

SYSTEMATICS, MORPHOLOGY AND PHYSIOLOGY

Estrutura Genética Populacional de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) Utilizando Marcadores Microsatélites

GE DO VALLE¹, MI ZUCCHI², NS STABELLINI¹, AL LOURENÇÃO¹, JB PINHEIRO³

¹Instituto Agronômico de Campinas – IAC, Campinas, SP, Brasil

²APTA/Centro Pólo Sul, Piracicaba, SP, Brasil

³ESALQ/USP, Depto de Genética, Piracicaba, SP, Brasil

Keywords

Genetic variability, molecular markers, whitefly

Correspondence

GIULIANA E DO VALLE, Instituto Agronômico de Campinas – IAC, CP 28, 13012-970, Campinas, SP, Brasil; gevalle@yahoo.com.br

Edited by Denise Navia – EMBRAPA

Received 11 June 2009 and accepted 11 October 2010

Abstract

Population Genetic Structure of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) Utilizing Microsatellite Markers

We aimed to characterize the population genetic structure within and among five *Bemisia tabaci* (Gennadius) populations collected from different host plants and geographic regions by using microsatellites as a molecular marker. Each population was represented by 19 specimens. The host plants and geographic origins of these populations were described as follows: Pop 1: Squash – Barreiras (BA); Pop 2: Cotton – Barreiras (BA); Pop 3: Soybean – Campinas (SP); Pop 4: Tomato – Cruz das Almas (BA); and Pop 5: Soybean – Rondonópolis (MT). Six polymorphic loci were observed, which discriminated 31 different alleles in the studied populations, with a mean number of alleles per population of 3.30 (2.67 - 4.00). Using Fisher's Exact test, it was observed that at least three populations were in Hardy-Weinberg equilibrium for most of the studied loci (six). The dendrogram (UPGMA) separated populations into groups mainly related to the geographic origin of the samples. Only population 5 differed from the others at a 0.15 distance (74.5% group consistency). The most similar populations were 1 and 2, with a 0.01 distance (65.3%). This is in agreement with their geographic origins and it was not consistent with host specificity. The results suggest considerable gene flow (7.3%) among all whitefly populations and indicate that a better understanding of the gene flow in populations of *B. tabaci* associated with different hosts is required for the management of this insect.

Introduction

Moscas-brancas são insetos que sugam a seiva do floema das plantas hospedeiras, tanto na fase imatura como na adulta, causando danos diretos e indiretos (Norman *et al* 1996, Berlinger 1986). Atualmente, elas são consideradas um grupo importantíssimo em âmbito mundial, veiculando mais de 110 fitovírus diferentes e

sendo as únicas transmissoras de geminivírus (Jones 2003). Uma das espécies mais importantes é *Bemisia tabaci* (Gennadius), considerada um complexo (Brown *et al* 1995b, Perring 2001), com amplo espectro de hospedeiras, a qual se desenvolve em mais de 900 espécies de plantas (Perring 2001, Berry *et al* 2004).

A existência de raças ou biótipos de *B. tabaci* foi proposta por volta de 1950 para descrever populações

distintas do inseto baseadas na adaptação à planta hospedeira e na capacidade em transmitir fitovírus (Mound 1963). Em meados de 1980, surgiu o biótipo B, considerado altamente polífago e quase cerca de duas vezes mais fecundo em relação às outras populações de *B. tabaci* anteriormente descritas (Brown *et al* 1995b).

O biótipo B vem sendo considerado uma séria praga na agricultura e chegou a ser descrito como nova espécie, baseado em RAPD-PCR, comportamento de acasalamento e avaliações morfológicas (Bellows Jr *et al* 1994). A primeira observação desse biótipo na América foi registrada na década de 80, nos EUA, provavelmente em plantas ornamentais importadas (Brown *et al* 1995b), atingindo culturas de interesse econômico, como feijoeiro, abobrinha, meloeiro, tomateiro e algodoeiro. No Brasil, o biótipo B foi introduzido no início da década de 90 (Lourenção & Nagai 1994), tendo se disseminado rapidamente para outras fronteiras agrícolas do país (França *et al* 1996, Villas Bôas *et al* 1997).

A existência de biótipos distintos não é apenas uma questão taxonômica, podendo a introdução de um novo biótipo influenciar diretamente a dinâmica das interações praga- vetor-hospedeiro (Maruthi *et al* 2001). Atualmente, já foram caracterizados mais de 20 biótipos distintos, denominados em série de letras A a T (Bedford *et al* 1994, Brown *et al* 1995a, Banks *et al* 1999, Perring 2001).

Os marcadores moleculares são usados para o estudo da estrutura genética de populações de *B. tabaci* de diferentes biótipos, assim como a flutuação de genes entre populações derivadas de um mesmo biótipo (Simón *et al* 2007). Neste estudo, o uso de marcadores microssatélites foi escolhido devido às características intrínsecas como marcador estável, codominante, multialélico, altamente confiável, pela simplicidade operacional e pela rapidez de análise quando comparado a outros métodos (Simón *et al* 2007). O objetivo deste trabalho foi caracterizar a estrutura genética populacional da mosca-branca *B. tabaci* em regiões e/ou hospedeiros específicos usando marcadores microssatélites.

Material e Métodos

Coleta e manutenção das populações de *B. tabaci*

Adultos das populações de *B. tabaci* foram coletados em campo em diferentes plantas e regiões brasileiras (Tabela 1) e mantidos em frascos com etanol 70% a -4°C para posterior análise molecular. Os insetos foram coletados durante o 1º semestre de 2008.

Extração de DNA

O procedimento para extração de DNA foi o mesmo utilizado por Queiroz da Silva (2006). O DNA foi extraído a partir de fêmeas de mosca-branca individuais, as quais foram maceradas em microtubo de 1,5 ml em 60 µl de tampão de extração (Tris-HCl 10 mM pH 8, EDTA 1 mM, Triton X-100 0,3 %, proteinase K a 60 µg.ml⁻¹). Os macerados foram incubados por 15 min a 65°C e 95°C por 10 min. Posteriormente, as amostras foram armazenadas a -20°C. Após eletroforese, a quantificação das amostras foi estimada pela intensidade de fluorescência emitida pelo brometo de etídeo sob UV em géis de agarose a 1,4% (p/v). Essa intensidade foi comparada àquela de padrões (DNA do fago λ).

Caracterização molecular de *B. tabaci* utilizando marcadores microssatélites

A avaliação de polimorfismo foi feita com 19 indivíduos de cada população (Tabela 1), usando-se 27 locos microssatélites polimórficos previamente definidos para *B. tabaci* (Tsagkarakou & Reditakis 2003, De Barro *et al* 2003, Tsagkarakou *et al* 2007). Os locos selecionados foram utilizados para a genotipagem dos indivíduos das populações de *B. tabaci* visando o estudo da estrutura genética populacional.

A reação de PCR foi realizada para todos os locos microssatélites avaliados em volume final de 20 µl, contendo 3 µl de DNA (cerca de 20 ηg), 2 µl do iniciador "forward + reverse" (0,2 µM), 0,25 µl de desoxirribonucleosídeo trifosfato (dNTP) (0,15 mM), 2 µl

Tabela 1 Populações de *Bemisia tabaci* oriundas de diferentes localidades e respectivas plantas hospedeiras.

População	Planta hospedeira	Nome científico	Latitude - longitude	Local
1	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	12º 09' 10" S - 44º 59' 24" O	Barreiras – BA
2	Algodão	<i>Gossypium hirsutum</i>	12º 09' 10" S - 44º 59' 24" O	Barreiras – BA
3	Soja	<i>Glycine max</i>	22º 54' 20" S - 47º 03' 39" O	Campinas – SP
4	Batata	<i>Solanum tuberosum</i>	19º 18' 40" S - 46º 02' 56" O	São Gotardo – MG
5	Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i>	12º 40' 12" S - 39º 06' 07" O	Cruz das Almas – BA
6	Algodão	<i>Gossypium hirsutum</i>	16º 28' 15" S - 54º 38' 08" O	Rondonópolis – MT
7	Soja	<i>Glycine max</i>	16º 28' 15" S - 54º 38' 08" O	Rondonópolis – MT
8	Repolho	<i>Brassica oleracea</i>	-15º 46' 47" S - 47º 55' 47" O	Brasília – DF

de solução tampão 1 X (50 mM de KCl; 100 mM de Tris-HCl, pH 8,5), 1,60 µl de MgCl₂ (4,0 mM), 0,5 U de *Taq* DNA polimerase e 10,65 µl de água MilliQ autoclavada.

As ampliações foram feitas em termociclador (Biorad My Cycler) contendo uma etapa inicial de desnaturação de 2 min a 95°C, seguido por 45 ciclos com 1 min a 95°C, 1 min a 48°C e 1 min a 72°C, finalizando

com 5 min a 72°C para extensão final, para o iniciador BEM 11. As temperaturas de anelamento utilizadas para os demais iniciadores estão descritas na Tabela 2.

Genotipagem dos iniciadores SSRs

A genotipagem dos iniciadores SSR foi feita em gel de acrilamida 7% corado com nitrato de prata. As corridas

Tabela 2 Iniciadores avaliados no estudo de caracterização molecular de biótipos de *Bemisia tabaci*.

Iniciador	Tamanho esperado (pb)	Foward / reverse	Temp. anelamento (°C)
BT-t19	177–201	F:GGCTGGACTCTAGATTCAC R:AGGTATTGCTGCAAGGAAAG	60
BT-e49	304–368	F:GATCGAATCCAATCTCCCAC R:GAGCTCTGCAACTGCCAA	64
BT-4	279–305	F:GAGATCATATCCCCATTGTTTC R:ATCACGGGTCATAGATCACG	52
BT-83	134–156	F:GATGCCACAGGTTGTCTGG R:GCTTGCCAGGCACTTTCTAG	56
BT-b34	290–302	F:AAATTAAGTCCGCTCAACG R:ATATCGATAACAATCTTACCCG	52
BT-b53	150–156	F:GTTGCATACAGCAGAAATTTGA R:AAAGCGTTCACGTCTTACAATG	60
BT-b55	211–269	F:ACATGAATTTTGGTTAGCAACA R:ATTTGACTATTTACGTTTCCG	52
BT-b69	152–186	F:ATTCGGTTCGTCTTAGGGAC R:ACGATGTTTCCAACTGAGC	60
BT-b103	140–142	F:GCTCAACCGAATACATCCAC R:AAGTCTAAAGGAAGCGTGGAA	56
BT-b155	169–201	F:ACATGTTTCCTTGTGCGCACT R:ATTAGTGCTCGTTTCGATTC	60
BT-b159	271–299	F:ACTCCATTTGGCTTATGTGC R:ATTATCGTCTGAAAAGTGGTGG	60
BT-d26	200–222	F:ACGACACAAATTGGCATTACAT R:ACAAGTCAACATCCTCTAGGTA	52
BEM 6	133-413	F:TTACACTTAACACCAGAACT R:GATGGCTTATGTTATAATACTA	60
BEM 11	130-216	F:TTCAATGATGCTTTCCTGAC R:CAAATAAATACACCATTTACA	48
BEM 12	100-304	F:CTATCGTTGACTGATTTTTG R:AAATTACCTACACCTGCCT	50
BEM 14ii	127-289	F:AGAAGTCAGACAATATGTG R:ATTAACCCTCTCTCATCGC	52
BEM 15	142-262	F:AGCAGCATCAACAGGCTC R:CTAGATTCTGCTTGAAGG	52
BEM 18	123-269	F:TCAGGATTCGGCCGCTAT R:CATTCAATTTGCGCTGTAGATT	52

Continua

Tabela 2 Iniciadores avaliados no estudo de caracterização molecular de biótipos de *Bemisia tabaci*.

Iniciador	Tamanho esperado (pb)	Foward / reverse	Temp. anelamento (°C)
BEM 20	74-119	F:GTCTTTGGGAGAGCCAGAAT R:AACAAGACGGTGGCAGCGA	52
BEM 21	100-154	F:ATCAAGCAGCTGCTACACCT R:ATGCACTAGTTGTTAGTGCG	56
BEM 22	78-159	F:GGCCCTAGTTAGAAGGTAGTA R:CTAATCGGTCAAGAGATTTGG	52
BEM 23	153-387	F:CGGAGCTTGCCTTAGTC R:CGGCTTTATCATAGCTCTCGT	60
BEM 25	95-188	F:AAGTATCAACAAATTAATCGTG R:TGAAGAATAAGAATAAAGAAGG	52
BEM 31	98-149	F:AAGAAGTAGCCAGGGACAAAC R:GTCATTTCTGGATTCTCAGCA	52
BEM 37	72-87	F:TGACGACCTGAGGCTGAGAG R:TGCAACGGCAACAGCAAGCAA	60
BEM 39	99-223	F:ACTCTAGGCTGTATGCATCCA R:CGCATGACAAATCGTATCAAG	55
BEM 40	127-168	F:TGGAGAATGTTATAAAGTGGA R:GAAAGTGGAGAGTTTAGGTGA	60

foram efetuadas em cuba vertical (Biorad Sequence Gene), por período variável de 2 h a 3,5h, dependendo do iniciador avaliado, a 70 W de potência.

Análise estatística

A partir da leitura dos dados nos géis de acrilamida foram obtidas as frequências gênicas (alélicas) e genotípicas em cada loco. Essas frequências foram submetidas a um teste de aderência (teste exato de Fisher), às proporções de equilíbrio de Hardy-Weinberg, conforme definido por Weir (1996), utilizando o programa TFPGA (Miller 1997). O teste exato de Fisher foi feito por meio do método convencional de Monte Carlo utilizando dez *batches* com 1000 permutações por *batch*.

A diversidade genética e as estatísticas F foram estimadas sob modelo aleatório de acordo com Weir (1996), em que as populações amostradas são consideradas como representativas da espécie e com uma história evolutiva comum. As frequências alélicas, o número de alelos por loco (A), a heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e) e as estatísticas F de Wright (F_{IS} , F_{ST} e F_{IT}), foram estimadas utilizando o programa GDA (Lewis & Zaykin 2000).

Em locos de microssatélites, o processo mutacional não está de acordo com o que se admite no modelo de alelos infinitos com baixas taxas de mutação. Por essa razão, foi utilizada, além da estatística de F_{ST} , uma análoga a ela, denominada de R_{ST} (Slatkin 1995), desenvolvida especificamente para dados de

microssatélites. Parâmetros como o R_{ST} e o fluxo gênico (N_m) foram estimados com o auxílio do programa R_{ST} -Calc (Goodman 1997). A estruturação da variabilidade foi visualizada em dendrogramas construídos pela matriz de distâncias genéticas de Nei e pelo critério de agrupamento UPGMA, utilizando-se o programa NTSYS (Rohlf 1989). A estabilidade dos agrupamentos também foi testada pelo cálculo da correlação cofenética empregando-se o procedimento de reamostragem por 10000 bootstrap, utilizando o programa TFPGA (Miller 1997).

Para análise da estruturação da diversidade sem hierarquização *a priori*, foi empregada a abordagem bayesiana realizada no programa STRUCTURE. Foram testados os valores de K variando de 1 a 5 e o número real de K escolhido a partir do método de predição baseado nos valores de K (Evanno *et al* 2005).

Resultados e Discussão

Foram genotipadas cinco populações (nomeadas 1, 2, 5, 3 e 7 - Tabela 1) de *B. tabaci* utilizando seis iniciadores polimórficos, a saber: BT – b 69, BEM 12 ii, BEM 25, BEM 37, BT – b 103 e BT – e 49. Estes locos discriminaram 31 diferentes alelos nas populações estudadas.

Variação genética

O número médio de alelos por população foi de 3,30, variando de 2,67 alelos (população 5) até o máximo

Tabela 3 Estimativas de parâmetros genéticos de diversidade em cinco populações de *Bemisia tabaci*.

Pop	N	$n_A = A_p$	H_o	H_e	f
1	19	4,00	0,581	0,550	-0,059
2	19	3,83	0,499	0,509	0,018
5	19	2,67	0,613	0,394	-0,578
3	19	3,17	0,503	0,438	-0,151
7	19	2,83	0,581	0,520	-0,126
Média	19	3,30	0,555	0,482	-0,158

N: número de indivíduos amostrados; n_A : número médio de alelos; A_p : número total de alelos por loco polimórfico ($n_A = A_p$ = dados de polimorfismo); H_o : heterozigidade observada; H_e : heterozigidade esperada sob equilíbrio de Hardy - Weinberg; f: índice de fixação; Pop 1: Abóbora - Barreiras (BA); Pop 2: Algodão - Barreiras (BA); Pop 3: Soja - Campinas (SP); Pop 5: Tomate - Cruz das Almas (BA); Pop 7: Soja - Rondonópolis (MT).

de 4,00 alelos (população 1) (Tabela 3). A população 5 apresentou a maior heterozigidade observada (0,613) e a população 2 a menor (0,499). A maior heterozigidade esperada foi verificada na população 1 (0,550) e a menor (0,394) na 5.

Para BT - b 69, todas as populações mostraram significância no teste exato de Fisher; portanto, para esse loco estudado, há equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tabela 4). Para os locos Bem 12, Bem 25 e BT - b 103, nenhuma das populações mostraram significância no teste exato de Fisher, não estando, portanto, em equilíbrio de Hardy-Weinberg. É importante ressaltar que os desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg, nesse caso, podem estar relacionados com o tamanho amostral (N).

A frequência de alelos exclusivos em determinadas populações foram três na população 1, dois na população 2, e um alelo nas populações 3, 5 e 7 (Tabela 5). Essa pequena quantidade de alelos privados ou exclusivos significa que existe fluxo gênico entre essas populações. Em média, ocorreram 3,174 migrantes por geração (Tabela 6), sendo que as populações mais próximas provavelmente apresentam fluxo gênico mais intenso em relação às populações mais distantes.

Os resultados da análise de agrupamento Baysiana executada no programa Structure indicaram o valor ótimo

Tabela 4 Probabilidade pelo teste exato de Fisher para aderência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Locos	Pop 1	Pop 2	Pop 5	Pop 3	Pop 7
BT - b 69	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Bem 12	0,0403*	0,0472*	1,0000*	0,5593*	0,4932*
Bem 25	0,0749*	0,1534*	1,0000*	0,0120*	0,5127*
Bem 37	0,0602*	0,0049	0,0004	0,0035	0,0004
BT - b 103	1,0000*	0,0192*	1,0000*	1,0000*	1,0000*
BT - e 49	0,0001	0,5373*	0,0000	1,0000*	0,0287*

Pop 1: Abóbora - Barreiras (BA); Pop 2: Algodão - Barreiras (BA); Pop 3: Soja - Campinas (SP); Pop 5: Tomate - Cruz das Almas (BA); Pop 7: Soja - Rondonópolis (MT).

*Nível de significância (Bonferroni, 5%) = 0.0083

de $K = 3$ (Fig 1). O valor 3 foi o menor desvio padrão e log (ln K) mais próximo de zero, indicando que 3 é o valor mais provável para o grupo. Os agrupamentos podem ser observados na Fig 2.

Os dados foram posteriormente submetidos ao teste de atribuição considerando $K = 3$ (Fig 1). Do total de 95 indivíduos de mosca-branca analisados nas populações 1, 2, 3, 5 e 7, cerca de 30% foram dispostos em três grupos (azul, verde e vermelho), com $Q > 0,2$ para o grupo azul, Q entre 0,4 e 0,8 para o grupo verde e $Q > 0,8$ para o grupo vermelho. A população oriunda de Cruz das Almas - BA

Tabela 5 Alelos exclusivos obtidos dos locos microsatélites e frequência com que ocorrem em cinco populações de *Bemisia tabaci*.

Loco	Alelo (PB)	Frequência	População
Bem 12	296	0.027778	Pop 3
Bem 12	292	0.062500	Pop 2
Bem 25	161	0.027778	Pop 5
Bem 25	164	0.031250	Pop 2
Bem 25	168	0.026316	Pop 1
Bem 37	77	0.026316	Pop 1
BT - b 103	140	0.052632	Pop 1
BT - e 49	299	0.083333	Pop 7

Tabela 6 Estimativas das estatísticas F de Wright, do R_{ST} e do número de migrantes por geração (N_m) em cinco populações naturais de *Bemisia tabaci*. Intervalo de confiança (IC) de 95% de probabilidade.

	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	R_{ST}	N_m^*
Estimativa	-0,170	-0,085	0,073	0,041	3,174
Limite inferior (IC 95%)	-0,517	-0,458	0,021	0,013	11,654
Limite superior (IC 95%)	0,184	0,262	0,123	0,040	1,782

* N_m calculado com base no F_{ST} .

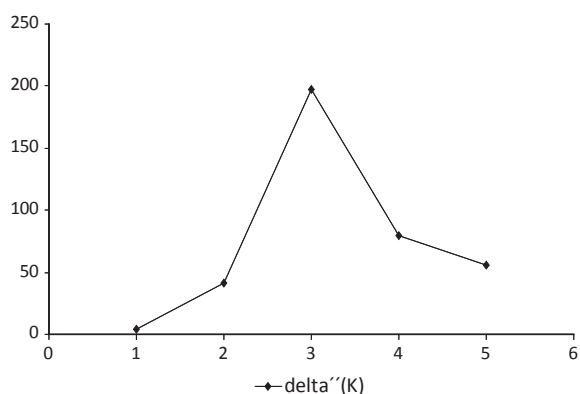


Fig 1 Valores de ΔK para cada valor de K , calculado de acordo com o proposto por Evanno et al (2005). O maior valor de ΔK corresponde ao K otimo.

(população 5) foi a unica que apresentou padrão diferente das demais, com $Q > 0,3$ (grupo vermelho) (Fig 3).

Estrutura genetica

O ndice de fixação da especie F_{IS} estimado com seis locos de SSR, foi menor que zero, sendo este uma medida da endogamia. A endogamia intrapopulacional das populações analisadas pode ser considerada nula, visto que o IC a 95% das estimativas não foi significativo, isto e, inclui o zero. Provavelmente existe grande troca genica nessas populações e as mesmas estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A variação interpopulacional foi considerada baixa. O valor de R_{ST} estimado foi de 0,041 e o de F_{ST} igual a 0,073. De outro modo, pode-se dizer que existem 4,1 % de variação entre as populações estimada pelo valor do R_{ST} e 7,3% de variação calculada pelo valor do F_{ST} . Essas estimativas foram relativamente congruentes e significativamente diferentes de zero, como pode se observar na Tabela 6. O parâmetro N_m , estimado com base na estimativa de F_{ST} , resultou no valor de 3,174 indivíduos, indicando uma taxa de migrantes entre as populações de grandeza intermediária. Esse valor pode ser um indício de que as populações ainda possuem uma estrutura metapopulacional, ou seja, existe fluxo genico entre elas.

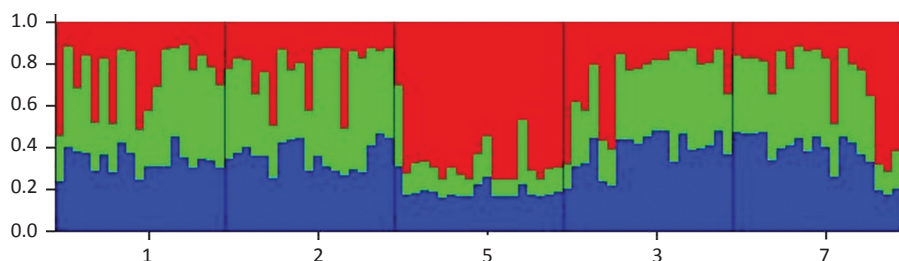


Fig 2 Teste de atribuição para as femeas de mosca-branca avaliadas em cinco populações ($K = 3$). As femeas amostradas nas populações estão representadas pelas barras verticais coloridas. A mesma cor em diferentes populações indica que pertencem ao mesmo grupo. Cores diferentes na mesma barra indicam a porcentagem do genoma compartilhado com cada grupo. No eixo Y estão os valores de Q : coeficiente de participação do indivíduo em um determinado grupo, e no eixo X, as populações.

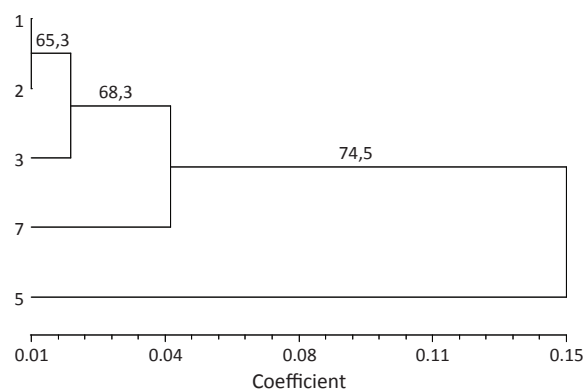


Fig 3 Padrão de divergência genetica entre cinco populações de *Bemisia tabaci*, definido pelo agrupamento UPGMA, com base na identidade genética obtida a partir das distâncias genéticas de Nei (1978), para os locos microssatélites. Correlação cofenética igual a 0,97.

As distâncias genéticas de Nei calculadas entre as populações variaram de -0,006 a 0,173 (Tabela 7). A estruturação da variabilidade genética dessas populações pode ser visualizada no dendrograma apresentado na Fig 3. O dendrograma obtido a partir das medidas de similaridade pode ser verificado pelo agrupamento pelo método UPGMA (Fig 3). A correlação cofenética dentre as distâncias genéticas de Nei e as obtidas no dendrograma foi alta e igual a 0,97, mostrando que os dados de distâncias são bem explicados pelo dendrograma apresentado. Forma-se um grupo com apenas a população 5 diferenciando-se das demais a 0,15 de distância (74,5 %). As populações mais similares são 1 e 2, com 0,01 de distância (65,3 %). Isso corrobora a hipótese de agrupamento em função da localização geográfica, visto que as populações 1 e 2 são provenientes de Barreiras - BA; contudo, não foi coerente com a especificidade do hospedeiro.

As oito populações de *B. tabaci* avaliadas para os iniciadores BEM 11, BT - b 159, BEM 22, BEM 23, BEM 6, BT - d 26, BT - 83, BEM 31, BT - t 19, BEM 40, BT - b 55, BEM 20, BT - b 53, BT - 4, BT - b34, BEM 14, BEM 15, BEM 18, BEM 39, BEM 21, BT - b 155 não apresentaram variação genética. Esses dados diferem daqueles

Tabela 7 Distâncias genéticas de NEI (1978), calculadas entre as populações de *Bemisia tabaci*.

	Pop 1	Pop 2	Pop 5	Pop 3	Pop 7
Pop 1	0,000				
Pop 2	-0,006	0,000			
Pop 5	0,123	0,128	0,000		
Pop 3	0,023	0,009	0,173	0,000	
Pop 7	0,042	0,050	0,170	0,037	0,000

Pop 1: Abóbora – Barreiras (BA); Pop 2: Algodão – Barreiras (BA); Pop 3: Soja – Campinas (SP); Pop 5: Tomate – Cruz das Almas (BA); Pop 7: Soja – Rondonópolis (MT).

observados por De Barro *et al* (2003), Tsagkarakou & Roditakis (2003) e Tsagkarakou *et al* (2007). Porém, esses autores verificaram polimorfismo analisando diferentes biótipos e numa extensão geográfica em maior escala que a estudada neste estudo. No caso das cinco populações (nomeadas 1, 2, 3, 5 e 7 - Tabela 1) de *B. tabaci* avaliadas com os iniciadores BT – b 69, BEM 12 ii, BEM 25, BEM 37, BT – b 103 e BT – e 49, houve variação genética, conforme relatado por outros (Tsagkarakou & Roditakis 2003, De Barro *et al* 2003, Tsagkarakou *et al* 2007).

Quanto à variação genética, o polimorfismo foi relativamente baixo; porém, foram encontrados 31 alelos nos seis locos polimórficos. O número médio de alelos por loco foi de 3,30 e a heterozigotidade média esperada média foi de 0,482, sendo maior que a encontrada por Delatte *et al* (2006) em estudo similar.

O valor médio encontrado de F_{IS} pode ser considerado nulo nas populações de *B. tabaci*, sugerindo que a espécie aproxima-se da panmixia, e indica que as frequências alélicas dessas populações podem se encontrar nas proporções de equilíbrio de Hardy-Weinberg, para a geração. Esse resultado é semelhante ao observado por Delatte *et al* (2006), onde a estimativa foi de 0,18, indicando um pouco de endogamia intrapopulacional. Porém, vale ressaltar que foram utilizados diferentes locos microssatélites.

Govindaraju (1989) distinguiu três níveis de fluxo gênico: alto ($N_m > 1$), intermediário ($0,25 < N_m < 0,99$) e baixo ($N_m < 0,25$). De acordo com esses níveis, o fluxo gênico encontrado neste estudo foi alto (3,17). Sendo a estimativa de fluxo gênico calculada através do parâmetro F_{ST} , o fluxo estimado neste trabalho não deve ser considerado contemporâneo, mas baseado na história genética destas populações. Dessa forma, deve-se atentar para esse fato em outros estudos que utilizam essa estimativa.

Quanto à medida da diversidade entre populações, as estimativas de R_{ST} e F_{ST} foram muito semelhantes. A diferença entre as estimativas deve-se ao processo de evolução dessas populações. Ou seja, o quanto elas estão

divergindo no tempo, isto devido ao modelo evolutivo das mesmas. Esses valores foram idênticos aos encontrados por Delatte *et al* (2006) com outros microssatélites, onde a estimativa de F_{ST} foi também de 0,07, indicando que existe 7% de variação interpopulacional, sugerindo serem os microssatélites muito sensíveis para mensurar a diferenciação entre populações.

O fluxo gênico foi considerado intermediário e o número de alelos privados foi 8, indicando que algumas populações trocam menos alelos que outras, como é o caso da população 1, que possui fluxo gênico mais restrito.

Os valores encontrados na correlação entre as matrizes de distâncias geográficas e genéticas estão apresentados no dendrograma, sugerindo um padrão da variabilidade genética existente entre as populações, sendo que as populações 1 e 2 estão muito próximas genética e geograficamente, apesar de possuírem hospedeiros diferentes. É provável que a estrutura apresente pouco fluxo gênico a pequenas distâncias (isolamento pela distância) e que decresça com o aumento da distância.

As populações parecem mais específicas às regiões do que aos hospedeiros e não são muito diferentes, acreditando-se que todas pertençam ao mesmo biótipo de mosca-branca.

Com base nas comparações das populações examinadas por meio de SSRs, supõe-se que apenas o biótipo B esteja presente nessas regiões do país onde foram feitas as coletas, uma vez que adultos de *B. tabaci* da população 3 (soja – Campinas) já foram caracterizados como pertencentes ao biótipo B (Fontes *et al* 2010).

De acordo com os resultados obtidos, infere-se que os marcadores moleculares são adequados para a caracterização de populações e, portanto, podem fornecer marcadores específicos para o complexo *B. tabaci*.

Agradecimentos

À Fundação de Apoio a Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de pós-doutoramento concedida à primeira autora e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de produtividade em pesquisa concedida ao quarto autor.

Referências

- Banks GK, Bedford ID, Beitia FJ, Rodriguez-Cerezo E, Markham PG (1999) A novel geminivirus of *Ipomoea indica* (Convolvulaceae) from Southern Spain. *Plant Dis* 83: 486.
- Bedford ID, Briddon RW, Brown JK, Rosell RC, Markham PG (1994) Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. *Ann Appl Biol* 125: 311-325.

- Bellows Jr TS, Perring TM, Gill RJ, Headrick RH (1994) Description of a species of *Bemisia*. *Ann Entomol Soc Am* 87: 195-206.
- Berlinger MJ (1986) Host plant resistance to *Bemisia tabaci*. *Agric Ecosyst Environ* 17: 69-82.
- Berry SD, Fondong VN, Rey C, Rogan D, Fauquet CM, Brown JK (2004) Molecular evidence for five distinct *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) geographic haplotypes associated with cassava plants in Sub Saharan Africa. *Ann Entomol Soc Am* 97: 852-859.
- Brown JK, Coats SA, Bedford ID, Markham PG, Bird J, Frohlich DR (1995a) Characterization and distribution of esterase electromorphs in the whitefly *Bemisia tabaci* Genn (Homoptera: Aleyrodidae). *Biochem Genet* 33: 205-214.
- Brown JK, Frohlich DR, Rosell RC (1995b) The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex?. *Annu Rev Entomol* 40: 511-534.
- De Barro PJ, Scott KD, Graham GC, Lange CL, Schutze MK (2003) Isolation and characterization of microsatellite loci in of *Bemisia tabaci*. *Mol Ecol Notes* 3: 40-43.
- Delatte H, David P, Granier M, Lett JM, Goldbach R, Peterschmitt M, Reynaud B (2006) Microsatellites reveal extensive geographical, ecological and genetic contacts between invasive and indigenous whitefly biotypes in an insular environment. *Genet Res* 87: 109-124.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Mol Ecol* 14: 2611-2620.
- Fontes FVHM, Colombo CA, Lourenção AL (2010) Caracterização molecular e divergência genética de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) em diferentes culturas e locais de cultivo. *Neotrop Entomol* 39: 221-226.
- França FH, Villas-Bôas GL, Branco MC (1996) Ocorrência de *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Homoptera: Aleyrodidae) no Distrito Federal. *An Soc Entomol Brasil* 25: 369-372.
- Goodman SJ (1997) Rst Calc: a collection of computer programs for calculating estimates of genetic differentiation from microsatellite data and a determining their significance. *Mol Ecol* 6: 881-885.
- Govindaraju DR (1989) Variation in gene flow levels among predominantly self-pollinated plants. *J Evol Biol* 2: 173-181.
- Jones DR (2003) Plant viruses transmitted by whiteflies. *Eur J Plant Pathol* 109: 195-219.
- Lewis P, Zaykin D (2000) Genetic data analysis: computer program for the analysis of allelic data. (Software). Version 1.0(d12). Disponível em: <<http://alleyn.eeb.uconn.edu/gda/>>. Acesso em 21 de novembro de 2006.
- Lourenção AL, Nagai H (1994) Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no estado de São Paulo. *Bragantia* 53: 53-59.
- Maruthi MN, Colvin J, Seal S (2001) Mating compatibility, life - history traits, and RAPD – PCR variation in *Bemisia tabaci* associated with the cassava mosaic disease pandemic in East Africa. *Entomol Exp Appl* 99: 13-23.
- Miller M (1997) TFPGA (Tools for population genetic analyses). Version 1.3: a windows program for analyses of allozyme and molecular population genetic data. Disponível em: <http://iubio.bio.indiana.edu:7780/archive/00000446/>. Acesso em 1997.
- Mound LA (1963) Host-correlated variation in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). *Proc R Entomol Soc Lond Ser A Gen Entomol* 38: 171-180.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Norman JW, Riley DG, Stansly PA, Ellsworth PC, Toscano NC (1996) Management of silverleaf whitefly: A comprehensive manual on the biology, economic impact and control tactics. Washington, USDA, s.d., 13p.
- Perring TM (2001) The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Prot* 20: 725-737.
- Queiroz da Silva PR (2006) Caracterização molecular e desenvolvimento de marcadores específicos para a detecção de biótipos de mosca-branca *Bemisia tabaci*. Tese de doutorado, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 132p.
- Rohlf FJ (1989) NTSYS-Pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system. New York, Exeter Publisher, 210p.
- Simón B, Cenis JL, De La Rúa P (2007) Distribution patterns of the Q and B biotypes of *Bemisia tabaci* in the Mediterranean Basin based on microsatellite variation. *Entomol Exp Appl, OnLine Early Articles*, 15-jun-2007, <doi: 10.1111/j.1570-7458.2007.00586.x>.
- Slatkin M (1995) A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 130: 457-462.
- Tsagkarakou A, Roditakis N (2003) Isolation and characterization of microsatellite loci in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Mol Ecol Notes* 3: 196-198.
- Tsagkarakou A, Tsigenopoulos CS, Gorman K, Lagnel J, Bedford ID (2007) Biotype status and genetic polymorphism of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Greece: mitochondrial DNA and microsatellites. *Bull Entomol Res* 97: 29-40.
- Villas Bôas GL, França FH, Ávila AC, Bezerra IC (1997) Manejo integrado de mosca branca *Bemisia argentifolii*. Brasília, EMBRAPA-CNPq, 11p. EMBRAPA-CNPq, Circular Técnica 9.
- Weir BS (1996) Genetics data analysis II: methods for discrete population genetic data. Sunderland, Sinauer Associates, 455p.