

Comunicado 89

Técnico

ISSN 9192-0099
Brasília, DF
Novembro, 2003

Incidência da mosca-branca, *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) sobre plantas de repolho: comparação entre o cultivo orgânico e o convencional.

Natália N. Oliveira¹
Silvana Vieira de Paula²
Paulo Roberto Queiroz³
Luzia Helena Corrêa Lima⁴
Maria Regina Vilarinho de Oliveira⁴

¹ Eng^a. Agrônoma, Estagiária da Rede de Pesquisa em Sanidade Vegetal, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Eng. Agron., MSc, Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal – DDIV/SDA, Bl. D, 3^o andar, Anexo B. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Esplanada dos Ministérios, E.mail: silvanavp@agricultura.gov.br

³ Biólogo, Doutorando (Projeto em Rede de Sanidade Vegetal), Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Cx. Postal 02372, CEP 70.849-970, Brasília, DF. E.mail: queiroz@cenargen.embrapa.br

⁴ Bióloga, Dra., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Cx. Postal 02372, CEP 70.849-970, Brasília, DF. E.mail: vilarin@cenargen.embrapa.br, luzia@cenargen.embrapa.br

INTRODUÇÃO

Bemisia tabaci, desde seu primeiro relato, em 1889 e até recentemente, era considerada praga de expressão secundária. Mudanças nos sistemas agrícolas de produção contribuíram para que se transformasse em uma das principais pragas de expressão primária na Europa, Ásia, África, Américas e Oceania (Gerling, 1996), ocorrendo também em jardins públicos e residenciais (Oliveira et al., 2001; Zanic et al., 2001).

A adaptabilidade de *B. tabaci* em diferentes plantas hospedeiras, condições climáticas e a produção de alimentos durante todo o ano está contribuindo para agravar os problemas causados pelas populações do inseto, com a característica de que os indivíduos que sobrevivem às condições de invernos rigorosos nas regiões temperadas vêm se adaptando a novos hospedeiros (Brown, 1994). Por isso, essa espécie está, atualmente, globalmente distribuída, podendo ser encontrada em todos os continentes, exceto a Antártica (De Barro & Hart, 2000).

Sob condições ideais de temperatura e umidade relativa do ar, uma grande população pode surgir em três semanas, o que pode levar à perda

total de produção de diversas plantas hospedeiras. Características comuns encontradas em praticamente todas as regiões, nas quais houve um ataque intensivo de populações desta espécie foram: práticas agrícolas intensivas com sobreposição de estações de cultivo, clima árido e quente, associados a uma espécie com grande potencial biótico de adaptação a inúmeros ambientes (Toscano et al., 1998), plantas hospedeiras adequadas e ambientes apresentando grande estresse provocado por agrotóxicos (Gerling, 2002).

Muito embora, o impacto sócio-econômico total provocado pelo complexo *B. tabaci* na agricultura mundial seja difícil de ser encontrar em citações bibliográficas, nas últimas três décadas, as perdas e custos de controle provocados pelo inseto são da ordem de bilhões de dólares em todo o mundo, colocando-o entre as 100 piores espécies invasoras do mundo⁵.

O Brasil sentiu os efeitos provocados pela presença do biótipo B de *B. tabaci* a partir de 1995. Este inseto tem causado grandes prejuízos nos ecossistemas agrícolas. Perdas e danos diretos e indiretos provocados pela redução na qualidade e quantidade

da produção e produtividade, redução de empregos no campo, excedem a US\$ 20 bilhões. As principais culturas atacadas tem sido feijão, tomate, algodão, melão, melancia, pepino, pimentão, soja, maxixe, abóbora, couve, couve-flor, jiló, maracujá, brócolis, quiabo, repolho, poinsétia e crisântemo (Oliveira et al., 1998; 2001).

O setor hortigranjeiro apresenta, atualmente, expressiva participação no cenário econômico da agricultura brasileira. Em 2002, por exemplo, a safra desses produtos foi de 15,743 milhões de toneladas, que valem em torno de US\$ 2.564 milhões⁵. As brássicas, incluindo o repolho, ocuparam em outubro de 2000 uma área de 444 ha no DF (EMATER-DF, 2000). Mais de 95% eram cultivadas em pequenas propriedades, em áreas inferiores a 1 ha (Castelo Branco & Amaral, 2002). No estado de Minas Gerais, o comportamento do consumo per capita de produtos hortigranjeiros, por exemplo, ao longo dos últimos 10 anos passou de 63,9 kg/habitantes para 88,5 kg/habitantes, considerando apenas o volume das transações físicas efetuadas nos Entrepósitos Atacadistas

da Ceasa/MG. Este desempenho é reflexo direto da estabilidade econômica registrada nos últimos 06 anos quando parcela significativa da população passou a consumir maior quantidade de frutas e hortaliças. A resposta da produção no campo a este consumo adicional foi extremamente satisfatória e os níveis da oferta nos entrepostos cresceram 57,0 % na avaliação do mesmo período. Entre esses produtos, o repolho *Brassica oleracea* (Brassicaceae), contribuiu com 50.767 toneladas em 2001⁷.

Pragas como a mosca-branca, que tem como hospedeiro primário essa cultura, pode provocar impacto econômico de grandes proporções em sistema de cultivo da agricultura familiar. Esse trabalho teve, portanto, como objetivo avaliar as populações da mosca-branca sobre repolho, nos sistemas de cultivo agrícola orgânico e convencional.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Análise das Populações da Mosca-Branca nos Sistemas de Cultivo Orgânico e Convencional

⁵ Consulta eletrônica:
<http://iucn.org/theme/ssc/pubs/policy/invasivesEng.htm>, em 9 de fevereiro de 2004.

⁶ Consulta eletrônica:
http://www2.correioweb.com.br/cw/EDICAO_2003083

⁷ [1/pri_bra_310803_173.htm](http://www2.correioweb.com.br/cw/EDICAO_2003083), em 19 de fevereiro de 2004.

No período de 16 de junho a 17 de setembro de 2003, foram realizados estudos na Embrapa Sede, Vitrine de Tecnologia, Brasília - DF, em canteiros (um orgânico e um convencional) de 10 m² de área cada um. Fez-se o transplante de 72 mudas de brássicas (repolho e couve), sendo que cada canteiro recebeu 36 mudas divididas em duas linhas com 18 mudas cada uma e, semanalmente, as quartas-feiras às 15:00 horas fizeram-se coletas de *Bemisia tabaci* nos dois sistemas de cultivo (Tabela 1). Os adultos coletados foram armazenados em álcool 70% e acondicionados a -20 °C.

Tabela 1. Amostras coletadas na Vitrine Tecnológica nos sistemas de cultivo orgânico e convencional.

Nº do Processo	Data	Sistema de Cultivo
28/03	23/07/2003	Convencional
29/03	23/07/2003	Orgânico
32/03	30/07/2003	Orgânico
33/03	30/07/2003	Convencional
37/03	06/08/2003	Orgânico
38/03	06/08/2003	Convencional
44/03	03/09/2003	Orgânico
45/03	03/09/2003	Convencional

2. Acompanhamento de Gerações da Mosca-Branca em Casa-de-Vegetação

No período de 11 de junho de 2003 a 10 de dezembro de 2003, na Embrapa Recursos e Biotecnologia, Brasília DF, plantou-se 12 (doze) mudas de couve manteiga em tubetes e fez-se a infestação no período de 24 (vinte e quatro) horas com *Bemisia tabaci* em gaiolas onde são plantadas cultivar de couve manteiga. Após a infestação, as mudas foram conduzidas a uma gaiola vazia onde ficaram durante todo o ciclo da mosca-branca. No decorrer do ciclo, inicialmente, três vezes por semana as mudas eram observadas no microscópio para acompanhar o ciclo de vida do inseto e, quando este atingia o 4º (quarto) ínstar, estas eram observadas diariamente. Quando eclodia o adulto fazia-se a coleta nas plantas e o armazenava no freezer a -20 °C em álcool 70% (Tabela 2).

Tabela 2. Identificação das gerações coletadas na Casa de Vegetação.

Nº do Processo / Gerações	Data da Coleta
30/03 / 01	11/06/2003
31/03 / 02	14/07/2003
40/03 / 03	29/08/2003
51/03 / 04	19/10/2003
52/03 / 05	27/11/2003

⁷ Consulta eletrônica:

<http://www.defesaagropecuaria.gov.br/html/contas/ceasa.htm>, em 19 de fevereiro de 2004.

3. Análises Moleculares

Cinco (5) fêmeas foram coletadas sobre populações do sistema de cultivo orgânico e convencional e ao longo de cinco gerações de populações em casa-de-vegetação, totalizando 65 fêmeas. Armazenou-se 1 (uma) única fêmea por tubo plástico de 1,5ml, macerada em 60µL de tampão de lise (Tris-HCl 10mM pH 8, EDTA 1mM, Triton X-100 0,30%, proteinase K 60 µg/mL) e incubada a 65°C. Após 50 minutos, o homogenato foi incubado a 95°C por 15 minutos para inativar a ação da enzima proteinase K e congelado imediatamente a -20°C. Para a análise das populações foram usados os primers OPA-04, OPA-11 e OPA-13 (Operon Technologies, Inc.).

As reações de amplificação seguiram a metodologia descrita por Aljanabi et al. (1998) e adaptadas por Lima et al. (2000). As amplificações foram feitas em volumes de 30 µL e efetuadas em termociclador MJ Research, modelo PTC 100, programado para uma etapa inicial de 3 minutos a 94°C, seguindo-se 45 ciclos (1 minuto a 93°C, 1 minuto a 35°C e 2 minutos a 72°C) e uma extensão final de 5 minutos a 72°C.

Os produtos de amplificação foram separados em géis de agarose 1,5% de concentração, submersos em

tampão TBE 10X (Tris-borato 90 mM, EDTA 1 mM), corados em solução de brometo de etídio (0,5 µg mL⁻¹) e fotografados no sistema Eagle Eye (Stratagene). Marcadores de massa molecular (Ladder 100 pares de base – GIBCO) foram usados para a determinação do tamanho dos fragmentos amplificados.

Os dados foram analisados de acordo com a presença (1) ou ausência (0) da banda do gel, sendo o nível de similaridade genética entre os indivíduos estimado através do índice de Jaccard. Um dendrograma foi construído, em seguida, pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Analysis*). Estas análises foram realizadas usando-se o programa NTSYS-pc 2.02 (Rohlf, 1993). A identificação das espécies e raças foi realizada por comparações com padrões de RAPD conhecidos para os organismos em questão.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

1. Sistemas de Cultivo Orgânico e Convencional

No período coberto pelo experimento foram realizadas 10 avaliações da incidência de adultos da mosca-branca em brássicas cultivadas

em sistema orgânico ou convencional. Na Tabela 3, são apresentadas às médias da densidade populacional de adultos em cada um dos cultivos, por data de avaliação.

Observou-se que houve diferença significativa na população de adultos da mosca-branca nos sistemas de cultivo orgânico e convencional na segunda e quarta semanas de avaliação.

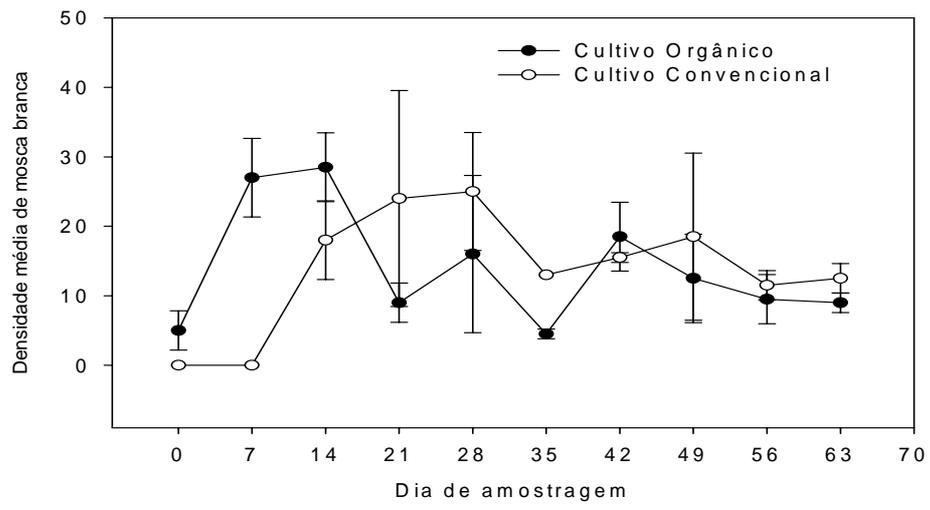
Até à segunda semana, o cultivo tradicional apresentou menor ocorrência de adultos. Na quarta semana de avaliação, a população de adultos no sistema de cultivo tradicional foi superior ao do cultivo orgânico. A maior população de mosca-branca no sistema de cultivo orgânico na segunda semana possivelmente indica o efeito residual de pulverizações protetoras das mudas, ainda no viveiro e no transplântio, para os canteiros que foram conduzidos no sistema tradicional de cultivo. A partir de então, a tendência foi de iguais populações de mosca-branca nos dois sistemas de cultivos o que pode ser atribuído ao favorecimento do controle biológico natural no sistema orgânico. Na região, o controle natural da mosca-branca é principalmente exercido pelo parasitóide *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) e pelos predadores *Cycloneda* sp (Coleoptera,

Coccinellidae), *Allograpta exótica* (Diptera: Syrphidae) e *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae).

Tabela 3. Densidade média (adulto/folha) de mosca-branca em função da data de amostragem e dos sistemas de cultivos das plantas de repolho. Embrapa Sede, Vitrine de Tecnologia, Brasília – DF, 2003.

Data	Sistema de Cultivo	
	Orgânico	Convencional
16/7/2003	5,00aA	0,00aA
23/7/2003	27,00aA	0,00bA
30/7/2003	28,50aA	18,00aA
6/8/2003	9,00bA	24,00aA
13/8/2003	16,00aA	25,00aA
20/8/2003	4,50aA	13,00aA
27/8/2003	18,50aA	15,50aA
3/9/2003	12,50aA	18,50aA
10/9/2003	9,50aA	11,50aA
17/9/2003	9,00aA	12,50aA

Figura 1. Densidade média de adultos de Mosca-branca em cada parcela e tratamento (cultivo orgânico ou convencional) em função do dia de amostragem. O dia zero correspondeu ao início da amostragem (16/07/2003), a qual prosseguiu sendo realizada em intervalos constantes de sete dias. As barras na figura representam o desvio padrão da média. Embrapa Sede, Vitrine de Tecnologia, Brasília - DF. 2003.



2. Análises Moleculares

As populações de mosca-branca coletadas no sistema de cultivo orgânico e convencional e na casa-de-vegetação analisadas por meio dos *primers* OPA 13, OPA 04 e OPA 11 apresentaram os seguintes resultados:

2.1. no sistema de cultivo orgânico e convencional, o *primer* OPA 13 gerou bandas em 300, 350, 600, 900, 1300 e 1500 pb (Figura 2).

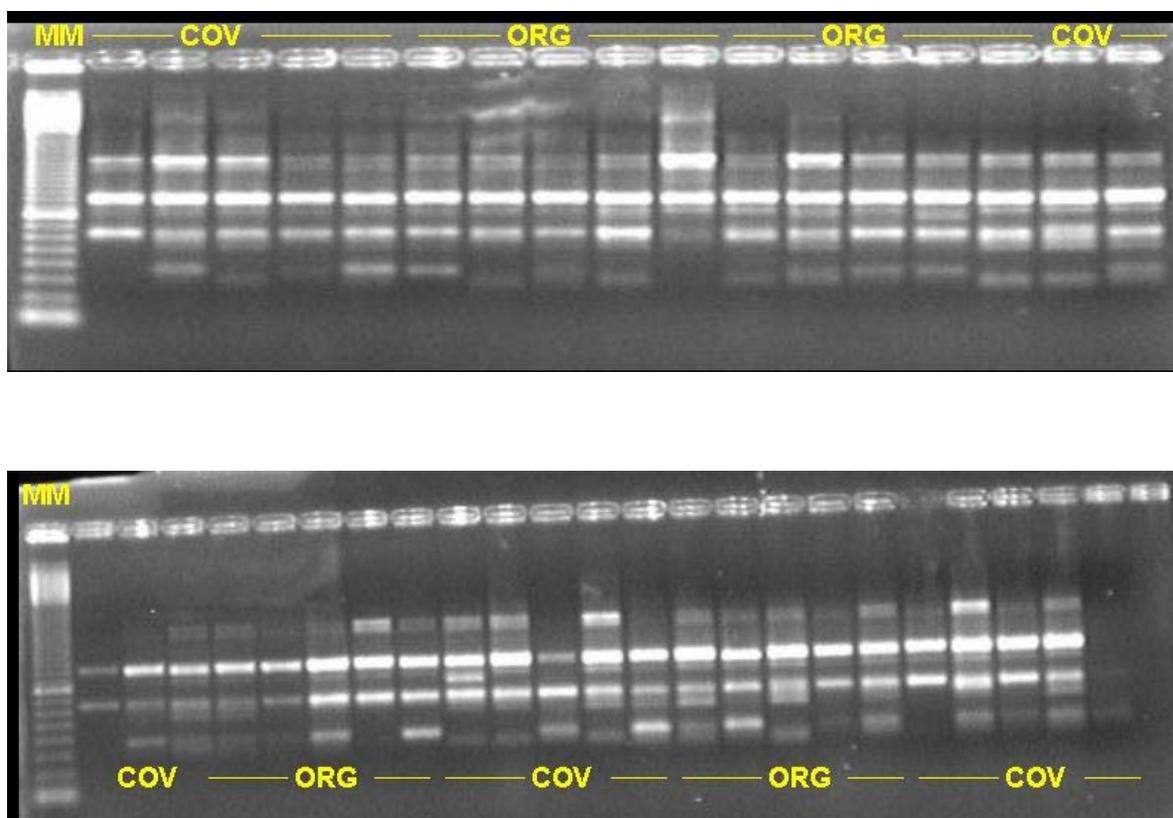


Figura 2. Análises de fragmentos de DNA de mosca-branca proveniente de amplicações com *primer* OPA 13 em gel de agarose. A letra 'M' indica o marcador 100 pb ladder (Gibco). As letras 'ORG' e 'COV' indicam orgânico e convencional respectivamente.

O *primer* OPA 04 gerou bandas em 150, 300, 700, 900 e 1000 pb. Não houve variação do marcador entre a faixa de 150 (pb), 300 (pb), 700 (pb), 900 (pb) e 1000 (pb) (Figura 3).

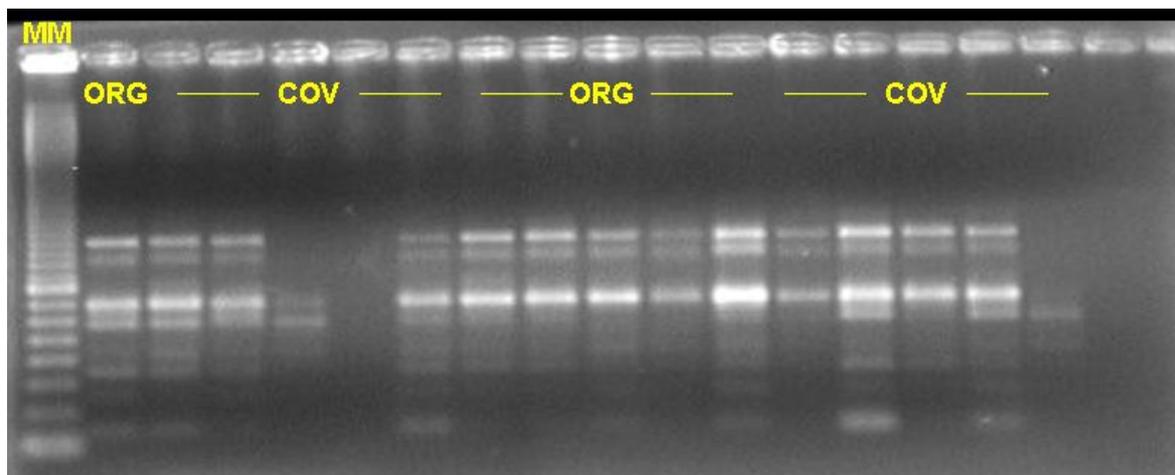
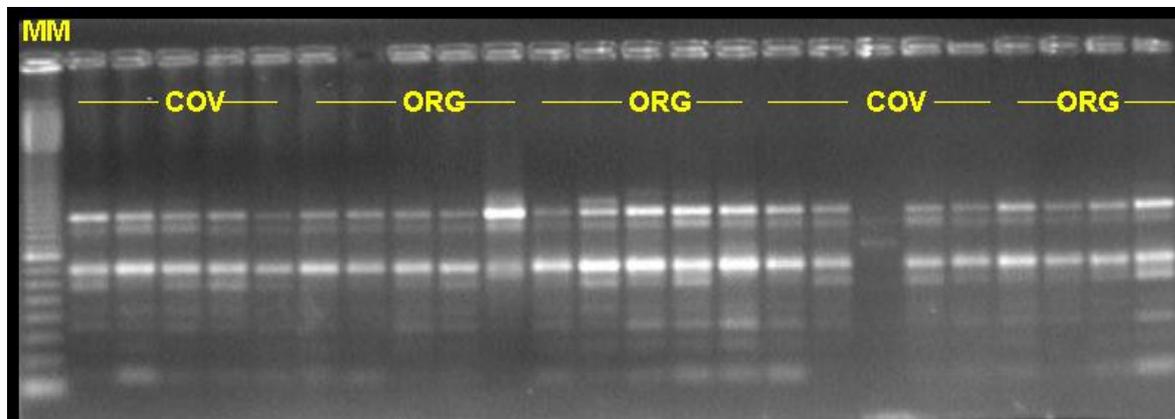


Figura 3. Análises de fragmentos de DNA de mosca-branca provenientes de ampliações com primer OPA 04 em gel de agarose. A letra 'M' indica o marcador 100 pb ladder (Gibco). As letras 'ORG' e 'COV' indicam orgânico e convencional respectivamente.

O *primer* OPA 11 gerou bandas em 350, 500, 700 e 900 pb. A variação do marcador entre a faixa de 350 (pb), 500 (pb), 700 (pb) e 900 (pb) (Figura 4).

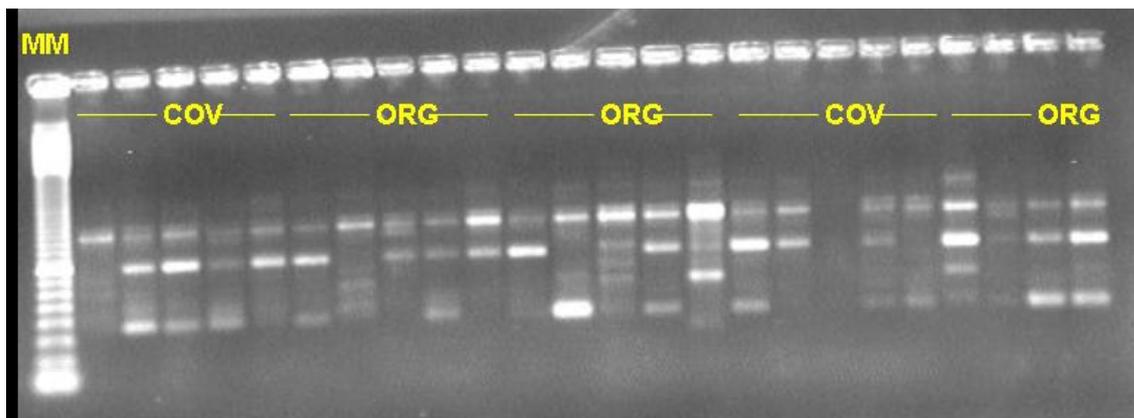
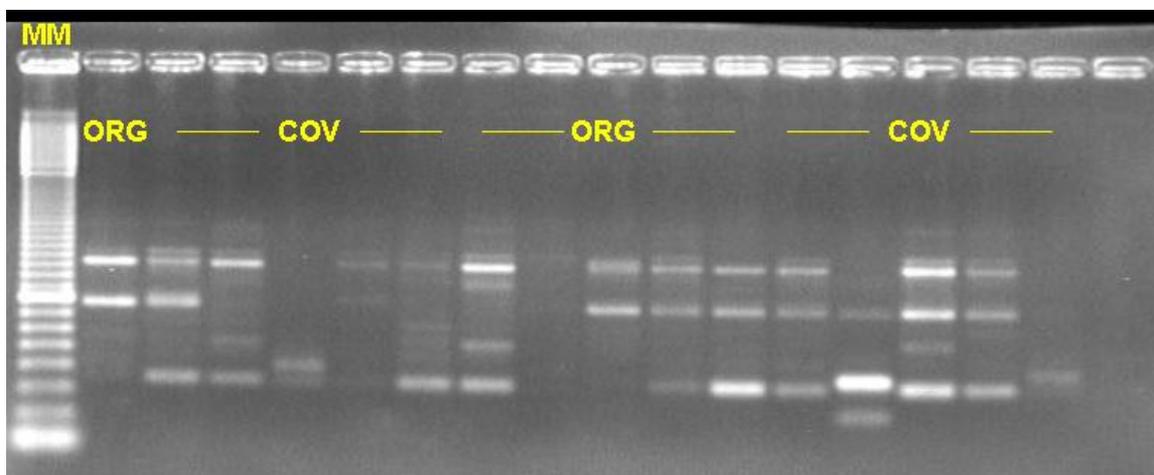


Figura 4. Análises de fragmentos de DNA de mosca-branca provenientes de ampliações com primer OPA 11 em gel de agarose. A letra 'M' indica o marcador 100 pb ladder (Gibco). As letras 'ORG' e 'COV' indicam orgânico e convencional respectivamente.

2.2. na casa-de-vegetação com o *primer* OPA 13 houve presença de marcadores moleculares nos 650, 1000 e 1500 pb. Na faixa de 650 e 1000 pb, os marcadores não estão variando ao longo das gerações. Abaixo de 650 e acima de 1000 pb houve presença de banda, nas 3^a, 4^a e 5^a gerações (Figura 6).



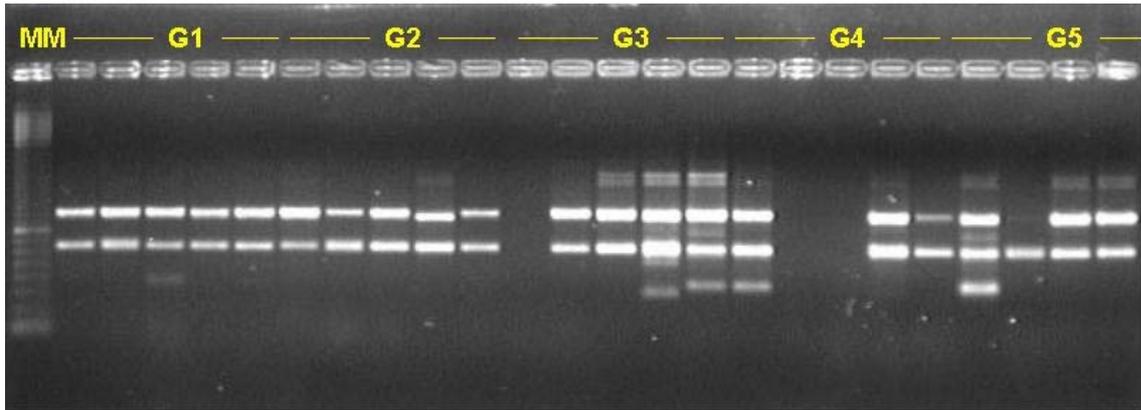


Figura 6. Análise de fragmentos de DNA de mosca-branca proveniente da amplificação com o primer OPA 13 em gel de agarose. A letra 'M' indica o marcador 100 pb ladder (Gibco). A letra 'G' indica as gerações e os números indicam a seqüência das gerações.

Com o *primer* OPA 04 houve presença do marcador molecular nos 100, 200, 300 e 900 pb. Nas bandas de 100, 600 e 900 (pb) houve presença uniforme do marcador na maioria dos insetos. Na banda de 600 pb, todos os marcadores amplificaram nas 5 gerações (Figura 7).

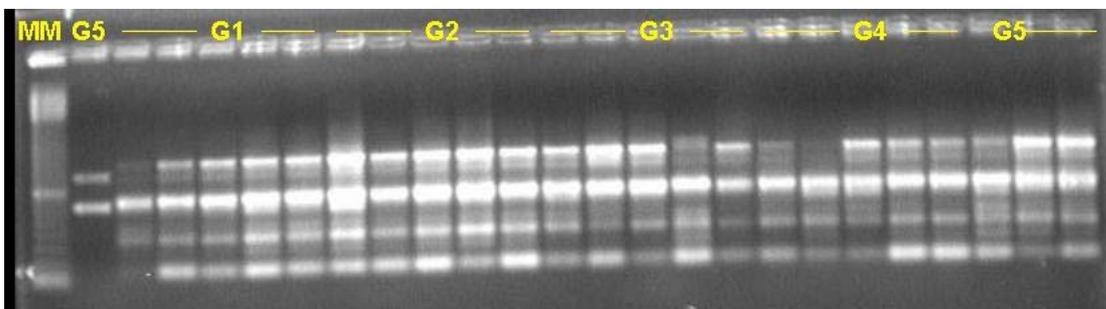


Figura 7. Análise de fragmentos de DNA de mosca-branca proveniente da amplificação com o primer OPA 04 em gel de agarose. A letra 'M' indica o marcador 100 pb ladder (Gibco). A letra 'G' indica as gerações e os números indicam a seqüência das gerações.

O primer OPA 11 gerou bandas em 350, 500, 800 e 1000 pb. Nas bandas de 350, 500, 800 e 1000 (pb), a maioria dos insetos apresentou marcadores. Alguns

indivíduos não apresentaram marcadores moleculares em aproximadamente 350 (pb) da 4ª geração e 5ª geração.

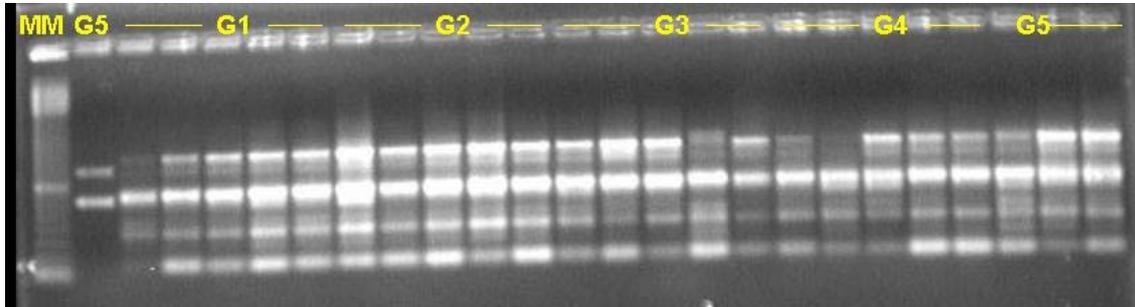


Figura 8. Análise de fragmentos de DNA de mosca-branca proveniente da amplificação com o primer OPA 11 em gel de agarose. A letra ‘M’ indica o marcador 100 pb ladder (Gibco). A letra ‘G’ indica as gerações e os números indicam a seqüência das gerações.

O dendograma (Figura 9) mostra a análise de agrupamento das populações de *Bemisia tabaci* das amostras coletadas nos sistemas de cultivo orgânico e convencional.

Analisando-se os perfis obtidos para as gerações da mosca-branca mantidas em casas-de-vegetação, observou-se que não houve variação dos marcadores ao longo das cinco gerações analisadas. A mosca-branca apresenta reprodução partenogenética arrenótoca (machos gerados de óvulos não fecundados), esse processo pode ter contribuído para esse resultado. O processo de endogamia (cruzamento entre os indivíduos após várias gerações) pode ter ocorrido também, tendenciando a homozigose e, conseqüentemente não há variação dos marcadores. A contaminação no momento da coleta (bactérias, fungos, etc.) pode ainda ser outra possibilidade.

Nos sistemas de cultivo orgânico e convencional, dentre os 40 indivíduos analisados e apesar da similaridade genética de 80% entre os mesmos, 9 deles, formou um grupo separado, muito embora os plantios terem sido conduzidos na mesma área geográfica e de não haver um sistema de isolamento entre os mesmos. Esses resultados indicam a necessidade da continua análise das populações da

mosca-branca frente às diversas práticas de controle adotadas. A facilidade com que essa espécie adapta a diferentes condições climáticas e de hospedeiros, após algumas gerações, podem levar a formação de indivíduos com características genéticas diferenciadas. A mosca-branca apresenta, atualmente mais de 40 biótipos, distribuídos em diversas regiões do mundo, sendo considerada uma das piores espécies invasoras em áreas do sistema agrícola.

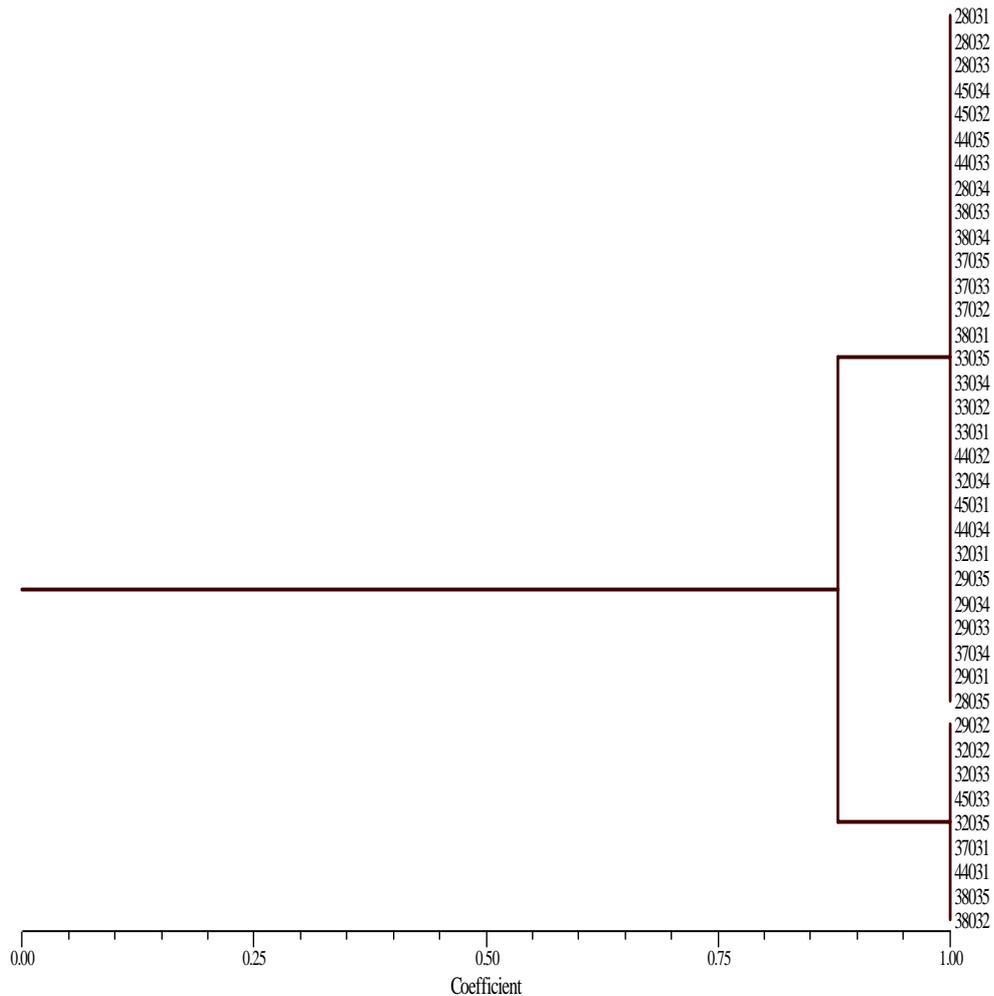


Figura 9. Dendrograma da análise de agrupamento das populações de *Bemisia tabaci* das amostras coletadas na vitrine.

4. CONCLUSÃO:

- As análises preliminares realizadas entre os cultivos orgânico ou convencional, sobre plantas de repolho, revelaram que não houve diferenças significativas na incidência de adultos de mosca-branca nos dois sistemas.
- No sistema convencional, apesar das pulverizações semanais com inseticidas, a presença de indivíduos da mosca-branca era freqüente.
- No sistema de cultivo orgânico, a presença de inimigos naturais endêmicos pode ter contribuído para que as populações da mosca-branca fossem semelhantes às observadas no cultivo convencional.
- Nos sistemas de cultivo orgânico e convencional, apesar da similaridade genética de 80% entre dos indivíduos formaram dois grupos distintos.
- Não houve variação dos marcadores moleculares de *Bemisia tabaci* ao longo das 5 gerações analisadas.

REFERÊNCIAS

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.

BROWN, J. K. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. **FAO. Plant Protection Bulletin**, v. 42, n. 1-2, p. 3-32, 1994.

CASTELO BRANCO, M.; AMARAL, P. S. T. Inseticidas para controle da traça-das-crucíferas: como os agricultores os utilizam no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 1-8, set. 2002.

DE BARRO, P. J.; HART, P. J. Mating interactions between two biotypes of the whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Australia. **Bulletin Entomological Research**, v. 90, p. 103-112, 2000.

EMATER-DF. **Produção agrícola do Distrito Federal: safra 2000**. Brasília, 2000.

GERLING, D. Whiteflies revisited. **Manejo Integrado de Pragas**, Costa Rica, n. 63, p. 13-21, 2002.

GERLING, D.; MAYER, R. T. **Introduction**. In: GERLING, D.; MAYER, R. T. (Ed.) **Bemisia 1995: taxonomy, biology, damage, control and management**. Andover, UK: Intercept, 1996. p. 69-76.

LIMA, L. H. C.; NÁVIA, D.; INGLIS, P. W ; OLIVEIRA, M. R. V. Survey of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera:Aleyrodidae) biotypes in Brazil using RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 4, p. 1-5, 2000.

OLIVEIRA, M. R. V.; AMANCIO, E.; LAUMANN, R. A.; GOMES, L. O. Natural enemies of *Bemisia tabaci* (Gennadius) B biotype and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae) in Brasília, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 1, p. 151-153, 2003.

OLIVEIRA, M. R. V.; LIMA, L. H. C.; FERREIRA, D. M. N.; VIEIRA, P. R. G. **Avaliação das populações de *Bemisia tabaci* (Gennadius) através de RAPD-PCR, no Brasil**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 6 p. (EMBRAPA-CENARGEN. Pesquisa em Andamento, 18).

OLIVEIRA, M. R. V.; HENNEBERRY, T. J.; ANDERSON, P. History, current status, and collaborative research

projects for *Bemisia tabaci*. **Crop Protection**, v. 20, p. 709-723, 2001.

TOSCANO, N. C.; CASTLE, S. J.; HENNEBERRY, T. J.; PRABHAKER, N. Invasions by *Bemisia* and its exploitation if agricultural systems. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON BEMISIA AND GEMINIVIRUSES, 1998, San Juan, Puerto Rico. **Anais...** San Juan: [s.n.], 1998. p. 7-12.

ZANIC, K.; KACIC, S.; KATALINIC, M. Tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Homoptera:Aleyrodidae) in Croatia. **Entomologia Croatica**, v. 5, n. 1-2, p. 51-63, 2001.

<p>Comunicado Técnico, 89</p> <p>Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento</p>	<p>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 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624 http://www.cenargen.embrapa.br e.mail:sac@cenargen.embrapa.br</p> <p>1ª edição 1ª impressão (2003): 150 unidades</p>	<p>Comitê de Publicações</p> <p>Expediente</p>	<p>Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias Secretário-Executivo: Maria José de Oliveira Duarte Membros: Maurício Machaim Franco Regina Maria Dechechi G. Carneiro Luciano Lourenço Nass Sueli Correa Marques de Mello Vera Tavares Campos Carneiro Supervisor editorial: Maria José de Oliveira Duarte Normalização Bibliográfica: Maria Alice Bianchi Editoração eletrônica: Giscard Matos de Queiroz</p>
--	--	--	--