

Comunicação Científica**Técnica de Eletroforese para a Detecção de Carboxylesterase em *Myzus persicae* (Sulz.) (Homoptera: Aphididae)**Rui S. Furiatti¹, Sonia M.N. Lázari² e Álvaro M.R. Almeida³¹Departamento de Fitotecnia, UEPG, Caixa postal 992, 84010-970, Ponta Grossa, PR.²Departamento de Zoologia, UFPR, Caixa postal 19020, 81531-970, Curitiba, PR.³CNPSo/EMBRAPA, Caixa postal 231, 86001-970, Londrina, PR.

An. Soc. Entomol. Brasil 25(1): 151-152 (1996)Electrophoretic Technique for Carboxylesterase Detection in *Myzus persicae* (Sulz.) (Homoptera: Aphididae)

ABSTRACT - The polyacrilamide gel electrophoretic technique herein described was adapted and refined from several authors for detecting carboxylesterase in the green-peach aphid, *Myzus persicae* (Sulz.). This technique allowed a precise evaluation of the insecticide resistance level in field populations of this insect.

KEY WORDS: Insecta, esterase 4, insecticide resistance, biochemical assay.

A detecção da resistência em insetos é convencionalmente feita com bioensaios desenvolvidos e padronizados para este fim. Entretanto, quando a presença de indivíduos resistentes na população é pequena, o bioensaio não é capaz de determiná-la com segurança. Em tais circunstâncias a detecção bioquímica é um instrumento extremamente valioso e preciso.

Devonshire (1975) e Needham & Sawicki (1971) sugeriram uma técnica eletroforética pioneira para a detecção da resistência em afídeos, individualmente, baseando-se no aumento da atividade da carboxylesterase que hidroliza o α -naftil acetato em afídeos resistentes. Devonshire (1977) descreveu uma técnica eletroforética para a separação e detecção da carboxylesterase em *Myzus persicae* (Sulz.) e concluiu que os afídeos resistentes têm um aumento na atividade da esterase-4 (E4). Devonshire & Sawicki

(1979) demonstraram que a quantidade da E4 dobrou entre cada variante sucessiva dos clones estudados com nível de resistência progressivo. Nos clones mais resistentes de *M. persicae*, a E4 representa 1 - 2% do total de proteínas do afídeo como resultado do aumento do seu RNAm codificando esta enzima (Devonshire *et al.* 1986). Segundo Field *et al.* (1989) a amplificação do gene causa o aumento na produção da esterase.

O pulgão-verde-da-batata, *M. persicae*, é um importante vetor de viroses em batata e outras culturas e, conseqüentemente, muito visado no controle químico pelos produtores, o que, associado à alta capacidade reprodutiva, provavelmente induziu o crescimento de populações resistentes a diversos inseticidas.

A técnica de eletroforese foi adaptada e modificada de Devonshire (1975) e Brookes & Loxdale (1987) para detectar níveis de

resistência de populações de *M. persicae*. Os afídeos foram coletados em campos de batata de consumo, em Contenda, PR e os trabalhos de eletroforese realizados no laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA/CNPQSO. Alguns ajustes na técnica foram feitos após contato com o Dr. H.D. Loxdale (Entomology Department, Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Herts, England). Os afídeos foram homogeneizados individualmente em 15 µl de solução contendo tris-HCL, pH 6,8, 0,6M, com 10% de sacarose e 0,5% de triton x-100. Após a homogeneização a amostra foi submetida ao fracionamento eletroforético utilizando uma voltagem constante de 120V para o gel concentrador (3,75%, com 0,2% de triton x-100) e 150V para o gel separador (6%, contendo 0,2% de triton x-100) durante 35 e 160min, respectivamente. A coloração foi feita com o α , β -naftil acetato 1%, diluído em acetona 50%, com 100mg de fast blue RR salt em 100ml da solução tampão de KH₂PO₄, 0,05M, pH 6,0, durante 30 min na temperatura de 35°C. Após a coloração o gel foi fixado com glicerol a 10%, podendo assim ser conservado para a interpretação das bandas e outros estudos.

Esta técnica permitiu avaliar com precisão o nível de resistência do pulgão-verde-da-batata a inseticidas, confirmando resultados obtidos com a utilização de bioensaios. Indivíduos susceptíveis, determinados previamente por bioensaios, foram utilizados como referência nas comparações das bandas obtidas no procedimento eletroforético. Com pequenas adaptações a técnica pode ser utilizada para outras espécies de afídeos, bem como para outros insetos e organismos.

Literatura Citada

- Brookes, C.P. & H.D. Loxdale. 1987.** Survey of variation in British populations of *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera) on crops and weed hosts. *Bull. Entomol. Res.* 77: 83-89.
- Devonshire, A.L. 1975.** Studies of the carboxylesterases of *Myzus persicae* resistant and susceptible to organophosphorus insecticides. *Proc. 8th British insecticide and Fungicide Conf.* 1: 67-74.
- Devonshire, A.L. 1977.** The properties of a carboxylesterase from the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulz.), and its role in conferring insecticide resistance. *Biochem. J.* 167: 675-683.
- Devonshire, A.L. & R.M. Sawicki. 1979.** Insecticide-resistant *Myzus persicae* as an example of evolution by gene duplication. *Nature* 280: 140-141.
- Devonshire, A.L., G.D. Moores & R.H. Ffrench-Constat. 1986.** Detection of insecticide resistance by immunological of carboxylesterase activity in *Myzus persicae* (Sulzer) and cross reaction of the antiserum with *Phorodon humuli* (Schrank) (Hemiptera: Aphididae). *Bull. Entomol. Res.* 76: 97-107.
- Field, L., A.L. Devonshire, R.H. Ffrench-Constant & B.G. Forde. 1989.** The combined use of immunoassay and a DNA diagnostic technique to identify insecticide-resistant genotypes in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulz.). *Pesticide Biochem. Physiol.* 34: 174-178.
- Needham, P.H. & R.M. Sawicki. 1971.** Diagnosis of resistance to organophosphorus insecticides in *Myzus persicae* (Sulz.). *Nature* 230: 125-126.

Recebido em 30/11/94. Aceito em 07/12/95.