

# DIVERSIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE *Dalbulus maidis* (DeLONG & WOLCOTT) (HEMIPTERA: CICADELLIDAE) DO BRASIL ATRAVÉS DE MARCADORES RAPD-PCR

Charles Martins de Oliveira<sup>1</sup>; João Roberto Spotti Lopes<sup>2</sup>; Luís Eduardo Aranha Camargo<sup>2</sup>; Maria Helena Palearinelli Fungaro<sup>3</sup> & Lowell R. Nault<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Cerrados, C. Postal 08223, Planaltina, DF 73301-970 - charles@cpac.embrapa.br;

<sup>2</sup>Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, C. Postal 9, Piracicaba, SP 13413-900;

<sup>3</sup>Universidade Estadual de Londrina, C. postal 6001, Londrina, PR, 86051-970; <sup>4</sup>Department of Entomology, Ohio Agricultural Research and Development Center, The Ohio State University, Wooster, OH 44691, USA.

## Introdução

Para *Dalbulus maidis*, vetor dos Enfezamentos do milho, a estratégia de sobrevivência na entressafra é pouco conhecida, entretanto, alguns estudos tem suscitado a possibilidade de que a migração a longas distâncias desempenhe papel importante neste processo. Recentemente, estudos realizados com diversas populações de *D. maidis* no Brasil, revelaram diferenças morfológicas significativas. Assim, o polimorfismo morfológico pode ter um componente genético, sendo que a migração como estratégia de sobrevivência na entressafra parece influenciar o fluxo gênico entre as populações dessa praga. Neste estudo utilizou-se a técnica de RAPD-PCR para se avaliar a estrutura genética de populações de *D. maidis* de uma microregião do Brasil Central e também de cinco municípios de uma macroregião (Centro-Sul e Nordeste).

## Resultados e discussão

Locos população-específico não foram encontrados para nenhuma das populações de *D. maidis* e em nenhuma das populações foram encontradas duas cigarrinhas com genótipo idêntico (Figura 2). Para as populações de Anastácio/MS das safras 1997/98 e 1998/99 obteve-se, respectivamente, 77,6% e 75,7% de locos polimórficos e índice de similaridade superior a 0,72 (Tabela 1). A análise de agrupamento não permitiu a união dos espécimes dentro de suas populações originais, independente da safra, área ou data em que foram coletados (Figuras 3 e 4). Para as cinco populações do Centro-Sul/Nordeste a porcentagem de locos polimórficos foi de 76,1% e o índice de similaridade superior a 0,73 (Tabela 2). A análise de agrupamento separou os espécimes da população do Nordeste em um grupo único, enquanto que os do Centro-Sul misturaram-se aleatoriamente (Figura 5). Esses resultados sugerem que o fluxo gênico entre as populações de *D. maidis* do Centro-Sul, mediado pela migração a longas distâncias, é alto e que a população do Nordeste encontra-se geneticamente isolada por algum tipo de barreira geográfica ou ausência de correntes de vento, e essa divergência genética pode ser um dos componentes da diferença morfológica observada em populações dessas duas regiões.

## Material e métodos

O estudo foi realizado em Anastácio/MS nas safras 1997/98 e 1998/99 em três locais: a) áreas 1 (Milho 1) e 2 (Milho 2): plantio do milho em única safra anual há pelo menos 5 anos; b) área 3 (Pasto 1): pastagem (sem plantio de milho há mais de 5 anos.) No estudo macroregional (Centro-Sul/Nordeste), cinco municípios foram envolvidos: Chapecó/SC e Bom Jardim da Serra/SC, Anastácio/MS, Piracicaba/SP e Mossoró/RN (Figura 1). No município de Anastácio/MS, seis populações de *D. maidis* foram amostradas na safra do milho de 1997/98 nas áreas Milho 1, Milho 2 e Pasto 1 e quatro na safra 1998/99 nas áreas Milho1 e Pasto1, no início e no meio ou final da safra. No estudo macroregional apenas uma amostragem foi realizada. Foram utilizados 10 espécimes de *D. maidis* por população. Os espécimes foram submetidos individualmente à extração do DNA genômico, que posteriormente foi quantificado e amplificado utilizando-se dez oligonucleotídeos. Após a amplificação as amostras foram submetidas à eletroforese, e os géis corados e fotografados. A partir das leituras das bandas nos géis, foram geradas matrizes binárias e, utilizando-se o programa NTSYS-pc versão 2.02k, foram construídas matrizes de similaridade utilizando-se o índice de Jaccard (J). A análise de agrupamento foi feita pelo método UPGMA.

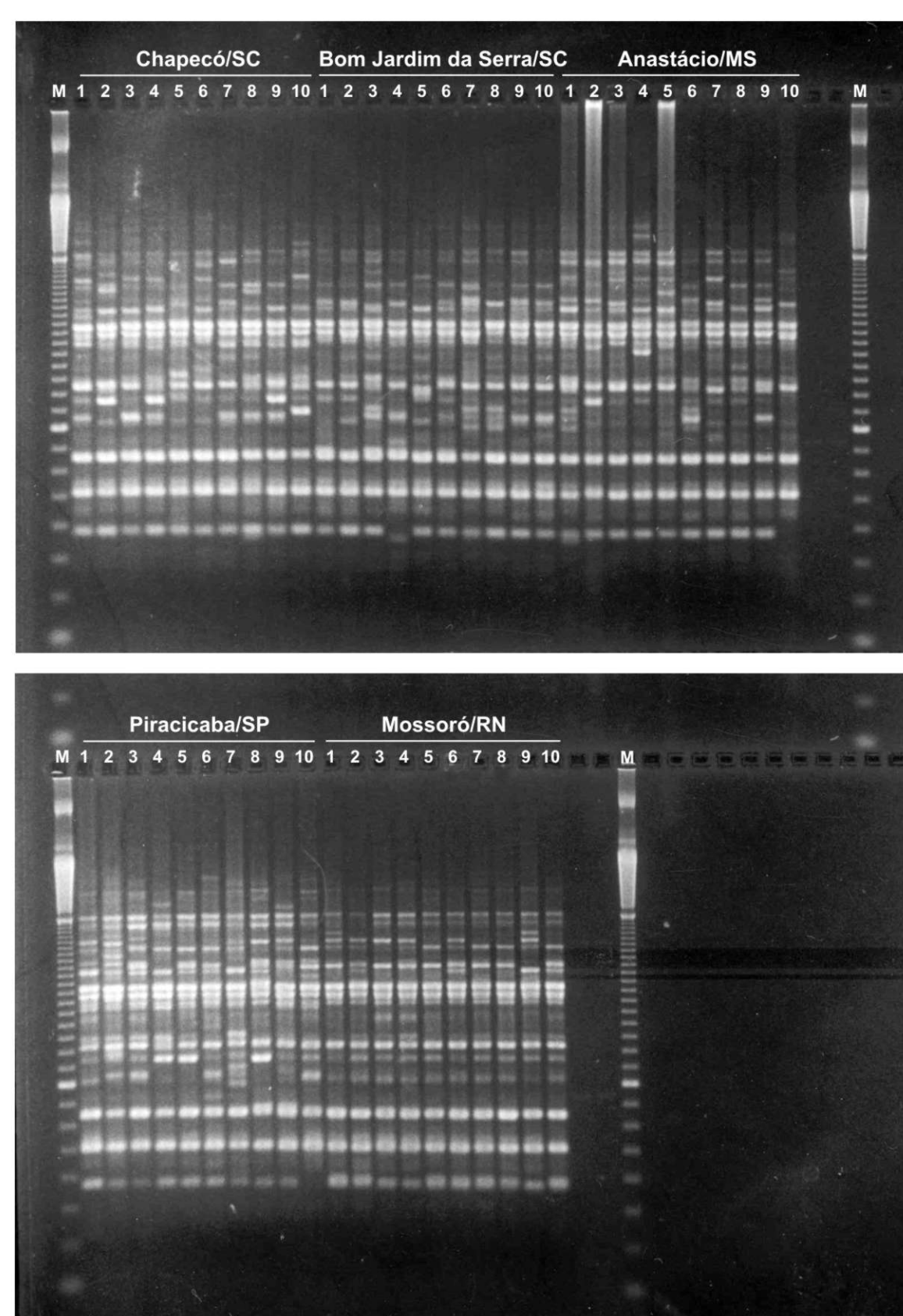


Figura 2. Produtos da amplificação de DNA de *Dalbulus maidis* via RAPD-PCR pelo primer OPC-05, em gel de agarose 1,4%. Dez espécimes avaliados de cada uma das cinco populações amostradas nos municípios de Chapecó/SC, Bom Jardim da Serra/SC, Anastácio/MS, Piracicaba/SP e Mossoró/RN. M - marcador (100 base-pair Ladder) (Pharmacia) e C - controle negativo (todos os componentes da reação menos o DNA).

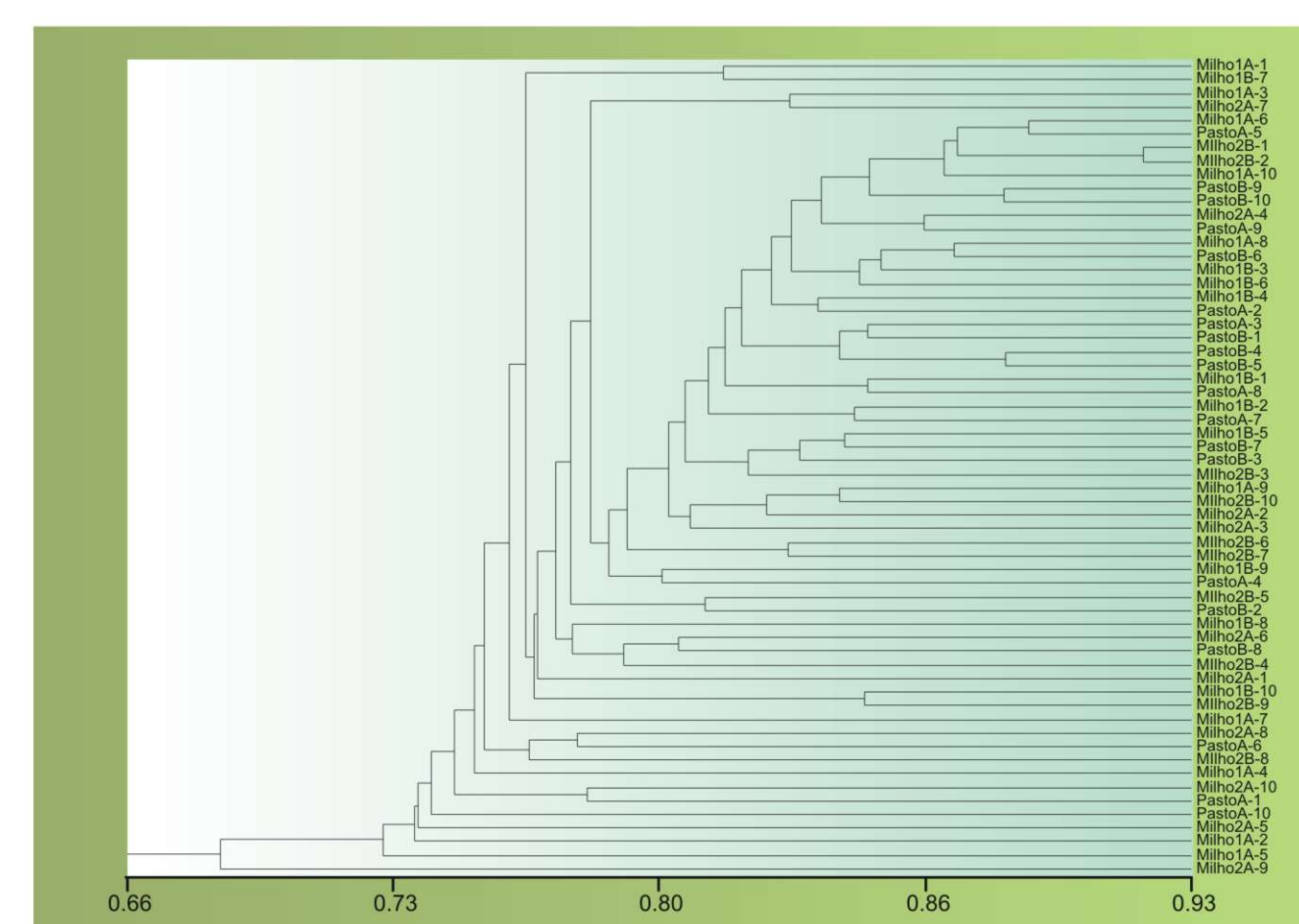


Figura 3. Dendrograma UPGMA baseado no coeficiente de similaridade de Jaccard (J), gerado a partir de marcadores RAPD-PCR de 10 espécimes de *Dalbulus maidis* de cada uma das seis populações amostradas no município de Anastácio/MS (áreas Milho1A, Milho1B, Milho2A e Milho2B, PastoA e PastoB), na safra 1997/98.

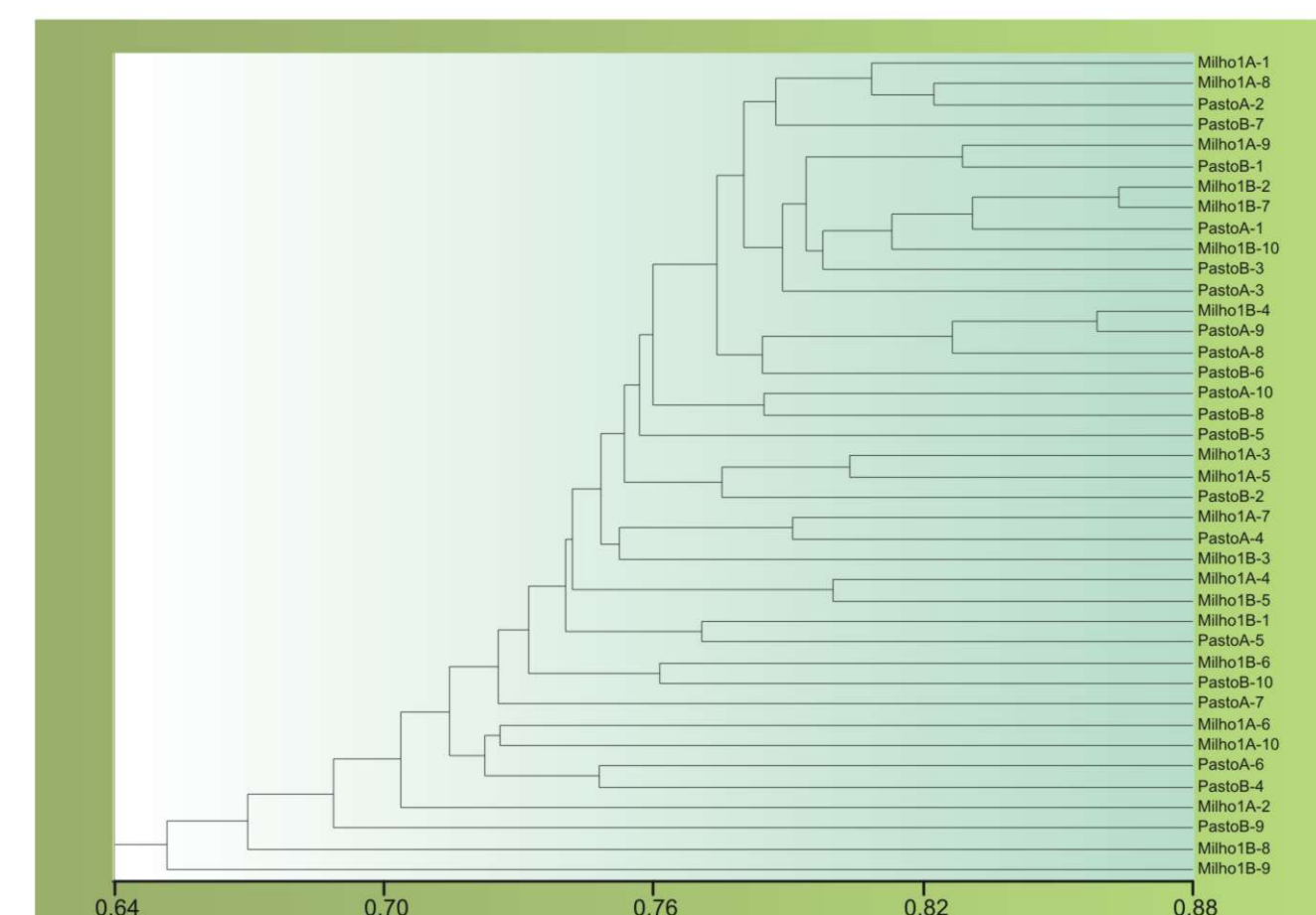


Figura 4. Dendrograma UPGMA baseado no coeficiente de similaridade de Jaccard (J), gerado a partir de marcadores RAPD-PCR de 10 espécimes de *Dalbulus maidis* de cada uma das quatro populações amostradas no município de Anastácio/MS (áreas Milho 1A, Milho 1B, PastoA e PastoB), na safra 1998/99.



Figura 1. Localização geográfica dos municípios de coleta de populações de *Dalbulus maidis* e das áreas localizadas em Anastácio/MS, com a distância aproximada entre as mesmas.

Tabela 1. Valores médios do índice de similaridade de Jaccard, baseado em marcadores RAPD-PCR, pela comparação dos padrões RAPD-PCR dos indivíduos dentro e entre populações de *Dalbulus maidis* coletadas em Anastácio/MS.

Safra 1997/1998							
Dentro de populações				Entre populações			
	Milho1A	Milho1B	Milho2A	Milho2B	PastoA	PastoB	
Milho1A <sup>1</sup>	0,771	*					
Milho1B <sup>2</sup>	0,780	0,771	*				
Milho2A	0,723	0,744	0,753	*			
Milho2B	0,776	0,770	0,778	0,754	*		
PastoA	0,777	0,768	0,781	0,752	0,776	*	
PastoB	0,802	0,779	0,787	0,760	0,786	0,782	*

Safra 1998/1999					
Dentro de populações			Entre populações		
	Milho1A	Milho1B	PastoA	PastoB	
Milho1A	0,730	*			
Milho1B	0,723	0,727	*		
PastoA	0,756	0,738	0,740	*	
PastoB	0,726	0,730	0,726	0,735	*

<sup>1</sup> Coleta realizada no início da safra do milho; <sup>2</sup> Coleta realizada no meio ou final da safra do milho.

Tabela 2. Valores médios do índice de similaridade de Jaccard (J), baseado em marcadores RAPD-PCR, pela comparação dos padrões RAPD-PCR dos indivíduos dentro e entre populações de *Dalbulus maidis* coletadas em diferentes municípios brasileiros.

Dentro de populações							Entre populações						
	Cha	BJS	Ana	Pir	Mos		Cha	BJS	Ana	Pir	Mos		
Chapecó/SC	0,769												
Bom J. Serra, SC	0,779	0,763	*										
Anastácio/MS	0,750	0,744	0,758	*									
Piracicaba/SP	0,769	0,757	0,749	0,740	*								
Mossoró/RN	0,807	0,737	0,751	0,735	0,739	*							

## Referências bibliográficas

Larsen, K. J., and L. R. Nault. 1994. Seasonal polymorphism of adult *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 87:356-362.

Larsen, K. J., L. R. Nault, and G. Moya-Raygosa. 1992. Overwintering biology of *Dalbulus* leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae): adult population and drought hardiness. Environ. Entomol. 21: 566-577.

Nault, L. R. 1990. Evolution of insect pest: maize and leafhopper, a case study. Maydica 35: 165-175.

Oliveira, C. M., J. R. S. Lopes, C. T. S. Dias, and Nault, L. R. 2004. Influence of latitude and elevation on polymorphism among populations of the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) in Brazil. Environ. Entomol. (no prelo).

Oliveira, C. M., R. M. S. Molina, R. S. Albres, and Lopes, J. R. S. 2002b. Disseminação de molucos do milho a longas distâncias por *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae). Fitopat. Bras. 27(1):091-095.

Raeder, U., and P. Broda. 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. Let. Appl. Microbiol. 1: 17-20.

Taylor, R. A. J., L. R. Nault, and W. E. Styer. 1993. Experimental analysis of flight activity of three *Dalbulus* leafhoppers (Homoptera: Auchenorrhyncha) in relation to migration. Ann. Entomol. Soc. Am. 86: 655-667.

Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetics markers. Nucleic Acids Res. 18(22): 6531-6535.

Apoio: CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

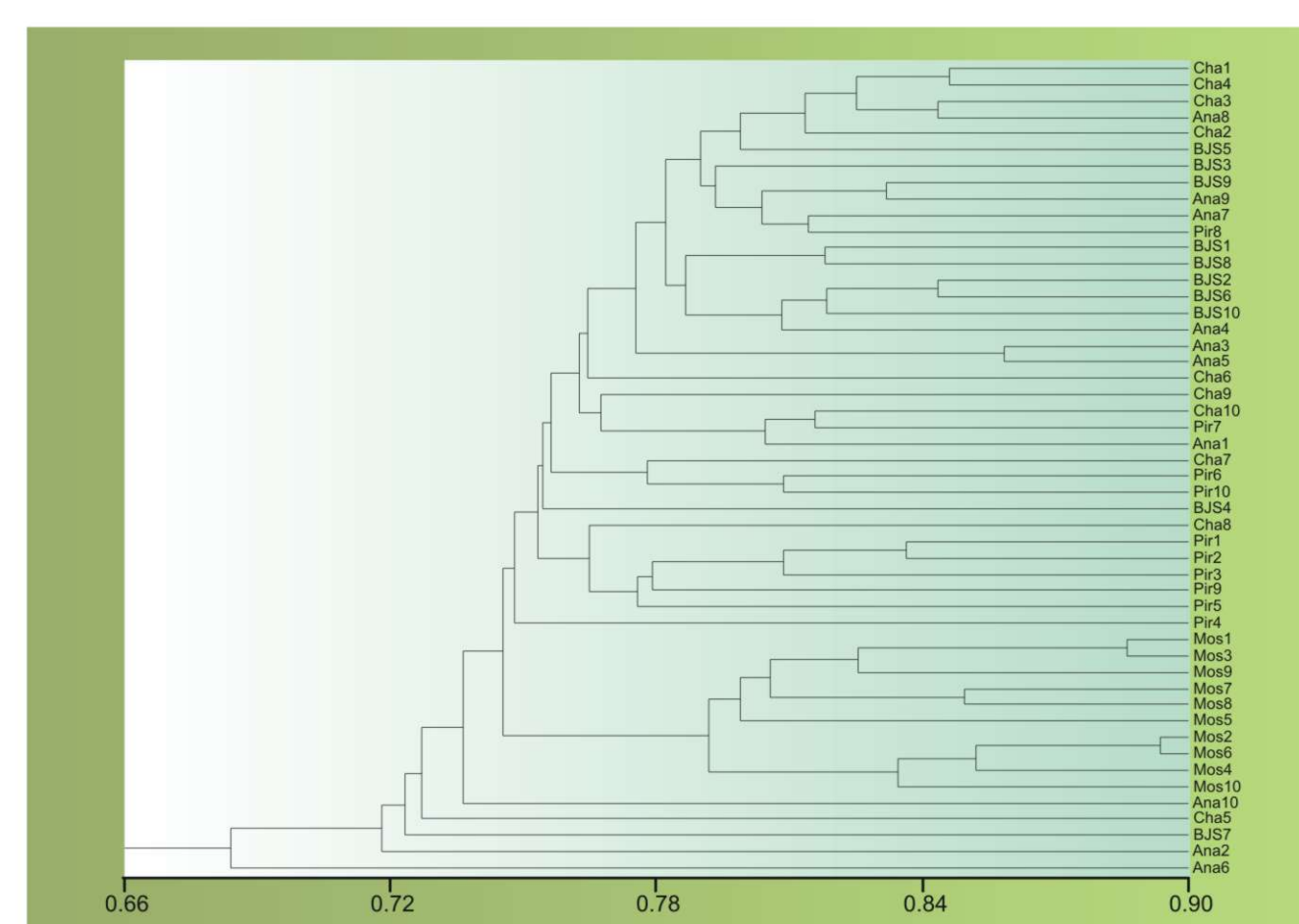


Figura 5. Dendrograma UPGMA baseado no coeficiente de similaridade de Jaccard (J), gerado a partir de marcadores RAPD-PCR de 10 espécimes de *Dalbulus maidis* de cada uma das 5 populações amostradas nos municípios de Chapecó/SC, Bom Jardim da Serra/SC, Anastácio/MS, Piracicaba/SP e Mossoró/RN.