



COINTER PDVAgro 2020

V CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Edição 100% virtual | 02 a 05 de dezembro

ISSN:2526-7701 | PREFIXO DOI:10.31692/2526-7701

AVALIAÇÃO DA DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES DE *BURSAPHELENCHUS COCOPHILUS*

EVALUACIÓN DE LA DISTANCIA GENÉTICA ENTRE POBLACIONES DE *BURSAPHELENCHUS COCOPHILUS*

EVALUATION OF THE GENETIC DISTANCE AMONG POPULATIONS OF *BURSAPHELENCHUS COCOPHILUS*

Apresentação: Pôster

Arinaldo Pereira da Silva¹; Josineide Rodrigues da Costa²

INTRODUÇÃO

O anel-vermelho é considerado uma doença letal para as plantas infectadas, tem como agente etiológico o fitonematoide *Bursaphelenchus cocophilus* (Cobb) Baujard (WARWICK; LEAL, 2003). Sua distribuição ocorre em muitos países americanos, como Belize, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guiana Francesa, Granada, Guatemala, Guiana, Honduras, México, Nicarágua, Panamá, Peru, São Vicente e Granadinas, Suriname, Trinidad e Tobago e Venezuela (FAO, 2011).

Os hospedeiros de *B. cocophilus* são restritos a espécies da família Arecaceae (Palmae), já tendo sido relatadas 17 espécies suscetíveis. Contudo, apenas nas plantas de coqueiros, dendezeiro e tamareira (*Phoenix dactylifera*), os danos têm importância econômica (MOENS; PERRY, 2009). A doença anel-vermelho tem sido responsável por grandes perdas nas culturas de coco, de dendê e de outras palmáceas hospedeiras (GRIFFITH; KOSHY, 1990). Em áreas de cultivos de coco e de dendê já bem estabelecidos, *B. cocophilus* é considerado o mais importante fitonematoide (BRAMMER; CROW, 2001).

Pouco se sabe sobre as informações genéticas de *B. cocophilus*, diferente das demais espécies do gênero *Bursaphelenchus*, este fitoparasita não se alimenta de fungo, em parte do seu ciclo de vida. (GIBLIN-DAVIS; GERBER; GRIFFITH, 1989). Essa especialização pode estar relacionada a planta hospedeira, sabe-se que plantas exercem uma forte seleção natural

¹ Doutor, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, arinaldo@unifesspa.edu.br

² Mestra, Faculdade de Venda Nova do Imigrante, josineide.rodriguescosta@gmail.com

AVALIAÇÃO DA DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES

que pode gerar diferenciação genética e até mesmo isolamento reprodutivo, nos seus parasitas (BETHENOD *et al.*, 2005; FUNK, 2010).

A incorporação de informações de ecologia evolutiva nas práticas de manejo de pragas não só enriquecerá nossa compreensão dos processos genéticos populacionais em escala local, mas também ajudará na formulação de estratégias de manejo de pragas de forma mais eficientes e sustentável do que as práticas atualmente realizadas (BARMAN *et al.*, 2012).

Objetivou-se neste trabalho avaliar a similaridade e distância genética entre as populações de *B. cocophilus* do Brasil e da Colômbia, usando a região 28s do DNA ribossomal.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Segundo Jones *et al.*, (2008), apenas duas das espécies do gênero *Bursaphelenchus* causam impacto econômico nos sistemas agrícolas e florestais do mundo: *B. cocophilus* que é o agente etiológico da doença conhecida como anel-vermelho em palmáceas (coco e dendê) plantadas nas Américas Central e do Sul (RYSS *et al.*, 2005) e *B. xylophilus* que é o agente etiológico da murcha-do-pinus, uma doença grave em plantios de coníferas, nos EUA (RUTHERFORD *et al.*, 1990), na Europa (MOTA *et al.*, 1999) e na Ásia (ZHAO *et al.*, 2003). Apesar do número relativamente elevado de publicações sobre *B. Xylophilus* (CARDOSO; FONSECA; ABRANTES, 2012; HU *et al.*, 2011; YE; GIBLIN-DAVIS, 2013; ZHUO *et al.*, 2011) poucos são os trabalhos com análise genética de *B. Cocophilus* (YE *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2016). Nos eucariotos determinadas regiões do DNA ribossomal (rDNA) repetem-se várias vezes ao longo da fita de DNA. Essas regiões codificam os genes 18S, 5.8S e 28S, além de dois espaçadores internos transcritos (ITS1 e ITS2). Todas essas regiões apresentam potencial para serem usadas em estudos de sistemática (FOULY *et al.*, 1997).

Para nematoides do gênero *Bursaphelenchus*, a região genômica mais estudada, e que possuem maior número de sequências depositadas em bancos de dados é a expansão D2/D3 da região 28S, seguida da região 18S, ambas situadas no DNA ribossomal (rDNA). Além dessas, dois espaçadores internos transcritos (ITS1 e ITS2) e a região IGS já foram sequenciados e são explorados, dentro do gênero, para estudos de identificação, filogenia e genética de populações (YE *et al.*, 2007; GIBLIN-DAVIS *et al.* 2005; SILVA *et al.*, 2016).

Uma das principais informações, obtida com os estudos da estrutura genética de populações é poder fazer a estimativa do nível de fluxo gênico entre as populações. Através dessa informação podemos determinar quanto que uma população de uma região geográfica é uma unidade diferente geneticamente (SLATKIN, 1994).

METODOLOGIA

Foram utilizadas as 19 sequências da região 28s do dna ribossomal, disponíveis para *B. cocophilus*. As sequências foram avaliadas no NCBI/BLAST, realizando-se o alinhamento múltiplo (Muscle), e calculada a distância genética no programa MEGA X (KUMAR *et al.*, 2018) e foi gerada uma matrix de distância genética usando distâncias não corrigidas (distância-p), com base em sequências da região D2/D3 da região do 28s. A matriz de distância não foi calculada usando um modelo de evolução, devido já ter sido demonstrado que o cálculo e uso de p-distância impossibilita a parametrização excessiva e não há necessidade de usar medidas de distâncias complexas ao estudar sequências (NEI; KUMAR, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O alinhamento de sequências parciais do gene 28s do rDNA produziram fragmento de comprimento de 631 bp, dos quais 10 são variáveis e quatro são parcimoniosos informativos, e 621 são conservados. Foi observado, figura 1, um baixo índice de distância genética, variando entre 0,000 e 0,011, entre as populações avaliadas. A máxima distância genética foi obtida entre a população de Honduras (AY508076) e Colômbia (KT156778). Entre as populações brasileiras apenas uma população, KT156772 apresentou diferença das demais (0,002). Nas primeiras sequências depositadas para as populações da Colômbia (GenBank acesso iniciado com KT) foi observado maior diversidade entre as mesmas (0,000 a 0,003).

Tabela1: Distância genética entre populações da America Latina de *Bursaphelenchus cocophilus*, baseada na região 28s do DNA ribossomal.

População	Brasil						Colômbia						Costa Rica	Honduras	Colômbia				
	771	770	769	774	773	772	778	775	776	777	781	779	780	76	77	643	642	641	640
KT156771 BRA	-																		
KT156770 BRA	0,000	-																	
KT156769 BRA	0,000	0,000	-																
KT156774 BRA	0,000	0,000	0,000	-															
KT156773 BRA	0,000	0,000	0,000	0,000	-														
KT156772 BRA	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	-													
KT156778 CO	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,008	-												
KT156775 CO	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,002	0,006	-										
KT156776 CO	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,002	0,006	0,000	-									
KT156777 CO	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,003	0,008	0,002	0,002	-									
KT156781 CO	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006	0,005	0,010	0,003	0,003	0,002	-								
KT156779 CO	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,002	0,006	0,000	0,000	0,002	0,003	-							
KT156780 CO	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006	0,005	0,010	0,003	0,003	0,002	0,000	0,003	-						
AY508076 CR	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,000	0,008	0,002	0,002	0,003	0,005	0,002	0,005	-					
AY508077 Hon	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,003	0,011	0,005	0,005	0,006	0,008	0,005	0,008	0,003	-				
MN612643 CO	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,000	0,008	0,002	0,002	0,003	0,005	0,002	0,005	0,000	0,003	-			
MN612642 CO	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,000	0,008	0,002	0,002	0,003	0,005	0,002	0,005	0,000	0,003	0,000	-		
MN612641 CO	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,000	0,008	0,002	0,002	0,003	0,005	0,002	0,005	0,000	0,003	0,000	0,000	-	
MN612640 CO	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,000	0,008	0,002	0,002	0,003	0,005	0,002	0,005	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000	-

Fonte: Própria (2020)

[3]

AValiação DA DISTância GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES

Com os novos depósitos no GenBank de sequências de populações da Colômbia (GenBank acesso iniciado com MN) foi possível observar que estas e as sequências colombianas anteriores apresentam mais diversidade genética (0,002 a 0,005), essa baixa diversidade genética pode estar ocorrendo por causa dos efeitos da endogamia devido às suas populações pequenas e isoladas, bem como à capacidade de dispersão limitada do nematoide (Tabela 1). Até o momento há poucas sequências da região D2/3 do gene 28s de populações de *Bursaphelenchus cocophilus*, uma de Honduras, uma da Costa Rica, seis do Brasil e 11 da Colômbia (YE *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2016).

A distância genética antes observada entre a população de *B. cocophilus* da Costa Rica (AY508076) e Colômbia (KT), variando entre 0,002 a 0,008 (SILVA *et al.*, 2016) não foi observada com as novas populações Colombianas (MN), analisadas neste trabalho. A população de Honduras (AY508077) continua sendo a população que mais apresenta distância genética das demais populações conhecidas, variando 0,03 a 0,011. Estudos similares foram desenvolvidos com *B. xylophilus*, também usando a região D2/3, oriundos da China, Japão e Estados Unidos, e não foi encontrada diversidade genética entre as populações ou entre subpopulações, onde os autores concluíram haver um único grupo chamado CPJU, havendo apenas uma diferenciação deste grupo com a população do Canadá (ZHANG *et al.*, 2008). Para *B. xylophilus*, tem se encontrado maior variabilidade genética, 0.144 a 0.916, quando são usados genes mitocondriais (ZHANG *et al.*, 2018).

A diferenciação genética entre as populações é afetada por mutação, migração, deriva e seleção (WHITLOCK, 2011). Outros fatores extrínsecos (por exemplo, heterogeneidade de habitat) e fatores intrínsecos (por exemplo, capacidade de dispersão, sistema de acasalamento e preferência de habitat) têm um impacto no pool genético em nível intrapopulacional (BEZAULT *et al.*, 2011).

A adaptabilidade de uma espécie às mudanças ambientais depende muito da diversidade genética e da estrutura genética de suas populações (ZU *et al.* 1999), sendo esta diversidade genética mantida nas populações em correlação a eventos históricos e de processos evolutivos recentes (LEE *et al.* 2002).

CONCLUSÕES

Este estudo mostrou baixos níveis de divergência genética entre as populações de *Bursaphelenchus cocophilus* da América Latina, indicam que há baixo fluxo genético entre as populações, devido provavelmente a barreiras geográficas.

REFERÊNCIAS

- BARMAN, A. K., M. N. et al. Geographic pattern of host-associated differentiation in the cotton fleahopper, *Pseudatomoscelis seriatus*. **Entomol. Exp. Appl.** v.143, p.31–41, 2012.
- BETHENOD, M.T. et al. Genetic isolation between two sympatric host plant races of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hubner. II: assortative mating and host-plant preferences for oviposition. **Heredity.** v.94, p. 264–270, 2005.
- BEZAULT, E. et al. Spatial and temporal variation in population genetic structure of wild Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) across Africa. **BMC Genet.** 12:102, 2011.
- BRAMMER, A. S.; CROW, W. T. Red ring nematode, *Bursaphelenchus cocophilus* (Cobb) Baujard (Nematoda: Secernentea: Tylenchida: Aphelenchina: Aphelenchoidea: Bursaphelenchina) formerly *Rhadinaphelenchus cocophilus*. EENY-236, Entomology and Nematology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, p.1-4, 2001.
- CAO, A. X. et al. Detection of the Pinewood Nematode, *bursaphelenchus xylophilus*, Using a Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay. **Phytopathology.** v. 95, n. 5, p.566-71, 2005.
- CARDOSO, J. M.; FONSECA, L.; ABRANTES, I. Genetic diversity of ITS sequences of *Bursaphelenchus xylophilus*. **Genet Mol Res,** v.11, n. 4, p. 4508-15, 2012.
- FAO FORESTRY PAPER ,164. **Guide to implementation of phytosanitary standards in forestry,** p. 111, 2011.
- FOULY, H.; WILKINSON, H. T.; CHEN, W. Restriction analysis of internal transcribed spacers and the small subunit gene of ribosomal DNA among four *Gaeumannomyces* species. **Mycologia,** v. 89, p.590-598, 1997.
- FUNK, D. J. Does strong selection promote host specialisation and ecological speciation in insect herbivores? Evidence from *Neochlamisus* leaf beetles. **Ecological Entomology,** v.35, p. 41–53, 2010.
- GIBLIN-DAVIS, R.M. Insects of borers. In: HOWARD, F. W.; MOORE, D.; GIBLIN-DAVIS, R.M.; ABAD, R.G. **Insects on palms.** Wallingford-Oxon: CABI Publishing, 2001. 414p.
- GIBLIN-DAVIS, R.M.; GERBE, R. K.; GRIFFITH, R. *In vivo* and *in vitro* culture of the red ring nematode, *Rhadinaphelenchus cocophilus*. **Nematropica.** v.19, p.135–142, 1989.
- GRIFFITH, R.; KOSHY, P.K. **Nematode parasites of coconut and other palms.** In: Luc, M., Sikora, R.A. & Bridge, J. (Eds). Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Wallingford, UK, CABI Publishing. 1990. p. 363-386.
- HU, Y. Q. et al. Direct PCR-based method for detecting *Bursaphelenchus xylophilus*, the pine wood nematode in wood tissue of *Pinus massoniana*. **Forest Pathology.** v.41, p. 165–168, 2011.
- JONES, J. T. et al. *Bursaphelenchus xylophilus*: opportunities in comparative genomics and molecular host–parasite interactions. **Molecular Plant Pathology,** v. 9, n. 3, p.357-68, 2008.
- KUMAR, S. et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. **Mol Biol Evol.** v. 1, n. 35, p.1547-1549, 2018.
- LEE, S. L. et al. Population genetics of *Intsia palembanica* (Leguminosae) and genetic conservation of *Virgin Jungle* Reserves in Peninsular Malaysia. **Am. J. Bot.** v. 89, p.447-459,

AVALIAÇÃO DA DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES

2002.

MOENS, M.; PERRY, R. N. Migratory plant endoparasitic nematodes: A group rich in contrasts and divergence. **Annual Review of Phytopathology**, v. 47, p. 313-332, 2009.

MOTA, M. M. et al. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* Portugal and in Europe. **Nematology**, v. 1, n. 7-8, p. 727-734, 1999.

NEI, M.; KUMAR, S. Molecular Evolution and Phylogenetics. New York: Oxford University Press; 2000.

RUTHERFORD, T.A.; MAMIYA, Y.; WEBSTER, J. M. Nematode-induced pine wilt disease: factors influencing its occurrence and distribution. **Forest Science**. v. 36, n.1, p. 145-155, 1990.

RYSS, A. et al. A synopsis of the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 (Aphelenchida: Parasitaphelenchidae) with keys to species. **Nematology**, v. 7, n. 3, p. 393-458, 2005.

SILVA, A. P. et al. Genetic diversity of *Bursaphelenchus cocophilus* in South America, **Nematology**, Leiden, p. 1-10, abr. 2016.

SLATKIN, M. Gene flow and population structure. In Real LA (Ed) Ecological Genetics. Princeton University Press, Princeton. 1994.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal, FUNEP, 1993. 372 p.

WARWICK, D. R. N.; LEAL, E. C. Principais doenças letais In: FERREIRA, J.M.S., (ed.). **Coco Fitossanidade**. Brasília-DF, EMBRAPA, p.51-62, 2003.

WHITLOCK, M. C. G'_{ST} and D do not replace F_{ST} . **Mol. Ecol.** v.20, n. 6, p.1083-1091, 2011.

YE, W. et al. Phylogenetic relationships among *Bursaphelenchus* species (Nematoda: Parasitaphelenchidae) inferred from nuclear ribosomal and mitochondrial DNA sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 43, n. 3, p. 1185-97, 2007.

YE, W.; GIBLIN-DAVIS, R. M. Molecular Characterization and Development of Real-Time PCR Assay for Pine-Wood Nematode *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae). **PLOS One**. DOI: 10.1371/journal.pone.0078804. 2013

ZHANG, H. et al. High Mitochondrial Genome Diversity and Intricate Population Structure of *Bursaphelenchus xylophilus* in Kyushu, Japan. **Journal of nematology**, v. 50, n. 3, p. 281–302, 2018.

ZHANG, K. et al. Molecular Phylogeny of Geographical Isolates of *Bursaphelenchus xylophilus*: Implications on the Origin and Spread of this Species in China and Worldwide. **Journal of nematology**, v. 40, n.2, p. 127–137, 2008.

ZHAO, B. G. et al. Distribution and pathogenicity of bacteria species carried by *Bursaphelenchus xylophilus* in China. **Nematology**, v. 5, n. 6, p.899-906, 2003.

ZHUO, K. et al. A multiplex one-step PCR method for the simultaneous identification of *Bursaphelenchus xylophilus*, *B. mucronatus* and *B. doui* –three species within the xylophilus group. **Forest Pathology**, v. 41, n. 1, p. 66-69, 2011.

ZU, Y. G.; SUN, M.; KANG, L. The theory, method, and application of molecular ecology. Higher Education Press, Beijing, China. p. 30–37, 1999.