

PADRÕES ISOENZIMÁTICOS DE *TRIALEURODES VAPORARIORUM* E *BEMISIA TABACI* (HOMOPTERA, ALEYRODIDAE) E DE *ENCARSIA FORMOSA* E *E. LYCOPERSICI* (HYMENOPTERA, APHELINIDAE)¹

MARIA REGINA VILARINHO DE OLIVEIRA² e LÚZIA HELENA CORREIA DE LIMA³

RESUMO - Os danos causados à economia agrícola pelas moscas-brancas têm aumentado significativamente nas mais diferentes regiões geográficas. A análise eletroforética de isoenzimas de α e β esterase foi utilizada como um marcador molecular, para o reconhecimento das variações genéticas entre os indivíduos das espécies de moscas-brancas, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood e *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera, Aleyrodidae), e dos parasitóides da mosca-branca, *Encarsia formosa* Gahan e *E. lycopersici* De Santis (Hymenoptera, Aphelinidae), e para auxiliar na identificação de espécies ou raças, em futuras avaliações desses insetos provenientes de diferentes regiões geográficas. Ambas as espécies de moscas-brancas e as espécies dos parasitóides amostrados apresentaram padrões isoenzimáticos de α e β esterase diferentes, possibilitando a diferenciação das espécies e a distinção entre os machos e fêmeas das moscas-brancas.

Termos para indexação: mosca-branca, parasitóide, isoenzima, eletroforese, esterase.

ISOENZYME PATTERNS OF *TRIALEURODES VAPORARIORUM* AND *BEMISIA TABACI* (HOMOPTERA, ALEYRODIDAE) AND OF *ENCARSIA FORMOSA* AND *E. LYCOPERSICI* (HYMENOPTERA, APHELINIDAE)

ABSTRACT - The economic importance of whiteflies as pests of cultures has increased significantly in different regions of the world. Electrophoretic analysis of isoenzyme α and β esterase was used as molecular marker in order to determine the genetic variation between individuals of whiteflies species, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) and *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera, Aleyrodidae) and the parasitoids *E. formosa* Gahan and *E. lycopersici* De Santis (Hymenoptera, Aphelinidae), and to assist in the identification of species or biotypes in future investigations of these species collected in different geographical areas. Both populations sampled, the whiteflies and the parasitoids, revealed different isoenzyme patterns of α and β esterases, enabling the differentiation between species and the distinction of whiteflies males and females.

Index terms: whiteflies, parasitoids, isoenzyme, electrophoresis, esterase.

¹ Aceito para publicação em 28 de fevereiro de 1997.
Extraído da Tese de Doutorado do primeiro autor, apresentada à UFSCar, São Carlos, SP.

² Bióloga, Dr.^a, Embrapa-Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), Caixa Postal 02372, CEP 70849-970 Brasília, DF.

³ Bioquímica, M.Sc., Embrapa-Cenargen.

INTRODUÇÃO

Os danos econômicos causados pelas moscas-brancas estão aumentando em todo o mundo, inclusive no Brasil. Esses homópteros danificam culturas extraíndo uma grande quantidade de floema, o que pode resultar numa perda de 50% do total da produção (Byrne & Bellows Junior, 1991). Através

de uma substância açucarada, reduzem o vigor da planta hospedeira, diminuindo a produção vegetal e induzindo o crescimento de fungos saprófitas. Além disso, as moscas-brancas possuem a habilidade de atuar como vetores de doenças. Todos os fitopatógenos podem ser transmitidos por elas, mas são os vírus que causam os maiores problemas na agricultura (Costa, 1976).

T. vaporariorum e *B. tabaci* são espécies polífagas, que ocorrem sobre um grande número de plantas; em relação à primeira espécie, a diversidade de plantas varia do gênero *Dioon* em Zamiaceae (Gymnospermae) a Iridaceae em Angiospermae, sendo as culturas mais importantes, Solanaceae e Cucurbitaceae (Mound & Halsey, 1978). A espécie *B. tabaci* ocorre principalmente em algodão, alface, soja, tomate, plantas ornamentais, ervas-daninhas e cucurbitáceas (Osborne et al., 1990). No Brasil, ambas as populações ocorrem em casas de vegetação (Lima et al., 1992).

Com o advento da resistência das moscas-brancas aos produtos químicos, a utilização de *E. formosa* para o controle de *T. vaporariorum* e de *B. tabaci* tem aumentado a cada ano, em várias regiões do mundo, principalmente para uso em casas de vegetação. Este parasitóide tem sido comercializado, nos dias atuais, em 20 dos 35 países que possuem indústrias de casas de vegetação (Lenteren, 1992). *E. lycopersici* foi detectada pela primeira vez sobre populações de *T. vaporariorum*, nas casas de vegetação do Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen) da Embrapa (Oliveira, 1995).

Métodos convencionais de controle dessas duas espécies são, na maioria das vezes, ineficientes. Em anos recentes, a resistência aos inseticidas tem sido descrita nas diversas populações desses insetos. A grande adaptabilidade dos indivíduos dessas espécies torna-se evidente pela ampla distribuição geográfica e a longa lista de plantas hospedeiras, favorecendo o aparecimento de resistência e de biótipos entre as populações. Até recentemente, *B. tabaci* era diferenciada vulgarmente como "raça A ou biótipo A, ou, ainda, mosca-branca da batata-doce ou do algodão" e "raça B, ou biótipo B, ou, ainda, mosca-branca da poinsettia". Porém, após estudos moleculares e de comportamento entre as duas raças geográficas, concluiu-se que a raça B poderia

ser uma nova espécie, já que não ocorria cruzamento entre as raças A e B. O nome atual da raça B é *Bemisia argentifolii* Bellow & Perring, conhecida como mosca-branca-da-folha-prateada (Perring et al., 1993). No Brasil, ainda não foi determinada a existência de *B. argentifolii*. Todavia, de acordo com Lourenção & Nagai (1994), populações de *B. tabaci* encontradas na região de São Paulo causam infestações e danos econômicos semelhantes aos das observadas nos EUA, o que leva a crer que o biótipo B, ou essa nova espécie, tenha sido introduzida no País.

Afinidades filogenéticas e delimitação de espécies sempre foram baseadas em análises de caracteres morfológicos, e, em menor grau, em parâmetros fisiológicos, citológicos e de comportamento. Recentemente, a imunologia e a eletroforese se tornaram instrumentos valiosos para a determinação dos níveis de subespécies ou de raças, em situações nas quais caracteres morfológicos são inadequados; para tanto, vários métodos têm sido adotados; entre eles, funções e estruturas gênicas, organização do genoma, hibridização DNA-DNA, análise de restrição polimórfica, genes ribossômicos, RADP-PCR ("single primer polymerase chain reaction amplification"), eletroforese, entre outros (Whitten, 1989). Em virtude dos prejuízos que causam, é necessário o conhecimento de aspectos da sua biologia, em relação aos parâmetros agroecológicos para elaboração de estratégias de controle. A análise de isoenzimas tem sido empregada com sucesso em estudos da variabilidade genética entre e dentro de populações de insetos.

Objetiva-se, com este trabalho, determinar os padrões eletroforéticos de isoenzimas das espécies das moscas-brancas e dos parasitóides, numa tentativa de encontrar marcadores moleculares que possam auxiliar na identificação de espécies ou raças nas diversas regiões do País.

MATERIAL E MÉTODOS

Moscas-brancas e parasitóides

Indivíduos de *B. tabaci* foram coletados em casas de vegetação utilizadas para o cultivo de plantas ornamentais, no município de Holambra, no Estado de São Paulo. Os indivíduos de *T. vaporariorum* foram coletados nas

casas de vegetação utilizadas para a pesquisa da Embrapa-Cenargen, onde a diversidade genética de plantas era grande.

Para cada uma das espécies de mosca-branca, um número de 200 indivíduos adultos foram coletados aleatoriamente, sobre as plantas hospedeiras dentro das casas de vegetação; desse número, uma subamostragem foi realizada, e apenas 20 indivíduos de cada sexo foram escolhidos. Na subamostragem de *B. tabaci* apenas 6 machos foram coletados.

Os parasitóides, *E. formosa* e *E. lycopersici*, foram também coletados sobre populações de *T. vaporariorum* nas casas de vegetação da Embrapa-Cenargen. Por terem demonstrado maior eficiência de parasitismo sobre formas imaturas dessa espécie de mosca-branca, foram escolhidos para que um padrão isoenzimático fosse obtido, sendo que o mesmo deverá ser utilizado em comparações futuras com parasitóides da mesma espécie de outras regiões geográficas. Um número de 200 indivíduos adultos foram coletados aleatoriamente em cada uma das populações de parasitóides e foi realizada uma subamostragem, na qual 100 indivíduos foram retirados para análise eletroforética, sem distinção de sexo.

Eletroforese

Todos os indivíduos foram coletados vivos e congelados em um "freezer" a uma temperatura de -18°C . Em seguida foram macerados em 25 μL de tampão Tris-HCl 5 mM, pH 9,0, contendo ácido ascórbico-cisteína hidrolizada 1 mM, e sacarose 7%. As amostras foram analisadas através de eletroforese em géis de poliacrilamida não desnaturante (PAGE) 10%, utilizando-se como tampão de corrida Tris-glicina, pH 8,8. Após uma corrida de 4 h, a 5°C , os géis foram revelados enzimas alfa e beta esterase (Valejos, 1983).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As duas espécies de moscas-brancas amostradas apresentaram padrões isoenzimáticos de alfa e beta esterase diferentes, possibilitando a diferenciação das espécies e a distinção entre machos e fêmeas de cada uma das espécies (Fig. 1). As duas espécies de parasitóides amostradas, *E. formosa* e *E. lycopersici*, também apresentaram padrões isoenzimáticos diferentes (Fig. 2).

No Brasil, ainda não existe um indicativo da ocorrência de diferentes "raças ou biótipos" tanto das moscas-brancas, *T. vaporariorum* e *B. tabaci*, como

dos parasitóides. Portanto, foram determinados os padrões eletroforéticos de isoenzimas destas duas espécies de moscas-brancas e de parasitóides, numa tentativa de encontrar marcadores moleculares que pudessem auxiliar na identificação e determinação de novas espécies ou raças, em estudos futuros.

Thomas (1993), apesar de também utilizar gel de poliacrilamida tentando obter padrões isoenzimáticos para assessorar diferenciação alopátrica na população de *T. vaporariorum*, não conseguiu resultados satisfatórios. Um dos problemas encontrados por ele foi a dificuldade em visualizar as bandas dos perfis eletroforéticos; essa mesma dificulda-

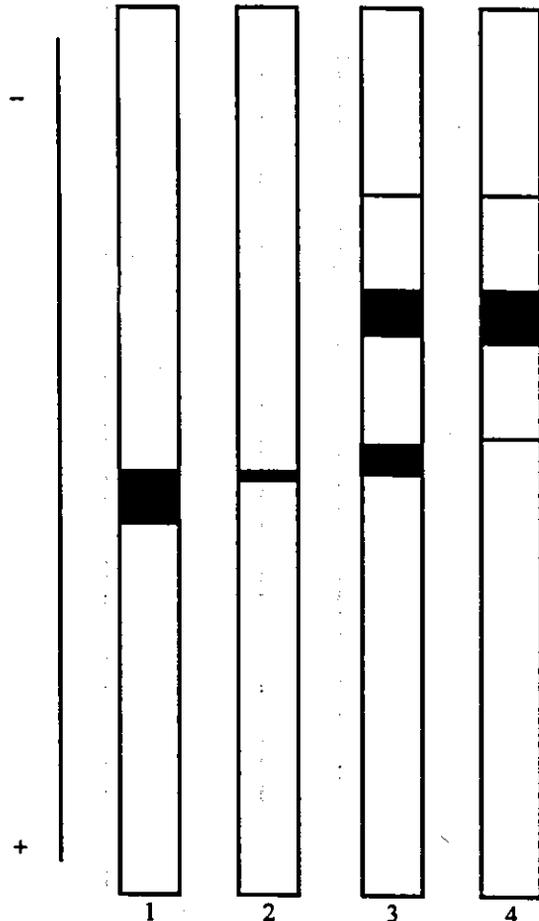


FIG. 1. Padrões α , β esterase das espécies de moscas-brancas: *Trialeurodes vaporariorum*: (1) fêmea, (2) macho, e de *Bemisia tabaci*: (3) macho, (4) fêmea.

de foi encontrada pelos autores Prabhaker et al. (1987) e Wool et al. (1989). Quanto à *B. tabaci*, a análise eletroforética de isoenzimas tem sido utilizada com sucesso por vários autores. Liu et al. (1992), utilizando padrões de isoenzima com géis de poliacrilamida, conseguiram a diferenciação de dois biótipos dessa espécie. Wool et al. (1991) utilizaram padrões isoenzimáticos para a diferenciação das populações dessa espécie, coletadas em Israel e Colômbia. Perring et al. (1992) analisaram populações do Sudeste da

Califórnia, coletadas em três plantas hospedeiras, brócolis, pionsétia e algodão, utilizando a eletroforese "isoelectric focusing" como método de análise de variação alozímica. Eles concluíram que a população coletada em pionsétia e brócolis eram idênticas quanto à presença e ausência de alelos, e que a população do algodão possuía alelos diferenciados, o que sugere que as outras duas populações faziam parte de um mesmo grupo de indivíduos introduzidos na região, o qual provavelmente seria o "biótipo B". Essa afirmação foi confirmada em experimentos corroborativos, nos quais, indivíduos de moscas-brancas coletados em brócolis foram então criados em plantas de mostarda; essa população causou nessas plantas o prateamento das folhas.

Também entre as populações de parasitóides estes métodos têm sido empregados, como, por exemplo, em *Spalangia endius* Walker (Hymenoptera, Pteromalidae), utilizados no controle biológico de *Musca domestica* L. e *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera, Muscidae) e entre seis populações de *Podiobus foveolatus* (Crawford) (Hymenoptera, Eulophidae), parasitóide gregário de *Epilachna* spp. (Coleoptera, Coccinellidae) (Hung & Schaefer, 1990). A utilização da eletroforese para esses grupos de parasitóides tem como objetivo o monitoramento e manutenção de populações sem variações genéticas em insetários (Morgan et al., 1988).

CONCLUSÃO

A análise do padrão isoenzimático de α e β esterase é eficiente para diferenciação de espécies e sexo das moscas-brancas e dos parasitóides estudados.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa-Cenargen pelo apoio para a realização desses trabalhos; ao CNPq pelo financiamento da pesquisa; à Denise Návia Magalhães Ferreira pelo apoio e aos bolsistas de iniciação científica Regina Gomes de Miranda e Helder Reis Mesquita.

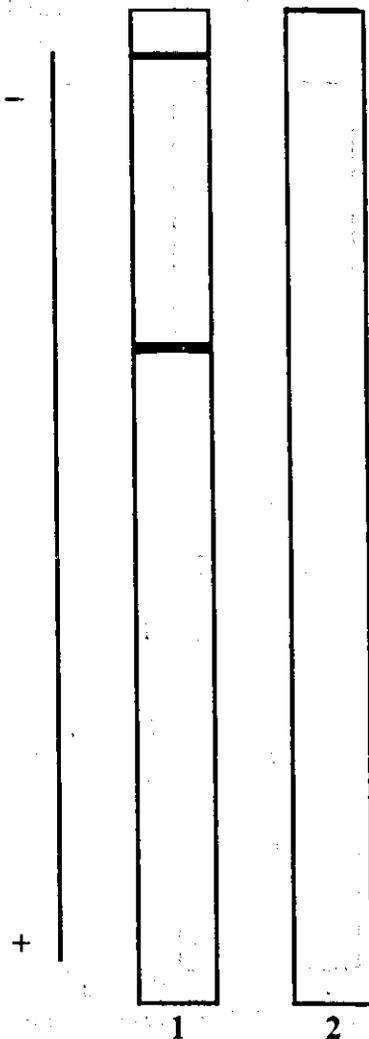


FIG. 2. Padrões de α , β esterase dos parasitóides: (1) *Encarsia lycopersici* (2) *Encarsia formosa*.

REFERÊNCIAS

- BYRNE, D.N.; BELLOWS JUNIOR, T.S. Whitefly biology. *Annual Review of Entomology*, v.36, p.431-457, 1991.
- COSTA, A.S. Whitefly-transmitted plant diseases. *Annual Review of Phytopathology*, v.14, p.429-449, 1976.
- HUNG, A.C.F.; SCHAEFER, P.W. Isoenzyme analysis in six populations of *Pediobus foveolatus* (Crawford) (Hymenoptera, Eulophidae). *Proceedings of Entomological Society of Washington*, v.92, n.1, p.160-165, 1990.
- LENTEREN, J.C. van. Biological control in protected crops: where do we go? *Pest Science*, v.36, p.321-327, 1992.
- LIMA, L.H.C.; OLIVEIRA, M.R.V. de; GOMES, A.C.M.M.; FERREIRA, D.N.M. Análise eletroforética em populações da mosca-branca, *Trialeurodes vaporariorum* e *Bemisia* sp. (Homoptera, Aleyrodidae). Brasília: Embrapa-Cenargen, 1992. p.1-5. (Embrapa-Cenargen. Pesquisa em Andamento, 5).
- LIU, H.Y.; COHEN, S.; DUFFUS, J.E. The use of isoenzyme patterns to distinguish sweetpotato whitefly (*Bemisia tabaci*) biotypes. *Phytoparasitica*, v.20, n.3, p.187-194, 1992.
- LOURENÇÃO, A.L.; NAGAI, H. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo. *Bragantia*, Campinas, v.53, n.1, p.53-59, 1994.
- MORGAN, P.B.; JONES, C.J.; PATTERSON, R.S.; MILNE, D. Use of electrophoresis for monitoring purity of laboratory colonies of exotic parasitoids (Hymenoptera, Pteromalidae). *Advances in Parasitic Hymenoptera Research*, v. 2, p.525-531, 1988.
- MOUND, L.A.; HALSEY, S.H. Whitefly of the world. A systematic catalogue of Aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data. New York: J. Wiley, 1978. 340p.
- OLIVEIRA, M.R.V. de. Controle biológico de pragas em casas de vegetação com especial referência a *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Homoptera, Aleyrodidae). São Carlos: UFSCarlos, 1995. 273p. Dissertação de Doutorado.
- OSBORNE, L.S.; STOREY, G.K.; McCOY, C.W.; WALTER, F.J. Potential for controlling the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* with fungus, *Paecilomyces fumosoroseus*. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE PATHOLOGY AND MICROBIAL CONTROL, 5, Adelaide, AUS. *Proceedings and Abstracts*, Adelaide: Society for Invertebrate Pathology, 1990. p.386-390.
- PERRING, T.M.; COOPER, A.; KAZMER, D.J. Identification of the poinsettia strain of *Bemisia tabaci* by electrophoresis. *Journal of Economic Entomology*, v.85, n.4, p.1278-1284, 1992.
- PERRING, T.M.; COOPER, A.D.; RODRIGUEZ, R.J.; FARRAR, C.A.; BELLOWS JUNIOR, T.S. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. *Science*, v.259, p.74-77, 1993.
- PRABHAKER, N.; COUDRIET, D.L.; MEYERDIRK, D.E. Discrimination of three whiteflies species (Homoptera, Aleyrodidae) by electrophoresis of non-specific esterase. *Journal of Applied Entomology*, v.103, p.445-451, 1987.
- THOMAS, D.C. Host plant adaption in the glasshouse whitefly. Netherlands: Land bouwuniversiteit Wageningen, 1993. 129p. Dissertação de Doutorado.
- VALEJOS, C.E. Enzyme activity staining. In: TANKESLEY, S.D.; ORTON, T.J. (Eds.). *Isoenzyme in plant genetics and breeding*. New York: Elsevier, 1983. p.469-516.
- WHITTEN, M.J. The relevance of molecular biology to pure and applied entomology. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v.53, p.1-16, 1989.
- WOOL, D.; GERLING, D.; BELLOTTI, A.C.; MORALES, F.J.; NOLT, B.L. Spatial and temporal genetic variation in populations of the whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.) in Israel and Colombia: an interim report. *Insect Science Applications*, v.12, n.1/2/3, p.225-230, 1991.
- WOOL, D.; GERLING, D.; NOLT, B.L.; CONSTANTINO, L.M.; BELLOTTI, A.C.; MORALES, F.J. The use of electrophoresis for identification of adult whiteflies (Homoptera, Aleyrodidae) in Israel and Colombia. *Journal of Applied Entomology*, v.107, p.344-350, 1989.