

## ***Bemisia tabaci* (Gennadius, 1899) biotipo B, primer registro para Venezuela utilizando RAPD's- PCR**

Jorge Salas<sup>1</sup>, Eustaquio Arnal<sup>2</sup>

<sup>1</sup> INIA-CIAE, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas-Centro de Investigaciones Agrícolas del Estado Lara, Apdo. 592, Barquisimeto, Edo. Lara, Venezuela. E-mail: salasjl@hotmail.com

<sup>2</sup> INIA-CENIAP Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas-Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Apdo. 4653, Maracay, Edo. Aragua. E-mail: eustaquioarnal@yahoo.com

### Resumen

SALAS J, ARNAL E. 2001. *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1899) biotipo B, primer registro para Venezuela utilizando RAPD's- PCR. Entomotropica 16(3):181-185.

Se reporta por primera vez en Venezuela la presencia del biotipo B de *Bemisia tabaci* en tomate, melón, pepino y auyama en dos importantes regiones hortícolas del país. La determinación se hizo a través del análisis molecular utilizando RAPD's-PCR. En los cultivos melón y auyama se encontraron poblaciones de los dos biotipos B y no-B.

**Palabras clave adicionales:** Aragua, electroforesis, hortalizas, Lara, mosca blanca.

### Abstract

SALAS J, ARNAL E. 2001. *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1899) biotype B, first record for Venezuela using RAPD's- PCR. Entomotropica 16(3):181-185.

*Bemisia tabaci* B biotype is reported for the first time in Venezuela attacking tomato, melon, cucumber and pumpkin in two important vegetable producing regions. Determinations were based on PCR-RAPD analysis. In melon and pumpkin populations of *B. tabaci* biotype B and biotype non-B were found.

**Additional key words:** Aragua, electrophoresis, Lara, whiteflies, vegetable crops.

### Introducción

La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1899) (Homoptera: Aleyrodidae), fue reportada por primera vez en Venezuela por Wolf et al. en 1949, quienes citaron un virus transmitido por *B. tabaci* en tabaco, conocido como "virus del encrespamiento de la hoja del tabaco" ("tobacco leaf curl"). Debrot et al. (1963), citan a *B. tabaci* en estudios sobre la transmisión del mosaico amarillento del tomate, siendo los adultos identificados por Miss Louise Russell, U.S.D.A, Beltsville, Maryland, U.S.A. Más tarde, *B. tabaci* es referida como vector de enfermedades virales, tipo "mosaico" en tomate, soya, papa y plantas euforbiáceas (Debrot y Ordosgoitti 1975; Uzcátegui y Lastra 1978; Debrot y Centeno 1985a,b). Arnal et al. (1993a, b; 1997), reportan la presencia de *B. tabaci* en diferentes plantas cultivadas, malezas y silvestres en distintas localidades de los estados Aragua, Falcón, Bolívar, Lara, Portuguesa, Zulia, Anzoátegui, Guárico, Carabobo, Cojedes, Barinas y Yaracuy. Brown (1990) en su trabajo de actualización de los geminivirus

transmitidos por moscas blancas en las Américas y el área del Caribe, indica que en el pasado *B. tabaci* ha sido reconocida como una plaga esporádica y vector de enfermedades virales en zonas tropicales y subtropicales americanas. Igualmente, la misma autora reporta que durante la década de los 70 y comienzos de los 80, la aparición de síntomas virales en algodón y cultivos hortícolas asociados a *B. tabaci* comenzaron a incrementarse, así como también la importancia de estas enfermedades. Esta tendencia continuó su escalada en las áreas tropicales americanas y especialmente en la región caribeña, amenazando la producción comercial de cultivos solanáceos como el tomate, así como leguminosas y cucurbitáceas. Estas enfermedades fueron asociadas a las recientes infestaciones de *B. tabaci* en Centroamérica (Brown 1990). En los últimos años de la década de los 80 (1987-88), se observaron desórdenes en plantas como la "madurez desuniforme del fruto del tomate", y el síntoma de "hoja plateada" en calabacín *Cucurbita pepo*

CUADRO 1. Biotipos de *B. tabaci* detectados en diferentes cultivos y localidades de los estados Lara y Aragua, Venezuela. 1997-98.

Fecha	Localidad geográfica	Cultivo	Biotipo
02-12-97	Quibor, estado Lara	pepino, var. Poinsett 76 <i>Cucumis sativus</i>	02 B
11-12-97	Quibor, estado Lara	Auyama, var. desconocida <i>Cucurbita maxima</i>	34 B, 01 no-B
22-11-97	Siquisique, estado Lara	Melón, hib. Durango <i>Cucumis melo</i>	08 B, 09 no-B
27-01-98	Guanayen, estado Aragua	Tomate, hib. Brigade <i>Lycopersicon esculentum</i>	01 B
29-01-98	El Cortijo, Valle Tucutunemo, estado Aragua	Papa, var. desconocida <i>Solanum tuberosum</i>	02 no-B
29-01-98	El Cortijo, Valle Tucutunemo, estado Aragua	Pepino, var. desconocida <i>Cucumis sativus</i>	02 B
29-01-98	El Cortijo, Valle Tucutunemo, estado Aragua	Auyama, var. desconocida <i>Cucurbita maxima</i>	01 B

L. en el estado de Florida, EEUU, asociados a poblaciones altas de *B. tabaci*.

A finales de la década de los 80 y comienzos de la siguiente, después de la aparición de una mosca blanca causando graves problemas económicos en diversos cultivos en el sur de California, EEUU, se comenzó a hablar de 2 razas (biotipos) de *B. tabaci* en ese país, la raza B conocida también como "raza Florida" o "raza poinsettia" que se detectó por primera vez en el estado de Florida, y la otra raza de más vieja data que se conocía como *B. tabaci*, nombrada después como raza A o "raza algodón", las cuales eran diferentes en cuanto al daño causado y a la gama de plantas hospederas (Perring et al. 1991, Perring et al. 1992). Después del nombramiento de la mosca blanca de la hoja plateada *Bemisia argentifolii* en 1994, como una nueva especie (Bellows et al. 1994), algunos autores han considerado al biotipo B como una nueva especie, pero referido como el biotipo B de *B. tabaci* (Bentz et al. 1995, Blua et al. 1995, Headrick et al. 1995, Liu & Stansly 1995, Naranjo & Flint 1995, Zalom et al. 1995). Otros autores aun cuando mencionan a *B. argentifolii* como una nueva especie, muestran una tendencia a identificarse con la existencia de un complejo de biotipos dentro del género *Bemisia* y prefieren señalarla como *Bemisia* spp. (Brown et al. 1995, Rossel et al. 1997).

En Venezuela, en el año 1990, se reporta en los estados Guarico, Aragua, Lara y Falcón, la repentina aparición de grandes poblaciones de una mosca blanca, la cual se creyó en ese entonces fuera *B. tabaci* atacando varios cultivos especialmente tomate de uso agroindustrial, con pérdidas estimadas entre un 50 y 60% (Anónimo 1990). Jones (1991), reporta que en 1990 se registraron en Venezuela, pérdidas de hasta

50% en la cosecha de melones. A inicios del año 2001, no existe en Venezuela una publicación, con una base científica, sobre la existencia del biotipo B de *B. tabaci*.

## Materiales y Métodos

En 1998 se enviaron muestras de ninfas preservadas en etanol 70% para la determinación de biotipos al Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) en Cali, Colombia, que coordina el proyecto "Manejo Integrado Sostenible de Moscas Blancas como Plagas y Vectores de Virus Vegetales en los Trópicos". Las muestras de ninfas fueron colectadas en hojas en diferentes cultivos y localidades de los estados Lara y Aragua (Cuadro 1). Los especímenes estudiados fueron previamente identificados como *B. tabaci*, según las características morfológicas de la caja puparia. La extracción y amplificación del ADN total se hizo de acuerdo a una modificación hecha por Markham (en prensa) a la metodología de De Barro y Driver (1997). Para la detección de *B. tabaci* biotipo B se utilizaron marcadores moleculares de carácter dominante (RAPD-PCR) (ADN Polimórfico Ampliado Aleatorio-Reacción en Cadena de Polimerasas) empleando los cebadores Operon H9 (5' TGT AGC TGG G 3') y Operon F12 (5' ACG GTA CCA G 3'). Los productos de la amplificación se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa de 1.5% y el marcador de peso molecular empleado fue el 1 kb, ya que las bandas de diagnóstico para el biotipo B se encuentran entre 500 y 1000 b. Inicialmente todos los especímenes fueron evaluados con el cebador Operon H9 porque genera un perfil electroforético no tan diverso, pero con polimorfismos suficientes para identificar el biotipo B. En algunos casos, cuando la detección no era lo suficientemente clara, se utilizó el

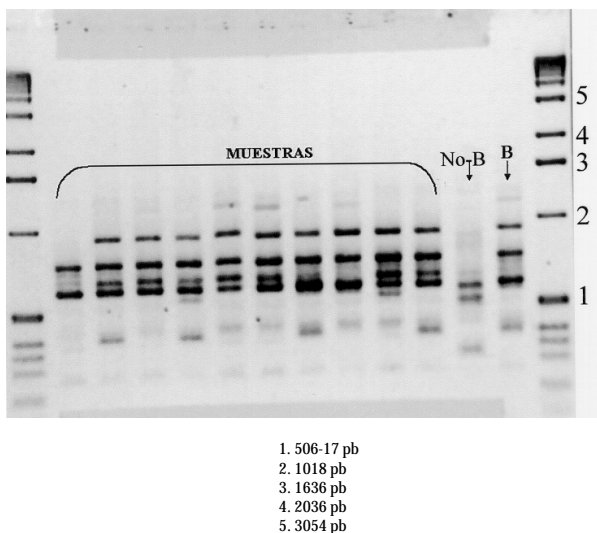


FIGURA 1. RAPD's de *Bemisia tabaci*: B (biotipo B), No-B (biotipo No-B). Cebador H9, marcador de peso molecular 1kb. La mayoría de las muestras tiene un patrón que corresponde al del biotipo B.

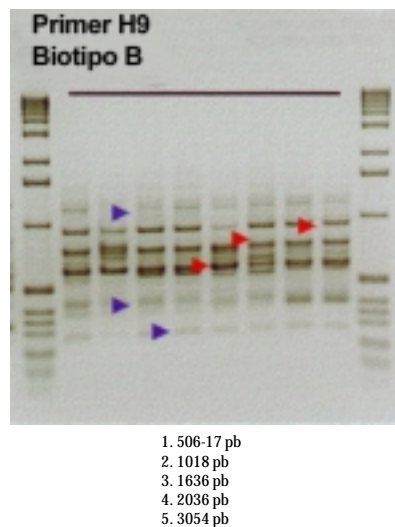


FIGURA 2. Patrones electroforéticos obtenidos mediante RAPD's-PCR con el cebador H9. Biotipo "B" de *B. tabaci*, marcador de peso molecular 1Kb. Las flechas indican la presencia de bandas diagnósticas para el biotipo B de *B. tabaci*. Las rojas indican bandas que se pueden observar con mayor intensidad y las azules aunque son de menor intensidad y algunas veces su presencia puede ser difícil de determinar, también pueden apoyar la identificación del biotipo.

cebador Operon F12, el cual es un poco más diverso. Por lo tanto, los resultados están basados principalmente en perfiles electroforéticos obtenidos con el cebador Operon H9. Especímenes documentales (voucher specimens) de *B. tabaci* utilizados en este trabajo, son conservados en las colecciones de insectos del Departamento de Protección Vegetal del INIA, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) y del Centro de Investigaciones Agrícolas de Estado Lara (CIAE-Lara)

## Resultados

De un total de 262 individuos analizados, 48 resultaron ser del biotipo B de *B. tabaci*, por presentar el patrón de RAPD específico de este biotipo (Figura 1) y 12 resultaron como biotipo no-B (Cuadro I), mientras que los restantes pudieron pertenecer a otros biotipos, o resultaron negativos para la amplificación. En la figura 2, se presentan los patrones electroforéticos obtenidos con el cebador H9. Las tres bandas diagnósticas más fuertes están entre 500 y 1000 b, representadas con saetas o flechas de color rojo, y dos bandas un poco débiles, representadas con el color azul, una a la altura de 400 b y la otra

aproximadamente a 1200 b. Las bandas diagnósticas estuvieron entre 300 y 1200 b.

## Discusión

A través de las pruebas realizadas queda claramente establecida la existencia del biotipo B de *B. tabaci* en Venezuela, en los cultivos tomate, pepino, melón y ayuama, pero como el insecto se cría en más de 100 plantas hospederas en Venezuela (Arnal et al. 1993b; 1997), estos resultados justifican una investigación más intensiva para definir con más precisión la distribución del biotipo B de *B. tabaci* u otros biotipos. Análisis de esterases no específicas han permitido confirmar la presencia de poblaciones del biotipo B de *B. tabaci* en once países de América tropical, excepto Venezuela y otros (Brown 1993). Quintero et al. (1998) confirmaron por primera vez la presencia del biotipo B de *B. tabaci* en Colombia, mediante estudios bioquímicos, moleculares y etológicos. En cuanto al biotipo no-B, la Dra. P. K. Anderson (comunicación personal 1999), señala que el biotipo determinado, presentó un patrón de bandas típico del biotipo A encontrado en la región suroeste de EEUU, pero no indica que sea el biotipo A de *B. tabaci*. Además, sugiere que para confirmar si el biotipo A está presente en Venezuela, es necesario

estudiar completamente su biología. Finalmente indica lo interesante de la existencia en Venezuela de poblaciones de los biotipos B y no-B en algunas plantas hospederas, ya que en los resultados del proyecto que ella coordina, se consigue muy a menudo esta situación. Cabe destacar que de los biotipos B detectados, 96% correspondieron al estado Lara y 4% a Aragua. La información presentada, apenas refiere la existencia de dos biotipos de *B. tabaci* en los estados Lara y Aragua, pero promueve la iniciativa de diagnosticar con mayor precisión la existencia de otros biotipos y un mayor número de enfermedades virales en nuestro país, ya que han sido citados, hasta cinco biotipos en Centroamérica (Caballero 1993), lo cual indica la variabilidad genética en las poblaciones de *B. tabaci*.

### Agradecimiento

Los autores agradecen a la Dra. Pamela Anderson, Ms. Natalia Villarreal, Dr. Leo Calvert y Dr. Francisco Morales en CIAT, Cali, Colombia por la colaboración prestada en la determinación de los biotipos de *B. tabaci*, y a la agencia donante del proyecto Danish Internacional Development Agency (DANIDA). Nuestras gracias a la Dra. Yuseli Zambrano, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-CENIAP) y al Ingeniero Luis Tovar, Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía (UCV), por la revisión crítica y observaciones al manuscrito. Igualmente reconocemos la valiosa labor de los técnicos asistentes del INIA, Fidel Ramos y Omar Mendoza, en la realización de este trabajo.

### Referencias

- [ANÓNIMO]. 1990. Daños al agroecosistema causados por la mosca blanca. El Nacional (Caracas); Sección Ecología, jun 27, 1990, pagina C-3.
- ARNAL E, RUSSELL L M; DEBROT E; RAMOS F; CERMELI M; MARCANO R; MONTAGNE A. 1993a. Lista de moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) y sus plantas hospederas en Venezuela. Florida Entomol 76(2):365-381.
- ARNAL E, RAMOS F, DEBROT E. 1993b. Plantas hospederas de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Venezuela. Agronomía Trop 4(5-6) 267-283.
- ARNAL E, RAMOS F. 1997. Incorporación de plantas hospederas a la colección de moscas blancas del genero *Bemisia*. En resúmenes XV Congreso Venezolano de Entomología. Trujillo, Venezuela. p5.
- BELLOWS JR. TS; PERRING TM, GILL RJ, HEADRICK DH. 1994. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). Ann Entomol Soc Am 87(2):195-206.
- BENTZ J, REEVES III J, BARBOSA P, FRANCIS B. 1995. Within-plant variation in nitrogen and sugar content of poinsettia and its effects on the oviposition pattern, survival and development of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). Environ Entomol 24 (2):271-277.
- BLUA J M, YOSHIDA H A, TOSCANO N C. 1995. Oviposition preference of two *Bemisia* species (Homoptera: Aleyrodidae). Environ Entomol 24 (1):88-93.
- BROWN JK. 1990. An Update on the Whitefly-transmitted Geminiviruses in the Ameñcas and the Caribbean Basin. FAO Plant Prot Bull 39(1):5-23.
- BROWN J K. 1993. Evaluación crítica sobre los biotipos de mosca blanca en América, de 1989 a 1992. pp. 1-9. En: Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre moscas blancas. CATIE, Turrialba, Costa Rica Agosto 3-5, 1992.
- BROWN JK, FROLICH D R, ROSSEL R C. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: Biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex?. Annu Rev Entomol 40:511-534.
- CABALLERO R. 1993. Importancia de la identificación de biotipos de *Bemisia tabaci* (Gennadius) Centroamérica. En: Resúmenes II Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas. Managua. Nicaragua. p 5.
- DE BARRO P J, DRIVER F. 1997. Use of RAPD-PCR to distinguish the B biotype from other biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). Austr J Entomol 36:149-152.
- DEBROT C E; HEROLD F, DAO F. 1963. Nota Preliminar sobre un "Mosaico Amarillento" del Tomate en Venezuela. Agronomía Trop 13(1):33-42.
- DEBROT C EA, ORDOSGOITTI F A. 1975. Estudio sobre un Mosaico Amarillo de la Soya en Venezuela. Agron Trop 25(5):435-449.
- DEBROT E, CENTENO F. 1985a. Infección Natural de la Papa en Venezuela con el Mosaico Amarillo del Tomate, un Geminivirus transmitido por Moscas Blancas. Agron Trop 35(1-3):125-138.
- DEBROT E, CENTENO F. 1985b. Ocurrencia del virus mosaico de las Euforbiáceas infectando a *Euphorbia heterophylla* L., en Venezuela. Agron Trop 36(4-6):5-12.
- HEADRICK D H, BELLOWS JR T S, PERRING T M. 1995. Behavior of female *Eretmocerus* sp. n.r. californicus (Hymenoptera: Aphelinidae) attacking *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on sweet potato. Environ Entomol 24(2):412- 422.

- JONES K. 1991. Manejo Integrado de Plagas: Solución al Problema de la Mosca Blanca?. Agrotec 91. Informe presentado por la Cámara Británica de Comercio y el Banco Latino. mimeo. 6p.
- LIU T-X, STANSLY P A. 1995. Oviposition by *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato: effects of leaf factor and insecticide residues. J Econ Entomol 88(4):992-997.
- NARANJO SE, FLINT H M 1995. Spatial distribution of adult *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in cotton and development and validation of fixed-precision sampling plan for estimating population density. Environ Entomol 24(2):261-270.
- PERRING T M, COOPER A, KAZMER D J, SHIELDS C, SHIELDS J. 1991. New strain of sweetpotato whitefly invades California vegetables. Calif Agric 45(6):10-12.
- PERRING T M, COOPER A, KAZMER D J. 1992. Identification of the poinsettia strain of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in broccoli by electrophoresis. J Econ Entomol 85:1278-1284.
- QUINTERO C, CARDONA C, RAMÍREZ D Y, JIMÉNEZ N. 1998. Primer registro del biotipo B de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia. Rev Colombiana Entomol 24 (1-2):1-5.
- ROSSEL R C, BEDFORD I D, FROLICH D R, GILL R J, BROWN J K, MARKHAM P G. 1997. Analysis of morphological variation in distinct populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Ann Entomol Soc Am 90(5):575-589.
- UZCATEGUI RC, LASTRA R. 1978. Transmission and Physical Properties of the Causal Agent of Mosaico Arnarillo del Tomate (Tomato Yellow Mosaic). Phytopathology 68(7):985-988.
- WOLF FA, WHITCOMB WH, MOONEY WC. 1949. Leaf Curl of Tobacco in Venezuela. J Elisha Mitchell Sci Soc 65:38-47.
- ZALOM F G, CASTANE C, GABARRA R. 1995. Selection of some winter-spring vegetable crops hosts by *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). J Econ Entomol 88 (1):992-997.

Recibido: 09-vi-2000

Aceptado: 21-x-2001

Correcciones devueltas por el autor: 30-xi-2001