

Escuela Superior Politécnica del Litoral

Facultad de Ciencias de la Vida

Metacomunidades endosimbiontes asociadas a la especie vectora *Bemisia tabaci*

VIDA-331

Proyecto Integrador

Previo la obtención del Título de:

Biólogo

Presentado por:

Guido Andrés Galarza Falconí

Guayaquil - Ecuador

Año: 2023-2024

Dedicatoria

El presente proyecto lo dedico a mis padres,
cuyo amor y apoyo incondicional han sido mi
fuerza, permitiéndome cumplir mis metas
con determinación.

Agradecimientos

Un agradecimiento especial al Dr. Jorge Paredes y a la Dra. Lisbeth Espinoza Lozano. Su generosidad al compartir sus conocimientos ha sido un pilar fundamental en mi desarrollo profesional. Gracias por brindarme oportunidades que han ampliado mi perspectiva y superado mis límites. Quiero expresar mi profunda gratitud a Narcisa Gorotiza. Su apoyo fue esencial; sin su ayuda, no hubiera alcanzado este punto. A ella le debo el éxito de este logro, y hoy, gracias a su colaboración, cumplo una meta más en mi vida. Quiero expresar mi agradecimiento a mis queridos tíos Jennifer Falconí, Vanesa Falconí, Carmen y Andy Holst. Su apoyo y generosidad han sido fundamental en este viaje. Gracias por permitirme alcanzar horizontes que no podría hacer imaginado. Este logro no es solo es mío, sino también de ustedes. Estoy profundamente agradecido por tenerlos en mi vida.

Declaración Expresa

Guido Andrés Galarza Falconí acuerdo y reconozco que:

La titularidad de los derechos patrimoniales de autor (derechos de autor) del proyecto de graduación corresponderá al autor o autores, sin perjuicio de lo cual la ESPOL recibe en este acto una licencia gratuita de plazo indefinido para el uso no comercial y comercial de la obra con facultad de sublicenciar, incluyendo la autorización para su divulgación, así como para la creación y uso de obras derivadas. En el caso de usos comerciales se respetará el porcentaje de participación en beneficios que corresponda a favor del autor o autores. La titularidad total y exclusiva sobre los derechos patrimoniales de patente de invención, modelo de utilidad, diseño industrial, secreto industrial, software o información no divulgada que corresponda o pueda corresponder respecto de cualquier investigación, desarrollo tecnológico o invención realizada por mí/nosotros durante el desarrollo del proyecto de graduación, pertenecerán de forma total, exclusiva e indivisible a la ESPOL, sin perjuicio del porcentaje que me/nos corresponda de los beneficios económicos que la ESPOL reciba por la explotación de mi/nuestra innovación, de ser el caso.

En los casos donde la Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de la ESPOL comunique al autor que existe una innovación potencialmente patentable sobre los resultados del proyecto de graduación, no se realizará publicación o divulgación alguna, sin la autorización expresa y previa de la ESPOL.

Guayaquil, 03 de febrero del 2024.



Guido Galarza Falconí

Evaluadores

Diego Gallardo Polit

Profesor de Materia

Lisbeth Espinoza Lozano

Tutor de proyecto

Resumen

Bemisia tabaci, es un complejo de 44 especies de mosca blanca, algunas de las cuales son plagas agrícolas que provocan daños a nivel mundial. El daño económico es causado por alimentación por savia y transmisión de virus. En el interior de *B. tabaci* residen bacterias endosimbióticas, que complementan su nutrición, mejoran su aptitud y eficiencia para la transmisión de virus. Este estudio realizó secuenciación de nueva generación para identificar las bacterias endosimbiontes que mejoran la resiliencia ecológica de *B. tabaci*. Las muestras se colectaron en 32 países, fueron llevadas a laboratorio de biología molecular en la Universidad Estatal de Saginaw Valley, donde se extrajo el ADN, se amplificó por PCR y se usaron células Illumina y TruSight para generar fragmentos de ADN de pares de base y asegurar la calidad. Finalmente, se ensamblaron los fragmentos para su análisis. Las bacterias *Porteira aleyrodidarum*, *Arsenophonus 2*, *Hamiltonella*, *Rickettsia* y *Wolbachia* son las más abundantes, cumpliendo un papel esencial para equilibrar la dieta y mejorar las aptitudes de la *B. tabaci*. *Arsenophonus 1*, *Fritschea* y *Hemiphtheriphilus* son los endosimbiontes menos abundantes, sumado a la poca información sobre su rol en la biología del insecto son de interés para el diseño de estrategias de control de plagas.

Palabras Clave: Mosca blanca, aptitud, biotipo.

Abstract

Bemisia tabaci is a complex of 44 species of whitefly, some of which are agricultural pests that cause damage worldwide. Economic damage is caused by sap feeding and virus transmission. Endosymbiotic bacteria reside inside *B. tabaci*, which complement its nutrition, improving its fitness and efficiency for virus transmission. This study performed next-generation sequencing to identify endosymbiont bacteria that enhance the ecological resilience of *B. tabaci*. The samples were collected in 32 countries, taken to the molecular biology laboratory at Saginaw Valley State University, where the DNA was extracted, amplified by PCR and Illumina and TruSeq cells were used to generate DNA fragments of base pairs and quality assurance. Finally, the fragments were assembled for analysis. The bacteria *Porteira aleyrodidarum*, *Arsenophonus 2* and *Hamiltonella Rickettsia* and *Wolbachia* are the most abundant, playing an essential role in balancing the diet and improving the abilities of *B. tabaci*. *Arsenophonus 1*, *Fritschea* and *Hemiphtheriphilus* are the least abundant endosymbionts, added to the little information on their role in the biology of the insect, they are of interest for the design of pest control strategies.

Keywords: Whiteflies, physical aptitude, biotype.

Índice general

Resumen	VI
Abstract.....	VII
Índice general.....	VII
Abreviaturas	VIII
Simbología.....	IX
Capítulo 1	1.
1.Introducción	2
1.1Descripción del problema	3
1.2 Justificación del problema.....	4
1.3Objetivos.....	5
1.3.1Objetivo general	5
1.3.2Objetivos específicos.....	5
1.4Marco teórico	5
Capítulo 2	7
2.Metodología	8
Capítulo 3	11
3.Resultados y análisis	12
Capítulo 4.....	17
4.Conclusiones y recomendaciones.....	18
4.1 Conclusiones	22
4.2 Recomendaciones	22
Referencias.....	23

Abreviaturas

CTAB Bromuro de Cetiltrimetilamonio

PCR Reacción en Cadena de la Polimerasa

MEAM1 Medio Este Asia Menor 1

MED Mediterráneo Asia Menor

RPM Revoluciones por minuto

Simbología

μL Microlitros

Capítulo 1

1.1 Introducción

El nombre binomial *Bemisia tabaci* se utiliza para referirse a un complejo de aproximadamente 44 especies de mosca blanca, algunas de las cuales se han convertido en plagas agrícolas que de forma directa o indirecta provocan daños en la producción de cultivos, causando pérdidas millonarias cada año en los trópicos y subtrópicos alrededor de todo el mundo (Andreason et al., 2020). Las variantes genéticas dentro de este complejo de especies crípticas son morfológicamente idénticas, pero presentan diferencias en cuanto a su elección de planta hospedera, capacidad reproductiva, dispersión, distribución geográfica, resistencia a insecticidas y fertilidad (De Marchi & Smith, 2020). *B. tabaci*, al igual que otros insectos del suborden Auchenorrhyncha, se alimenta del floema de plantas. Actualmente, se han reportado alrededor de 600 especies de plantas hospederas como rábano, tabaco, soja, tomate, algodón, entre otros (Singh et al., 2012b). Los daños directos se producen durante la alimentación del floema y la producción de melaza en hojas y frutos, actuando como sustrato para la fumagina que recubre la superficie, afectando la fotosíntesis, incidiendo en la disminución de la productividad del hospedero y reduciendo la calidad de la fruta (Krause-Sakate et al., 2020). Además, causan daños al actuar como vectores de más de 320 virus, pertenecientes a los géneros *Begomovirus*, *Carlavirus*, *Crinivirus*, *Torradovirus* y *Polerovirus* (Barman et al., 2022). Aunque la savia es abundante en carbohidratos, carece de aminoácidos esenciales. En este sentido, se espera que las comunidades bacterianas que habitan en el insecto compensen la ausencia de nutrientes necesarios (Singh et al., 2012c). Estas bacterias se clasifican en dos categorías: los Obligados (*Porteira*), esenciales para la supervivencia de la especie y para completar la dieta desequilibrada de la mosca, principalmente de azúcares proveniente del floema de la planta (Marubayashi et al., 2014). Además de los endosimbiontes primarios, existen diversas comunidades endosimbiontes secundarias y se han registrado siete hasta ahora, que incluyen a *Hamiltonella*, *Wolbachia*, *Rickettsia*, *Cardinium*, *Arsenophonus*, *Fritchea*

y *Hemipteriphilus*. La función que cumplen se centra en la aptitud de la mosca blanca, pero no son indispensables para su supervivencia del huésped, y se ha demostrado que pueden afectar la eficiencia de la transmisión del virus (Andreason et al., 2020) Los mecanismos que permiten las interacciones entre bacterias y mosca blanca siguen siendo un misterio. Para abordar este desafío, la genómica se utiliza para determinar las funciones y los posibles roles de las bacterias. Mediante el análisis de las secuencias genómicas, se puede deducir la taxonomía, los genes funcionales, sistemas de secreción y las vías metabólicas que proporcionan una visión de las funciones de los simbiontes durante la simbiosis (Zhu et al., 2017). Gracias a los avances de la secuenciación, se ha llevado a cabo la secuenciación de una vasta cantidad de genomas bacterianos, revelando así sus diversas funciones (Zhu et al., 2017). Los avances descubiertos en la investigación contribuirán al diseño de estrategias, mejorando así los métodos de control de la mosca blanca y mitigando sus impactos negativos en los cultivos a nivel global.

1.2 Descripción del Problema

La mosca blanca del género *Bemisia*, representa la segunda plaga de artrópodos más ampliamente distribuida y económicamente perjudicial a nivel mundial (Padilha et al., 2021). Cuenta con una alta capacidad de dispersión por su gran cantidad de hospederos y a través del comercio de plantas de invernadero. Además, tiene un tamaño pequeño y potencial reproductivo alarmante que dificulta el control. El daño directo por alimentación, transmisión de virus y reductor de la calidad, lo convierte en una plaga peligrosa (Ellsworth & Martínez-Carrillo, 2001). Así mismo, el uso de insecticidas no específicos ha resultado en un incremento a la resistencia a estos químicos (Padilha et al., 2021b). Se ha documentado 650 casos de resistencia a insecticidas del género *Bemisia* y un total de 60 insecticidas a los cuales son resistentes (Horowitz et al., 2020). África lidera la producción global de yuca, abarcando el 66% del área de cultivo mundial, sustentando a 200 millones de personas (Kalyebi et al., 2018). Sin embargo, se ve afectada por los biotipos SSA1 y

SSA2 de *B. tabaci*, que propagan los virus del mosaico de la yuca y la enfermedad de la raya marrón de la yuca, afectando la calidad de los cultivos (Kalyebi et al., 2018). Representan una amenaza para las plantaciones pudiendo afectar entre el 20 al 100% de la productividad de cultivos. El estado de Florida es el mayor productor de tomates de USA, con pérdidas estimadas que alcanzan los 141 millones de dólares en los años 1990 por la transmisión de *Geminivirus* por *B. tabaci* (De Marchi & Smith, 2020b). En los años 1993 y 1994, se registraron pérdidas de rendimiento en cultivos de algodón en los estados de Texas, California y Arizona, estimándose en 7.7 y 3.6 millones de kilogramos en extensiones de 282,000 y 345,000 hectáreas, respectivamente (Naranjo et al., 1996). Brasil y Estados Unidos son líderes en la producción de soya, contribuyendo con el 70% de la producción mundial, con 139 y 120 millones aproximadamente durante el 2022. Sin embargo, desde la aparición del Biotipo B o (Gennadius) en Brasil, se han generado pérdidas significativas que rodean los 3 millones (Schutze et al., 2022).

1.3 Justificación del Problema

En los hemípteros, algunos albergan bacterias endosimbióticas, desempeñando múltiples actividades que mejoran la resistencia contra patógenos, adaptación a variaciones térmicas, respuesta a insecticidas, defensa contra depredadores naturales y reproducción (Hu & Tsai, 2020). Motivados por la naturaleza invasiva y los impactos económicos en la producción de cultivos agrícolas, se han emprendido proyectos de ensamblaje de genomas dirigidos a los biotipos MEAM1/B y MED/Q de la mosca blanca (Xie et al., 2018). Estas secuencias genómicas ofrecen información clave sobre los mecanismos evolutivos y adaptativos que han llevado a la mosca blanca a convertirse en una amenaza para la seguridad alimentaria. Se ha puesto énfasis en la identificación de familias de genes asociadas con resistencia a insecticidas, desintoxicación de xenobióticos, transmisión de virus y transferencia horizontal de genes. Esta investigación contribuye a comprender el

posible papel de las comunidades endosimbióticas y facilita el desarrollo de estrategias más efectivas y menos perjudiciales, como alternativas a los insecticidas (Xie et al., 2018)

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

- Determinar las bacterias endosimbióticas que mejoran la resiliencia ecológica de la *B. tabaci* mediante secuenciación de nueva generación.

1.4.2 Objetivos específicos

- Identificar los conjuntos endosimbióticos presentes en diferentes biotipos de *B. tabaci* para la determinación de su abundancia.
- Asociar la abundancia de bacterias endosimbiontes con su impacto en la aptitud de *B. tabaci* para su posible aplicación en el control integrado de plagas.

1.5 Marco teórico

Este conjunto de mosca blanca es considerado un súper vector de virus alrededor del planeta para especies de solanáceas, fabáceas, algodón, mandioca y malezas (Krause-Sakate et al., 2020c). Además, se han obtenido más datos acerca de la resistencia de *B. tabaci* a piretroides sintéticos, organofosforados y nuevos compuestos químicos. (Barman et al., 2022b). Esta reciente información, junto con su marcada polifagia, capacidad de desarrollarse en diversas especies de plantas y su capacidad de propagación a largas distancias a través de materiales infestados o corrientes de viento, contribuye a consolidar su posición como una de las plagas más significativas en los cultivos agrícolas a nivel global (Krause-Sakate et al., 2020d). *B. tabaci* se compone de un conjunto de especies crípticas conocidas como biotipos, que se distinguen por presentar halotipos y variantes genéticas diversas, las cuales exhiben variaciones en sus características biológicas y

moleculares (Hamss et al., 2022). La utilización de las secuencias de nucleótidos del gen de la subunidad I del citocromo oxidasa mitocondrial (COI) podría ser empleada para la identificación de la población de este grupo de moscas blancas (Lestari et al., 2021). Como antecedente, se ha observado una divergencia por pares del 3,5% en las secuencias COI de la *B. tabaci*. Se han identificado 44 especies diferentes, que incluyen África, Asia I, Asia I-India, Asia II 1–12, Asia III, Asia IV, Asia V, Australia, Australia/Indonesia, China 1–5, Océano Índico, Ru, Medio Oriente Asia Menor (MEAM) I-II, Mediterráneo (MED), MEAM K, Nuevo Mundo (NW) 1–2, Japón 1–2, Uganda, Italia 1 y África subsahariana 1-5. Además, se han reportado recientemente dos nuevas especies, Asia II 13 y España 1 (Lestari et al., 2021). Los *Begomovirus* pertenecen a la categoría de virus más perjudicial que han surgido en los últimos años, afectando a cultivos ornamentales, hortalizas y fibra. Los integrantes son parte de la familia Geminiviridae y presentan estructuras de ssADN o dsADN, transmitiéndose de forma exclusiva por moscas blancas a través de una transmisión circulatoria persistente. *B. tabaci* atraviesa tres etapas en su ciclo de vida. Comienza con la puesta de huevos, generalmente en el envés de la hoja, con una duración de cuatro a siete días, seguida por los estadios ninfales. El periodo de ninfa se divide en cuatro etapas, comenzando el primer estadio en donde se desplazan alrededor de la hoja en busca de un lugar adecuado para alimentarse y desarrollarse, hasta llegar al segundo, tercer y cuarto estadio, que se caracteriza por ser inmóvil, con antenas y patas atrofiadas, adquiriendo su distintivo color rojo en los ojos durante esta cuarta fase (Krause-Sakate et al., 2020b). Al concluir la cuarta fase, los adultos emergen con alas opacas cubiertas de cera blanquecina, lo que les confiere el nombre característico de mosca blanca.

Capítulo 2

2. Metodología.

1.- Colecta de muestras en campo:

Se colectaron un total de 72 muestras de Argentina, Australia, Barbados, Belice, Bolivia, Brasil, Camerún, República Democrática del Congo, Chile, Costa Rica, Dominica, República Dominicana, Ecuador, Egipto, Etiopía, Francia, Guatemala, India, Indonesia. Irán, Israel, Italia, Puerto Rico, Kenia, México, Mozambique, Panamá, El Salvador, Turquía, Tanzania, Uganda y Venezuela. Las plantas hospedantes únicas enumeradas en el conjunto de datos son frijol, *Zinnia sp*, *Sonchus noleraceus*, pepino, flor de Pascua, tomate, pimiento, papaya, mandioca, maleza, repollo, *Sida sp.*, ortiga, noni, wigandia crispa, sandía, calabaza, algodón. berenjena, *Abutilon sp.*, Girasol, Jatropha, Tabaco, Soja, *Ipomoea sp.*, camote, *Jatropha sp*, espárragos, melón y solanum. Se identificó 13 biotipos de *B. tabaci* y una especie de mosca blanca perteneciente a otro género, la *Trileurodes vaporarioru*. Los biotipos descubiertos de *B. tabaci* se encuentran: Asia I (3 muestras), Asia II 1 (3 muestras), Asia II 5(4 muestras), Asia II 7 (1 muestras), B-exotic (23 muestras), B-native (2 muestras), NW2 (5 muestras), NW-central (3 muestras), NW-south (10 muestras), Q-Africa (2 muestras), Q-West (5muestras), SSA1 (8 muestras), SSA4 (1 muestras). Se recolectaron un mínimo de 6 adultos individuales vivos de una sola planta hospedadora, con un mínimo de 10 plantas recolectadas por cada sitio y se establecieron al menos 12 sitios de recolección. Se mantuvo una distancia mínima de 100 metros entre las muestras para asegurar variabilidad en los resultados. Se colectaron a los adultos por medio de un aspirador entomológico y se transfirieron los adultos a etanol absoluto (de grado molecular). Se almacenaron las muestras en tubos con tapa roscada., en el interior se rotularon con papel y lápiz. Se registro la altitud, coordenadas geográficas y se tomó una fotografía de la planta hospedera. Se almacenaron las moscas blancas a -20 °C hasta las extracciones.

2.- Extracción de ADN:

Usando pipetas de transferencia dentro de una campana de extracción, cada espécimen fue transferido a papel filtro negro por aproximadamente 5 minutos, hasta que se evaporó el etanol. Se prepararon tubos Eppendorf Safe Lock de 1.7 mL. En el interior de cada tubo se vertieron alrededor de 20 perlas de interrupción y se adicionaron 600 μ L de CTAB. Usando un palillo de madera, se remojó la punta con CTAB y se recogió cada espécimen del papel filtro raspando cuidadosamente. Cada *B. tabaci* se colocó cuidadosamente dentro del tubo Eppendorf preparado y se mezcló suavemente en palillo para asegurar que el espécimen se encuentre en el tubo, rotulando al finalizar. Cada tubo se colocó por 5 minutos a una velocidad de 5 en un Mini Bead Mill. Posteriormente, se añadió 1 μ L de Proteínasa K a una concentración de 20 mg/mL. Se sostuvo los tubos en el pulgar e índice y se mezcló agitando enérgicamente. Cada muestra fue incubada al menos una hora a 55 °C y luego se incubó a 65 °C por 15 minutos, mezclándose 3 veces durante la incubación y luego dejando los tubos a temperatura ambiente por 3 minutos. Se agregaron 600 μ L de cloroformo frío en las muestras dentro de la campana para reducir los vapores. Se mezcló bien el contenido de los tubos para formar una emulsión, invirtiendo suavemente el tubo. Luego, se centrifugó el tubo durante 3 minutos a 12,000 rpm en una microcentrífuga para sedimentar los sólidos y separarlos del líquido. Se retiró cuidadosamente el tubo de la centrífuga sin perturbar las capas. Con una pipeta, se extrajeron 500 μ L de la fase superior (acuosa) y se transfirieron a un nuevo tubo de microcentrífuga estéril de 1.7 mL. Se aseguró de evitar transferir cualquier fase inferior (orgánica) o la interfase entre las dos capas. Si ocurrió alguna interrupción, se centrifugó nuevamente. Se añadieron 500 μ L de isopropanol frío a cada tubo. Se añadieron 2 μ L de glicógeno en cada tubo para facilitar la precipitación de los ácidos nucleicos. Se sostuvo el tubo entre el pulgar y el índice, con el índice en la tapa y el pulgar en la parte inferior del tubo, se agitó el tubo enérgicamente en un movimiento de vaivén durante 20 veces. Se

colocaron los tubos sobre hielo triturado y se mantuvieron durante al menos 15 minutos. Para sedimentar el ácido nucleico, se centrifugó la mezcla durante 10 minutos a 12,000 rpm. Después de la centrifugación, se aseguró de que el pellet no estuviera suelto. Con cuidado, se utilizó una pipeta para remover el líquido. Se lavó el pellet añadiendo 500 μ L de etanol al 70% y luego se centrifugó durante 1 minuto a 12,000 rpm. Después de la centrifugación, se retiró lentamente y con cuidado.

3.-Amplificación por PCR:

Se utilizaron primers específicos para amplificar la región V4 del gen ribosomal 16S. Las condiciones del ciclo PCR fueron: 95 grados por dos minutos. 30 ciclos de 47 grados por 20 segundos. 1 ciclo de 72 grados por 20 segundos. La reacción final de PCR constó de 25 microlitros. Se utilizó la unidad TAQ Q polimerasa. Se emplearon 10 micro moles de cada primer y 40 nanogramos de ADN.

4.- Secuenciación de Nueva Generación:

Se utilizó una célula de Illumina para producir pares de fragmentos de 150 pares de bases. Se empleó Trimmomatic para eliminar adaptadores e índices. Los fragmentos se ensamblaron con el software Quimmie.

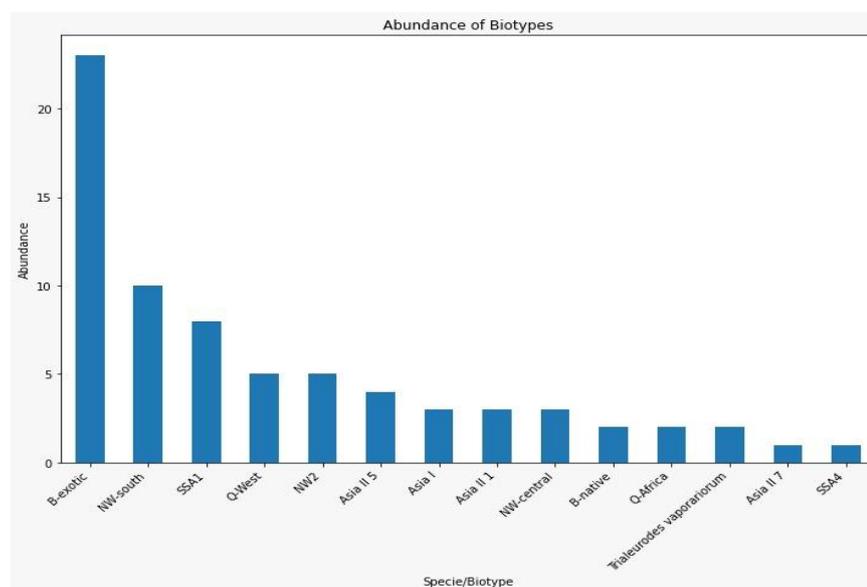
Capítulo 3

3. Resultados y análisis

El biotipo B-exótico resaltó como el más abundante colectado (Figura 1), en Australia (en *Sonchus Oleraceus*), Turquía (en hierba), Ecuador (en tomate, ortiga y calabaza), México (en espárragos), Israel (en frijol), Egipto (en pepino y repollo) y Argentina (en *Zinnia sp*). Por otro lado, los biotipos Asia II 7 y SSA4 fueron los menos frecuentes, colectados en India (en *Ipomoea sp.*) y en la República Democrática del Congo (en yuca), respectivamente. Esta baja frecuencia puede sugerir una baja aptitud.

Figura 1

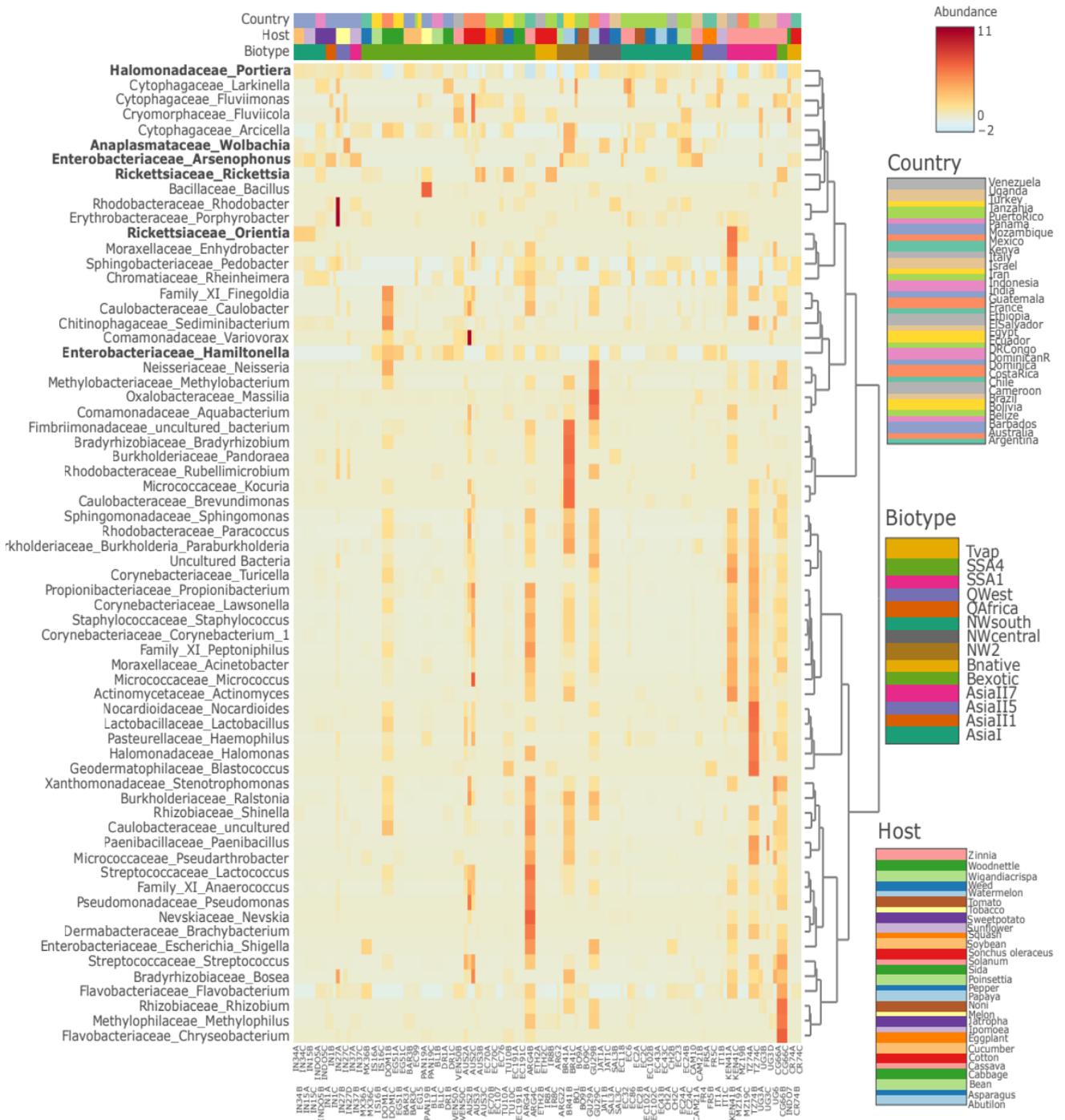
Abundancia por Biotipo de Bemisia tabaci y Trialeurodes vaporariorum



Nota. La figura muestra la cantidad de muestras colectadas por biotipo.

Figura 2

Heatmap de todas las bacterias de *Bemisia tabaci*



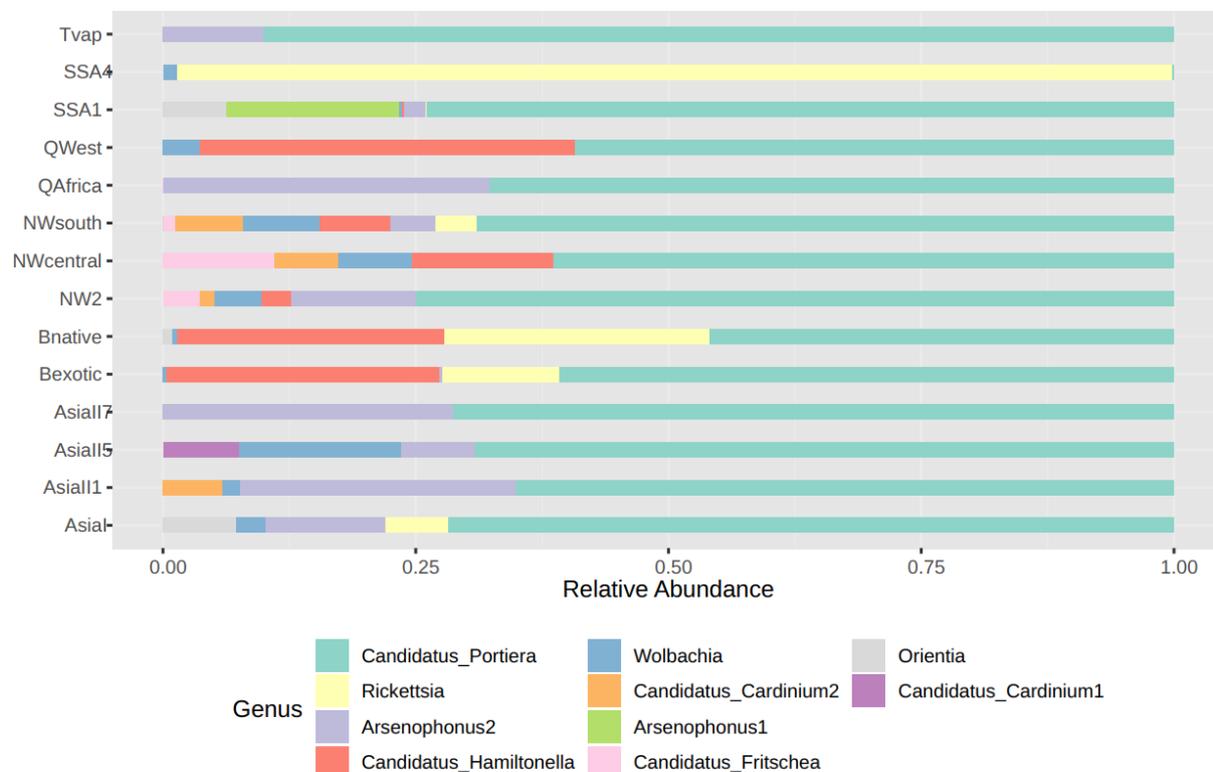
Nota. La figura muestra la abundancia de las bacterias endosimbióticas en cada muestra de *Bemisia tabaci*.

En la figura 2 muestra todo el microbioma explorado de la *B. tabaci*, de las extracciones analizadas, *Porteira*, *Wolbachia*, *Arsenophonus*, *Orientia*, *Hamiltonella*, *Rickettsia* son los géneros reportados en la literatura y mayor conocimiento se tiene. Sin embargo, se desconoce el rol que juegan los otros endosimbiontes en *B. tabaci*.

En la Figura 3 se identificaron 10 bacterias endosimbiontes en la mosca blanca *B. tabaci*, siendo la más documentadas en la literatura las cuales son: *Portiera* (presente en 72 muestras), *Arsenophonus 1* (en 7 muestras), *Arsenophonus 2* (en 33 muestras), *Hamiltonella* (en 40 muestras), *Cardinium 1* (en 5 muestras), *Cardinium 2* (en 17 muestras), *Hemipteriphilus* (en 7 muestras), *Rickettsia* (en 19 muestras), *Wolbachia* (en 31 muestras) y *Fritschea* (en 6 muestras). *Porteira*, fue el más constante, presente en las 72 muestras. Su presencia se extendió por todos los biotipos, en todos los países y plantas hospederas muestreadas. *Arsenophonus 2* y *Hamiltonella* fueron las segundas más abundantes, identificadas en 33 y 40 muestras respectivamente. Se descubrió que ambos grupos eran rara vez conviven en el mismo organismo, sugiriendo una rivalidad entre ambas bacterias endosimbiontes. *Arsenophonus 1*, *Fritschea* y *Hemipteriphilus* fueron encontrados en 6, 6 y 7 muestras respectivamente. Esta baja abundancia indica un posible rol que reduzca la aptitud en sus huéspedes, se necesita más información para poder entender por completo sus funciones.

Figura 3

Abundancia relativa de bacterias endosimbióticas por biotipo de Bemisia tabaci

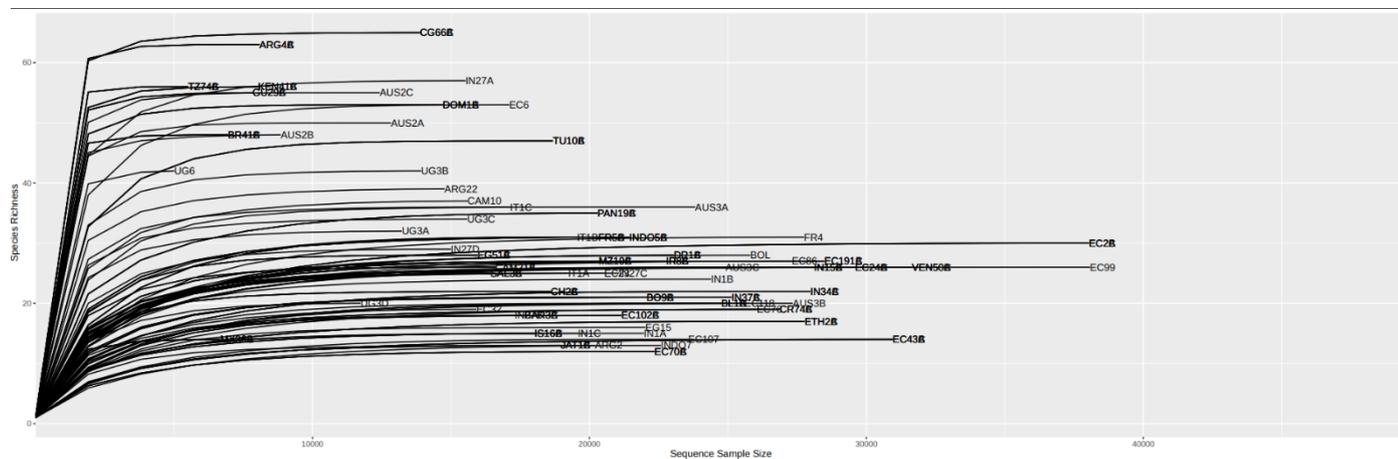


Nota. La figura muestra la diversidad bacteriana por cada biotipo de mosca blanca.

Como se observa en la Figura 4, mientras más aumenta el tamaño de la muestra secuenciada, se encontrarán más comunidades bacterianas. Cuando la curva se vuelve constante, indica que se ha descubierto toda la de la diversidad bacteriana por cada muestra. Todas las muestras fueron secuenciadas en su totalidad, los hallazgos descubiertos son los finales y no se necesita más investigación para descubrir nuevas comunidades en estas muestras.

Figura 4

Curva de rarefacción



Nota. La línea representa el total tamaño de la muestra secuenciada y el total de bacterias descubiertas.

Capítulo 4

4.1 Conclusiones y recomendaciones

Bemisia tabaci (Gennadius), conocido también como Medio Oriente Asia Menor 1 (MEAN1), es una especie muy polífaga que puede desarrollarse en 500 especies de plantas de 74 familias diferentes, incluyendo cultivos ornamentales, de campo y hortícolas (J. McAuslane, 2000). El éxito de la abundancia de MEAM1 se debe a la extensa variedad de plantas que puede hospedar, su habilidad para desarrollar resistencia a diversos pesticidas y alta fecundidad (Cuthbertson, 2022a). Además, el biotipo antes mencionado puede prosperar en regiones tropicales, subtropicales y en regiones más templadas, sobreviviendo a estos entornos y expandiendo la propagación de virus a nuevos lugares (Cuthbertson, 2022a). Asia II 7, se conoce como Asia menor II 7, es una especie nativa de China. Ha sido identificada en la provincia de Fujian en China en plantas ornamentales (Guo et al., 2012) y ha sido encontrada en India, Pakistán e Indonesia (Li et al., 2023). Por último, se sabe que es una variante de Asia II 1, sus bajas aptitudes pueden explicar la baja abundancia que tiene en el mundo, limitándose en Asia. El biotipo SSA4 es propio de África se ha encontrado en regiones de África Occidental y Central, las razones de su baja diversidad se pueden deber a que son exclusivos de la yuca y pertenece a un grupo que no se espera que crucen, no se ha confirmado el cruce con de este biotipo con otro (Wosula et al., 2017). Como se ve en la (figura 1) *Portiera aleyrodidarum* es la única especie de *Portiera* detectada en *B. tabaci* hasta ahora. Este endosimbionte primario ayuda a la mosca blanca a sintetizar aminoácidos esenciales y carotenoides (Mouton et al., 2022). Se conoce como un endosimbionte primario y desempeña un papel vital al sintetizar carotenoides y aminoácidos esenciales para la *B. tabaci* (Mouton et al., 2022). Por 200 millones de años, ambos, bacteria y hospedador han evolucionado y afianzado su relación (Milenovic et al., 2021). Con el tiempo, el genoma de *Portiera* se ha visto reducido, perdiendo genes para la síntesis de cofactores, vitaminas y algunas vías para la síntesis de aminoácidos esenciales han quedado incompletas (Mouton et al., 2022). Esta relación se ha hecho codependiente,

donde la *B. tabaci* no puede sobrevivir sin *Portiera*, y *Portiera* depende del metabolismo de su hospedero (Milenovic et al., 2021). Esta relación explica porque este endosimbionte está relacionado con los 10 tipos registrados. Sin embargo, la alteración de este endosimbionte como método de control no es recomendable. Se ha determinado que de todos las bacterias primarias y secundarias es el menos sensible, más difícil de acabar. *Hamiltonella* fue endosimbionte más común identificado en 40 de 72 muestras recolectas. Sus funciones en *B. tabaci* incluye, síntesis de aminoácidos esenciales, el metabolismo de cofactores, carbohidratos y vitaminas, así como la traducción y replicación. Estudios anteriores han demostrado el papel de protección en el crecimiento óptimo de *B. tabaci* en condiciones de bajo nivel de nitrógeno, sugiriendo que es un mutualista nutricional (Su et al., 2014). Otros estudios previos han utilizado antibióticos para eliminar a *Hamiltonella*, resultando en una reducción en el crecimiento del adulto y en sus funciones reproductivas (Milenovic et al., 2021). Por último, *Hamiltonella* se encuentra en el biotipo MEAN1, con un papel vital para romper las defensas de los cultivos de tomate y transmitir el virus del enrollamiento de la hoja amarilla del tomate (TYLCV) (Caamal-Chan et al., 2019). Estas investigaciones previas señalan el rol de *Hamiltonella* y explican porque es el endosimbionte más abundante. En pulgones el rol que ofrece es de protección, creando toxinas contra los parasitoides (Milenovic et al., 2021). *Hamiltonella* un endosimbionte secundario que coexiste con *Portiera* en el mismo bacteriocito. Depende de los metabolitos de *B. tabaci* y *Portiera*, explicando el motivo del confinamiento conjunto entre bacterias (Milenovic et al., 2021). Esta presencia de múltiples endosimbiontes es posible por la segregación del espacio subcelular, minimizando la competencia por los recursos y hacen más fácil el control de estos en el interior del mismo huésped (Fujiwara et al., 2023). Estas segregaciones han sido registradas de dos endosimbiontes en tres biotipos diferentes de *B. tabaci*: MEAN1, MED Q1, Asia II 6 y una especie diferente *T. vaporariorum* (Fujiwara et al., 2023). Los resultados encontraron que en Asia II 6 y en *T. vaporariorum*,

Arsenophonus se encuentra adyacente al núcleo del bacteriocito, mientras que *Portiera* lo rodea en el retículo endoplasmático. En MEAN1 y MED Q1, *Hamiltonella* reemplaza los lugares con *Arsenophonus* (Fujiwara et al., 2023). La presencia simultánea de *Hamiltonella* y *Arsenophonus* 2 en el mismo organismo es inusual en las muestras colectadas. La convivencia poco usual puede explicarse a una competencia por el mismo nicho, al usar las mismas rutas metabólicas (Fujiwara et al., 2023). Se descubrió la presencia de dos *Arsenophonus*, llamados 1 y 2. La aptitud que provee al huésped un poder metabólico y la capacidad de síntesis de vitaminas B y riboflavinas (Kaur et al., 2022). El endosimbionte *Hemiphtheriphilus* tiene presencia en África, Asia y Sur América, pero tiene una baja abundancia. Convive con *Portiera* en el bacteriocito, pero no se tiene registro de que compitan por recursos. No se tiene información mucha información acerca de *Hemiphtheriphilus*, pero su baja abundancia puede ser indicativo de una baja aptitud ideal para el control biológico, si es posible distribuir este endosimbionte en otras poblaciones de mosca blanca podría ser perjudicial para ellas. *Candidatus Fritschea bemisiae*, es una bacteria secundaria perteneciente a la clase Chlamydiae. Fue descubierta en 2003 por su habilidad de infectar a *B. tabaci* (Everett et al., 2005). Aunque se sabe que se localiza en los bacteriocitos de la mosca blanca y se ha identificado en el pasado en los biotipos, MED, MEAN1 y NW2, no se tiene más información de sus efectos dentro del huésped (Milenovic et al., 2021). Su pariente más próximo es *Simkania negevensis*, un posible patógeno humano que se ha asociado con neumonía y bronquiolitis (Milenovic et al., 2021). Su baja abundancia puede ser de interés para el control biológico, pero su similitud con patógenos humanos puede suponer un riesgo potencial a la salud humana. *Arsenophonus* 1 tiene una baja frecuencia y se localizó en África, específicamente en el Biotipo SSA1 y en una sola planta hospedera, la yuca. En África, existen 13 especies de *B. tabaci* que infestan cultivos de yuca, identificadas como SSA1 hasta SSA13, siendo SSA1 Y SSA2 las más predominantes en cultivos de yuca en África Oriental (Hamss et al., 2021). Se llevó un

estudio centrado en el subgrupo de SSA1 (SSA1-SSG3) y SSA2, cuyos resultados indicaron que la infección por *Arsenophonus* afecta negativamente a las aptitudes generales y reproductivas del subgrupo SSA1-SG3 en comparación con las moscas que carecían de esta bacteria (Hamss et al., 2021). *Rickettsia* se encontró en todos los continentes, aunque su abundancia fue baja. Los impactos de este endosimbionte en la mosca blanca son la mejora de fertilidad, reduce el tiempo de desarrollo, aumenta su tasa de supervivencia, fortalece la resistencia a insecticidas y altas temperaturas (Milenovic et al., 2021). Su escasa abundancia se podría explicar por la variabilidad de sus beneficios, que dependen del biotipo al que infectan y del contexto. Además, su susceptibilidad a los insecticidas Espiromesifeno, Acetamiprid, Tiametoxam Y Piriproxifeno podrían ser otra razón de su baja presencia (Rossitto De Marchi & A. Smith, 2020). *Wolbachia* también tiene presencia en todos los continentes. A diferencia de *Arsenophonus* y *Hamiltonella*, no se refleja competencia con otros endosimbiontes y ha presentado relaciones mutualistas con *Cardinium* y *Rickettsia*. *Cardinium* ha sido identificada dos variantes, designadas como *Cardinium 1* y *Cardinium 2*. Aunque no se comprenden las aptitudes específicas que otorga a la mosca blanca, se ha observado que el endosimbionte *Cardinium* mejora las capacidades del biotipo MED, regulando positivamente las proteínas relacionadas a la respuesta inmune de este biotipo contribuyendo a la adaptación de entornos (Giorgini et al., 2023). Sin embargo, en este mismo Biotipo en el subgrupo MED Q1 se ha observado que *Cardinum* mejora sus capacidades en estrés térmico, pero en condiciones normales representa un costo, explicando las variaciones en diferentes puntos geográficos (Giorgini et al., 2023).

4.1.1 Conclusiones

- Las bacterias endosimbióticas *Porteira*, *Arsenophonus 2*, *Rickettsia*, *Hamiltonella* y *Wolbachia*, han demostrado tener un papel esencial en la mejora de las aptitudes de la *B. tabaci* y compensando la dieta baja en aminoácidos esenciales, vitaminas y carotenoides.
- Se identificaron 10 conjuntos endosimbióticos en *B. tabaci*, junto a su abundancia relativa en las muestras colectadas.
- La baja abundancia de *Arsenophonus 1*, *Fritschea* y *Hemiptheriphilus*, junto a la poca información disponible sobre estos endosimbiontes, sugiere una baja aptitud en comparación con los otros grupos identificados. Estas observaciones representan oportunidades a futuro para el desarrollo de controles de plagas asociadas a *B. tabaci*.

4.1.2 Recomendaciones

Se sugiere investigar más detalladamente sobre *Arsenophonus 1*, *Hemiptheriphilus*, *Fritschea*, su baja abundancia y limitada información disponible. Explorar su presencia en los diferentes biotipos y regiones del mundo proporcionaría información sobre su probable potencial para el control de plagas

Referencias:

1. Andreason, S. A., Shelby, E. A., Moss, J. B., Moore, P. J., Moore, A. J., & Simmons, A. M. (2020b). *Whitefly endosymbionts: Biology, evolution, and plant virus interactions*. *Insects*, 11(11), 775. <https://doi.org/10.3390/insects11110775>
2. Sloan, D. B., & Moran, N. A. (2012). *Endosymbiotic bacteria as a source of carotenoids in whiteflies*. *Biology Letters*, 8(6), 986-989. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2012.0664>
3. Marubayashi, J. M., Kliot, A., Yuki, V. A., Rezende, J. A. M., Krause-Sakate, R., Pavan, M. A., & Ghanim, M. (2014b). *Diversity and localization of bacterial endosymbionts from whitefly species collected in Brazil*. *PLOS ONE*, 9(9), e108363. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108363>
4. Barman, M., Samanta, S., Upadhyaya, G., Thakur, H., Chakraborty, S., Samanta, A., & Tarafdar, J. (2022c). *Unraveling the basis of neonicotinoid resistance in whitefly species complex: role of endosymbiotic bacteria and insecticide resistance genes*. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.901793>
5. Singh, I., Kaur, R., & Kumar, A. (2021, 29 noviembre). *Differential expression of gut protein genes and population density of Arsenophonus contributes to sex-biased transmission of Bemisia tabaci vectored Cotton leaf curl virus*. *NCBI*. Recuperado 5 de diciembre de 2023, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8629229/>
6. Zhu, D., Wang, X. R., Ban, F., Zou, C., & Liu, S. (2017b). *Methods for the extraction of endosymbionts from the whitefly *Bemisia tabaci** *Journal of Visualized Experiments*, 124. <https://doi.org/10.3791/55809>

7. Singh, S., Priya, N. G., Kumar, A., Rana, V. S., Ellango, R., Joshi, A., Priyadarshini, G. I., Asokan, R., & Rajagopal, R. (2012d). *Diversity and phylogenetic analysis of endosymbiotic bacteria from field caught Bemisia Tabaci from different locations of North India based on 16S RDNA Library screening*. Infection, Genetics and Evolution, 12(2), 411-419. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.01.015>
8. Oliver, K. M., Russell, J. A., Moran, N. A., & Hunter, M. S. (2003). *Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 100(4), 1803-1807. <https://doi.org/10.1073/pnas.0335320100>
9. Fujiwara, A., Maekawa, K., & Tsuchida, T. (2014). *Genetic groups and endosymbiotic microbiota of the Bemisia tabaci species complex in Japanese agricultural sites*. Journal of Applied Entomology, 139(1-2), 55-66. <https://doi.org/10.1111/jen.12171>
10. Lestari, S. M., Hidayat, P., Hidayat, S. H., Shim, J., & Lee, K. (2021b). *Bemisia Tabaci in Java, Indonesia: Genetic diversity and the relationship with secondary endosymbiotic bacteria*. Symbiosis, 83(3), 317-333. <https://doi.org/10.1007/s13199-021-00752-w>
11. Xie, W., Yang, X., Chen, C., Yang, Z., Guo, L., Wang, D., Huang, J., Zhang, H., Wen, Y., Zhao, J., Wu, Q., Wang, S., Coates, B. S., Zhou, X., & Zhang, Y. (2018b). *The Invasive MED/Q Bemisia Tabaci Genome: A tale of Gene loss and Gene gain*. BMC Genomics, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4448-9>
12. Ellsworth, P. C., & Martínez-Carrillo, J. L. (2001b). *IPM for Bemisia Tabaci: a case study from North America*. Crop Protection, 20(9), 853-869. [https://doi.org/10.1016/s0261-2194\(01\)00116-8](https://doi.org/10.1016/s0261-2194(01)00116-8)

13. Hu, F., & Tsai, C. (2020b). *Nutritional relationship between Bemisia tabaci and its primary endosymbiont, portiera aleyrodidarum, during host plant acclimation*. *Insects*, 11(8), 498. <https://doi.org/10.3390/insects11080498>
14. Padilha, G., Pozebon, H., Patias, L. S., Ferreira, D. R., Castilhos, L. B., Forgiarini, S. E., Donatti, A., Bevilaqua, J. G., Marques, R. P., Moro, D., Rohrig, A., Bones, S. A. S., Filho, A. C., Pes, L. Z., & Arnemann, J. A. (2021c). *Damage assessment of Bemisia Tabaci and economic injury level on Soybean*. *Crop Protection*, 143, 105542. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105542>
15. Oliveira, M. R. V., Henneberry, T., & Anderson, P. K. (2001b). *History, current status, and collaborative research projects for Bemisia Tabaci*. *Crop Protection*, 20(9), 709-723. [https://doi.org/10.1016/s0261-2194\(01\)00108-9](https://doi.org/10.1016/s0261-2194(01)00108-9)
16. Naranjo, S. E., Chu, C., & Henneberry, T. J. (1996b). *Economic injury levels for Bemisia tabaci (Homoptera: aleyrodidae) in cotton: impact of crop price, control costs, and efficacy of control*. *Crop Protection*, 15(8), 779-788. [https://doi.org/10.1016/s0261-2194\(96\)00061-0](https://doi.org/10.1016/s0261-2194(96)00061-0)
17. Horowitz, A. R., Ghanim, M., Roditakis, E., Nauen, R., & Ishaaya, I. (2020b). *Insecticide resistance and its management in Bemisia tabaci species*. *Journal of Pest Science*, 93(3), 893-910. <https://doi.org/10.1007/s10340-020-01210-0>
18. Kalyebi, A., Macfadyen, S., Parry, H. R., Tay, W. T., De Barro, P., & Colvin, J. (2018). *African Cassava Whitefly, Bemisia Tabaci, Cassava Colonization Preferences and control implications*. *PLOS ONE*, 13(10), e0204862. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204862>

19. Schutze, I. X., Naranjo, S. E., & Yamamoto, P. T. (2022). *Impact of Bemisia tabaci MEAM1 (Hemiptera: aleyrodidae) on soybean yield and quality under field conditions*. *Journal of Economic Entomology*, 115(3), 757-766. <https://doi.org/10.1093/jee/toac026>
20. Singh, I., Kaur, R., Kumar, A., Singh, S., & Sharma, A. (2021). *Differential expression of gut protein genes and population density of Arsenophonus contributes to sex-biased transmission of Bemisia tabaci vectored Cotton leaf curl virus*. *PLOS ONE*, 16(11), e0259374. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259374>
21. Rezende, J. A. M., Krause-Sakate, R., Pavan, M. A., & Ghanim, M. (2014). *Diversity and Localization of Bacterial Endosymbionts from Whitefly Species Collected in Brazil*. *PLoS ONE*, 9(9), e108363. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108363>
22. Oliveira, M. R. V., Henneberry, T. J., & Anderson, P. (2001). *History, current status, and collaborative research projects for Bemisia tabaci*. *Crop Protection*, 20(9), 709-723. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(01\)00108-9](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(01)00108-9)
23. Horowitz, A. R., Ghanim, M., Roditakis, E., Nauen, R., & Ishaaya, I. (2020). *Insecticide resistance and its management in Bemisia tabaci species*. *Journal of Pest Science*, 93(3), 893-910. <https://doi.org/10.1007/s10340-020-01210-0>