

## Evaluación de la diversidad genética de mosca blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius, 1889) sobre pimentón (*Capsicum annuum* L.) en Moroturo, estado Lara, mediante RAPD

Nayfer Alvarado, Hernán Eduardo Laurentin

Departamento de Ciencias Biológicas, Decanato de Agronomía. Universidad Centrooccidental Lisandro Alvarado, estado Lara - Venezuela.  
E-mail: nayfer\_18@hotmail.com

### Resumen

ALVARADO N, LAURENTIN HE. 2013. Evaluación de la diversidad genética de mosca blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius, 1889) sobre pimentón (*Capsicum annuum* L.) en Moroturo, estado Lara, mediante RAPD. ENTOMOTROPICA 28(3): 219-226.

Con la finalidad de evaluar la variabilidad genética en dos sub-poblaciones de *Bemisia tabaci* sobre el cultivo del pimentón (*Capsicum annuum* L.) en Moroturo (Municipio Urdaneta, estado Lara) mediante el polimorfismo de ADN amplificado al azar (RAPD), se colectaron 13 individuos de cada una de dos sub-poblaciones separadas espacialmente por aproximadamente 1 km de distancia. Se extrajo ADN de cada individuo, y a partir de este, se obtuvo el perfil electroforético para cada uno de los 26 individuos mediante el uso de 5 oligonucleótidos. Se lograron 37 bandas, todas polimórficas, las cuales permitieron identificar una amplia variabilidad intra e interpoblacional, infiriéndose la existencia de barreras espaciales y/o temporales que han limitado el flujo genético entre ambas sub-poblaciones.

**Palabras clave adicionales:** Flujo genético, polimorfismo de ADN, variabilidad genética.

### Abstract

ALVARADO N, LAURENTIN HE. 2013. Evaluation of genetic diversity in whitefly (*Bemisia tabaci* Gennadius, 1889) on sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) at Moroturo, Lara state, Venezuela, by means of RAPD. ENTOMOTROPICA 28(3): 219-226.

To evaluate genetic diversity on two sub-populations of *Bemisia tabaci* on sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) in Moroturo (Urdaneta Municipality, Lara state) by means of random amplified polymorphic DNA (RAPD), 13 individuals were collected from each of two populations, which were separated by around 1 km. DNA was obtained from each individual to perform PCR and getting the fingerprint of the 26 individuals, using 5 primers. Thirty seven band were obtained, 100 % polymorphic. They identified a broad variability within- and between populations. That is explained by spatial and time barriers which are limited genetic flow between sub-populations.

**Additional key words:** Genetic flow, genetic variability, polymorphic DNA.

## Introducción

La mosca blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius, 1889; Homoptera: Aleyrodidae) se caracteriza por ser fitófago y polífago, y por ocasionar daños importantes en cultivos comerciales como tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) (Liu et al. 2011), ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) (Laurentin y Pereira 2002) y numerosas hortalizas entre las cuales está el pimentón (*Capsicum annuum* L.) (Ballina-Gómez et al. 2013). Como daño directo, las ninfas y adultos se alimentan de la savia de las plantas, provocando su debilitamiento y disminuyendo su crecimiento (González y Gallardo 1999; Asimwe et al. 2007); y como daños indirectos las moscas blancas tienen la capacidad de transmitir virus a sus hospederos, afectando el desarrollo normal de las plantas, el rendimiento y la calidad de los productos a cosechar (Arnal et al. 1994). Uno de los principales virus transmitidos por la mosca blanca en pimentón, es el virus de la hoja rizada (leaf curlvirus) (Pandey et al. 2010).

El control de mosca blanca en la zona hortícola de Moroturo, municipio Urdaneta del estado Lara, se basa exclusivamente en el uso de insectidas químicos, lo cual no ha permitido un control eficiente y a largo plazo de este insecto plaga. En tal sentido, sería razonable utilizar un esquema de manejo integrado de plagas, dentro del cual el manejo de cultivares resistentes sería una estrategia muy valiosa. La obtención de cultivares resistentes requiere de un amplio conocimiento de la diversidad genética tanto del insecto plaga como del hospedero, por ello, la importancia de lograr caracterizaciones de ambos elementos en la interacción mosca blanca – pimentón. La caracterización de una especie es su descripción en base a una serie de atributos. Laurentin (2011) señala dos tipos principales de caracterización: morfológica y molecular. La caracterización molecular supera las limitantes de la morfológica, puesto que es independiente del genoma y tiene la posibilidad de muestrear el genoma completo (Ovesná et al. 2002).

En *B. tabaci* se han utilizado varios tipos de marcadores moleculares con distintos objetivos. En taxonomía e identificación de esta especie se han utilizado RAPD (Guirao et al. 1994, Salas y Arnal 2001). Para estudios de diversidad genética han sido utilizadas isoenzimas (Tovar et al. 2005) y RAPD (Lima et al. 2000, DeBarro 2005, Samih et al. 2006).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la variabilidad genética en dos sub- poblaciones de *Bemisia tabaci* sobre el cultivo del pimentón en Moroturo (Municipio Urdaneta, estado Lara) mediante el polimorfismo de ADN amplificado al azar (RAPD).

## Materiales y Métodos

### Colecta de adultos de mosca blanca

El material de estudio fue colectado en siembras comerciales de pimentón, en 2 parcelas comerciales ubicadas en los alrededores de la población de Moroturo, municipio Urdaneta del estado Lara. Se identificó una parcela como 1, la cual está ubicada en las coordenadas 10° 33,478' N y 69° 16,707' W; y la otra como 2, ubicada a 10° 32,773' N y 69° 16,247' W. Ambas se encuentran separadas por una distancia de 1 000 m. De cada una de ellas se colectaron trece individuos adultos en frascos de vidrio de 500 mL de capacidad, de boca ancha, los cuales se llevaron vivos al Laboratorio de Genética Molecular de la Unidad de Investigación de Ciencias Biológicas del Decanato de Agronomía de la “Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado”. Allí se introdujeron en un congelador, y se conservaron a una temperatura de -20 °C hasta el momento de hacer la extracción de ADN. Los ejemplares fueron identificados como *Bemisia tabaci* en base a su morfología en el laboratorio de Entomología del Decanato de Agronomía de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Cada individuo fue identificado como pN-n, donde N fue 1 ó 2 según la parcela en la

**Cuadro 1.** Oligonucleótidos utilizados y número de bandas obtenidas en la caracterización molecular de dos poblaciones de *B. tabaci*.

Oligonucleótido	Secuencia	Número total de bandas obtenidas	Número de bandas polimórficas
OPA-01	5'-CAGGCCCTTC-3'	0	0
OPA-02	5'-TGCCGAGCTG-3'	5	5
OPA-04	5'-AATCGGGCTG-3'	8	8
OPA-05	5'-AGGGGTCTTG-3'	15	15
OPA-10	5'.GTGATCGCAG-3'	6	6
OPA-13	5'-CAGCACCCAC-3'	3	3

cual fue colectado, y n fue un número entre 1 y 13, correspondiendo al individuo colectado.

### Extracción de ADN.

La extracción de ADN se hizo individualmente para los 13 individuos de cada una de las subpoblaciones. El ADN genómico total se obtuvo siguiendo el protocolo usado por Cenis et al. (1993). Cada individuo fue triturado en un tubo de 1,5 mL en presencia de 20 µL de buffer de extracción (200 mM tris-HCl pH 8,5; 250 mM NaCl, 25 mM EDTA, 0,5 % SDS); posteriormente se agregaron 10 µL de acetato de sodio 3 M, y se incubaron a -20 °C por 10 min. Luego, el contenido de los tubos fue centrifugado por 5 min a 10 000 rpm y el sobrenadante transferido a otro tubo, al cual se le agregaron 30 µL de isopropanol. Luego de 15 min a temperatura ambiente, se concentró el ADN al fondo del tubo por centrifugación a 13 000 rpm por 20 min y se secó a temperatura ambiente, resuspendiéndose posteriormente en 30 µL de buffer TE (10 mM Tris HCl, 1mM EDTA pH 8). Debido a la poca cantidad de ADN extraído de solo un individuo, no se hizo electroforesis para visualizar la cantidad y calidad del ADN extraído.

### Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Las reacciones PCR fueron realizadas en un volumen final de 20 µL. La mezcla de la reacción estuvo constituida por 5 µL de la suspensión

de ADN; 1,5 U de Taq polimerasa (Gotaq flexi DNA Polymerase, Promega), 200 µM de nucleótidos trifosforilados (dNTPs), gelatina 0,001%, 100 µM de iniciador, y 1X del buffer de reacción, suplementado con 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub> y 6,5 µL de agua libre de nucleasas (Promega). Los iniciadores usados fueron de 10 bases (Operon technology, Inc), del kit A (OPA-01, OPA-02, OPA-04, OPA-05, OPA-10, OPA-13) de secuencias arbitrarias (Cuadro 1). La PCR consistió en un ciclo a 93 °C por 2 minutos y 45 ciclos, bajo las siguientes condiciones: desnaturalización a 94 °C por 1 minuto, alineación a 36 °C por 1 minuto, extensión a 72 °C por 1 minuto. La visualización de los productos de amplificación se logró tomando 8 µL de la reacción, y cargándolos en una cámara de electroforesis horizontal modelo MGU-252T (C.B.S., Estados Unidos) conteniendo un gel de agarosa 1,5 % (p/v). También se cargó, en uno de los carriles, un marcador de tamaño de productos de PCR, consistente en 6 bandas cuyo rango de tamaño va de 50 a 1 000 bp (PCR markers, Promega). Las condiciones de la electroforesis fueron 100 V por 1 hora en buffer TBE 0,5 X. Las bandas de ADN fueron visualizadas bajo luz UV después de que se tiñó el gel en una solución de bromuro de etidio (10 µL mL<sup>-1</sup>). Las imágenes se registraron en un sistema de fotodocumentación VisiDoc-It (UVP, Reino Unido). Cada reacción de PCR fue realizada por duplicado.

## Análisis de Datos

Los datos registrados en el sistema de fotodocumentación se transformaron en una matriz binaria, donde cada combinación individuo – producto de amplificación fue codificada con 1 ó 0 según el producto estaba presente o ausente respectivamente. La presencia fue considerada solo cuando la banda apareció en las dos reacciones de PCR. A partir de esta matriz se hizo un fenograma mediante el cálculo del coeficiente de similitud de Jaccard entre individuos, tal como es establecido para especies diploides con uso de marcadores moleculares dominantes, en estudios sobre individuos sin relación genética conocida (Laurentin 2009), y el uso del método de la media aritmética no ponderada (UPGMA). La validez estadística del fenograma se determinó mediante el coeficiente cofenético de correlación y los valores del análisis bootstrapping. Adicionalmente, se hizo un análisis de coordenadas principales para visualizar las relaciones de similitud existentes entre los individuos.

Sobre el material bajo estudio, se analizó su estructura genética cuantificando la diversidad genética promedio dentro ( $H_s$ ) y entre sub-poblaciones ( $D_{st}$ ) con los parámetros propuestos por Nei (1973, 1978), con lo cual se pudo calcular el coeficiente de diferenciación genética ( $G_{st}$ ). Los análisis multivariados se lograron con el programa NTSYSpc v 2.11T y el análisis bootstrapping se logró mediante el programa Winboot (Yap y Nelson 1996). Los análisis relacionados con los parámetros de Nei se lograron con el programa Popgene v. 1.31.

## Resultados y discusión

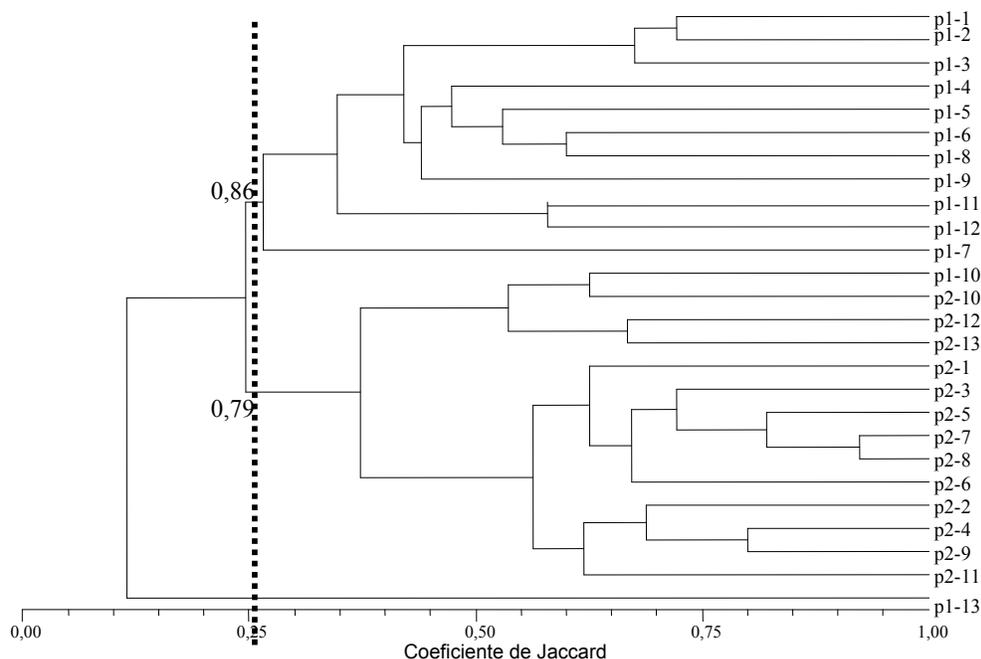
De los seis oligonucleótidos utilizados, cinco lograron productos de amplificación. Tan solo OPA-01 no lo logró. Se obtuvo un total de 37 bandas RAPD. El iniciador que más amplificó fue el OPA-5, con un total de 15 bandas, por lo que de forma preliminar este pudiera ser identificado como un iniciador con gran

potencial de poder discriminativo dentro de esta especie. El de menor amplificación fue el OPA-13, con un total de 3 bandas (Cuadro 1). Se pudieron observar 9 bandas únicas, de las cuales 8 estaban presentes en individuos de la población 1, con los iniciadores OPA-2 (4 bandas únicas), OPA-4 (3 bandas únicas), OPA-5 (1 banda única) y la otra presente en un individuo de la población 2 con el OPA-5. Esto también es indicador del potencial que pudiera tener OPA-05 en estudios de diversidad genética dentro de *B. tabaci*.

El promedio de bandas obtenidas por iniciador, descartando el OPA-01 (pues no amplificó), fue de 7,4 bandas/iniciador. Lima et al. (2002), señalan amplificación por estos oligonucleótidos en un estudio de diversidad genética de *B. tabaci* en poblaciones de Brasil; después de probar 27 iniciadores, solo estos lograron productos de amplificación. Estos autores encontraron 14,4 bandas/iniciador, muy superior a lo obtenido en el presente trabajo, lo cual se debe al mayor número de individuos por ellos utilizados. Algunos de estos cebadores se utilizan habitualmente para diferenciar biotipos A y B en *Bemisia* (Lima et al. 2000).

Los fragmentos amplificados en el presente trabajo resultaron 100 % polimórficos, en un rango de tamaño de 50 a 1 000 pares de bases (pb). Altos niveles de polimorfismo sugieren la existencia de un intenso flujo genético dentro de las sub-poblaciones, el cual permite la expresión de un rango de caracteres y comportamientos que aunque variables, confirman características que definen la especie (Posso et al. 2006).

El promedio del coeficiente de similitud de Jaccard en la sub-población 1 fue de 0,32, dentro de la sub-población 2 fue de 0,53 y entre individuos de la sub-población 1 y sub-población 2 fue de 0,25. Lima et al. (2000) en sus estudios de diversidad genética de poblaciones de *B. tabaci* en Brasil, muestran en sus resultados que poblaciones del biotipo B tienen considerable variabilidad genética con



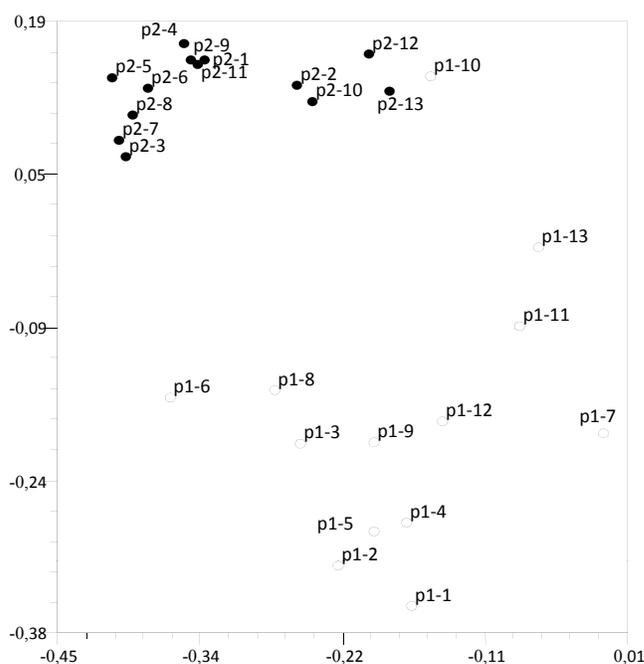
**Figura 1.** Fenograma obtenido mediante el coeficiente de similitud de Jaccard, de 26 individuos de *B. tabaci* colectados sobre dos poblaciones en pimentón. La sub-población a la que pertenece cada individuo es definida por el primer número con que se identifica cada individuo (1 para la sub-población 1, 2 para la sub-población 2).

un promedio de similitud de Jaccard de 0,73. Si se compara estos resultados con los coeficientes de similitud obtenidos en el presente estudio, se observa que hay un mayor nivel de variabilidad genética entre las poblaciones aquí analizadas.

El fenograma construido (Figura 1) se considera confiable en la clasificación de los individuos debido al coeficiente cofenético de correlación obtenido de 0,89. Dicho fenograma logró separar las poblaciones estudiadas en 2 grandes grupos, lo cual ocurrió de manera consistente según muestran los valores de bootstrapping obtenidos (0,86 para el primer grupo y 0,79 para el segundo) probando de esta manera que sí existe variabilidad genética interpoblacional en esta especie; aunque también, este análisis muestra que uno de los individuos (p1-13), perteneciente a la sub-población 1, está ubicado en el grupo de individuos de la sub-población

2. La forma como está ubicado este individuo parece ser más un problema del método de clasificación que una verdadera diferenciación genética, tal como lo indica Laurentin (2009) en las limitaciones que tiene este tipo de análisis cuando se encuentran individuos con similitudes parecidas a dos grandes grupos.

El análisis de coordenadas principales (Figura 2), en general presenta congruencia con el fenograma, logrando establecerse una clara diferenciación entre poblaciones. La ubicación que el fenograma hizo del individuo p1-13 es definitivamente un problema del método, ya que el análisis de coordenadas lo ubicó dentro de su sub-población de origen (P1). El análisis de coordenadas principales también muestra, aunque pequeño, que existe flujo genético entre las poblaciones, debido a que se observa que uno de los individuos de la sub-población 1, el p1-



**Figura 2.** Análisis de coordenadas principales de 26 individuos de *B. tabaci* pertenecientes a dos poblaciones, basado en 37 bandas de RAPD. Puntos blancos representan a individuos de la sub-población 1, puntos negros representan a individuos de la sub-población 2.

10, está ubicado mas cerca de la sub-población 2, esto quizás se deba a la cercanía entre las muestras. Las dos primeras coordenadas de este análisis explican el 33 % de la variación total.

El valor de la diversidad genética promedio dentro de la sub-población 1 fue de 0,24; mientras que para la sub-población 2 fue de 0,30; por lo tanto la diversidad genética promedio dentro de poblaciones resultó en 0,27. El valor de  $H_t$ , o diversidad genética total fue de 0,38; resultando por tanto la diversidad genética entre sub-poblaciones ( $D_{st}$ ) en 0,11. El coeficiente de diferenciación genética ( $G_{st}$ ) fue de 0,29; es decir, el 29 % de la variación genética encontrada en la población estudiada de mosca blanca, corresponde a diferencias entre las dos sub-poblaciones y el 71% de esta variación corresponde a la diversidad dentro de sub-poblaciones. Estos valores indican una cierta diferenciación entre sub-poblaciones. También

sobre mosca blanca, pero usando isoenzimas, Tovar et al. (2005) encontraron una diversidad dentro de 7 sub-poblaciones, en un rango entre 0,21 y 0,48; con un promedio de 0,33. La diversidad genética total la estimaron en 0,42 y un coeficiente de diferenciación genética de 0,22. Aun cuando se hace difícil comparar estos valores debido a que provienen de técnicas totalmente distintas, es interesante notar cierta similitud con los parámetros estimados en el presente trabajo. Independientemente de la técnica de análisis utilizado, el presente trabajo demuestra que los RAPD permitieron diferenciar genéticamente a las dos poblaciones. Resultados similares en cuanto al poder de diferenciación de los RAPD sobre *Bemisia tabaci* son indicados por Guirao et al. (1994) en mosca blanca de la península ibérica, Lima et al. (2002) en mosca blanca procedente de varias plantas hospederas en Brasil, Holguín et al. (2010) en mosca blanca sobre tomate en México, Samih et

al. (2006) en mosca blanca sobre varias plantas hospederas en Irán. A diferencia del presente trabajo, Guirao et al. (1994) encontraron amplificación con el iniciador OPA-01, lo cual muestra la variabilidad genética de la especie. No se encontraron trabajos anteriores sobre evaluación de la diversidad genética de *Bemisia tabaci* en cualquier cultivo en Venezuela, mediante la técnica de marcadores moleculares; su uso (específicamente RAPD) en relación a la mosca blanca, ha sido para determinar la presencia del biotipo B (Salas y Arnal 2001).

En definitiva, el ADN de las poblaciones estudiadas en el presente trabajo, es distinto. De acuerdo con Lourenção y Nagai (1994), esto podría explicarse por factores biológicos, tales como que una población haya llegado primero a la zona teniendo tiempo de evolucionar (población fundadora) y otra se haya introducido en la zona más recientemente. También se puede inferir que el cruzamiento entre estas poblaciones no ha sido muy intenso. De acuerdo con De Barro (2005), esto se le puede acreditar a las condiciones físicas, como árboles que sirven de barreras que impiden el movimiento. Otra explicación factible es la distancia física entre un cultivo y otro, a pesar de estar en la misma zona, ya que Byrne (1999), concluyó que *B. tabaci* por lo general no tiene una gran dispersión, a pesar de que es capaz de volar a distancias de hasta 7 Km. El manejo agronómico es otro factor que puede influir en que estas poblaciones sean diferentes, como la intensidad en uso de insecticida, ya que estos pueden causar una alteración de las frecuencias alélicas; la variedad de cultivo, plantas malezas hospederas presentes o no presentes, otros cultivos cercanos que pueden ser hospederos, así como el manejo de restos de cosecha. La diferenciación obtenida entre poblaciones, lleva a evaluar la forma como se deba dar el manejo de este insecto plaga. El hecho que sean diferenciables a nivel de ADN podría conducir a asumir que el comportamiento de estas poblaciones en presencia del mismo

cultivar de pimentón, no sería igual; o que el comportamiento ante un mismo manejo no sería el mismo, pudiendo inferir con esto que el control de esta plaga debe ir dirigido a ser más integral y diferencial entre un cultivo y otro, a pesar de tener los mismos cultivares, las mismas condiciones de manejo en general y estar ubicados en la misma zona de producción.

## Conclusión

La diversidad genética de *B. tabaci* sobre pimentón en Moroturo, municipio Urdaneta, estado Lara; tiene un alto componente intrapoblacional, pero también interpoblacional. El flujo genético entre ambas poblaciones es bastante limitado.

## Referencias

- ARNAL E, SALAS J, MENDOZA O. 1994. Manejo integrado de la mosca blanca en Venezuela. Revista en línea, Fonaiap divulga N° 45 Enero-Junio 1994. Disponible en <http://www.ceniap.gov.ve/publica/divulga/fd45/texto/manejointegrado.htm>(Pág.unica).
- ASIMWE P, ECAAT J, GUERSHON M, KYAMANYWA S, GERLING D, LEGG J. 2007. Evaluation of *Serangium* n.sp. (Col., Coccinellidae), a predator of *Bemisia tabaci* (Hom., Aleyrodidae) on cassava. *Journal of Applied Entomology* 131:76-80.
- BALLINA-GOMEZ H, RUIZ-SANCHEZ E, CHAN-CUPUL W, LATOURNERIE-MORENO L, HERNANDEZ-ALVARADO L, ISLAS-FLORES I, ZUÑIGA-AGUILAR J. 2013. Response of *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera:Aleyrodidae) biotype B to genotypes of pepper *Capsicum annum* (Solanales:Solanaceae). *Neotropical Entomology*. DOI 10.10007/s13744-012-0106-0.
- BYRNE DN. 1999. Migration and dispersal by the sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*. Special issue: Aerial dispersal of pests and pathogens. *Agricultural and Forest Meteorology* 97:309-316.
- CENIS J, PEREZ P, FERERES, A. 1993. Identification of aphid (Homoptera Aphididae) species and clones by random amplified polymorphic DNA. *Annals of the Entomological Society of America* 86(5): 545-550.

- DE BARRO P. 2005. Genetic structure of the whitefly *Bemisia tabaci* in the Asia-Pacific region revealed using microsatellite markers. *Molecular Ecology* 14:3695-3718.
- GONZÁLEZ J, GALLARDO J. 1999. Desarrollo y capacidad reproductiva de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera; Aleyrodidae) en pimiento a tres temperaturas. *Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas* 25:3-11.
- GUIRAO P, BEITIA F, CENIS J. 1994. Aplicación de la técnica RAPD-PCR a la taxonomía de moscas blancas (Homóptera, Aleyrodidae). *Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas* 20: 757- 764.
- HOLGUÍN R, HERNÁNDEZ L, LATISNERE H. 2010. Identificación y distribución geográfica de *Bemisia tabaci* Gennadius y su relación con enfermedades begomovirales en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de Baja California, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28:58-60.
- LAURENTIN H. 2009. Data analysis for molecular characterization of plant genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution* 56:277-292
- LAURENTIN H. 2011. Genética Agrícola. Editorial Académica Española. Saarbrücken, Alemania. 233 pp.
- LAURENTIN H, PEREIRA C. 2002. Patrón de distribución y muestreo de estados inmaduros de mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) Homoptera:Aleyrodidae en ajonjolí (*Sesamum indicum* L.). *Bioagro* 14: 145-152
- LIMA L, CAMPOS L, MORETZSOHN M, NÁVIA D, DE OLIVEIRA M. 2002. Genetic diversity of *Bemisia tabaci* (Genn.) populations in Brazil revealed by RAPD markers. *Genetic and Molecular Biology* 25: 217-223.
- LIMA L, NÁVIA D, INGLIS P, OLIVEIRA M. 2000. Survey of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotypes in Brazil using RAPD markers. *Genetic and Molecular Biology* 23: 1-5.
- LIU J, LI M, LI J, HUANG C, ZHOU X, XU F, LIU S. 2011. Viral infection of tobacco plants improves performance of *Bemisia tabaci* but more so for an invasive than for an indigenous biotype of the whitefly. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*. 11:30-40
- LOURENÇÃO AL, NAGAI H. 1994. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo. *Bragantia* 53: 53-59.
- NEI M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 70: 3321-3323.
- NEI M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- OVESNÁ J, POLÁKOVÁ K, LEISOVÁ L. 2002. DNA analyses and their applications in plant breeding. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 38:29-40.
- PANDEY S, MATHUR A, SRIVASTAVA M. 2010. Management of leaf curl disease of chilli (*Capsicum annum* L.). *International Journal of Virology* 6: 246-250.
- POSSO C, GONZÁLEZ R, CÁRDENAS H, TASCÓN R. 2006. Estructura genética de *Anopheles darlingi* Root, *An. nuneztovari* Gabaldon y *An. marajoara* Galvão & Damasceno de Colombia mediante RAPD-PCR. *Revista Colombiana de Entomología* 32: 49-56.
- SALAS J, ARNAL E. 2001. *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1899) biotipo B, primer registro para Venezuela utilizando RAPD's- PCR. *Entomotropica* 16: 181-185.
- SAMIH M, IZADI H, MAHDIAN K. 2006. Detection of polymorphism by RAPD-PCR in populations of *Bemisia tabaci* (Genn.) collected on four host plants from Iran. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences* 7: 605-611.
- TOVAR L, DIAZ A, ARNAL E, RAMIS C. 2005. La diversidad isoenzimática de *Bemisia tabaci* Gennadius 1889 (Hemiptera: Aleyrodidae) en el cultivo del ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) en Venezuela. *Entomotropica* 20: 249-263.
- YAP I, NELSON R. 1996. WinBoot: a program for performing bootstrap analysis of binary data to determine the confidence limits of UPGMA-based dendrograms. International Rice Research Institute, Manila, Filipinas.