "Milli-Q" tratada com DEPC. Essa solução foi aquecida a 65°C por 5 minutos e mantida imersa em gelo por 3 minutos.

Em seguida foram adicionados 5,0 µl do tampão 5 X de enzima transcriptase reversa, 2,0 µl de ditioneitol (DTT) 0,1 M e 200 unidades da enzima M-MLV (Invitrogen), e incubada a 37°C por 50 minutos. Posteriormente, a enzima foi inativada a 70°C por 15 minutos e mantida a 4 °C. O cDNA sintetizado foi utilizado em uma reação de PCR, separadamente para cada fragmento do genoma a ser amplificado.

A segunda etapa, foi realizada a PCR a partir do cDNA obtido. Foram utilizados os *primers* (Forward: 5' TATTCTTTCCCTTTGTTTAT 3' e Reverse: 5' ATGTCTAAGGTCAAGCTCAC 3'), desenvolvidos para amplificação de 644 pares de bases (pb) da região da proteína N do vírus obtido, *Groundnut ringspot virus* (GRSV), utilizando temperatura de anelamento de 50 °C. Na reação de PCR foram utilizados 0,4 µM de cada oligonucleotídeos específicos para GRSV, 10 µM de cada dNTP, 2,5 µL de tampão de Taq DNA polimerase, 2,0 mM MgCl₂ e 1U de Taq polimerase (Invitrogen) em um volume total de 25 µL.

A amplificação dos fragmentos para a detecção de GRSV foi realizada de acordo com os seguintes passos: 94 oC/5 minutos (min) em seguida por 35 ciclos em 95 oC/30 segundos (s), 52 oC/1,30 s, 72 oC/4 min e a extensão final de 72 oC/8 min.

3.5.6 Análise das sequências

O alinhamento da sequência de nucleotídeos do vírus GRSV obtido nesse trabalho e sequências de outros *Tospovirus* depositadas no GenBank (números de acessos: AHW79989; AFR53114; AHW79988; AFR53116; AFR53117; AFR53115; AAG23654; AJI44434; AAL93247; AAL93246; P36294; AAM47011; AAF64317) foram comparadas a partir do programa de bioinformática MEGA 6, por meio do modelo de alinhamento múltiplo de sequências CLUSTAL W.

3.5.7 Análise filogenética

O melhor modelo para a análise filogenética foi calculado utilizando o programa jModelTest, em que o mais indicado para a construção da árvore foi o método estatístico qualitativo de máxima verossimilhança (MV). A árvore foi enraizada usando a sequência nucleotídica da proteína do

nucleocapsideo (N) do GRSV (644 pb). Para construção da árvore filogenética foram utilizadas 13 sequências de nucleotídeos conforme o número de acesso citado no item anterior.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Infestações de tripses nas flores e ramos apicais das plantas de melancia

Nos ramos apicais das plantas foram contabilizados 27 espécimes, enquanto que nas flores foram observados até 87 espécimes (Tabela 1). A presença de um maior número de tripses nas flores corrobora com Mound e Teulon (1995), que verificaram também a preferência desse inseto em colonizar os tecidos florais. De maneira geral, verificou-se na maioria dos levantamentos o dobro ou mais de insetos presentes nas flores quando relacionado com ramos apicais (Tabela 1).

	Municípios produtores de melancia							
	Lagoa da Confusão		Formoso do Araguaia		Porto Nacional		Gurupi	
	Tripses		Tripses		Tripses		Tripses	
	Flores	Ramos Apical	Flores	Ramos Apical	Flores	Ramos Apical	Flores	Ramos Apical
1	51	18	43	14	39	21	31	11
2	29	15	49	23	32	16	37	10
3	67	21	31	26	64	19	33	05
4	76	26	71	19	71	27	49	18
5	87	19	63	13	81	13	41	13
6	45	12	45	15	56	19	35	12
7	72	17	59	15	63	15	57	09
8	56	18	47	17	53	12	43	16
9	41	21	75	13	25	23	15	11
10	51	23	41	16	44	11	23	6
Total	575	190	524	171	528	176	364	111
Média	57,5	19,0	52,4	17,1	52,8	17,6	36,4	11,1

Tabela 1: Número de insetos coletados nas flores e ramos apicais de plantas de melancia nos municípios produtores do estado do Tocantins: Lagoa da Confusão, Formoso do Araguaia, Porto Nacional e Gurupi.

*Número de plantas amostradas, sendo que foram contabilizados tripses em flores e ramos apical por planta. Foi obtido o número médio de tripses por flor e ramos apical das plantas de melancia nas regiões produtoras do estado do Tocantins.

A preferência dos insetos pelas flores pode estar relacionada com a disponibilidade de alimento (grão de polén) ou outros exsudados oferecidos pelas flores ao tripses, nas quais ocorre a maior predominância destes insetos a fim de garantir recursos para manutenção biológica.

A alta infestação de tripses nas flores de melancia pode estar relacionada com a época de cultivo, que ocorre principalmente no período de maio a outubro, caracterizado pela pluviometria baixa ou nula. Época de temperatura mais alta, e umidade favorável para o aumento da população de tripses nas plantas de melancia, condições que podem propiciar altos níveis populacionais.

Menos infestação foi observada no município de Gurupi, enquanto que nos outros locais as populações apresentaram números semelhantes (Figura 6). Observa-se claramente a preferência do tripses pelas flores em todas as lavouras comerciais avaliadas. Conforme relatados por Yudin et al. (1987), constatou-se a preferência dos tripses por flores claras, do tipo amarelas, coloração dominante das cultivares nas lavouras comerciais no Estado. Pesquisadores relatam

que as cores das flores podem ser um atrativo ao trips, com isso influenciando diretamente na preferência em colonização.

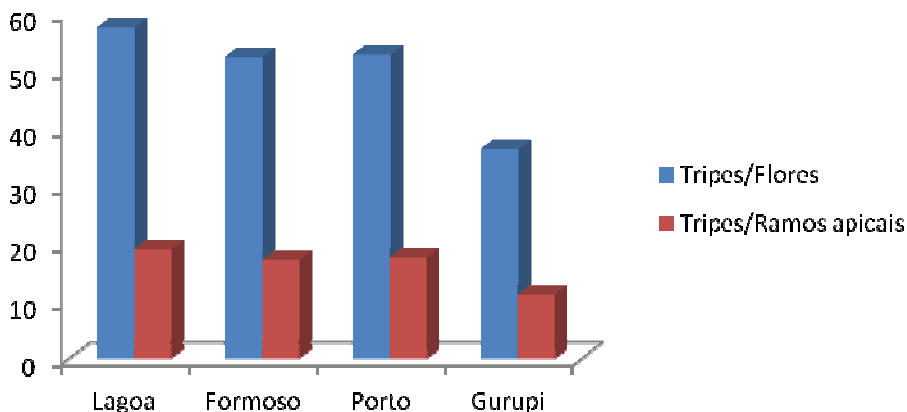


Figura 6: Número de espécimes de trips coletados em flores e ramos apicais das plantas de melancia por municípios produtores.

Os elevados níveis populacionais de trips nas plantas de melancia podem ocasionar aumento dos custos de produção, principalmente para evitar ocorrência de doenças virais, as quais afetam a qualidade e produtividade dos frutos (AGUIAR *et al.*, 2015). Doenças de natureza viral quando infectam plantas de melancia, especialmente no início do plantio, onera mais ainda a produção devida não existir manejos curativos.

A presença de trips em lavouras comerciais é dificultada, devido o controle com inseticidas ser de contato, o qual em muitos casos não atinge toda a população presente

nas plantas. Diante de tal fato, surge a necessidade da realização de várias aplicações para reduzir os altos níveis populacionais, e, conseqüentemente, a redução da ocorrência de vírus, neste caso específico o *Tospovirus*.

4.2 Identificações de tripses na cultura da melancia

Nos quatro municípios produtores de melancia no estado do Tocantins foram identificadas três espécies de tripses: *F. schultzei*, *Frankliniella tritici* (Fitch, 1855) e *F. insularis* (Figura 7).

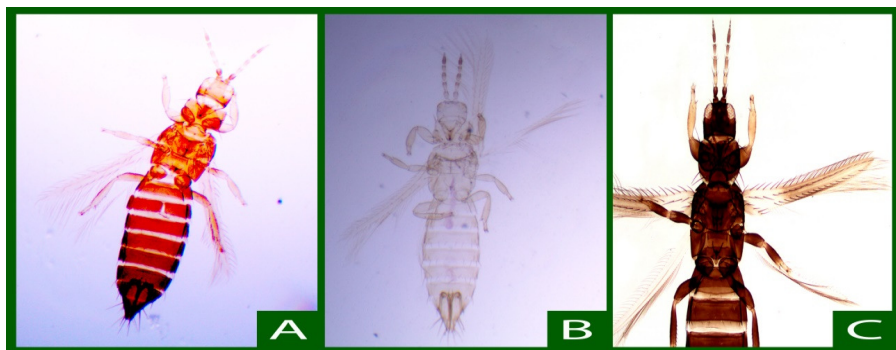


Figura 7: Espécies de tripses identificadas nos municípios produtores de melancia no estado do Tocantins. (A) *F. schultzei*; (B) *F. tritici*; e (C) *F. insularis*. [Foto (C): Prof. Élisson Fabrício B. Lima (UFPI)].

Em todos os locais a espécie predominante foi *F. schultzei*, enquanto que a espécie *F. tritici* também presente em todos os municípios, foram em menor índice. No entanto,

a espécie *F. insularis* foi encontrada somente em Formoso do Araguaia (Tabela 2).

A identificação dessas espécies foi realizada por meio da análise de caracteres morfológicos descritos para cada espécie em chaves taxonômicas.

Espécies/Tripes*	Regiões produtoras de melancia			
	Gurupi	Formoso do Araguaia	Lagoa da Confusão	Porto Nacional
<i>F. schultzei</i>	245	289	439	233
<i>F. tritici</i>	27	135	49	146
<i>F. insularis</i>		6		
Total de espécime	272	430	488	379

Tabela 2: Quantidade de tripes coletados por municípios produtores de melancia do estado do Tocantins.

* Espécimes identificados usando chaves taxonômicas com algumas mudanças, conforme descrito Mound e Kibby (1998), Hoddle e Mound (2003), Monteiro (1999), Mound e Ng (2009), Lima (2011), Monteiro et al. (2001), sob orientação do prof. Élisson Fabrício B. Lima (UFPI).

4.3 Chave para identificação das espécies

1. O segmento abdominal terminal em formato cônico ou não tubular (Figura 8A; Figura 9A e Figura 10A).....2
2. Metanoto com pequena reticulação na parte central (Figura 8B; Figura 9B e Figura 10B).....3

3. Metatoracica furca não em forma de lira (Figura 8C; Figura 9C e Figura 10C).....	4
4.) Antena com 7 ou 8 segmentos (Figura 8D; Figura 9D e Figura 10D).....	5
5. Asas anteriores com primeira e segunda fileira com cerdas completa e regular (Figura 8E; Figura 9E e Figura 10E).....	6
6. Tergito abdominal VIII com pente de microtrichia posteromarginal com poucos dentes apenas lateralmente (Figura 8F e Figura 9F).....	7
6'. Tergito abdominal VIII com pente de microtrichia posteromarginal completo ou no máximo 2 ou 3 dentes ausentes medianamente (Figura 10F).....	8
7. Segmento antenal III com pedicelo simples (Figura 8G); Cerdas ocelares III com inserção bastante próxima entre os ocelos posteriores e próximos as margens internas do triângulo ocelar (Figura 8H); sensilo campaniforme ausente no metanoto (Figura 8I).....	<i>Frankliniella schultzei</i>

- 7'. Segmento antenal III com pedicelo com formato de anel (Figura 9G); cerdas ocelares frontais aos ocelos posteriores (Figura 9H); sensilo campaniforme presente no metanoto (Figura 9I).....***Frankliniella tritici***
8. Segmento antenal III com pedicelo simples (Figura 10G).....9
9. Metanoto com sensilos campaniformes presentes (Figura 10H); cerdas ocelares III frontais aos ocelos posteriores e localizados nas margens externas do triângulo ocelar (Figura 10I); asas anteriores escuras com quarto basal clara (Figura 10J).....***Frankliniella insularis***

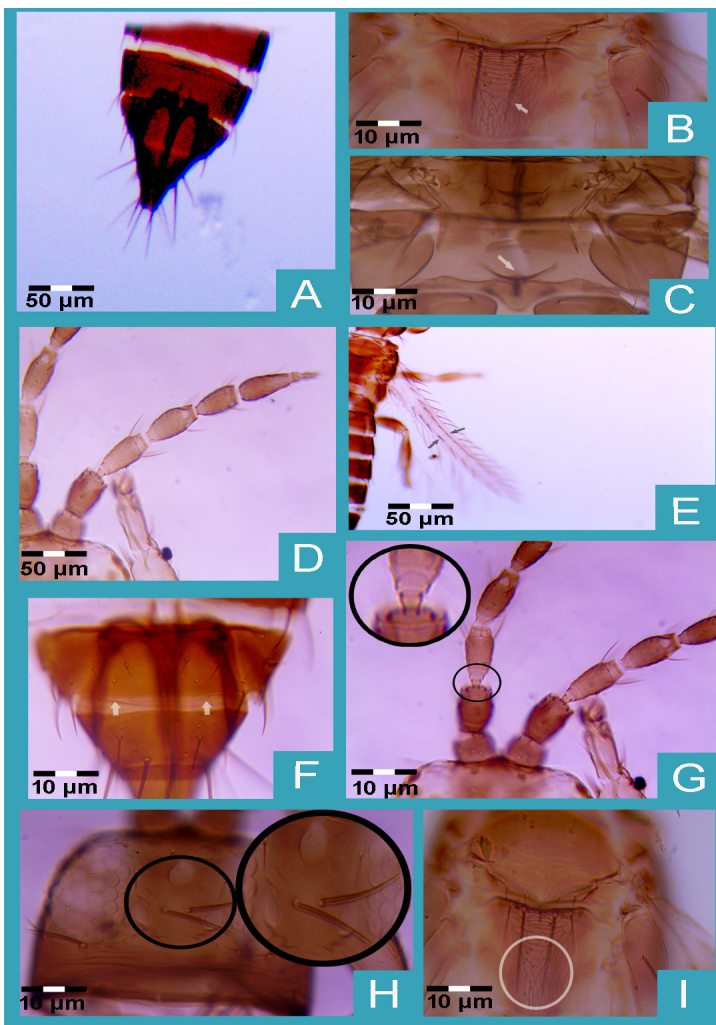


Figura 8: Caracteres morfológicos que identificam a espécie *Frankliniella schultzei* (coloração marrom) presente na cultura de melancia no estado do Tocantins. Sendo: (A) segmento abdominal terminal em formato de cônico; (B) Metanoto; (C) Metatoracica furca; (D) Antena com 8 segmentos; (E) Asa anterior com fileiras de cerdas completas e regular; (F) Tergito abdominal VIII com pente posteromarginal nos terços laterais; (G) Pedicelo simples no segmento antenal III; (H) Cabeça (Dorsal) com cerdas ocelares III entre os ocelos posteriores; (I) Sensilo campaniforme ausente no metanoto. Setas ou marcações nas figuras indicam presença ou ausência dos caracteres morfológicos que definem a espécie.

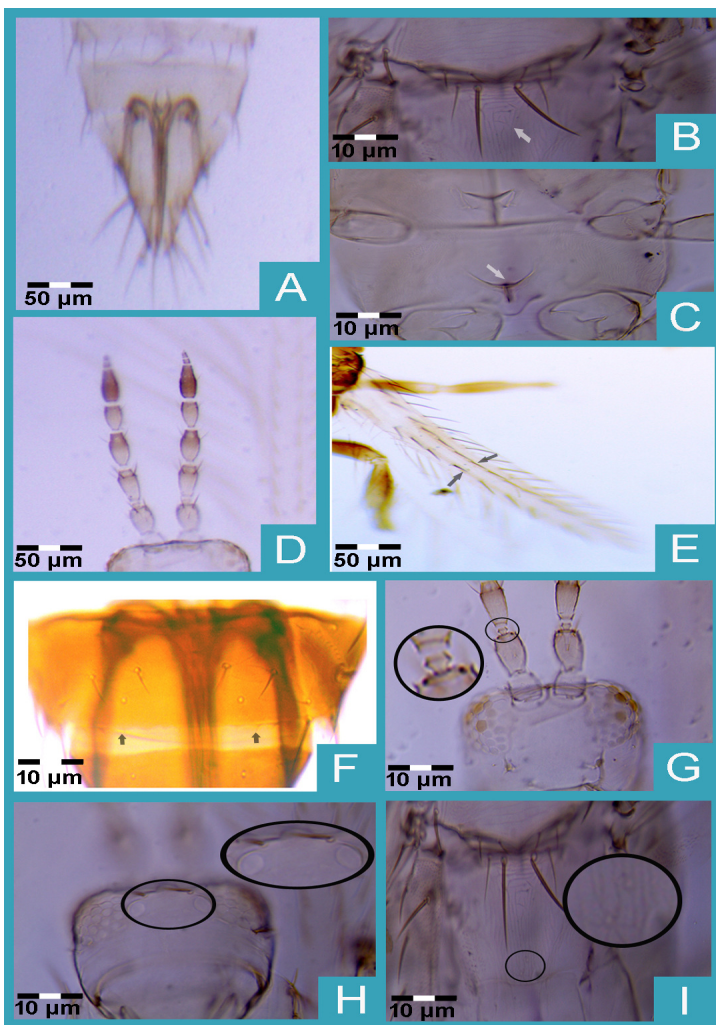


Figura 9: Caracteres morfológicos para identificação da espécie *Frankliniella tritici* presente na cultura da melancia no estado do Tocantins (coloração amarela). (A) Segmento abdominal terminal não tubular; (B) Metanoto; (C) Metatoracica furca; (D) Antena com 8 segmentos; (E) Asa anterior com fileiras de cerdas completas e regulares; (F) Tergito abdominal VIII com pente posteromarginal nos terços laterais; (G) Pedicelo em forma de anel no segmento antenal III; (H) Cabeça (Dorsal) com as cerdas ocelares III frontais aos ocelos posteriores; (I) Sensilo campaniforme presente no metanoto. Setas ou marcações nas figuras indicam presença ou ausência dos caracteres morfológicos que definem a espécie.

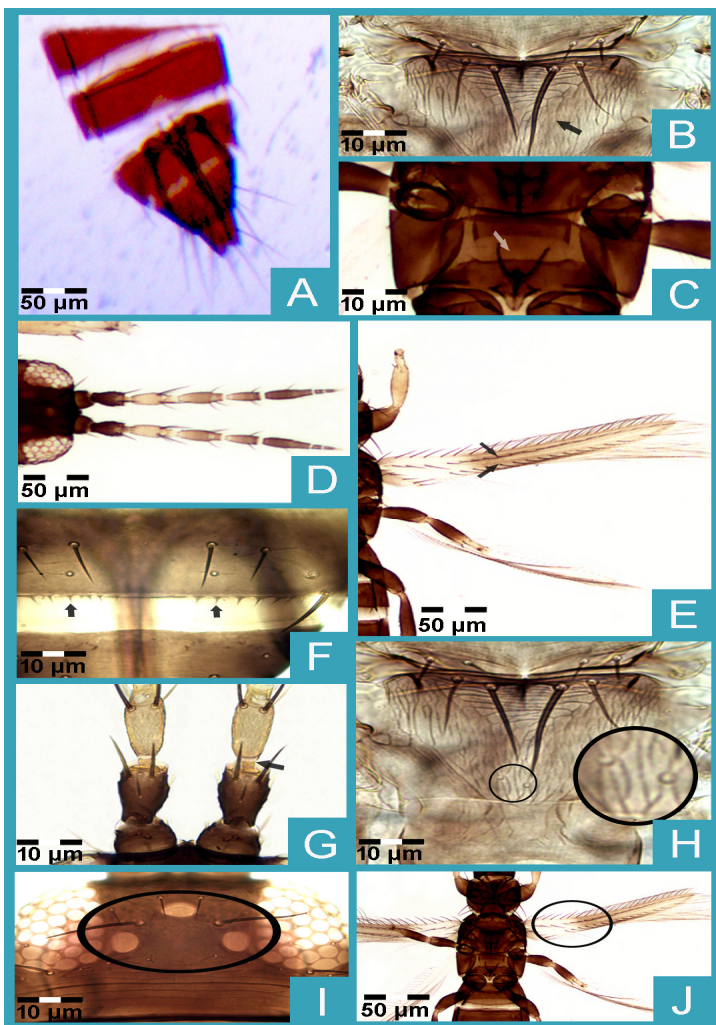


Figura 10: Caracteres morfológicos para identificação da espécie *Frankliniella insularis* (coloração marrom) presente na cultura da melancia no estado do Tocantins. (A) Segmento abdominal terminal não tubular; (B) Metanoto; (C) Metatoracica furca; (D) Antena com 8 segmentos; (E) Asa anterior com fileiras de cerdas completas e regulares; (F) Tergito abdominal VIII com pente posteromarginal completo ou no máximo 3 dentes ausentes medianamente; (G) Pedicelo simples no segmento antenal III; (H) Metanoto com sensilos campaniformes presentes; (I) Cabeça (Dorsal) com as cerdas oclares III frontais aos ocelos posteriores e localizados nas margens externas do triângulo ocelar; (J) asas anteriores escuras com quarto basal clara. Setas ou

marcações nas figuras indicam presença ou ausência dos caracteres morfológicos que definem a espécie. [Fotos: Prof. Élisson Fabrício B. Lima (UFPI)].

A espécie mais abundante em todos os municípios, *F. schultzei* é um inseto amplamente distribuído por todos os continentes, sendo encontrada principalmente nas regiões de climas tropicais, com provável centro de origem a América do Sul (HODDLE *et al.*, 2012). Essa espécie de tripes é altamente polífaga e bastante encontrada no Brasil, com registros em plantas cultivadas e plantas daninhas (LIMA *et al.*, 2013b; LIMA, M. G. A. *et al.*, 2000).

Possivelmente a cor amarela da flor da melancia pode ser um fator atrativo para os tripes (Figura 11). Relatos de Lima, M. G. A. *et al.* (2000), indica que a espécie *F. schultzei* foi encontrada colonizando com maior frequência em plantas daninhas com flores de coloração amarela, sempre com intensas infestações. Pavan *et al.* (1993), relata a importância da cor amarela intensa da flor do tomate selvagem, a qual influenciou à infestação dessa mesma espécie. Em pesquisas realizadas na cultura da melancia no estado do Rio Grande do Norte, foi obtido alto número de *F. schultzei*, demonstrando a preferência dessa espécie por plantas de melancia (Costa *et al.*, 2014). Diante dos relatos, a coloração amarela das flores é um fator de atratividade para o *F. schultzei*. Esta pesquisa esta de acordo com os relatos obtidos, demonstrando

elevados números desse trips nas flores de melancia nos quatro municípios produtores do estado do Tocantins.



Figura 11: Infestação de tripses em flores de melancia nas lavouras comerciais. Sendo: (A) Flor e ramos de melancia com presença de tripses; (B) Flor de melancia com alta incidência de tripses. Fotos foram obtidas do município produtor de Porto Nacional - TO.

Outro fator que pode ter influenciado na alta infestação de *F. schultzei* nos cultivos comerciais, pode ser às condições de temperaturas que ocorrem durante a época de plantio (maio a outubro) da melancia, com variações de 21 - 38 oC (INMET, 2014), podendo ultrapassar essa máxima. A temperatura influencia diretamente no ciclo de vida dos tripses, podendo variar entre 10 e 30 dias (LEWIS, 1997). De acordo com Kakkar et al. (2014), o ciclo de vida do *F. schultzei* é de aproximadamente 12,6 dias com temperaturas de 24,5 oC.

Além desses fatores mencionados, a competição do *F. schultzei* por espaço, pode influenciar negativamente no desenvolvimento de outras espécies de trips. Conforme relatado por Kakkar et al. (2012), podem haver concorrência do *F. schultzei* com outras espécies, com isso interferindo nas infestações de outras espécies nas mesmas plantas.

A espécie *F. schultzei* tem importância econômica por causar danos diretos, durante a alimentação do tecido vegetal, e danos indiretos, causados pela transmissão de vírus (RILEY *et al.*, 2011). Entre as espécies identificadas, apenas *F. schultzei* tem registro como vetor de *Tospovirus*. De acordo com Nagata et al. (2002), *F. schultzei* apresenta alta afinidade na transmissão do vírus *Groundnut ringspot virus* (GRSV), com varias expressões sintomatológicas, que muitas vezes demonstraram ser mistos, ou seja, presença de outros tipos virais na mesma planta e/ou folha.

Conforme relatos de Aguiar et al. (2015), em condições de campo podem ocorrer infecções virais múltiplas associadas a fatores como tipo de vírus, planta hospedeira e sistema de cultivo. Os sintomas podem resultar em folhas das plantas de melancia com manchas necróticas, pontuações arredondadas, folhas cloróticas, nanismo, amarelecimento, folhas borbulhadas (Figura 12) (RILEY *et al.*, 2011).

No Brasil há registros de plantas de melancia infectada com GRSV, em condições de campo, no estado de São Paulo, sendo transmitido por *F. schultzei* (LEÃO *et al.*, 2014). Outra particularidade na transmissão é que o vírus se multiplica no vetor, portanto, a relação de transmissão é do tipo circulativa/propagativa. Em geral, os *Tospovirus* causam grandes prejuízos econômicos às hortaliças e às plantas ornamentais. Surto epidêmicos são observados com frequência, principalmente nas culturas de tomate, pimentão e alface.

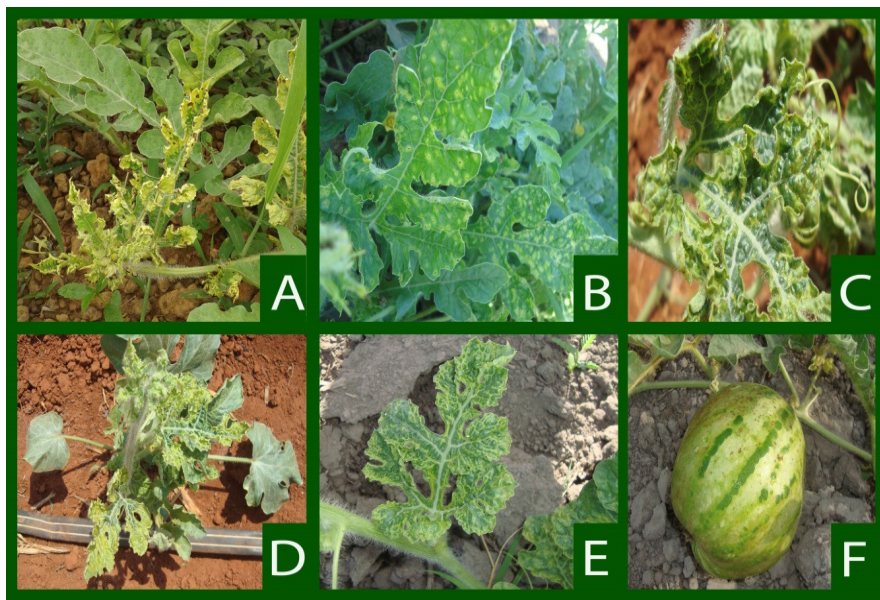


Figura 12: Plantas, folhas e fruto expressando sintomatologia de vírus em cultivo comercial de melancia no estado do Tocantins: (A) Folhas com manchas necróticas e amareladas; (B) Folhas com pontos cloróticos e arredondados; (C) Folha borbulhada; (D) Planta de melancia com nanismo; (E) Folha borbulhada e amarelada; e (F) Fruto de melancia borbulhado com prateamento. (A imagem (A) é do campo de produção de Porto Nacional – TO; a imagem (B) é do campo de produção de

Lagoa da Confusão – TO; a imagem (C) e (D) são dos campos de cultivos de Uruana – Goiás; e a imagem (E) e (F) são das áreas de produção de Formoso do Araguaia – TO).

A identificação da espécie *F. tritici* demonstra a ocorrência deste inseto nos cultivos de melancia no estado do Tocantins. *F. tritici* é originário da região leste dos EUA, com grande disseminação na América do Norte (HODDLE *et al.*, 2012). No Brasil há registros do *F. tritici* presente nas plantas de amendoim (*Arachis hypogaea*), soja (*Glycine max*), guandu (*Cajanus cajan*) e fava (*Phaseolus lunatus*). Culturas estas pertencentes à família Fabaceae de importância econômica para regiões do Meio-Norte, envolvendo os estados do Maranhão e Piauí (LIMA *et al.*, 2013b). Sendo encontrado também na cultura de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*), no estado do Piauí (LIMA *et al.*, 2013a). Outro registro de *F. tritici* no Brasil foi na cultura do trigo, no estado do Rio Grande do Sul (Monteiro, 1999). Contudo, em campos de cultivo de melancia, é o primeiro relato da presença de *F. tritici*.

De acordo com relatos de Hoddle *et al.* (2012), essa espécie de tripes causa danos em campos de cultivos, durante a alimentação, particularmente em rosas. Com relação à presença dessa espécie no Brasil, não houve relatos sobre possíveis danos diretos e/ou indiretos às plantas cultivadas. A espécie *F. tritici* ainda não foi correlacionada com a transmissão de vírus de planta até o momento

(HODDLE *et al.*, 2012). Diante do contexto, não é possível afirmar possíveis danos causados por essa espécie nos cultivos de melancia no Estado.

Baseado no nível populacional do *F. tritici* obtido, também não é possível associar essa espécie com eventuais danos, devido o número de inseto identificado ter sido baixo, quando comparado com a espécie de *F. schultzei*.

Outra espécie identificada foi a *F. insularis*, sendo bastante encontrada no sul da América Central, com presença no México, Hawaii e Argentina (HODDLE *et al.*, 2012). Estes autores relatam ainda que a espécie *F. insularis* é considerada uma praga secundária em cultivos de guandu e batata mexicana (*Pachyrhizus*) na América Central. No Brasil há registros da presença do *F. insularis* em plantas da família Fabaceae, feijão-de-corda, guandu e fava nos estados do Maranhão e Piauí (LIMA *et al.*, 2013b).

Na cultura da melancia, é o primeiro relato da presença do *F. insularis*. No entanto, foi identificada somente no município de Formoso do Araguaia (Tabela 2). De acordo com Kakkar *et al.* (2012), a baixa infestação de tripes em áreas de cultivo, pode estar relacionada com a baixa abundância natural do inseto na área de estudo, como também pode estar relacionada à inadequação da cultura como hospedeira. Outro possível fator da presença de alguns espécimes identificado

pode ser a ação dos ventos que influenciam na dispersão do tripses, sendo que poderia estar ao acaso nas lavouras de melancia.

No Brasil ainda não há relatos de danos causados por essa espécie de tripses, e ainda a literatura demonstram que não é considerada vetor de vírus (HODDLE *et al.*, 2012). Diversas coletas em diferentes datas, em trabalho futuro, serão necessárias para elucidar os potenciais danos dessa espécie nos cultivos de melancia.

4.4 Identificação de vírus associados à espécie de tripses

O RNA total das amostras de tripses sequenciado resultou na sequência completa do segmento RNA S do vírus *Groundnut ringspot virus* (GRSV), o qual consistiu de 3.074 nucleotídeos (nt) (Figura 13). A partir dessa sequência foi realizado alinhamento com outras sequências já depositadas no GenBank, de acordo com os números de acessos (AHW79989; AFR53114; AHW79988; AFR53116; AFR53117; AFR53115; AAG23654; AJI44434; AAL93247; AAL93246; P36294; AAM47011; AAF64317), assim a sequência obtida apresentou homologia para as proteínas não-estrutural (NSs) e do nucleocapsídeo (N) de GRSV com identidade de 97% e 98%, respectivamente, as quais depositadas por HALLWASS

et al. (2012) e BOARI et al. (2002), conforme acessos AEX32991 e AAF64317, respectivos.

Comparações múltiplas de alinhamento de sequências da proteína N com outros *Tospovirus* demonstrou identidade para GRSV de 98%, diferindo do TCSV (87%). De acordo com Ciuffo et al. (2008), quando o grau de identidade é abaixo de 90% entre comparações com outras sequências homólogas, são consideradas de estirpes virais diferentes.

O segmento RNA S demonstra uma alta similaridade com o vírus do GRSV, pertencente ao gênero *Tospovirus*. Essas semelhanças foram obtidas através de comparações no GenBank, os quais apresentaram grau de homologia acima de 97% (números de acessos: YP_004421856; AEX32991; AAF64317; AAM47011). Conforme resultado do grau de identidade, confirma-se que o segmento S do isolado obtido é do vírus GRSV. Esses resultados corroboram com descrito por Ciuffo et al. (2008), que considera mesmo vírus, por possuir sequências de aminoácidos com homologia acima de 90% (podendo haver exceções em possíveis mutações).

Análise da sequência do segmento completo RNA S foram identificadas as sequências das proteínas do nucleocapsídeo (N), consistindo de 777 nt (2.923 até 2.147 nt) e a proteína não-estrutural NSs, composta por 1.404 nt (88 até 1.491 nt) (Figura 13). Essas duas proteínas são codificadas

por 258 e 467 aa, respectivamente. De acordo com Oliveira et al. (2012), a proteína (N) é comumente utilizada para classificação taxonômica do *Tospovirus*. Assim sendo definida para comparação com outras proteínas. Neste caso, a sequência da proteína N do GRSV obtida foi altamente similar com os isolados de GRSVs (Rio de Janeiro e Alagoas), caracterizando a dispersão deste vírus junto à população de tripes no estado do Tocantins.

Os resultados após sequenciamento demonstram que GRSV está associado à população de tripes (Figura 14) nas lavouras comerciais do estado do Tocantins, e especialmente junto à espécie *F. schultzei*, o qual possui alta afinidade para transmissão deste vírus em sistema de cultivo (NAGATA *et al.*, 2004). E de acordo com resultado obtido por Leão et al. (2014), que relataram a gama de hospedeiros dos isolados GRSV de melancia foram muito semelhante ao de GRSV descrito em outros hospedeiros como o tomate (*Solanum lycopersicum*) - cvs. Santa Clara e Mariana. Além disso, resultados obtidos neste trabalho demonstram a predominância de *F. schultzei* entre as espécies identificadas nos municípios produtores de melancia, podendo ser o principal vetor associado na dispersão do GRSV nas plantações dessa cultura.

1.agagcaattgtgtcattttttatttctaatacgaacctcaactagcaaatctcagaactgtaataagcacagaagc
 76.acaagagccaca**ttgtcatcagggtgtttatgaatcgatcattcagacaaaggcttcagtttggggatcgacagc**
 150.**atctggttaagttccatcgtggattcttactggatttatgagttcccgactgggtttcccggttggttcaaaactcag**
 223.**tgtactctgattcaaggagcaaaagtgcgttcggctacacttcaaaaaattggtgatattcctgctgtgagagg**
 296.**aggaatttttatctcagaacgttcataatcccagtgtttgatgatattgatttcagcatcaatatcaatgattc**
 369.**tttcttggcaattttctgtttgttccaacacagtttaacaccaatggagtgaagcatcagggtcattcttaaagtc**
 442.**ctttctcttgcctcaatttgcactccttttgaaectgtgatgagcaggtcagagattgctagcagattccggctcc**
 515.**aagaagaagatataattcctgatgacaaaatatatatctgctgctaacaagggatctctctcctgtgtcгааага**
 587.**acataacttacaagttgaaatgagccacaatcaggttttaggcaaaagtgaatgttctttctcctcacagaaat**
 661.**gttcgatgagtggctgtatagtttcaaaocaaaatttcaaccagatcgaaagttaataacagaactgtaaactctc**
 734.**tgcagtcaaaactcttgcattatggctacagaaaaacaacattatgcctaacctcctaagctttttgttaaagcttc**
 807.**tactgatttctaattttaagttgagcctctggctgagaattccaaaagttttgaagcaaatagccatacagaag**
 880.**ctctcaagtttgcaggggacgaaaaccggtaaaagtttctatttgtctattgcatgcacccaatcataaca**
 953.**gttggaacacagcttgaatgttactgttatatgtlagacatcagcttccaatccctaagtccaaagctccttt**
 1026.**tgaattatcgatgattttctctgatctgaaagagccttacaacactgtgcattgatccttcatatcctcaaa**
 1098.**gattgttcactgcttgcgttgagactcacacttcttttgcacaagttcttttgcacaaagctgcagaagaagtgt**
 1170.**agttatatactataaaacagccctgaaactaacctccagctaaagctggatctagggtgaagaacattgaaacta**
 1242.**cagtgaagatgcttcgaagaagaagtattttctttcaaaaacactcgaatgcttaccagtaaatgtgcagac**
 1314.**tatgtcttatttggatagcattcagattccttcatggaagatagactttgccagaggagagatcagaatctc**
 1386.**ccctcaatctattcctatttgcagaatcttttgcctcaagctggatttgagcaagatcaaggaaaaagaatcctt**
 1458.**gacttgggaaacatccagctatgatctagaa****ttta**aaggagctcgtagctgttcaagtagtgtctgtcaactt
 1530.gcttatcctttacgttgtttacttcttttaaatctaattaaagttagattcaagtagtttagtatgctacag
 1602.cattattacaaaaatatataaaaaatacaaaaaaacacacaaaaaatataaaaaccacaaaagatcccgaaa
 1674.gggacaatttgggttgatttactctggtttaggcttatctaggctgatgtgtgtttgagcaaaataacactgtt
 1746.acatgcaataactggaatttaaagtccttaaaaagaagtttcaaaggacagcttggccaaacttggtttttgt
 1818.ttttgtttttgtttttgtttttgtttttgtttttatttttgttttatttttatttttatttttagttt
 1890.atttttgtttttgttttttatttttattttcttttgtttaattttatttttatatatatcaaacacaaat
 1962.ccacacaaataatttttaatttcaaacattctactaatttagcacacttagcctggctttatcacacttaaca
 2034.cacttagctaggctttaacacactgaactgagttagaacacacttagtattatgcatctcttaagtaataca
 2106.ctttaataatatgcatctctgaatcagccttaagaagctt**ttatgcaataccagcaaatcttgactctttc**
 2178.**ttagctccaaacatttcatagaatttgtcagattgtcactgtaatagtcocatagcaaatgcttcccttagca**
 2250.**ttaggatttgcagaactaagtatcttggca****tattctttccctttggttat****t**gtgtgatcatccattgttaaat
 2322.**cctttgcttttaagcaactgtgcagaccttccctagagcttcccttagtgtgtgacttagtcggttcaatccct**
 2394.**aactccttgtactttgcatcttgatataatggcaagaacaacactgatcatttcgaagctgtcaacagaagca**
 2466.**atgagagggatactacctccaagcattatagcaagctctcacagatttgcactctgccaaaggcagcccgtaa**
 2538.**gcttggaccaaaaggtgggaggcgaatttttgccttgataatagcaagattctcattgtttgcagctctctctc**
 2610.**atgagcttcaactcttatcatgctatcaagcctcctgaaagctcatgtcttttagctccgactctctcagaattt**
 2682.**ttctttatcgtgaccttaccaaaagttaaatacactttgtttcacaaactttcatgatgctttggogattcttc**
 2754.**aagaaagtcaaacatgaagtgatactcattttcttaatcaggtcaaaaatttctcgacagaaagttttaaa**
 2826.**ttagaatgcaacctgggttttggctcttcttcaaacctcaacgtctcgagattgagtttaaaagagagacaatgttt**
 2898.**tctttt****gtgagcttgaccttagacat**gggtgtagtttagatctagacctttctcgagagataagattcaagg



2970.tgagaaagtgaacactgtagaccgcggtcgttacttatcctgttaatgtgatgatttgattgctgaatgt3042.t
aggtttttgaataaaattgacacaattgctct.3074

Figura 13: Sequências de nucleotídeos do segmento RNA S do GRSV obtidas do pool de tripes coletadas no sistema de cultivo no estado do Tocantins. Sendo que o destaque em verde corresponde à sequência nucleotídica da proteína não estrutural NSs (88 ate 1491 nt). A parte destacada em amarelo corresponde à proteína do nucleocapsídeo N (2923 até 2147 nt). Setas indicam os oligonucleotídeos utilizados para confecção dos *primers* For-Ver (senso complementar – 71 a 93 nt e senso viral – 2.860 a 2.838 nt).

4.5 Análise filogenética do GRSV

De acordo com Ciuffo et al. (2008), que a partir do alinhamento das sequências da proteína N de vários vírus depositadas no GenBank, o GRSV e TCSV (51% de identidade), apresentaram maior grau de parentesco molecular. Diante desse contexto, foi construída a árvore filogenética utilizando somente sequências da proteína N dos vírus GRSV e TCSV. A árvore teve como base de enraizamento a sequência do GRSV obtida e alinhadas com outras sequências depositadas no GenBank.

Conforme resultados, foram obtidos dois grupos distintos, sendo um grupo com isolado de TCSV e outro com isolados de GRSV (Figura 14), conforme observado por Ciuffo et al. (2008). A sequência das amostras obtidas do estado do Tocantins foi agrupada com outros isolados de GRSV do Brasil (Alagoas e Rio de Janeiro) (Figura 14). No entanto

observa-se que houve um subgrupo para os isolados de GRSV da África do Sul e Holanda (Figura 14).

Estes resultados confirmaram que GRSV é particularmente semelhante com outros isolados de GRSV obtidos no Brasil, como sugerido anteriormente usando apenas a proteína N. A filogenia da proteína N sugere que podem ser utilizados para entender as relações filogenéticas do *Tospovirus* (GRSV), com a vantagem de utilizar uma região mais conservada (GN) e, por conseguinte, simplificar as estratégias baseadas em RT-PCR para detecção de GRSV em tripes.

Outro fator que pode explicar semelhança na identidade dos isolados de GRSV do Brasil está relacionado ao principal inseto vetor, *F. schultzei*, amplamente distribuída em todas as regiões brasileiras (COSTA *et al.*, 2014; LEÃO *et al.*, 2014; LIMA *et al.*, 2013b).

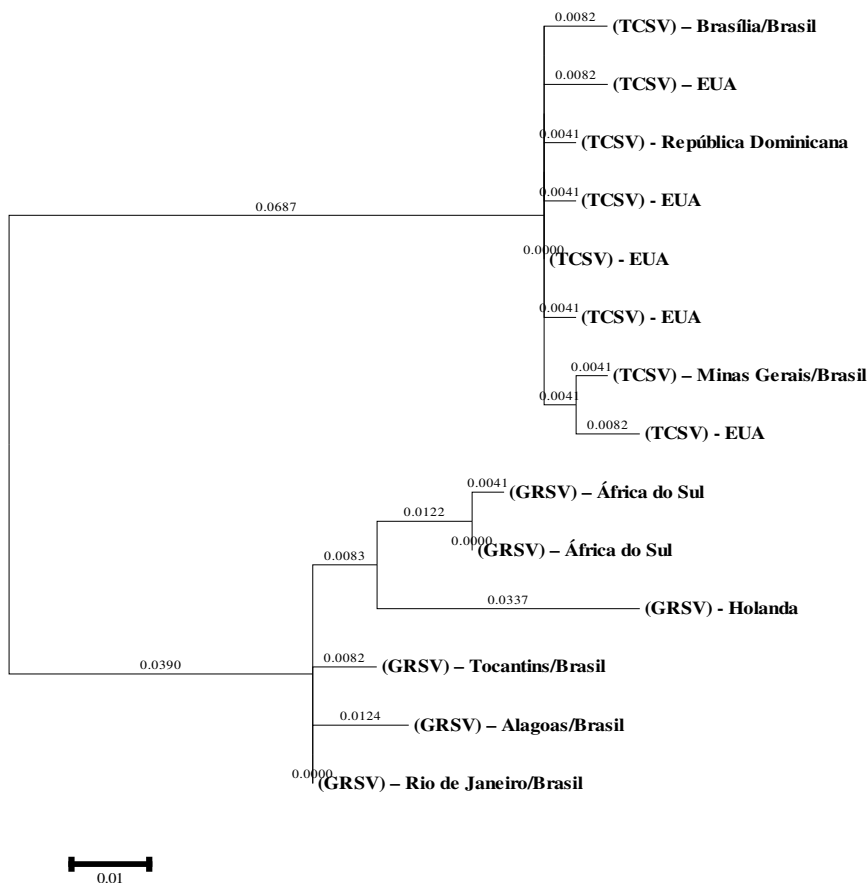


Figura 14: Árvore filogenética obtida a partir do alinhamento da sequência da proteína do nucleocapsídeo (N) comparando a similaridade com 13 membros de *Tospovirus* disponíveis no GenBank: *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) AHW79989; *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) AFR53114; *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) AHW79988; *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) AFR53116; *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) AFR53117; *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) AFR53115; *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) AAG23654; *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) AJI44434; *Groundnut ringspot virus* (GRSV) AAL93247; *Groundnut ringspot virus* (GRSV) AAL93246; *Groundnut ringspot virus* (GRSV) P36294; *Groundnut ringspot virus* (GRSV) AAM47011; *Groundnut ringspot virus* (GRSV) AAF64317.

4.6 Identificação de GRSV de amostra de tripes no estado do Tocantins

A partir da RT-PCR foi confirmada a presença de GRSV (nucleocapsídeo - N) junto à população de tripes nos quatro municípios produtores de melancia do estado do Tocantins. Conforme o resultado houve amplificação do GRSV de amostras de tripes de regiões amplificadas para 644 pb, correspondente a região da proteína do nucleocapsídeo (N) (Figura 15).

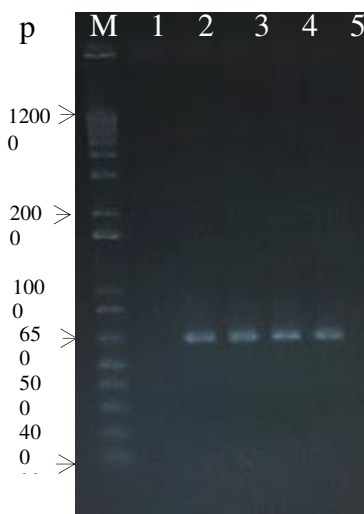


Figura 15: Identificação de GRSV a partir de RT-PCR em amostras de tripes obtidas em cultivo comerciais de melancia no estado do Tocantins, em gel agarose a 0.8%, com produtos amplificados do nucleocapsídeo (N) com aproximadamente 644 pb, sendo (M) Marcador (Invitrogen) 1kb; (1) Controle negativo (PRSV-W); (2) Amostra de tripes do município região de Gurupi; (3) Amostra de tripes de Formoso do Araguaia; (4) Amostra de tripes da Lagoa da Confusão e (5) Amostra de tripes de Porto Nacional.

Conforme já tem sido relatado, o GRSV vem infectando melancia em outras regiões produtoras de *Curcubitaceae* no Brasil (LEÃO *et al.*, 2014), assim este resultado demonstra que o vírus encontra distribuído em todos os campos de

cultivos de melancia dos quatro municípios do estado do Tocantins. A ocorrência nas lavouras comerciais pode estar associada com o trips *F. schultzei*, que devido sua afinidade para transmissão de GRSV, pode ser o fator condicionante para dispersão e distribuição desse vírus nos plantios de melancia.

No contexto geral, a infecção natural de melancia com GRSV já foi relatado no Brasil por Leão et al. (2014). Outro registro de infecção de GRSV em *Curcubitaceae* no Brasil, em condições naturais, foram registrados em cultivo de pepino por Spadotti et al. (2014). Conforme relatos por Yeh et al. (1992) a infecção de melancia com *Tospovirus* havia sido observados anteriormente apenas no Japão e Taiwan, com o vírus *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV). Na literatura, registros de infecção com *Tospovirus* em plantas de *Curcubitaceae* é bastante comum, como em *Curcubita* spp, pepino e melão (CIUFFO et al., 2009; GIAMPAN, 2007; GIAMPAN et al., 2009; SPADOTTI et al., 2014). Esses relatos demonstram as *Curcubitaceae* amplamente associadas com as espécies de trips vetores de *Tospovirus*, assim havendo proliferação da doença viral nos cultivos dessa família.

Uma estratégia eficaz para redução da incidência de GRSV nas culturas de melancia deve ser composta por práticas de manejo de produção, devendo ser empregadas

desde antes e durante o cultivo das plantas. Práticas que devem ser adotadas desde o uso de cultivares resistentes, controle fitossanitário, tratos culturais e controle químico. No entanto, algumas práticas vêm sendo adotadas de modo eficaz no controle de tripses e redução dos vírus do gênero *Tospovirus* em algumas culturas como tomate e fumo (PAPPU *et al.*, 2000; RILEY; PAPPU, 2000).

A identificação das espécies de tripses e vírus associados ao cultivo comercial de cultura da melancia no estado do Tocantins podem estabelecer uma alternativa para o emprego de manejo integrado para o controle do inseto, e possíveis reduções dos danos diretos e/ou indiretos ocasionados na cultura. Visto que outras alternativas de controle eleva os custos de produção, como a utilização sucessivas de inseticidas e eliminação de plantas infectadas, uma vez que a cultura da melancia pode permanecer por um período no campo susceptíveis a infestação de tripses.

Para um manejo eficaz é necessária a compreensão das relações entre as condições climáticas, biologia das espécies de tripses vetores, época de plantio e colheita da cultura de melancia, assim sendo fundamental para o estabelecimento de estratégias e táticas adequadas de controle do inseto e manejo do vírus GRSV nesta cultura.

5. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, foi possível conhecer as espécies encontradas de tripes associadas à cultura da melancia no estado do Tocantins, sendo *F. schultzei* a de maior abundância em colonização nos municípios produtores. As outras duas espécies identificadas, *F. tritici* e *F. insularis*, tem como primeiro relato colonizando plantas de melancia no Brasil. No entanto, ainda não há registros sobre possíveis danos causados por essas espécies em cultivos de melancia.

A espécie *F. schultzei* destaca-se neste trabalho devido o alto índice populacional encontrado e, além disso, por causar danos diretos e indiretos nas plantas de melancia. E ainda, por apresentar alta afinidade na transmissão do vírus GRSV, o qual encontrado nas amostras de tripes coletadas nos cultivos de melancia no Estado. Esse vírus GRSV é transmitido exclusivamente por tripes, sendo que das espécies identificadas nos municípios produtores de melancia, apenas *F. schultzei* é considerado vetor. Essa espécie de tripes pode ser considerada como praga potencial a cultura da melancia no Tocantins, devido o alto nível de colonização e por gerar aumento de custos de produção.

A identificação das espécies de tripes e do vírus GRSV, possibilitará desenvolver estratégias e táticas de manejo antes

e durante a implantação das lavouras de melancia no estado do Tocantins. E por fim, este trabalho pode contribuir para o desenvolvimento de programa de melhoramento para resistência genética de plantas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, Raimundo Wagner de Souza et al. Serological Identification of Virus in Watermelon Production Fields in the Tocantins State. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, vol. 58, n. 2, p. 192-197, mar-apr. 2015.

AGUIAR, R. W. S.; EVANGELISTA, M. P.; RAMOS, A. C.C.; PASCOAL, P. V.; BARROS, H. B.; SANTOS, M. M. Danos e sintomatologia de vírus associado à cultura da melancia no estado do Tocantins. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, Supplement 1, p. 1632-1639, Nov. 2013.

ALMEIDA, D. P. F. Cucurbitáceas hortícolas. **Faculdade de Ciências**, Universidade do Porto, 2002.

ALMEIDA, D. P. F. Cucurbitáceas hortícolas. **Faculdade de Ciências**, Universidade do Porto, 2003.

ALVES-SILVA, E.; DEL-CLARO, K. Thrips in the Neotropics: What do we know so far?. **Trends in Entomology**, Kerala, vol. 6, p. 76-88, 2010.

ANDRADE JÚNIOR, Anderson Soares de. et al. A cultura da melancia/ Embrapa Meio-Norte, Brasília, DF : **Embrapa Informação Tecnológica**, 2007. ed. 2, 85 p. (Coleção Plantar, 57).

BOARI, Alessandra J. et al. Detection and partial characterization of an isolate of *Groundnut ringspot virus* in *Solanum sessiliflorum*. **Fitopatologia Brasileira**, vol. 27, n. 3, p. 249-253, 2002.

CANDRESSE, Thierry et al. Appearances Can Be Deceptive: Revealing a Hidden Viral Infection with Deep Sequencing in a Plant Quarantine Context. **Plos one**, Washington, vol. 9, n. 7, p. 1-13, jul. 2014.

CAVALLERI, A.; MOUND, L. A. Toward identification of *Frankliniella* species in Brazil (Thysanoptera, Thripidae). **Zootaxa**, Auckland, vol. 3270, p. 1-30, apr. 2012.

CIUFFO, M.; TAVELLA, L.; PACIFICO, D.; MASENGA, V.; TURINA, M. A member of a new Tospovirus species isolated in Italy from wild buckwheat (*Polygonum convolvulus*). **Springer**, Grugliasco, vol. 153, p. 2059-2068, oct. 2008.

CIUFFO, M. et al. A new *Tospovirus* sp. in cucurbit crops in Mexico. **Plant Disease**, Torino, vol. 93, n. 5, p. 467-474, may. 2009.

CIUFFO, M.; MAUTINO, G. C.; BOSCO, L.; TURINA, M.; TAVELLA, L. Identification of *Dictyothrips betae* as the vector of *Polygonum* ring spot vírus. **Annals of Applied Biology**, Torino, v. 157, p. 299–307, may. 2010.

CORRÊIA, S. M. S. Africanidades na paisagem brasileira. **INTERthesis**, Florianópolis, vol. 07, n. 01, p. 96-116, jan-jun 2010.

COSTA, E. M.; LIMA, M. G. A.; JUNIOR, R. S.; CAVALLERI, A.; ARAUJO, E. L. Thrips collected in watermelon crops in the semiarid of Rio Grande do Norte, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, nov. 2014.

COTE, K. W.; DAY, E. R. Thrips. **Virginie Cooperative Extension**, Virginia, mar. 2015.

DIAS, R. C. S.; REZENDE, G. M. Embrapa: Sistema de Produção de Melancia. **Embrapa Semiárido**, n. 6, 2010, (Versão Eletrônica).

DOMICIANO, G. P.; RESENDE, R. S.; RODRIGUES, F. A.; da MATTA, F. M. Alterações na fotossíntese de plantas infectadas por patógenos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 17, n. 1, p. 305-339, out. 2009.

ELLIOTT, R. M.; WEBER, F. Bunyaviruses and the Type I Interferon System. **Viruses**, Scotland, vol. 1, p. 1003-1021, nov. 2009.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Production, 2013. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 02 jul. 2015.

FARMERGILES, Y. 2011. Thrips: YaHooka Forums. Disponível em: <<http://www.yahooka.com/nursery/162963-thrips.html>>. Acesso em: 05 jun. 2015.

GIAMPAN, J. S. *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV): detecção, avaliação de danos em abobrinha de moita e reação de espécies de cucurbitáceas. 2007. 51 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

GIAMPAN, J. S.; REZENDE, J. M.; PIEDADE, S. M. S. Danos causados pelo Zucchini lethal chlorosis virus (ZLCV) sobre a produção de frutos comerciais de abobrinha de moita 'Caserta'. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 3, p. 223-225, 2009. (Notas científicas).

HALLWASS, M.; LEASTRO, M. O.; LIMA, M. F.; INOUE-NAGATA, A.; RESENDE, R. O. Sequence determination and analysis of the NSs genes of two tospovirus. **Archives of Virology**, Brasília, vol. 157, n. 3, p. 591-596, mar. 2012.

HODDLE, M. S.; MOUND, L. A. The genus *Scritothrips* in Australia (Insecta, Thysanoptera, Thripidae). **Zootaxa**, Auckland, vol. 268, p. 1-40, aug. 2003.

HODDLE, M. S.; MOUND, L. A.; PARIS, D. L. 2012. Thrips of California. CBIT Publishing, Queensland. Disponível em: <http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/thrips_of_california/overview/classification.html>. Acesso em: 30 jun. 2015.

HULL, R. Genome Organization. In: _____. **Plant Virology**. 4. ed. San Diego: Academic Press, 2002, cap. 6, p. 171-224.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE: Produção Agrícola Municipal, 2013. Disponível em <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1612&z=p&o=28>>. Acesso em: 23 jun. 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - INMET. 2014. **Boletim Agroclimatológico Mensal**, Brasília, vol. 1, n. 1, p. 1-37, ago. 2014.

KAKKAR, G.; SEAL, D. R.; STANSLY, P. A.; LIBURD, O. E.; KUMAR, V. Abundance of *Frankliniella schultzei* (Thysanoptera: Thripidae) in Flowers on Major Vegetable Crops of South Florida. **Florida Entomologist**, Florida, vol. 95, n. 2, p. 468-475, jun. 2012.

KAKKAR, G.; SEAL, D. S.; JHA, V. K. Common blossom thrips, *Frankliniella schultzei* Trybom (Insecta: Thysanoptera: Thripidae). **UF/IFAS Extension, Gainesville, FL 32611**, jan. 2014.

KIRK, W. D. J. Feeding. In: LEWIS, T. **Thrips as crop pests**. New York: Cab International, 1997. cap. 3, p. 65-118.

LEÃO, Evelynne Urzêdo. et al. *Citrullus lanatus* is a new natural host of *Groundnut ringspot virus* in Brazil. **Journal of Phytopathology**, p. 1-5, sep. 2014. (Short Communication).

LEWIS, T. Pest Thrips in Perspective. In: LEWIS, T. **Thrips as crop pests**. New York: Cab International, 1997. cap. 1, p. 1-13.

LIMA, E. F. B. Tripes (Insecta: Thysanoptera) associados a espécies de Fabaceae no Meio-Norte do Brasil. 2011. 120 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

LIMA, E. F. B.; FONTES, L. S.; PINENT, S. M. J. Thrips species (Insecta: Thysanoptera) associated to Cowpea in Piauí, Brazil. **Biota Neotrópica**, vol. 13, n. 1, p. 383-386, mar. 2013a.

LIMA, E. F. B.; MONTEIRO, R. C.; ZUCHI, R. A. Thrips species (Insecta: Thysanoptera) associated to Fabaceae of agricultural importance in Cerrado and Amazon-Caatinga ecotone from Brazilian Mid-North. **Biota Neotrópica**, Piracicaba, vol. 13, n. 2, p. 283-289, jun. 2013b.

LIMA, M. G. A.; MARTINELLI, N.; MONTEIRO, R. C. Ocorrência de *Frankliniella schultzei* (trybom) (Thysanoptera: Thripidae) em plantas daninhas. **Planta daninha**, Viçosa, vol. 18, n. 2, p. 367-372, 2000. (Nota Científica).

LOWERY, D. T. 2010. Grape Insect and Mite Pests: Thrips. Disponível em: <<http://www.agf.gov.bc.ca/cropprot/grapeipm/thrips.htm>>. Acesso em: 04 jun. 2015.

MICHEREFF FILHO, M.; GUIMARÃES, J. A.; LIZ, R. S. Pragas da melancia e seu controle. Brasília: **EMBRAPA Hortaliças**, p. 1-18, nov. 2010 (Circular Técnica 92).

MONTEIRO, R. C. Espécies de tripes (Thysanoptera: Thripidae) associadas a algumas culturas no Brasil. 1994. 85 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior “Luís de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

_____. Estudos taxonômicos de tripes (Thysanoptera) constatados no Brasil com ênfase no gênero *Frankliniella*. 1999. 144 f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

_____. The Thysanoptera fauna of Brazil. In: MARULLO, R.; MOUND, L. A. Thrips and Tospoviruses: Proceedings of the 7th International Symposium on Thysanoptera. Canberra, **Australian National Insect Collection**, 2002. p. 325-340.

MONTEIRO, R. C.; MOUND, L. A.; ZUCCHI, R. A. Espécies de *Frankliniella* (Thysanoptera: Thripidae) de Importância Agrícola no Brasil. **Neotropical Entomology**, Piracicaba, vol. 30, n. 1, p. 65-72, mar. 2001.

MONTEIRO, R. C.; LIMA, E. F. B. 2011. Thysanoptera of Brazil. Disponível em: <<http://www.lea.esalq.usp.br/thysanoptera/infos.htm>>. Acesso em: 11 mai. 2015.

MONTEIRO, R. C.; MOUND, L. A.; ZUCHI, R. A. Thrips (Thysanoptera) as pests of plant production in Brazil. **Revista Brasileira Entomologia**, vol. 43, n. 3-4, p. 163-171, 1999.

MOUND, L. A.; TEULON, D. A. Thysanoptera as phytophagous opportunist. In: PARKER, B. L., eds. Thrips biology and management. Londres, **Plenum Press**, p.3-20, 1995.

MOUND, L. A. Thysanoptera: Diversity and Interactions. **Annual Review of Entomology**, Canberra, v. 50, p. 247-269, 2005.

MOUND, L. A.; MORRIS, D. C. The insect Order Thysanoptera: Classification versus Systematics. In: ZHANG, Z. Q.; SHEAR, W. A. Linnaeus Tercentenary: Progress in Invertebrate Taxonomy. **Zootaxa**, Auckland, v. 1668, p. 395-411, dec. 2007.

MOUND, L. A.; NG, Y. A. Na illustrated key to the genera of Thripinae (Thysanoptera) from South East Asia. **Zootaxa**, Auckland, vol. 2265, p. 27-47, oct. 2009.

MOUND, L. A.; TREE, D. J. 2012. Thrips: Thysanoptera in Australia. Disponível em: <<http://www.ozthrips.org/terebrantia/thripidae/thripinae/thrips-sumatrensis/>>. Acesso em: 03 jul. 2015.

MOUND, L. A.; KIBBY, G. **Thysanoptera**: An identification guide. New York: Cab International, p. 70, 1998.

NAKAHARA, S.; MONTEIRO, R. C. *Frankliniella zucchini* (Thysanoptera: Thripidae), a new species and vector of tospovirus in Brazil. **Proceedings**

of the **Entomological Society of Washington**, Maryland, vol. 101, n. 2, p. 290-294, 1999.

NAGATA, T.; ALMEIDA, A. C. L.; RESENDE, R. O.; ÁVILA, A. C. The transmission specificity and efficiency of tospoviruses. In: MARULLO, R.; MOUND, L. A. Thrips and Tospoviruses: Proceedings of the 7th International Symposium on Thysanoptera. Canberra, **Australian National Insect Collection**, p. 45-46, 2002.

NAGATA, T.; ALMEIDA, A. C. L.; RESENDE, R. O.; ÁVILA, A. C. The competence of four thrips species to transmit and replicate four tospoviruses. **Plant Pathology**, Brasília, vol. 53, p. 136-140, 2004.

NASCIMENTO, Ildon Rodrigues et al. Identificação molecular de espécies de vírus e reação fenotípica de famílias de melancia a um isolado do vírus da mancha anelar do mamoeiro, estirpe melancia (*Pappaya ringspot virus* – strain *watermelon* - PRSV-W). **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, vol. 2, n.1, p. 22-29, feb. 2011.

NICAISE, V. Crop immunity against viroses: outcomes and future challenges. **Frontiers in Plant Science**, Davis, vol. 5, p. 1-18, nov. 2014.

OLIVEIRA, A. S.; MELO, F. L.; INOUE-NAGATA, A. K.; NAGATA, T.; KITAJIMA, E. W.; RESENDE, R. O. Characterization of Bean Necrotic Mosaic Virus: A Member of a Novel Evolutionary Lineage within the Genus Tospovirus. **PLoS ONE**, v. 7, n. 6, p. 1-9, jun. 2012.

PAPPU, H. R.; CSINOS, A. S.; McPHERSON, R. M.; JONES, D. C.; STEPHENSON, M. G. Effect of acibenzolar-S-methyl and imidacloprid on suppression of tomato spotted wilt *Tospovirus* in flue-cured tobacco. **Crop Protection**, Tifton, vol. 19, p. 349-354, jan. 2000.

PAPUU, H. R.; JONES, R. A. C.; JAIN, R. K. Global status of tospovirus epidemics in diverse cropping systems: Successes achieved and challenges ahead. **Virus Research**, Washington, v. 141, p. 219-236, feb. 2009.

PARRELA, G.; GOGNALONS, P.; GEBRE-SELESSIÉ. K.; VOVLAS, C.; MARCHOUX, G. An update of the host range of tomato spotted wilt vírus. **Journal of Plant Pathology**, Portici, v. 85, n. 4, p. 227-264, jan. 2003.

PAVAN, M. A.; COSTA, A. S.; KUROSZAWA, C.; FORTI, L. C.; GUIMARÃES, A. M. Colonização do tomateiro e de ervas daninhas pelo trips vetor do vírus do vira-cabeça do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, vol.11, n.2, p.122-125, 1993.

PETERS, D. Thrips as unique vectors of tospoviruses. **Entomologische Berichten**, Wageningen, vol. 68, n. 5, aug. 2008.

PREMACHANDRA, W. T. S. D.; BORGEMEISTER, C.; MAISS, E.; KNIERIM, D.; POEHLING, H.M. Ceratothripoides claratris, a New Vector of a Capsicum chlorosis virus Isolate Infecting Tomato in Thailand. **Phytopathology**, Hanover, v. 95, n. 6, p. 659-663, feb. 2005.

QUEIROZ, M. A. Germoplasma de Cucurbitáceas no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA. **Horticultura Brasileira**, Viçosa, vol. 29, n. 2, p. 5946-5954, jul. 2011.

REYNAUD, P. Thrips (Thysanoptera). Thrips (Thysanoptera). Chapter 13.1. In: Roques A. et al. (Eds) Alien terrestrial arthropods of Europe. **BioRisk**, v. 4, n. 2, p. 767-791, jul. 2010.

RILEY, D. G.; JOSEPH, S. V.; SRINIVASAN, R.; DIFFIE, S. Thrips Vectors of Tospoviruses. **Journal of Integrated Pest Management**, Tifton, v. 1, n. 2, p. 1-10, feb. 2011.

RILEY, D. G.; PAPPU, H. R. Evaluation of Tactics for Management of Thrips-Vectored Tomato spotted wilt virus in Tomato. **Plant Disease**, Tifton, vol. 84, n. 8, p. 847-852, aug. 2000.

SECRETARIA DA AGRICULTURA, DA PECUÁRIA E DO DESENVOLVIMENTO AGRÁRIO - SEAGRO. 2015. Disponível em: <<http://seagro.to.gov.br/agronegocios/agricultura/>> Acesso em: 29 jun. 2015.

SALMAN, M. 2013. External Morphology of Thrips. Disponível em: <<http://pt.slideshare.net/salmanm92/external-morphology-of-thrips-by-msalman>>. Acesso em: 28 jun. 2015.

SALMAZO, J. C. 2011. GC Orquideas: Tripes. Disponível em: <<http://jsalmazo.blogspot.com.br/2011/07/tripes.html>>. Acesso em: 05 jun. 2015.

SAMPOL, B.; BOTA, J.; RIERA, D.; MEDRANO, H.; FLEXAS, J. Analysis of the virus-induced inhibition of photosynthesis in malmsey grapevines. **New Phytologist**, Balears, vol. 160, p. 403–412, Jul. 2003.

SPADOTTI, D. M. A.; LEÃO, E. U.; ROCHA, K. C. G.; PAVAN, M. A.; KRAUSE-SAKATE, R. First report of *Groundnut ringspot virus* in cucumber fruits in Brazil. **New Disease Reports**, vol. 29, p. 25, jun. 2014.

SOUZA, C. R.; RODRIGUES, D. M.; SARMENTO, R. A.; BARROS, E.C.; SANTOS, L. B.; NASCIMENTO I. R. Ocorrência de inimigos naturais de insetos-praga em cultivo de melancia. **Horticultura Brasileira**, Viçosa, vol. 28, n. 2, p. 733-736, jul. 2010.

ULLMAN, D. E.; SHERWOOD, J. L.; GERMAN, T. L. Thrips as Vectors of Plant pathogens. In: LEWIS, T. **Thrips as crop pests**. New York: Cab International, 1997. cap. 14, p. 539-565.

WAGNER, E. K.; HEWLETT, M. J.; BLOOM, D. C.; CAMERINI, D. Virus structure and classification. In: _____. **Basic Virology**. 3 ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2008, cap. 5, p. 65-78.

WAQUIL, J. M.; TEETES, G. L.; PETERSON, G. C. Adult sorghum midge (Diptera: Cecidomyiidae) nonpreference for a resistant hybrid sorghum. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, vol.79, n. 2, p.455-458, apr. 1986.

YEH, S-D.; LIN, Y-C.; CHENG, Y-H.; JIH, C-L.; CHEN, M-J.; CHEN, C-C. Identification of Tomato Spotted Wilt-like Virus on watermelon in Taiwan. **Plant Disease**, vol. 76, n. 8, p. 835-840, 1992.

YUDIN, L. S.; MITCHELL, W. C.; CHO J. J. Color preference of thrips (Thysanoptera: Thripidae) with reference to aphids (Homoptera: Aphididae) and leafminers in Hawaiian lettuce farms. **Journal of Economic Entomology**, vol. 80, n. 1, p. 51-58, 1987.