

CARACTERIZACIÓN DE TRES ENDOSIMBIONTES DE LA MOSCA BLANCA: *BEMISIA TABACI* (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) DE COLOMBIA

Mailyn Alejandra Bedoya Saldarriaga

Universidad del Valle, Apartado Aereo 25360, Cali, Colombia.

correo electrónico: mailyn.bedoya@correounivalle.edu.co

James Montoya Lerma

Universidad del Valle, Apartado Aereo 25360, Cali, Colombia.

correo electrónico: james.montoya@correounivalle.edu.co

Vanessa Muñoz Valencia

Universidad del Valle, Apartado Aereo 25360, Cali, Colombia.

correo electrónico: vanem28@gmail.com

RESUMEN

Muchas especies de insectos albergan bacterias simbioses intracelulares y su interacción puede ser parásita, neutral o mutualista. A este último tipo parece pertenecer la asociación de la mosca blanca, *B. tabaci* y sus endosimbiontes, quienes le proporcionan nutrientes esenciales y facultan con características como tolerancia a altas temperaturas. En este estudio se identificó la presencia de los endosimbiontes de *B. tabaci*: *Portiera*, *Hamiltonella* y *Rickettsia* en poblaciones provenientes de diferentes regiones de Colombia. Se encontró que la co-infección por los tres endosimbiontes fue más común que la infección por un solo endosimbionte, para la cual el endosimbionte más frecuente fue *Hamiltonella*, pero este no se presentó en todas las localidades. Por su parte *Portiera* no fue el más frecuente pero se encontró en todas las localidades con una ocurrencia del 100 % seguido por *Hamiltonella* (92 %) y *Rickettsia* (88 %). No se observó asociación de alguno de los endosimbiontes o combinaciones de estos con la región, localidad o cultivo de procedencia de su hospedero. Al observar los análisis filogenéticos en base al gen 16S rRNA se obtuvo que las secuencias de *Rickettsia* fueron todas idénticas, mientras que en *Hamiltonella* y *Portiera* se observaron diferencias para la secuencia de Natagaima para ambos endosimbiontes y la de Mariquita para *Portiera*, aunque en general son muy similares independientemente de la región. Al comparar las secuencias de este estudio con las reportadas en el GenBank, se encontró alta similitud para cada endosimbionte con su contraparte en el continente Africano, y los países de China y Japón. Estos resultados sugieren que *Rickettsia* tiene un único grupo genético que está infectando la mosca blanca en las diferentes regiones del país, mientras que para *Hamiltonella* y *Rickettsia* se podría sugerir la presencia de dos grupos genéticos, todos ellos similares a los encontrados en África, China y Japón a excepción de las dos secuencias mencionadas para *Hamiltonella* que no se agruparon con secuencia alguna ya reportada.

Palabras clave: Hamiltonella, Middle East-Asia Minor 1 (MEAM 1), Portiera, Rickettsia.

ABSTRACT

Many insect species host intracellular symbiont bacteria; their interactions can be parasitic, neutral or mutualistic. The association of the white fly, *B. tabaci* and its endosymbionts seems to belong

to the last type. Endosymbionts provide essential nutrients to the insect species and empower it to overcome and resist high temperatures. In this study, we identified the presence of three endosymbionts: *Portiera*, *Hamiltonella* and *Rickettsia* in *B. tabaci* populations coming from different regions of Colombia. We found that the co-infection by these three endosymbionts was the most common feature, even above the infection caused by only one endosymbiont. A simple infection was most frequent in *Hamiltonella* uninfected flies but this was not for all localities. In contrast, despite not being the most common, *Portiera* was found in every locality with an occurrence of the 100 %, followed by *Hamiltonella* (92 %) and *Rickettsia* (88 %). No association of endosymbionts or a combination of them with the provenance region, locality or crop of their host was found. The phylogenetic analysis based on the 16S rRNA gene showed that, while the sequences of *Rickettsia* were all identical, in the case of *Hamiltonella* and *Portiera*, some differences were observed not only in the Natagaima sequence, for both endosymbionts, but also in the Mariquita sequence for *Portiera*. Even though, in general terms, they were very similar independently of their regions of origin. Finally, after comparing the sequences of this study with the ones reported in the GenBank, a high similarity for each endosymbiont with their counterpart in the African continent and the Chinese and Japan countries was found. These results suggest that *Rickettsia* has a unique genetic group infecting the white fly in the different regions of the country. Meanwhile for *Hamiltonella* and *Rickettsia*, we can propose the presence of two genetic groups, all of them similar to the ones found in Africa, China and Japan, excluding the two sequences, as already mentioned above for *Hamiltonella*, which do not cluster with any sequence reported before.

Key words: Hamiltonella, Middle East-Asia Minor 1 (MEAM 1, Portiera, Rickettsia

INTRODUCCIÓN

Bemisia tabaci (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) es una de las plagas agrícolas más importantes del mundo, al causar innumerables pérdidas en diversos cultivos (Ahmed *et al* 2010, Gnankiné *et al* 2013, Gueguen *et al* 2010, Pan *et al* 2013), entre los que se destaca la yuca. En países de Sur América, África y la India, se presentan limitantes significativos en la producción de este cultivo, tanto por los daños directos al alimentarse el insecto de la planta como por los indirectos al ser vectores de virus causantes de enfermedades destacadas como el mosaico de la yuca africana (ACMD) y la enfermedad de las manchas café (CBSD), responsables de pérdidas agrícolas significativas en África (Hélène *et al* 2015, Ghosh *et al* 2015, Legg *et al* 2002, Legg *et al* 2011). Hasta el momento, ninguna de estas enfermedades ha sido reportada en Colombia o en Latinoamérica, pero se reconoce el riesgo potencial de ocurrencia en el Neotrópico, pues ambos virus son transmitidos especie Middle

East-Asia Minor 1 (MEAM 1) de *B. tabaci* (Frohlich *et al* 1999, Brown 2000, Legg *et al* 2002), la especie predominante en Colombia (Quintero *et al* 1998; Quintero *et al* 2001, Díaz 2013).

Es de anotar que MEAM1 de *B. tabaci* ha sido recientemente separada de otras especies del complejo de más de 35 especies crípticas descritas para este insecto morfológicamente indistinguibles pero ecológica y genéticamente distintas (Ahmed *et al* 2013, Cathrin & Ghanim 2014, Pinheiro *et al* 2015), que por mucho tiempo fueron conocidas como biotipos (Fujiwara *et al* 2015). La mayoría de estas especies son específicas de área, exceptuando los biotipos B y Q, extendidos recientemente en la mayoría de países del mundo y encontrados en una amplia gama de plantas huésped como cultivos de hortalizas, algodón y plantas ornamentales (Cathrin & Ghanim 2014, Moreno-Delafuente *et al* 2013, Su *et al* 2013). En América se distinguen tres especies: MEAM 1 (previamente conocida como biotipos B y B2), Mediterranean (MED, antes biotipo Q) como especies invasoras, y *New World* (NW previamente biotipo A) como la especie nativa (Dinsdale *et al* 2010, Hu *et al* 2011, De Barro *et al* 2011), de las cuales MEAM 1 es la especie más agresiva del complejo *B. tabaci*, cuya distribución incluye áreas y temporadas con temperaturas estresantes superiores a 42°C (Oliveira *et al* 2001, Perring 2001). *Bemisia tabaci* fue reportada por primera vez en Colombia en 1995 y desde ese momento ha ampliado su distribución a casi todos los ecosistemas agrícolas del país, llegando a ser la especie predominante y desplazando al biotipo nativo de sus nichos (Díaz *et al* 2014).

Como la mayoría de los insectos, *B. tabaci* ha formado y mantenido relaciones ancestrales con bacterias intracelulares (endosimbiontes), que pueden tener efectos benéficos sobre el “*fitness*” de su hospedero (Chen *et al* 2000, Chiel *et al* 2009, Bressan 2014). Por lo cual, la endosimbiosis puede ser una fuerte fuerza evolutiva cuando la adquisición y el mantenimiento de un microorganismo por el insecto hospedero resultan en la formación de nuevas estructuras o cambios en la fisiología y el metabolismo de dicho hospedero (Baumann *et al* 1995, Bressan 2014). Asimismo, las bacterias simbióticas son clave en las interacciones planta-insecto debido a que facilitan la colonización de

nuevos nichos de alimentación y permiten la especialización en un rango amplio de dietas, además influyen muchos aspectos de la ecología y juegan un papel clave en el moldeamiento de la diversificación de muchos grupos de insectos (Clark *et al* 2010, Feldhaar 2011).

Dentro de la compleja comunidad simbiote bacteriana de *B. tabaci* se reconoce un endosimbionte primario (EP), *Candidatus Portiera aleyrodidarum*, que se encuentra en vesículas especializadas llamadas bacteriocitos (Shan *et al* 2014, Santos-García *et al* 2012). Este EP proporciona aminoácidos esenciales y ciertas vitaminas carentes en la dieta natural de *B. tabaci*, basada en la savia del floema, rica en hidratos de carbono pero deficiente en aminoácidos esenciales (Feldhaar 2011, Ghosh *et al* 2015). Por otra parte, están los endosimbiontes secundarios o facultativos (ES), que a diferencia del EP no son requeridos para la supervivencia y la reproducción de sus hospederos y pueden habitar una variedad de tejidos incluyendo los bacteriocitos, las glándulas salivales, túbulos de Malpighi y órganos reproductivos. En la mosca blanca se han reportado siete especies de ES: *Hamiltonella*, *Rickettsia*, *Cardinium*, *Wolbachia*, *Arsenophonus*, *Fritschea* y *Hemipteriphilus*, los cuales pueden ser transmitidos tanto vertical como horizontalmente dentro y entre especies en diferentes escalas de tiempo evolutivo (Ahmed *et al* 2013, Brumin *et al* 2012, Douglas 2009).

Diversos estudios han reportado la importancia y el papel que juegan tanto los EP como los ES en diferentes especies de insectos. Ejemplo de ello son las hormigas carpinteras, donde el EP *Blochmannia* le proporciona aminoácidos esenciales que son deficientes en su dieta. En cucarachas se encontró que la bacteria intracelular *Blattabacterium* sp. parece estar involucrada en el reciclaje de reservas de ácido úrico proporcionando a su hospedero compuestos nitrogenados que pueden ser usados en épocas de carencia de nitrógeno. Otros estudios indican que la presencia de *Hamiltonella* en moscas blancas, incrementa el crecimiento de los insectos cuando son sometidos a ambientes bajos de nitrógeno, y además, se cree que cuando esta bacteria se encuentra junto a *Portiera* en los bacteriocitos puede ejercer funciones complementarias como producir nutrientes esenciales que no

se producen o que son producidos de manera ineficiente por parte de *Portiera* y el hospedero cuando se encuentran bajo estrés nutricional (Douglas 2009, Su *et al* 2014). En el caso del endosimbionte *Rickettsia*, se ha documentado que tiene un papel importante en la tolerancia a altas temperaturas, incremento en la fecundidad, reducción del tiempo de desarrollo y aumento en la susceptibilidad a algunos insecticidas (Brumin *et al* 2011, Kollenberg *et al* 2014).

Asimismo, los Gottlieb *et al* (2010) encontró que ES como *Hamiltonella* puede mediar la transmisión viral, puesto que han encontrado una asociación entre individuos de *B. tabaci* con *Hamiltonella* que favorece la transmisión de begomovirus TYLCV, en contraste con las moscas blancas que carecen del endosimbionte, las cuales no pueden transmitir de manera eficiente el virus TYLCV. Este mismo comportamiento se ha observado en poblaciones de mosca blanca en China e Israel, donde este endosimbionte se asoció con la adquisición, retención y transmisión eficiente del virus TYLCV por parte de *B. tabaci* MED (Kliot *et al* 2014). De igual manera, se ha observado que *Rickettsia* también desempeña un papel en la transmisión viral del TYLCV, observándose que moscas blancas infectadas por este endosimbionte lo adquieren más, lo conservan por más tiempo y presentan casi el doble de la eficiencia en la transmisión comparados con individuos adultos no infectados por la bacteria (Kliot *et al* 2014). Otros ES como *Arsenophonus*, también han sido involucrados en la transmisión viral. Por ejemplo, en la India se encontró que este endosimbionte participa en la transmisión del virus de la hoja rizada del algodón (CLCuV) por parte de adultos de *B. tabaci* del grupo genético Asia II. A pesar de todas estas observaciones, poco se conoce sobre el mecanismo de transmisión de estos virus, y de la participación que tengan agentes moduladores como los endosimbiontes en este proceso, los cuales se han visto involucrados en la transmisión de otros begomovirus de importancia mundial, tal conocimiento limitado se hace aún más estrecho en Colombia, donde a la fecha no se tiene ningún estudio de los endosimbiontes de la mosca blanca y por ende de su asociación en la transmisión viral, ya que las investigaciones en esta plaga se han desarrollado en temas como su

distribución, estructura poblacional, respuesta a altas temperaturas, entre otros. Lo cual refleja la importancia de realizar estudios a nivel de simbiontes que nos permita un posterior abordaje de la transmisión viral desde el punto de vista de las interacciones vector-endosimbionte-virus, lo cual contribuiría a dilucidar las relaciones hospedero-huésped en el modelo *B. tabaci*-endosimbiontes y el papel que estos juegan en la transmisión viral. Por lo que el objetivo de este estudio es evaluar la presencia de tres endosimbiontes presentes en *B. tabaci*, *Portiera*, *Rickettsia* y *Hamiltonella* en diferentes localidades y cultivos ubicados a lo largo de las cuatro regiones naturales (Caribe, Pacífica, Andina y Orinoquía) de Colombia.

MÉTODOS

Secuencias: Las secuencias analizadas corresponden a amplificados del gen 16s RNA, de los endosimbiontes *Portiera*, *Rickettsia* y *Hamiltonella* de *B. tabaci*, obtenidos a partir de individuos adultos de *B. tabaci* colectados entre los años 2013 y 2014 de diferentes cultivos en localidades distribuidas a lo largo de las Regiones Naturales: Llanura del Caribe, del Pacífico, Andina y de la Orinoquía, según el instituto Geográfico Agustín Codazzi (Tabla 1). La información geográfica detallada para los sitios muestreados en el valle del Cauca se encuentra en los anexos (Anexo 1).

De cada sitio de muestreo se seleccionaron ocho individuos al azar para extraer su ADN usando un buffer de lisis y, posteriormente se verificó la presencia de los endosimbiontes *Portiera*, *Rickettsia* y *Hamiltonella* usando los respectivos cebadores específicos. Las muestras positivas para estos endosimbiontes fueron enviadas a MacroGen corporation, EE.UU, para su secuenciación. Finalmente, estas secuencias fueron usadas para realizar los análisis filogenéticos.

Análisis filogenéticos: Las filogenias fueron construidas a partir de aquellas secuencias obtenidas de cada uno de los endosimbiontes analizados. Para esto, fueron editadas en Sequencher 4.1.4. Aquellas secuencias consenso se usaron para verificar su homología con el respectivo endosimbionte por

medio de la herramienta BLASTn del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore>). Paso seguido, se tomaron las secuencias consenso de cada endosimbionte, y se realizó un alineamiento múltiple usando la herramienta ClustalW del software MEGA 6.06 (Tamura *et al* 2013). Estos alineamientos fueron evaluados en la herramienta Modeltests de MEGA 6.06 para conocer el mejor modelo de sustitución nucleotídica que se ajustaba a los datos acorde al criterio AIC.

Los árboles filogenéticos para cada endosimbionte fueron contruidos empleando el método de Máxima Verosimilitud (MV) en MEGA 6.06, usando para cada uno el modelo de sustitución de Jukes-Cantor. En el caso del árbol filogenético que contenía los tres endosimbiontes, se usó el modelo de Kimura dos parámetros. La confiabilidad de cada grupo (“clúster”) para todos los árboles se evaluó usando 10.000 repeticiones “bootstrap”.

Asimismo, se obtuvieron las secuencias reportadas en otros países para estos tres endosimbiontes de mosca blanca usando la base de datos GenBank del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore>). Estas secuencias fueron alineadas con las secuencias obtenidas en este estudio, para construir un árbol filogenético que permitiera comparar y posiblemente detectar similitud entre las cepas colombianas de estos endosimbiontes y las reportadas en otros lugares del mundo. Para esto se empleó el modelo de sustitución nucleotídica Kimura-2-parámetros con una confiabilidad para cada “clúster” evaluada por 10.000 repeticiones bootstrap.

RESULTADOS

De los individuos colectados se encontró que 152 estaban infectados por al menos un endosimbionte. De éstos, 68 muestras estuvieron infectadas por los tres endosimbiontes evaluados. Las infecciones con dos endosimbiontes fueron menos frecuentes, con nueve individuos para la pareja *Hamiltonella-Rickettsia*, ocho para *Hamiltonella-Portiera* y cinco para *Rickettsia-Portiera*. Asimismo se detectaron 50 individuos que contenían únicamente el ES *Hamiltonella*, siete únicamente *Rickettsia* y cinco

solo con *Portiera* (Tabla 1).

A nivel de localidad, la frecuencia de infección del EP *Portiera* fue del 100 %, siendo detectado en las 25 localidades ubicadas a lo largo de las cuatro regiones naturales (Pacífica, Andina, Orinoquía y Caribe). La frecuencia de los ES *Hamiltonella* y *Rickettsia* fue del 92 % y 88 %, respectivamente, esto debido a que ninguno de los dos fue detectado en Restrepo (Valle del Cauca) y Tibú (Norte de Santander), ni en Pandi (Cundinamarca) (Tabla 1) en el caso de *Rickettsia*.

En las localidades de Tibú y Restrepo, se observó una infección única por el EP, y no se detectó la presencia de los ES. En general a nivel de cultivo, se encontró que las moscas blancas analizadas presentaron infección múltiple por los tres endosimbiontes, a excepción de los cultivos de las dos localidades anteriores (maleza y yuca, respectivamente), y de la ahuyama y el pepino en Pandi, en los que se detectaron tanto el EP como *Hamiltonella* (Tabla 1).

En cuanto a los análisis filogenéticos moleculares de las secuencias del gen 16s rRNA de los endosimbiontes *Portiera*, *Hamiltonella* y *Rickettsia* de *B. tabaci* formaron tres clúster claramente distinguibles, que corresponden a cada endosimbionte (G1, G2 y G3) (ver anexo 2). Al realizar el análisis filogenético de cada endosimbionte por separado, se observó para las secuencias de *Portiera* un único agrupamiento con un porcentaje de ocurrencia del 86 %, donde solo la secuencia de Natagaima se separó de este cluster. Asimismo, se observó un agrupamiento entre las secuencias de Roldanillo, el Higuerón y Mariquita dentro del clúster principal, con un valor bootstrap de 86 % (Fig. 1). De manera similar, las secuencias del ES *Hamiltonella* se agruparon casi en su totalidad en un solo clúster con un valor bootstrap del 99 %, a excepción de las secuencias Natagaima y Mariquita, las cuales forman un clúster aparte, con un valor de bootstrap de 90 % (Fig. 2). Para *Rickettsia*, no se observaron diferencias en las secuencias analizadas, formando un único clúster con un valor bootstrap de 100 % (Fig. 3). Por otra parte, al comparar las secuencias obtenidas para el EP con las reportadas en el Genbank se observó que se agruparon en cuatro clúster (P1, P2,

P3 y P4). En el primero (P1) se ubicaron la mayoría de las secuencias de este estudio junto con secuencias reportadas para Pakistán, California, África, Brasil, China, India y Japón mostrando una alta similitud entre sí y con un valor bootstrap de 52 %. La secuencia de Natagaima (cultivo de algodón) que se separó del grupo principal P1, se observó en el grupo P4 con una secuencia de China y otras de Pakistán, con un valor bootstrap de 78 %. En el grupo P2 se ubicaron secuencias de California y en P3 de EEUU (Fig. 4). Para el ES *Rickettsia*, también se observaron cuatro clúster (R1, R2, R3 y R4) como para *Portiera*. En el clúster R1 se ubicaron todas las secuencias obtenidas en este estudio junto con aquellas reportadas para este endosimbionte en África, China y Japón. Asimismo, dentro de este mismo clúster, se formó un sub-agrupamiento de las secuencias de China, Israel y Australia, con un valor bootstrap de 46 %. En el clúster R2 se encuentran secuencias de África y Pakistán; mientras que en el R3 se observaron solo secuencias de África. Finalmente, en el R4 se observaron secuencias de África, India, Pakistán y China con pequeñas diferencias entre sí (Fig. 5). Por su parte, las secuencias del ES *Hamiltonella* se agruparon formando un solo clúster con las secuencias de África, China, Japón, Corea del Sur, Francia e India, con un valor bootstrap de 56 %; sin embargo, las secuencias de Natagaima y Mariquita, junto con la secuencia de Shandong, reportada en China, se separaron del agrupamiento principal, sugiriendo diferencias con las demás (Fig. 6) lo cual es consistente con el árbol filogenético generado solo con las secuencias de *Hamiltonella* obtenidas en este estudio.

DISCUSIÓN

Las bacterias endosimbiontes juegan un papel fundamental en las interacciones planta-insecto al influenciar muchos aspectos de la ecología del insecto, a tal punto de facilitar la colonización de nuevos nichos de alimentación, confiriéndoles especialización a una amplia gama de dietas. En este estudio se evaluó la presencia de tres endosimbiontes en individuos de *B. tabaci* provenientes

de diferentes localidades en Colombia, y se observó que para el total de los adultos de *B. tabaci* analizados, la co-infección por múltiples endosimbiontes es más frecuente que la infección única, con valores de 59 % (90/152) y 41 % (62/152), respectivamente. Esto es congruente con estudios que reportan la ocurrencia de co-infecciones con valores incluso mayores al 60 % (Gueguen *et al* 2010, Chiel *et al* 2007, Tajebe 2014). Los resultados obtenidos muestran que la combinación más frecuente corresponde a la presencia de los tres endosimbiontes al mismo tiempo, con un 45 % (68/152). La siguiente combinación más observada aún con un valor bajo fue la de *Hamiltonella-Rickettsia* 0.06 (9/152), que ha sido reportada como única para individuos MEAM1 (Zchori-Fein *et al* 2014). Las otras combinaciones (*Portiera-Hamiltonella* y *Portiera-Rickettsia*) no superaron el 0.05 %, lo cual podría estar sugiriendo que estas no ofrecen mayores beneficios para el “fitness” de *B. tabaci*.

Por otra parte, al observar cada endosimbionte por localidad, se encontró que el EP *Portiera* estaba presente en todas ellas, lo cual puede deberse a que este EP juega un papel importante en la supervivencia y desarrollo de su hospedero, pues diferentes estudios soportan la idea de que el EP de *B. tabaci* le provee nutrientes esenciales que son limitados o carentes en su dieta (Su *et al* 2013, Gnankiné *et al* 2013). De igual manera, se encontró que el ES más frecuente fue *Hamiltonella* con una frecuencia del 92 %. Esto es congruente con estudios realizados en Senegal, Croacia, China e Israel (Gueguen *et al* 2010, Skaljic *et al* 2010, Chu *et al* 2011, Thierry *et al* 2011, Guo *et al* 2014, Hélène *et al* 2015), donde se ha observado a *Hamiltonella* con altos porcentajes de frecuencia (cerca de 100 %) y se asume que esta frecuencia es debida a los diversos papeles que puede cumplir este endosimbionte en su hospedero, como por ejemplo: suprimir las defensas inducidas de las plantas (Su *et al* 2015), impedir el desarrollo de larvas de avispas endoparásitas, en áfidos lo cual les confiere resistencia; esto se debe a que el ES impide la manipulación de los bacteriocitos por parte de la larva, y de esta manera no le permite prosperar en el hospedero. Sin embargo, no se descarta la idea que la bacteria actúe en conjunto con el sistema inmune del áfido para lograr

dicho cometido mediante procesos como el encapsulamiento (Bensadia *et al* 2005, Oliver *et al* 2003). Asimismo, se ha observado que los ES facilitan la transmisión viral debido a la presencia de proteínas chaperonas GroEl que se unen y protegen las partículas del virus durante su tránsito por el cuerpo del insecto (Jiu *et al* 2006, Li *et al* 2010, Liu *et al* 2009, Bing *et al* 2013). Acorde con esto, se podría suponer que la alta frecuencia de *Hamiltonella* en los individuos de este estudio puede deberse a que este ES esté proporcionando algún beneficio para el “fitness” de los adultos de *B. tabaci*. Por otra parte, estos resultados también podrían sugerir que esta especie de mosca blanca tiene el potencial para transmitir *begomovirus* en Colombia, como el TYLCV con una alta eficiencia. Pues al comparar las secuencias de *Hamiltonella* obtenidas en este estudio con las reportadas en el *GenBank* para otros lugares del mundo, se encontró una alta similitud con secuencias de China, país en el cual se ha reportado que *B. tabaci* es altamente eficiente transmitiendo este virus, y esta alta eficiencia en la transmisión viral ha sido asociada a altas frecuencias *Hamiltonella* en estas poblaciones de mosca blanca (Bing *et al* 2013).

Otra causa a la que se le puede atribuir las altas frecuencias de este ES encontradas en las poblaciones estudiadas, puede deberse a que este ES realiza funciones complementarias como mutualista nutricional, sintetizando aminoácidos y vitaminas (a excepción de tiamina y pantotenato) esenciales y no esenciales, que pueden ser poco o no producidos por el EP en su hospedero *B. tabaci* (Degnan *et al* 2009, Su *et al* 2014). Debido a la importancia de las funciones que este ES desempeña dentro de su hospedero, se ha propuesto incluso ser considerado como un EP, lo cual podría explicar por qué en este estudio su frecuencia fue mayor a la observada en el EP en los adultos de *B. tabaci* analizados. Pues podría suponerse que *Hamiltonella* está supliendo el papel de Portiera, tal como se ha propuesto para otros ES, como la α -proteobacteria quién compensó la pérdida del EP *Buchnera* en áfidos. En este caso, se ha observado que *Buchnera* contribuye al crecimiento y reproducción de su hospedero, pero cuando no está presente ocasiona retrasos en el crecimiento y esterilidad

de su hospedero; sin embargo, cuando este EP no está presente y ocurre la infección con el ES (-proteobacteria), el áfido se desarrolla normalmente y es capaz de reproducirse (Bensadia *et al* 2005).

Por otra parte el ES *Rickettsia* también presentó altas frecuencias de infección en las diferentes localidades estudiadas, con una incidencia del 88 %, que coincide con resultados obtenidos en estudios como el de Cass *et al* (2015) llevado a cabo en poblaciones de *B. tabaci* de California, Arizona y el oeste de Texas. Lo mismo fue encontrado en poblaciones de laboratorio colectadas China, en Tunisia (2005) y las Antillas (2004) (Cass *et al* 2015). Se cree que la prevalencia de esas altas tasas de infección es debida a que este endosimbionte puede proporcionar beneficios en el “fitness” de su insecto hospedero como: aumentar la fecundidad y la tasa de supervivencia (Gueguen *et al* 2009). Además, se ha observado que es capaz de influenciar la respuesta al estrés térmico en la mosca blanca, confiriéndole protección a altas temperaturas (Brumin 2011, Himler *et al* 2011) , lo que facilita la invasión y colonización de nuevas áreas por parte de su hospedero (Singh *et al* 2012). Al observar la incidencia de los tres endosimbiontes en las regiones Naturales de Colombia no se detectó ningún patrón que permitiese asociar algún endosimbionte o combinación de endosimbiontes con alguna de éstas. A nivel de localidad, los resultados tampoco exhiben un patrón de presencia- ausencia de los endosimbiontes estudiados lo cual difiere de lo reportado en otros estudios, donde se ha encontrado que la frecuencia de infección de endosimbiontes varía entre ubicaciones geográficas (Chiel *et al* 2007, Chu *et al* 2011, Thierry *et al* 2011), y que estas diferencias pueden deberse a diferencias en las prácticas de manejo agrícola que incluyen la conservación de enemigos naturales de los hospederos, uso de insecticidas, fechas de siembra, entre otras. Sin embargo, en este estudio estos factores no parecen estar afectando los endosimbiontes. Otro factor que se ha descrito como fuente de variación de las frecuencias de los endosimbiontes es el cultivo de procedencia del hospedero, ya que pueden haber perdidas de estos cuando los hospederos se mueven de una planta a

otra, pero estas diferencias no fueron evidentes en este estudio a pesar de que las moscas blancas colectadas provenían de diferentes cultivos asociados a la localidad de muestreo (Cass *et al* 2015). Finalmente, los análisis filogenéticos con base al gen 16S rRNA sugieren que todas las secuencias del ES *Rickettsia* para este estudio son idénticas entre sí, evidenciando la presencia de un único grupo genético en las regiones naturales de Colombia analizadas en este estudio. Por su parte, para el EP y para *Hamiltonella* se sugiere la presencia de dos posibles grupos genéticos. En el caso de *Portiera*, el primero corresponde al de la secuencia de Natagaima en algodón y el segundo a todas las secuencias restantes del análisis que se agruparon en un único clúster con un porcentaje de bootstrap de 86 %. En cuanto a *Hamiltonella*, un grupo genético estaría construido por las secuencias de Natagaima y Mariquita, y el otro grupo por las secuencias restantes de este endosimbionte agrupadas en un único clúster con un porcentaje bootstrap del 99 %. Esto es consistente con lo observado en los árboles filogenéticos para estos dos endosimbiontes, cuando se comparan las secuencias de cada uno de ellos obtenidas en este estudio, con sus respectivas contrapartes en el *GenBank*. Con este análisis se encontró que para *Portiera*, la secuencia de Natagaima se agrupó con secuencias de China y Pakistán, las cuales muestran diferencias con respecto a otras secuencias de este endosimbionte reportadas en estos países. El otro grupo genético aparente es representado por la mayoría de secuencias de este endosimbionte, las cuales mostraron alta similitud con secuencias reportadas en Pakistán, África, China, USA, India, Japón y Brasil. En el caso de *Hamiltonella*, las secuencias de Natagaima y Mariquita se agruparon juntas, pero no lo hicieron con alguna de las reportadas para otros lugares del mundo, lo cual podría deberse a que se trate de un grupo genético que aún no ha sido reportado. Mientras que las demás secuencias de este endosimbionte mostraron similitud con secuencias de *Hamiltonella* del continente Africano, de China, India, Japón, Francia y Corea del Sur. Lo anterior sugiere que esta es una cepa común, que se ha expandido en gran parte del mundo, probablemente propiciado por el transporte de material vegetal contaminado con moscas blancas que portan en

su interior esta bacteria, favoreciendo la migración de este insecto a diferentes localidades y con él sus endosimbiontes. En el caso del ES *Rickettsia*, sus secuencias muestran gran similitud con secuencias del continente Africano, China y Japón. Con base en lo anterior, se puede observar que las secuencias de los tres endosimbiontes tienen en común el compartir similitud con secuencias de África, China y Japón, lo cual puede deberse al origen propuesto para *B. tabaci*, la cual se cree es originaria de África tropical de donde se dispersó hacia Europa y Asia, y posteriormente fue introducida al neotrópico principalmente por transporte de material de plantas contaminadas con este insecto (Cuellar & Morales 2006).

En general, a pesar de que se encontraron algunas secuencias diferentes para los endosimbiontes *Portiera* y *Hamiltonella*, la mayoría muestran gran similitud entre sí tanto dentro como entre las regiones analizadas, lo cual podría estar asociado con la hipótesis propuesta por Díaz *et al* (2015) donde las poblaciones de la mosca blanca de la región sureste de Colombia son derivadas de la región Caribe, por transporte de material vegetal debido a actividades humanas. Dichos desplazamientos desde el Caribe también pudieron haber ocurrido hacia las otras regiones del país, lo cual soportaría el hecho de que no se evidencien diferencias en las secuencias entre regiones en cuanto a sus endosimbiontes. En conclusión, en la mayoría de localidades se encontró la presencia de los tres endosimbiontes evaluados y no se observaron asociaciones de algún endosimbionte o combinaciones de los mismos con la región natural a la que pertenecen. De igual manera, tampoco se observó asociación alguna con respecto al cultivo de procedencia de la mosca blanca hospedera. Con base en los resultados obtenidos en este estudio, se recomienda analizar una mayor cantidad de individuos por localidad y más localidades por región, lo cual proporcionaría datos más robustos que permitirían esclarecer lo que sucede con las secuencias de los individuos de Natagaima y Mariquita, las cuales parecen ser diferentes a las demás. Además se sugiere incrementar el número de ES a evaluar, pues es posible que existan otras especies que aún no han sido caracterizadas en

Colombia. Finalmente se deben realizar estudios para determinar el papel que están desempeñando estas bacterias al interior de su hospedero *B. tabaci* en las distintas regiones de Colombia, dado que estos son afectados por factores como la temperatura, aplicación de insecticidas, cultivos, entre otros.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a mi familia por su apoyo, acompañamiento y ayuda incondicional; a mis directores James Montoya y Vanessa Muñoz Valencia por su acompañamiento durante todo este proceso de formación académica, a Nelson Rivera Franco y al profesor Heiber Cardenas por su ayuda con los análisis de los datos, a Juan Ramiro Orjuela, Carolina Saavedra y Alejandra Rodríguez por su valiosa ayuda en el desarrollo del manuscrito.

LITERATURA CITADA

- Ahmed, M.Z., De Barro, P., Ren, S-X., Greeff, J. and Qiu, B-L. (2013), Evidence for horizontal transmission of secondary endosymbionts in the *Bemisia tabaci* cryptic species complex.”, *PloS one*, Vol. 8 No. 1, pp 1-10.
- Ahmed, M.Z., Ren, S., Xue, X., Li, X, Jin, G. and Qiu, B. (2010), “Prevalence of endosymbionts in *Bemisia tabaci* populations and their in vivo sensitivity to antibiotics.”, *Current microbiology*, Vol. 61 No. 4, pp. 322 -8.
- Baumann, P., Moran, N. and Baumann, L. (2006). “Bacteriocyte-Associated Endosymbionts of Insects”, En: M. Dworkin et al., eds. *Prokaryotes*. New York, NY, Springer New York, pp. 403-438.
- Bensadia, F.,Boudreault, S.,Guay, J.,Michaud, D. and Cloutier, C. (2005), “Aphid clonal resistance to a parasitoid fails under heat stress”. *Insect Physiology*, Vol. 52, pp 146–157.
- Bing, X., Ruan., Rao, Q., Wang, X. and Liu, S. (2013), “Diversity of secondary endosymbionts among different putative species of the whitefly *Bemisia tabaci*.”, *Insect science*, Vol. 20 No. 2, pp. 194–206.
- Bressan, A. (2014), “Emergence and evolution of *Arsenophonus* bacteria as insect-vectorred plant pathogens”. *Infection, Genetics and Evolution*, No. 22, pp 81 -90.
- Brown, J. (2000), “Molecular markers for the identification and global tracking of whitefly vector - Begomovirus complexes”. *Virus Research*, No.71, pp 233 -260.

- Brumin, M., Kontsedalov, S. and Ghanim, M. (2011), “Rickettsia influences thermotolerance in the whitefly *Bemisia tabaci* B biotype”, *Insect Science*, Vol. 18 No. 1, pp. 57–66.
- Brumin, M., Levy, M. and Ghanim, M. (2012), “Transovarial transmission of Rickettsia spp. and organ-specific infection of the whitefly *Bemisia tabaci*.”, *Applied and environmental microbiology*, Vol. 78 No. 16, pp. 5565–74
- Cass, B., Yallouz, R., Bondy, E., Mozes-Daube, N., Horowitz, R., Kelly, S., Zchori-Fein, E. and Hunter, M. (2015), “Dynamics of the endosymbiont *Rickettsia* in an insect pest.”, *Microbial ecology*, Vol. 70 No. 1, pp. 287–97.
- Cathrin, P. and Ghanim, M. (2014), “Recent advances on interactions between the whitefly *Bemisia tabaci* and begomoviruses , with emphasis on Tomato yellow leaf curl virus”, pp. 79 -103.
- Chen, D., Montllor, C. and Purcell, A. (2000), “Fitness effects of two facultative endosymbiotic bacteria on the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, and the blue alfalfa aphid, *A. kondoi*”. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, No. 95, pp 315 -323.
- Chiel, E., Gottlieb, Y., Zchori-Fein, E., Mozes-Daube, N., Katzir, N., Inbar, M., et al. (2007), “Biotype-dependent secondary symbiont communities in sympatric populations of *Bemisia tabaci*”, *Bulletin of Entomological research*, Vol. 97, pp 407–413.
- Chiel, E., Inbar, M., Mozes-Daube, N., White, A., Hunter, M. and Zchori-Fein, E. (2009). “Assessments of Fitness Effects by the Facultative Symbiont *Rickettsia* in the Sweetpotato Whitefly (Hemiptera: Aleyrodidae)”. *Annals of the Entomological Society of America*, Vol.102, No 3, pp 413 -418.
- Chu, D., Gao, C., De Barro, P., Zhang, Y., Wan, F., Khan, I.,(2011), “Further insights into the strange role of bacterial endosymbionts in whitefly, *Bemisia tabaci*: comparison of secondary symbionts from biotypes B and Q in China”, *Bulletin of Entomological research*, Vol. 101, No 4, pp 477–486.
- Clark, E., Karley, A. and Hubbard, S. (2010), “Insect endosymbionts: manipulators of insect herbivore trophic interactions?”, *Protoplasma*, No. 244 (1-4), pp 25 -51.
- Cuéllar, M. and Morales, F. (2006), “La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) como plaga y vectora de virus en fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Colombiana de Entomología*, Vol. 32, pp 1–9.
- De Barro, P., Liu, S., Boykin, L. and Dinsdale, A. (2011), “*Bemisia tabaci*: a statement of species status”, *Annual Review of Entomology*, No. 56, pp 1 -19
- Degnan, P., Yu, Y., Sisneros, N., Wing, R. and Moran, N.A. (2009), “*Hamiltonella defensa*, genome evolution of protective bacterial endosymbiont from pathogenic ancestors”, *PNAS*, Vol. 106, No. 22, pp. 9063–9068.
- Díaz, F. (2013), “Genetic structure and adaptive divergence of thermal responses in populations of the whitefly *Bemisia tabaci*”. Colombia. pp 1-10.
- Díaz, F., Muñoz-Valencia, V., Juvinao-Quintero, D., Manzano-Martínez, M., Toro-Perea, N., Cárdenas-Henao, H. and Hoffmann, A. (2014), “Evidence for adaptive divergence of thermal responses among *Bemisia tabaci* populations from tropical Colombia following a recent invasion.”, *Journal of evolutionary biology*, Vol. 27 No. 6, pp. 1160 -71.

- Dinsdale, A., Cook, L., Riginos, C., Buckley, Y. and De Barro, P. (2010), “Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase I to identify species level genetic boundaries”. *Annals of the Entomological Society of America*, No. 103, pp 196 -208.
- Brumin, M., Levy, M. and Ghanim, M. (2012), “Transovarial transmission of *Rickettsia* spp. and organ-specific infection of the whitefly *Bemisia tabaci*”, *Applied and environmental microbiology*, Vol. 78, No. 16, pp. 5565–5574
- Douglas, a. E. (2009), “The microbial dimension in insect nutritional ecology”, *Functional Ecology*, Vol. 23 No. 1, pp. 38 -47.
- Feldhaar, H. (2011), “Bacterial symbionts as mediators of ecologically important traits of insect hosts”, *Ecological Entomology*, Vol. 36, No. 5, pp. 533 -543.
- Frohlich, D., Torres-Jerez, I., Bedford, I., Markham, P. and Brown, J. (1999), “A phylogeographical analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers”, *Molecular Ecology*, Vol 8, No.10, pp 1683 -91.
- Fujiwara, A., Maekawa, K. and Tsuchida, T. (2015), “Genetic groups and endosymbiotic microbiota of the *Bemisia tabaci* species complex in Japanese agricultural sites”, *Journal of Applied Entomology*, Vol. 139 No. 1-2, pp. 55 -66.
- Gnankiné, O., Mouton, L., Henri, H., Terraz, G., Houndeté, T., Martin, T., Vavre, F. and Fleury, F. (2013), “Distribution of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) biotypes and their associated symbiotic bacteria on host plants in West Africa”, *Insect Conservation and Diversity*, Vol. 6 No. 3, pp. 411–421.
- Ghosh, S., Bouvaine, S. and Maruthi, M. (2015), “Prevalence and genetic diversity of endosymbiotic bacteria infecting cassava whiteflies in Africa.”, *BMC microbiology*, Vol. 15, pp. 1-17.
- Gottlieb, Y., Zchori-Fein, E., Mozes-Daube, N., Kontsedalov, S., Skajac, M., Brumin, N., Sobol, I., Czosnek, H., Vavre, F., Fleury, F., Ghanim, M.(2010), “The transmission efficiency of tomato yellow leaf curl virus is correlated with the presence of a specific symbiotic bacterium species”, *Journal of Virology* , Vol. 84, pp 9310 -9317.
- Gueguen, G., Rolain, J., Vavre, F., Fleury, F. and Raoult, D. (2009), “Molecular detection and identification of *Rickettsia* endosymbiont in different biotypes of *Bemisia tabaci*”, *Clinical Microbiology and Infection*, Vol. 15 No. 1, pp. 271–272.
- Gueguen, G., Vavre, F., Gnankine, O., Peterschmitt, M., Charif, D., Chiel, E., Gottlieb, Y., Murad, G., Zchori-fein, E. and Fleury, F. (2010), “Endosymbiont metacommunities, mtDNA diversity and the evolution of the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) species complex.”, *Molecular ecology*, Vol. 19 No. 19, pp 4365 -4378.
- Gnankiné, O., Mouton, L., Henri, H., Terraz, G., Houndeté, T., Martin, T., Vavre, F., et al. (2013), “Distribution of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) biotypes and their associated symbiotic bacteria on host plants in West Africa”, *Insect Conservation and Diversity*, Vol. 6 No. 3, pp. 411–421.
- Guo, H., Qu, Y., Liu, X., Zhong, W. and Fang, J. (2014), “Female-biased symbionts and tomato yellow leaf curl virus infections in *Bemisia tabaci*.”, *PloS one*, Vol. 9 No. 1, pp 1-7.
- Hélène, D., Rémy, B., Nathalie, B., Anne-Laure, G., Traoré, R., Jean-Michel, L. and Bernard, R. (2015), “Species and endosymbiont diversity of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on vegetable crops in Senegal.”, *Insect science*, Vol. 22 No. 3, pp. 386 -398.

- Himler, A., Adachi-Hagimori, T., Bergen, J., Kozuch, A., Kelly, S., Tabashnik, B., Chiel, E., Duckworth, V., Dennehy, T., Zchori-Fein, E. and Hunter, M., (2011) Rapid spread of a bacterial symbiont in an invasive whitefly is driven by fitness benefits and female bias". *Science* , Vol. 332, pp 254–256.
- Hu, J., De Barro, P., Zhao, H., Wang, J., Nardi, F. and Liu, S. (2011), "An extensive field survey combined with a phylogenetic analysis reveals rapid and widespread invasion of two alien whiteflies in China", *PLoS One* 6, pp 1-9.
- Jiu, M., Zhou, P., Tong, L., Xu, J., Yang, X., Wan, H., and Liu, S. (2007). "Vector-virus mutualism accelerates population increase of an invasive whitefly". *PLoS One*, Vol. 2, No 1, pp 1-8.
- Kliot, A., Cilia, M., Czosnek, H. and Ghanim, M. (2014), "Implication of the bacterial endosymbiont *Rickettsia* spp. in interactions of the whitefly *Bemisia tabaci* with tomato yellow leaf curl virus.", *Journal of virology*, Vol. 88 No. 10, pp. 5652 -5660.
- Kollenberg, M., Winter, S. and Götz, M. (2014), "Quantification and localization of Watermelon chlorotic stunt virus and Tomato yellow leaf curl virus (Geminiviridae) in populations of *Bemisia tabaci* (Hemiptera, Aleyrodidae) with differential virus transmission characteristics.", *PloS one*, Vol. 9 No. 11, pp 1-12.
- Legg, J., French, R., Rogan, D., Okao-Okuja, G. and Brown, J. (2002), "A distinct *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae) genotype cluster is associated with the epidemic of severe cassava mosaic virus disease in Uganda", *Molecular Ecology*, Vol.1, No 7, pp 1219 -1229.
- Legg, J., Jeremiah, S., Obiero, H., Maruthi, M., Ndyetabula, I., Okao-Okuja, G., Bouwmeester, H., Bigirimana, S., Tata-Hangy, W., Gashaka, G., Mkamilo, G., Alicai, T. and Kumar, P. (2011), "Comparing the regional epidemiology of the cassava mosaic and cassava brown streak virus pandemics in Africa", *Virus Research*, Vol. 159, No 2, pp 161–170.
- Li, M., Hu, J., Xu, F. and Liu, S., (2010), "Transmission of Tomato yellow leaf curl virus by two invasive biotype and a Chinese indigenous biotype of the whitefly *Bemisia tabaci*", *Pest Management*, Vol. 56, pp 275–280.
- Liu, J., Zhao, H., Jiang, K., Zhou, X.-P. and Liu, S., (2009), "Differential indirect effects of two plant viruses on an invasive and an indigenous whitefly vector: implications for competitive displacement". *Annals of Applied Biology*, Vol. 155, pp 39–448
- Moreno-Delafuente, A., Garzo, E., Moreno, A. and Fereres, A. (2013), "A Plant Virus Manipulates the Behavior of Its Whitefly Vector to Enhance Its Transmission Efficiency and Spread", *PloS One* , Vol. 8 No. 4, pp. 1-10.
- Oliver, K., Russell, J., Moran, N. and Hunter, M. (2003) "Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps". *PNAS*, Vol. 100, pp1803–1807
- Oliveira, M., Henneberry, T., and Anderson, P. (2001), "History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*", *Crop Prot.* Vol. 20, pp 709 -723.
- Pan, H., Chu, D., Liu, B., Xie, W., Wang, S. and Wu, Q. (2013), "Relative Amount of Symbionts in Insect Hosts Changes with Host-Plant Adaptation and Insecticide Resistance", *Environmental entomology*, Vol. 42, No 2, pp. 74 -78.
- Perring, T. (2001). "The *Bemisia tabaci* species complex", *Crop Prot*, Vol. 20, pp 725 -737.

- Pinheiro, P., Kliot, A., Ghanim, M. and Cilia, M. (2015), “Is there a role for symbiotic bacteria in plant virus transmission by insects?”, *Current Opinion in Insect Science*, Elsevier Inc, Vol. 8, pp. 69 -78.
- Quintero, C., Cardona, C., Ramírez, D. and Jimenez, N. (1998), “Primer registro Del biotipo B de *Bemisia tabaci* (Homóptera: Aleyrodidae) en Colombia”. *Revista Colombiana de Entomología*, Vol. 24, No.1-2, pp 23-28.
- Santos-Garcia, D., Farnier, P., Beitia, F., Zchori-Fein, E., Vavre, F., Mouton, L., Moya, A., Latorre, A., Silva, F. (2012), “Complete genome sequence of ‘*Candidatus Portiera aleyrodidarum*’ BT-QVLC, an obligate symbiont that supplies amino acids and carotenoids to *Bemisia tabaci*.”, *Journal of bacteriology*, Vol. 194 No. 23, pp. 6654 -6655.
- Shan, H., Lu, Y., Bing, X-L., Liu, S-S. and Liu, Y-Q. (2014), “Differential responses of the whitefly *Bemisia tabaci* symbionts to unfavorable low and high temperatures.”, *Microbial ecology*, Vol. 68 No. 3, pp. 472 -82.
- Singh, S., Priya, N., Kumar, J., Rana, V., Ellango, R., Joshi, A., Priyadarshini, G., Asokan, R. and Rajagopal, R. (2012), “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*, Vol. 12, pp 411–419.
- Skaljac, M., Zanic, K., Ban, S., Kontsedalov, S. and Ghanim, M. (2010), “Co-infection and localization of secondary symbionts in two whitefly species”. *BMC Microbiology*. Vol.10, No 142, pp 1-15.
- Su, Q., Pan, H., Liu, B., Chu, D., Xie, W., Wu, Q., Wang, S., Zhang, Y. (2013), “Insect symbiont facilitates vector acquisition, retention, and transmission of plant virus.”, *Scientific reports*, Vol. 3, pp 1-6.
- Su, Q., Xie, W., Wang, S., Wu, Q., Liu, B., Fang, Y., Xu, B., Zhang, Y. (2014), “The endosymbiont *Hamiltonella* increases the growth rate of its host *Bemisia tabaci* during periods of nutritional stress.”, *PloS one*, Vol. 9 No. 2, pp 1-3.
- Su, Q., Oliver, K.M., Xie, W., Wu, Q., Wang, S. and Zhang, Y. (2015), “The whitefly-associated facultative symbiont *Hamiltonella defensa* suppresses induced plant defences in tomato”, *Functional Ecology*, Vol. 29 No. 8, pp. 1007–1018
- Tajebe, L., Guastella, D., Cavalieri, V., Kelly, S., Hunter, M. and Lund, O., Legg, J., and Rapisarda, C. (2014), “Diversity of symbiotic bacteria associated with *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in cassava mosaic disease pandemic areas of Tanzania”, *Annual Applied Biology*, Vol.166, pp 297–310
- Thierry, M., Becker, N., Hajri, J., Reynaud, B., Lett, J. and Delatte, H., (2011), “Symbiont diversity and non-random hybridization among indigenous (Ms) and invasive (B) biotypes of *Bemisia tabaci*”, *Molecular ecology*, Vol. 20, pp 2172–2187
- Zchori-Fein, E., Lahav, T. and Freilich, S. (2014), “Variations in the identity and complexity of endosymbiont combinations in whitefly hosts.”, *Frontiers in microbiology*, Vol. 5 No. July, p. 310.

Tabla 1. Cantidad de adultos de mosca blanca infectados con cada uno de los endosimbiontes analizados (*Portiera*, *Hamiltonella* y *Rickettsia*), en relación al cultivo y a las localidades de colecta, las cuales fueron clasificadas de acuerdo a la Región Natural de la cual provienen.

Región	Depto	Localidad	Cultivo	<i>Hamiltonella</i>	<i>Rickettsia</i>	<i>Portiera</i>
Pacífica	Valle	Zarzal-El Placer	Melón	1	1	1
Pacífica	Valle	Zarzal-Limones	Melón	1	1	1
Pacífica	Valle	Roldanillo	Berenjena	1	1	1
Pacífica	Valle	Roldanillo-Rey Bajo	Melón	1	1	1
Pacífica	Valle	Roldanillo-El Higuerón	Melón	4	2	4
Pacífica	Valle	Roldanillo-Remolino	Melón	1	1	1
Pacífica	Valle	Roldanillo	Melón	4	4	3
Pacífica	Valle	Roldanillo	Tomate	4	4	3
Pacífica	Valle	La Unión-El Caney	Ají	1	1	1
Pacífica	Valle	La Unión-San Rafael	Melón	1	2	1
Pacífica	Valle	La Unión	Papaya	1	1	1
Pacífica	Valle	La Unión-Martindosa	Pimentón	1	1	2
Pacífica	Valle	Bolívar-Ciudad Bolívar	Frijol	1	1	1
Pacífica	Valle	Bolívar-El Rosal	Melón	1	2	1
Pacífica	Valle	Trujillo-Huasano	Melón	1	1	1
Pacífica	Valle	Trujillo-Huasano	Sandía	7	8	7
Pacífica	Valle	La Victoria-San Pedro	Melón	1	1	1
Pacífica	Valle	La Victoria-San Pedro	Melón	2	1	1
Pacífica	Valle	La Victoria	Sandía	1	1	1
Pacífica	Valle	Toro-San Antonio	Melón	1	1	1
Pacífica	Valle	Toro-San Pacho	Melón	1	1	1
Pacífica	Valle	Toro	Pimentón	1	1	1
Pacífica	Valle	Vijes-Vía Panorama	Sandía	1	1	3
Pacífica	Valle	Vijes	Ají tabasco	1	1	1
Pacífica	Valle	Vijes-Carambolo	Melón	1	1	1
Pacífica	Valle	Rozo-La Torre	Melón	1	1	1
Pacífica	Valle	Palmira-El Bolo Alisal	Melón	1	1	1
Pacífica	Valle	Palmira-Corpoica	Melón	1	1	1
Pacífica	Valle	Palmira-CIAT	Frijol	1	5	3
Pacífica	Valle	Pradera-Km 1	Habichuela	0	1	1
Pacífica	Valle	Pradera-Urbano	Habichuela	4	0	0
Pacífica	Valle	Pradera	0	6	4	4
Pacífica	Valle	Pradera	0	6	4	4
Pacífica	Valle	Pradera	0	8	6	2
Pacífica	Valle	Ricaurte-Los Lagos	Melón	4	1	3
Pacífica	Valle	Ricaurte	Tomate	0	0	0
Pacífica	Valle	Restrepo	Yuca	0	0	1
Pacífica	Cauca	Cajibío-La Viuda	Tomate	2	1	1
Pacífica	Cauca	Cajibío-La Viuda	Tomate	3	1	1

Región	Depto	Localidad	Cultivo	<i>Hamiltonella</i>	<i>Rickettsia</i>	<i>Portiera</i>
Andina	Tolima	Ibagué-La Meseta	Habichuela	1	1	1
Andina	Tolima	Ibagué	Pepino	1	1	1
Andina	Tolima	Mariquita-Mariquita	Aguacate	1	1	1
Andina	Tolima	Mariquita-Mariquita	Tomate	2	2	1
Andina	C/marca	Fusagasugá-Chinauta	Pepino	1	1	1
Andina	C/marca	Pandi-Casco Urbano	Pepino	2	0	1
Andina	C/marca	Pandi-Casco Urbano	Ahuyama	1	0	1
Andina	N. STDr	Tibú-Campo Giles	Maleza	0	0	1
Orinoquía	Meta	Lejanías-Baja Cristalina	Tomate	6	6	7
Orinoquía	Meta	La Libertad-Corpoica	Soya	1	1	1
Orinoquía	Meta	La Libertad-Corpoica	Yuca	1	1	1
Orinoquía	Meta	Natagaima-Corpoica	Algodón	4	5	1
Caribe	Magdalena	Magdalena-Zona Bananera	Melón	1	1	1
Caribe	Atlántico	Atlántico-Suan Fea	Melón	1	1	1
Caribe	Guajira	Guajira-Distracción	Melón	1	1	1

Figura 1. Árbol filogenético para las secuencias nucleotídicas del gen 16S rRNA del endosimbionte *Portiera*. El porcentaje de soporte de cada clúster es dado por 10.000 repeticiones bootstrap

Figura 2. Árbol filogenético para las secuencias nucleotídicas del gen 16S rRNA del endosimbionte *Hamiltonella*. El porcentaje de soporte de cada clúster es dado por 10.000 repeticiones bootstrap

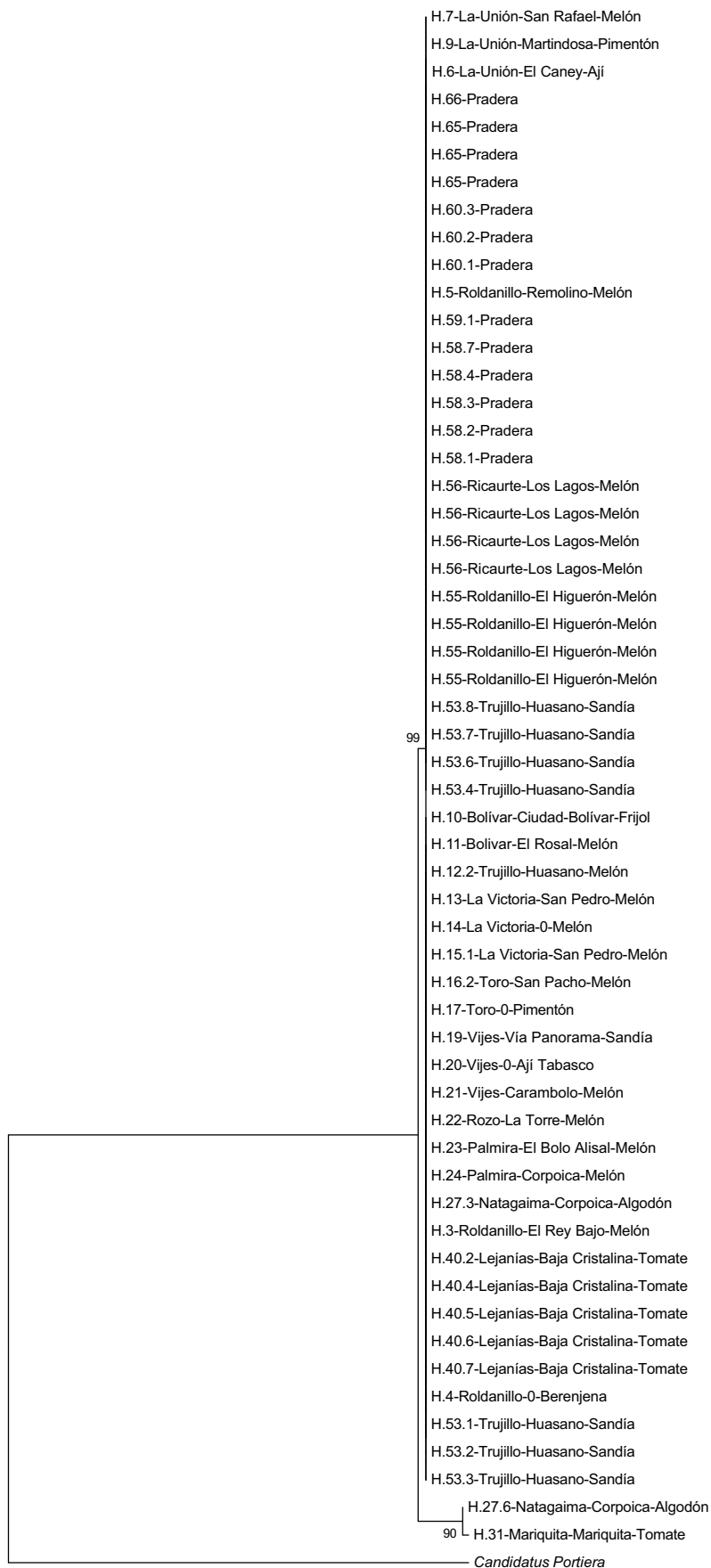
Figura 3. Árbol filogenético para las secuencias nucleotídicas del gen 16S rRNA del endosimbionte *Rickettsia*. El porcentaje de soporte de cada clúster es dado por 10.000 repeticiones bootstrap.

Figura 4. Árbol filogenético para las secuencias nucleotídicas del gen 16S rRNA del endosimbionte *Portiera* obtenidas en este estudio junto con las secuencias para este endosimbionte reportadas en el Genbank. El porcentaje de soporte de cada clúster es dado por 10.000 repeticiones bootstrap.

Figura 5. Árbol filogenético para las secuencias nucleotídicas del gen 16S rRNA del endosimbionte *Rickettsia* obtenidas en este estudio junto con las secuencias para este endosimbionte reportadas en el Genbank. El porcentaje de soporte de cada clúster es dado por 10.000 repeticiones bootstrap.

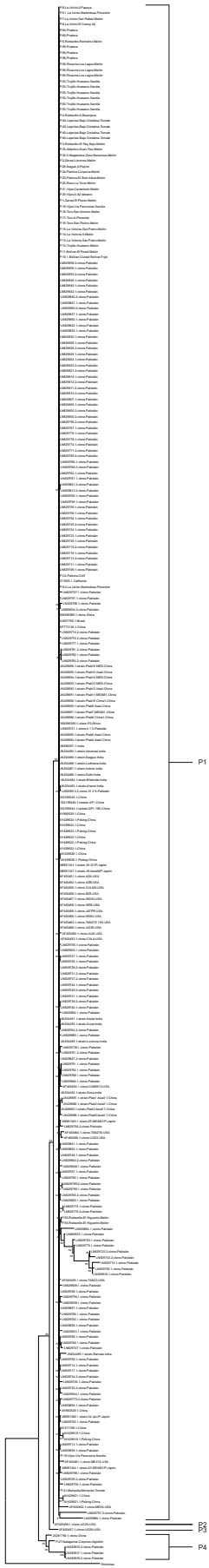
Figura 6. Árbol filogenético para las secuencias nucleotídicas del gen 16S rRNA del endosimbionte *Hamiltonella* obtenidas en este estudio junto con las secuencias para este endosimbionte reportadas en el Genbank. El porcentaje de soporte de cada clúster es dado por 10.000 repeticiones bootstrap.

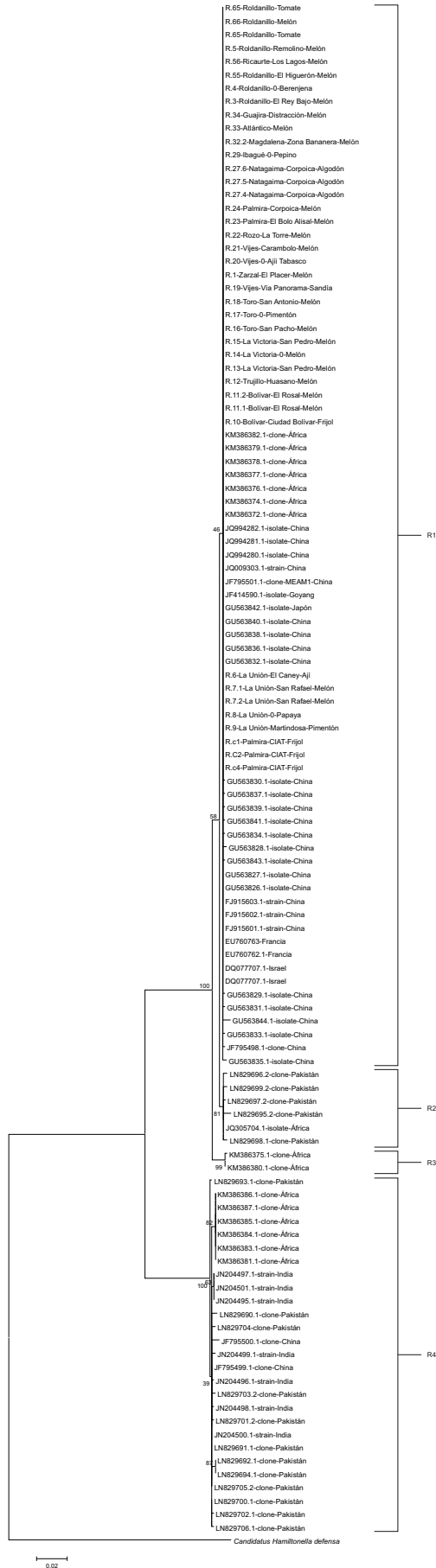


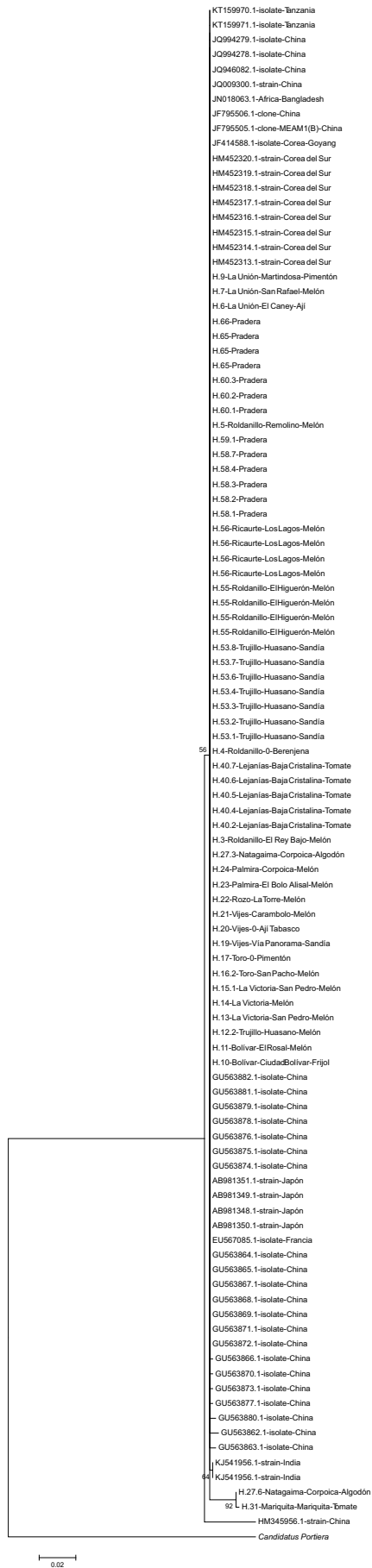


	R.53.3-Trujillo-Huasano-Sandía
	R.53.4-Trujillo-Huasano-Sandía
	R.53.2-Trujillo-Huasano-Sandía
	R.53.1-Trujillo-Huasano-Sandía
	R.4-Roldanillo-0-Berenjena
	R.40.8-Lejanías-Baja Cristalina-Tomate
	R.40.7-Lejanías-Baja Cristalina-Tomate
	R.40.6-Lejanías-Baja Cristalina-Tomate
	R.40.5-Lejanías-Baja Cristalina-Tomate
	R.40.4-Lejanías-Baja Cristalina-Tomate
	R.40.2-Lejanías-Baja Cristalina-Tomate
	R.3-Roldanillo-El Rey Bajo-Melón
	R.34-Guajira-Distracción-Melón
	R.33-Atlántico-Suan Fea-Melón
	R.32.2-Magdalena-ZonaBananera-Melón
	R.29-Ibagué-0-Pepino
	R.27.6-Natagaima-Corpoica-Algodón
	R.27.5-Natagaima-Corpoica-Algodón
	R.27.4-Natagaima-Corpoica-Algodón
	R.24-Palmira-Corpoica-Melón
	R.23-Palmira-El Bolo Alisal-Melón
	R.22-Rozo-La Torre-Melón
	R.21-Vijes-Carambolo-Melón
	R.20-Vijes-0-Aji Tabasco
	R.1-Zarzal-El Placer-Melón
	R.19-Vijes-Vía Panorama-Sandía
	R.18-Toro-San Antonio-Melón
	R.17-Toro-0-Pimentón
	R.16-Toro-San Pacho-Melón
	R.15-La Victoria-San Pedro-Melón
	R.14-La Victoria-0-Melón
	R.13-La Victoria-San Pedro-Melón
	R.12-Trujillo-Huasano-Melón
	R.11.2-Bolívar-El Rosal-Melón
	R.11.1-Bolívar-El Rosal-Melón
	R.10-Bolívar-Ciudad Bolívar-Frijol
	R.53.5-Trujillo-Huasano-Sandía
	R.53.6-Trujillo-Huasano-Sandía
	R.53.7-Trujillo-Huasano-Sandía
	R.53.8-Trujillo-Huasano-Sandía
	R.55-Roldanillo-El Higuero-Melón
	R.56-Ricaurte-Los Lagos-Melón
	R.58.1-Pradera
	R.58.2-Pradera
	R.58.3-Pradera
	R.58.7-Pradera
	R.59.1-Pradera
	R.59.2-Pradera
	R.5-Roldanillo-Remolino-Melón
	R.60.1-Pradera
	R.60.2-Pradera
	R.65.1-Roldanillo
	R.65.2-Roldanillo
	R.66-Roldanillo
	R.6-La Unión-El Caney-Aji
	R.7.1-La Unión-San Rafael-Melón
	R.7.2-La Unión-San Rafael-Melón
	R.8-La Unión-0-Papaya
	R.9-La Unión-Martindosa-Pimentón
	R.C1-CIAT-Frijol
	R.C2-CIAT-Frijol
	R.C4-CIAT-Frijol
	<i>Candidatus Hamiltonella defensa</i>

0.02







APÉNDICES

Anexo I: Información geográfica detallada de los sitios de muestreo y los hospederos en el departamento del Valle del Cauca

Municipio	Coordenadas		Hospedero
	Altura(m)	Longitud	Latitud
Zarzal	941,7	N 4°23.541'	O 76° 04.734'
	965	N04° 20.430'	O 76° 11.641'
Roldanillo	965	N 4° 25.365'	O 76° 08.834'
	935,1	N04° 28.591'	O 76° 05.698'
La Unión	942,3	N 4°31.396'	O 76°05.091'
	934,6	N 4°31.916'	O 76°03.351'
	946,3	N 4°32.390'	O 76°05.288'
Bolívar	949,2	N 4°19.926'	O 76°11.001'
	952	N 4°23'46.08"	O 76°18'18.41"
	960,1	N 4°14.141'	O 76°14.553'
La Victoria	941	N 4°27.190'	O 76°03.052'
	954	N 4°30.526'	O 76°02.737'
Toro	939	N4°40.303'	O 76°01.820'
	939,4	N 4°40.273'	O 76°01.859'
Vijes	957	N 3°22'30.6"	O 76°32'02.2"
	984	N 3°42'39.5"	O 76°25'26.1"
Rozo	971	N 3°37'23.3"	O 76°25'51.0"
Palmira	981	N 3°27'45.8"	O 76°21'19.7"
	1.014	N 3°30'52.8"	O 76°18'58.3"
Pradera	1.040	N 3°26'	O 76°14'
	1.000	N 3°25'09"	O 76°14'34"

Anexo II: Árbol filogenético para las secuencias nucleotídicas del gen 16S rRNA del endosimbionte *Portiera*, *Hamiltonella* y *Rickettsia*. El porcentaje de soporte de cada clúster es dado por 10.000 repeticiones bootstrap

