

Identificação de Populações de Mosca Branca *Bemisia* spp. (hemiptera, aleyrodidae) Coletadas no Paraguai

Luzia Helena Corrêa Lima¹

Laura Campos²

Paulo Roberto Queiroz³

Wendel Neiva Martins Lago⁴

Maria Regina Vilarinho de Oliveira¹

Atualmente, as moscas brancas do complexo *Bemisia tabaci* são consideradas importantes pragas da produção agrícola mundial (Brown et al. 1995), causando danos diretos (como praga) por intermédio dos adultos e ninfas, e indiretos (como vetor), pela transmissão de fitovíroses (Oliveira & Lima, 1997). O rápido aumento no número de hospedeiros e a distribuição mundial do complexo de espécies tornaram-se indicativos da capacidade de adaptação às pressões impostas pelos modernos agroecossistemas (Brown et al. 1995).

A facilidade de dispersão associada ao potencial reprodutivo mais os hábitos polípagos têm contribuído para modificar as populações de *B. tabaci* em várias características, tais como: morfologia semelhante entre os biótipos (Rosell et al. 1997), variação considerável no potencial de transmissão de geminivírus (Brown & Bird 1995), utilização de diferentes hospedeiros e a habilidade de induzir mudanças fisiológicas nos mesmos (Bedford et al. 1994, Brown & Bird 1995). Todas essas diferenças têm sido usadas para caracterizar os vários biótipos (Beitia et al. 1997, De Barro et al. 2000) presentes no complexo *B. tabaci*.

Existe no momento, mais de 20 raças de *B. tabaci* (Brown et al. 1995), que constituem objeto de estudos quanto ao processo de migração, comportamento, diversidade e adaptação ao ambiente. Destes, sete biótipos já foram descritos na América Central e Caribe. O uso intensivo de defensivos químicos, a grande rotatividade de culturas sem períodos de descanso e fatores climáticos favoráveis ao desenvolvimento das populações contribuíram para a seleção de indivíduos mais resistentes e adaptados (Oliveira et al., 2000,; Lima et al., 2002).

Nas duas últimas décadas este inseto passou de praga secundária a primária, causando grande impacto sócio-econômico, tanto como praga (danos diretos) ou causando danos indiretos como vetor, especialmente de fitovíroses. Para entender tais mudanças, foram estudados os aspectos inter e intra-específicos das populações de *B. tabaci*. Os resultados obtidos revelaram que havia populações apresentando grande variabilidade genotípica e fenotípica, originando, então, o complexo de raças (= biótipo) de *B. tabaci* (Oliveira & Lima, 2000).

Dos exemplos que podem refletir a complexidade dessas populações está o de Porto Rico. Uma raça denominada

¹ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. E.mail: luzia@cenargen.embrapa.br

² Bióloga, M.Sc, Bolsista CNPQ.

³ Biólogo, M.Sc, Bolsista da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia..

⁴ Biólogo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. E.mail: vilarin@cenargen.embrapa.br

"Sida" pode colonizar inúmeras plantas hospedeiras (principalmente o feijão, o quiabo e o fumo como também plantas invasoras) representadas entre as Malvaceae, Euphorbiaceae e Leguminosae, sendo excelentes vetores de geminivírus encontrados no feijão, fumo e algumas plantas invasoras. Em contrapartida, a população da "raça *Jatropha*" (raça N) ocupa um nicho distinto, sendo praticamente monófaga, alimentando-se de planta daninha *Jatropha gossypifolia* e, algumas vezes, em *Croton labatus*. A raça N é vetor do vírus do mosaico *Jatropha* entre plantas de *J. possypifolia*. Desde então, sabe-se que o complexo *B. tabaci* apresenta 20 raças (Brown et al., 1995), podendo este número aumentar em muito, após a conclusão do levantamento que constantemente é feito em diversos países.

Na América do Sul e Central *B. tabaci* apresenta ampla distribuição geográfica, tendo sua presença sido relatada nos seguintes países: Argentina, Barbados, Brasil, Colômbia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Jamaica, México, Nicarágua, Panamá, Porto Rico, República Dominicana e Venezuela. Nestes países, as perdas têm sido substanciais em pelo menos 17 culturas de expressão econômica, tais como: batata-doce (*Ipomoea batatas*), melancia (*Citrullus lanatus*), melão (*Cucumis melo*), pepino (*C. sativus*), abóbora (*Curcubita*

maxima), quiabo (*Hibiscus esculentus*), pimentão (*Capsicum annum*), tomate (*Lycopersicon esculentum*), fumo (*Nicotiana tabacum*), berinjela (*Solanum melangena*), batata (*Solanum tuberosum*), gergelim (*Sesamum indica*), algodão (*Gossypium hirsutum*), feijão (*phaseolus vulgaris*), soja (*Glycine max*) (Wool et al., 1993).

Esse trabalho atendeu a uma solicitação do Diretor de Defesa Vegetal do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento para analisar e identificar populações da mosca-branca procedentes do Paraguai utilizando-se a técnica de RAPD-PCR.

As amostras provenientes do Paraguai para análise e identificação estão listadas na Tabela 1. Amostras de adultos de moscas-brancas foram obtidas, por meio da coleta dos indivíduos em folhas de diferentes culturas, em várias localidades do Paraguai. Os adultos foram coletados e enviados à Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, acondicionados em recipientes de vidro e fixados em álcool 100% para identificação morfológica e molecular. Todas as amostras vieram discriminadas conforme o código da instituição, o nome do local de coleta e o da planta hospedeira. Utilizou-se as chaves de Caballero (1994) e de Martin (1987) para identificação morfológica dos indivíduos coletados.

Tabela 1. Resultados das Análises de *Bemisia* spp. por RAPD-PCR das amostras provenientes do Paraguai.

Código	Culturas	Localidades	Resultados
CMB00100	Nabo	Col. Yguazú	Espécie não identificada*
CMB00101	Mandioca	Nueva Italia	Espécie não identificada*
CMB00102	Tomate	Col. Yguazú	<i>Bemisia tabaci</i>
CMB00103	Sem registro	Col. Yguazú	<i>Bemisia tabaci</i> e Espécie não identificada
CMB00104	Goiaba	Minga Guazú	Espécie não identificada*
CMB00105	Abóbora	Calle 4 - Itapúa	<i>Bemisia tabaci</i> e espécie não identificada
CMB00108	Abóbora	Calle 2 - Itapúa	<i>Bemisia tabaci</i>
CMB00110	Algodão	Calle 4 - Loblein	<i>Bemisia tabaci</i>
CMB00111	Tomate	Calle 7 - Blescichuk	<i>Bemisia tabaci</i>
CMB00112	Soja	Alfonso Loma - Cy	<i>Bemisia tabaci</i>
CMB00113	Soja	San Rafael	<i>Bemisia tabaci</i>
CMB00114	Algodão	Naranjito	<i>Bemisia tabaci</i>
CMB00115	Soja	San Rafael	<i>Bemisia tabaci</i>
CMB00116	Soja	Ma. Auxiliadora	<i>Bemisia tabaci</i>
CMB00117	Tomate/Mandioca	Pirapo	<i>Bemisia tabaci</i>
CMB00118	Soja	Pirapo	<i>Bemisia tabaci</i>
CMB00121	Tomate	Eusebio Ayala	<i>Bemisia tabaci</i> e <i>B. tabaci</i> raça B
CMB00123	Tomate	Blas Garay	<i>Bemisia tabaci</i> raça B
CMB00124	Tomate/Amendoim/Pepino	Blas Garay – Calle1	<i>Bemisia tabaci</i> raça B e espécie não identificada
CMB00125	Tomate/Pimentão	Blas Garay	espécie não identificada*
CMB00126 ¹	Tomate/Abóbora	Alfonso Loma - Cy	<i>Bemisia tabaci</i> e <i>B. tabaci</i> raça B
CMB00127	Mandioca	Alfonso Loma - Cy	<i>Bemisia tabaci</i> raça B
CMB00128	Mandioca	E. Ayala	<i>Bemisia tabaci</i> raça B

Continua...

Continuação da Tabela 1.

CMB00129	Tomate/Pepino	Col. F. Yegros - Cy	<i>Bemisia tabaci</i> raça B e espécie não identificada
CMB00130	Mandioca	J. E. O'leary	<i>Bemisia tabaci</i> raça B
CMB00133	Soja	San Alberto	<i>Bemisia tabaci</i> e <i>B. tabaci</i> raça B
CMB00134	Soja	Hernandarias	<i>Bemisia tabaci</i>
CMB00135	Mandioca	Sta. Rita	<i>Bemisia tabaci</i> e <i>B. tabaci</i> raça B
CMB00136	Tomate	Blas Garay	<i>Bemisia tabaci</i> e <i>B. tabaci</i> raça B
CMB00137	Repolho R13	Corrales	<i>Bemisia tabaci</i> raça B
CMB00138	Tomate	Blas Garay	<i>Bemisia tabaci</i> raça B

Bemisia tabaci raça B (= *Bemisia argentifolii*)

(*) espécie não identificada: outra espécie de mosca branca.

Um simples método de extração de DNA foi utilizado, de acordo com a metodologia originalmente descrita por Aljanabi et al. (1998) e modificada por Lima et al. (2000) para análise molecular. Uma única fêmea adulta foi colocada em tubos plásticos de 1,5 mL, macerada em 60 mL de tampão de lise (Tris-HCl 10 mM pH 8, EDTA 1 mM, Triton X-100 0,30%, proteinase K 60 µg/mL) e incubada a 65°C. Após 20 min, o homogenato foi incubado a 95°C por 7 min e congelado imediatamente a -20°C, até o momento do uso.

As reações de amplificação seguiram, também, a metodologia descrita por Aljanabi et al. (1998) e adaptada por Lima et al. (2000). As amplificações foram feitas em volumes de 30 µL, contendo tampão 1X (Tris-HCl 6 mM pH 8,8, KCl 50 mM, MgCl₂ 2 mM), dNTPs 0,2 mM, primer 0,4 mM (OPA-02, OPA-04, OPA-10 ou OPA-13, Operon Technologies), 2 U de *Taq* DNA polimerase (Pharmacia) e 4 µL de DNA. As amplificações foram efetuadas em termociclador MJ Research, modelo PTC 100, programado para uma etapa inicial de 3 min a 94°C, seguindo-se 45 ciclos (1 min a 93°C, 1 min a 35°C e 2 min a 72°C) e uma extensão final de 5 min a 72°C. Os produtos de amplificação foram separados em géis de agarose a 1,5 % de concentração, submersos em tampão TBE 1 X (Tris-borato 90 mM, EDTA 1 mM), corados em solução de brometo de etídio (0,5 mg mL⁻¹) e fotografados no sistema Eagle Eye (Stratagene). Marcadores de massa molecular (Ladder 100 pares de bases - GIBCO) foram usados para a determinação do tamanho dos fragmentos amplificados.

As identificações foram feitas utilizando-se como padrões populações de *Bemisia tabaci* raça A (EUA), raça BR (Brasil), *Bemisia tabaci* raça B (EUA e Brasil), *Trialeurodes vaporariorum* e *Aleurotrixus floccosus* veja Fig.1. A Fig. 2 ilustra a variabilidade genética existente entre as amostras de *B. tabaci* recebidas do Paraguai.

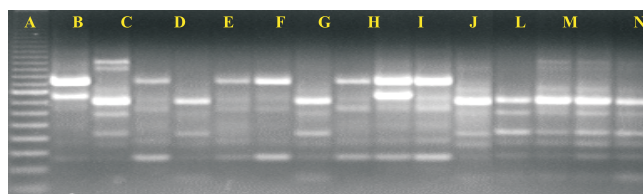


Fig. 1. Padrão de bandas obtidos com o primer OPA-04 das amostras de *Bemisia tabaci*. A letra **A** representa o marcador de massa molecular 100 pb; **B** representa o perfil da raça BR; **C** corresponde a raça B do Brasil; Amostras da raça originária do Paraguai estão representadas nas colunas **D, F, G e I-L**; As letras **E, H, L e M-Q** representam o perfil de bandamento da raça B coletadas no Paraguai.

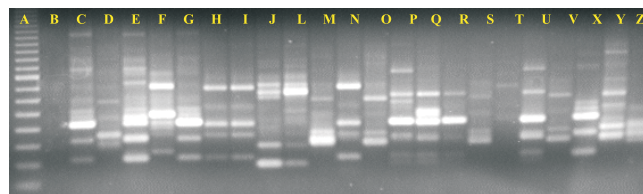


Fig. 2. Padrão de bandas de amostras de *Bemisia tabaci* amplificadas com o primer OPA-10. A letra **A** indica o marcador de massa molecular 100 pb; As letras **C e G** representam o perfil de bandas da raça B do Brasil; A letra **D** representa a raça A dos USA; A letra **E** corresponde a raça B dos USA.. O perfil de *T. vaporariorum* está representado na coluna **F**. As letra **H-Z** representam as amostras coletadas em diferentes regiões no Paraguai.

O mapa geográfico (Fig. 3) indica as regiões de ocorrência de *B. tabaci*. Pode-se observar que as populações de *B. tabaci* se agruparam no Paraguai da seguinte forma: ao Norte, raça B; a Leste, raça PY (populações originárias do Paraguai antes da entrada do Biótipo B) e a Oeste, raça PY e B.



Fig. 3. Mapa do Paraguai. Distribuição dos biótipos de *B. tabaci* no território paraguaio.

Os resultados comprovaram a presença de *B. tabaci* raça B bem como a de outros biótipos ainda não identificados. Adicionalmente, análises realizadas em amostras coletadas em cultivos de mandioca apresentaram como resultado o biótipo B. No Continente Americano, somente na República Dominicana tem sido relatado a ocorrência de *B. tabaci* raça B na cultura de mandioca. Esse é um fato preocupante pois o vírus do mosaico africano da mandioca é transmitido por populações de *Bemisia tabaci* raça B. Nesse sentido, estratégias de quarentena devem ser elaboradas para impedir a entrada neste continente do vírus do mosaico africano da mandioca, que tem causado grandes devastações e enormes prejuízos no Continente Africano.

Referências Bibliográficas

- ALJANABI, S. M.; LOIÁCONO, M. S.; LOURENÇO, R. T.; ALJANABI, S. M.; LOIÁCONO, M. S.; LOURENÇO, R. T.; BORGES M.; TIGANO, M. S. RAPD analysis revealing polymorphism in egg parasitoids of soybean stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.27, p.345-352, 1998.
- BEDFORD, I.D., BRIDDON, R.W., MARKHAM, P.G., BROWN, J.K. & ROSSELL, R. Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographical regions. **Annual Applied Biology**, v.125, p.311-325, 1994.
- BEITIA, F.; MAYO, I.; ROBLES-CHILLIDA, E. M.; GUIRA, P.; CENIS, J. L. Current status of *Bemisia tabaci* (Gennadius) in Spain: the presence of biotypes of this species. In: ALBAJES, R.; CARNERO, A. (Ed.). **Integrated control in protected crops mediterranean climate**. IOBC wprs Bulletin OILB srop v.20, p.99-106, 1997.
- BROWN, J. K.; BIRD, J. Variability within the *Bemisia tabaci* species complex and its relation to new epidemics caused by geminiviruses. **CEIBA**, v.36, p.73-80, 1995.
- BROWN, F. J.; CAHILL, M.; DENHOLM, I.; DEVONSHIRE, A. L. Characterisation and distribution of esterase electrophoresis in the whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae). **Biochemical Genetics**, v.33, p.205-214, 1995.
- CABALLERO, R. **Clave de campo para imaduros de moscas blancas de Centroamérica (Homoptera: Aleyrodidae)**. Zamorano, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, 1994. p.4.
- DE BARRO, P. J.; DRIVE, F.; TREMAN, J. W.; CURRAN, J. Phylogenetic relationship of world populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) using ribosomal ITS1. **Molecular Phylogenetic Evolution**, v.16, p.29-36, 2000.
- LIMA, L. H. C.; CAMPOS, L.; MORETZSOHN, M. C.; NÁVIA, D.; OLIVEIRA, M. R. V. Genetic Diversity of *Bemisia tabaci* (Genn.) Populations in Brazil Revealed by RAPD Markers. **Genetics and Molecular Biology**, v.25, n.2, p.217-223, 2002.
- LIMA, L. H. C.; NÁVIA, D.; INGLIS, P. W.; OLIVEIRA, M. R. V. Survey of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) biotypes in Brazil using RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, v.23, n.4, p.1-5, 2000.
- MARTIN, J. H. An identification guide to common white pest species of the world (Homoptera: Aleyrodidae). **Tropical Pest Management**, v.33, p.298-322, 1987.
- OLIVEIRA, M. R. V.; HENNEBERRY, T. J.; LEON-LOPEZ, R. History and current status of bemisia. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 21., Foz do Iguaçu, 2000. [Anais... S. l.: s. n.], 2000. p.646.
- OLIVEIRA, M. R. V.; LIMA, L. H. C. A influência do complexo *Bemisia tabaci* na agricultura brasileira. **Revista A Granja**, p.48-49, 2000.
- OLIVEIRA, M. R. V.; LIMA, L. H. C. Padrões isoenzimáticos de *Trialeurodes vaporariorum* e de *Bemisia tabaci* (Homoptera, Aphelinidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, p.683-687, 1997.

ROSEL, R. C.; BEDFORD, I. D.; FROHLICH, D. R.; GILL, R. G. Analysis of morphological variation in distinct populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). **Annual Entomological Society**, v.90, p.575-589, 1997.

WOOL, D., GERLING, D., BELLOTTI, A.C. AND MORALES, F.J. Esterase electrophoretic variation in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hem., Aleyrodidae) among host plants and localities in Israel. **Journal of Applied Entomology**, v.115, p.185-196, 1993.

Comunicado Técnico, 72

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Serviço de Atendimento ao Cidadão
Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) -
Brasília, DF. CEP 70.770-900 - Caixa Postal 02372
PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624
<http://www.cenargen.embrapa.br>
e.mail: sac@cenargen.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2002): 150 unidades

Comitê de publicações

Expediente

Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias
Secretário-Executivo: Miraci de Arruda Câmara Pontual
Membros: Antônio Costa Allem
Marcos Rodrigues de Faria
Marta Aguiar Sabo Mendes
Sueli Correa Marques de Mello
Vera Tavares Campos Carneiro
Supervisor editorial: Miraci de Arruda Câmara Pontual
Normalização Bibliográfica: Maria Alice Bianchi
Editoração eletrônica: Alysson Messias da Silva