

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**ESTUDO SOBRE A DIVERSIDADE GENÉTICA DO GENE MITOCONDRIAL
*CITOCROMO OXIDASE SUBUNIDADE I (COI) DA *Helicoverpa armigera****

Justiniano Diogo da Silva Cardoso

Unai
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**ESTUDO SOBRE A DIVERSIDADE GENÉTICA DO GENE MITOCONDRIAL
*CITOCROMO OXIDASE SUBUNIDADE I (COI) DA *Helicoverpa armigera****

Justiniano Diogo da Silva Cardoso

Orientador:

Prof. Dr. Anderson Alvarenga Pereira

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Bacharel Interdisciplinar em Ciências
Agrárias, como parte dos requisitos exigidos
para a conclusão do curso.

Unai
2019

**ESTUDO SOBRE A DIVERSIDADE GENÉTICA DO GENE MITOCONDRIAL
*CITOCROMO OXIDASE SUBUNIDADE I (COI) DA *Helicoverpa armigera****

Justiniano Diogo da Silva Cardoso

Orientador:

Prof. Dr. Anderson Alvarenga Pereira

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Bacharel Interdisciplinar em Ciências
Agrárias, como parte dos requisitos exigidos
para a conclusão do curso.

APROVADO em 17 / 01 / 2019

Prof.^a Dra. Janaína Fernandes Gonçalves - UFVJM/ICA

Prof. Dr. Wellington Ferreira Campos - UFVJM/ICA

Prof. Dr. Anderson Alvarenga Pereira - UFVJM/ICA

SUMÁRIO

RESUMO	05
1. INTRODUÇÃO	06
1.1. Produção Agrícola no Brasil	06
1.2. Taxonomia Da <i>Helicoverpa armigera</i>	08
1.3. O Gênero <i>Helicoverpa</i>	08
1.4. Caracterização Morfológica	10
1.4.1. Ovo	10
1.4.2. Ínstares larvais	11
1.4.3. Pré-Pupa	13
1.4.4. Pupa	13
1.4.5. Adulto	13
1.5. Caracterização Genética	14
2. OBJETIVO	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
5. CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS	20

ESTUDO SOBRE A DIVERSIDADE GENÉTICA DO GENE MITOCONDRIAL CITOCROMO OXIDASE SUBUNIDADE I (COI) DA *Helicoverpa armigera*

RESUMO

O Brasil tem se destacado nos últimos anos, no cenário agropecuário, devido à crescente produção de grãos. Podendo em breve, segundo projeções oficiais, se tornar o maior produtor mundial. No entanto, devido sérios problemas fitossanitários que esse setor enfrenta, este panorama de crescente produção na agricultura poderá não ser concretizado. Um dos principais problemas que os agricultores têm encontrado, em quase todas as regiões produtoras, é a presença de lagartas do gênero *Helicoverpa* que tem devastado, de forma exponencial, diversas culturas que possuem grande relevância no agronegócio brasileiro como: milho, soja, algodão e feijão, sendo estas culturas transgênicas ou não. O Brasil, por possuir clima propício à lagarta e por ter grande variedade de hospedeiros, condiciona um ambiente adequado para o estabelecimento e proliferação desta praga. Dessa forma, este trabalho, tem como objetivo, através da filogenia, investigar a diversidade genética do gene mitocondrial *citocromo oxidase subunidade I* da *H. armigera* através de sequências genéticas devidamente depositadas no *National Center for Biotechnology Information – NCBI*. A fim de realizar o alinhamento das sequências, utilizou-se o algoritmo de alinhamento ClustalW Multiple alignment com bootstrap de 1000 replicações. Para a edição das sequências utilizou-se o software Bioedit sequence alignment editor. Para determinar as relações filogenéticas das sequências, baixadas no banco de dados NCBI e alinhadas com o Bioedit, usou-se o software Molecular Evolutionly Genetics Analysis – MEGA v. 6.06, com o Método Estatístico de Máxima Parcimônia. Portanto, este trabalho confirma a considerável diversidade genética atribuída à espécie *H. armigera*, reforçando a importância e a necessidade de desenvolver estudos de taxonomia molecular. Bem como expõe o risco que esta praga oferece ao setor agrícola, podendo influenciar as estratégias de controle, comprometendo o cenário de crescente produção agropecuária do país.

Palavras-chave: Diversidade genética, filogenia, *Helicoverpa armigera*.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Produção agrícola no Brasil

O Brasil possui destaque mundial no que diz respeito ao setor agropecuário (ÁVILA, et al., 2013). Desde o início da década passada esse setor tem ganhado força e a produção tem aumentado gradativamente. Com produção de aproximadamente 119 milhões de toneladas na safra 2003/04 o Brasil quase duplicou esta quantidade alcançando cerca de 237 milhões de toneladas na safra 2016/17. Estima-se que a safra 2017/18 será a segunda maior da série histórica, podendo chegar a 228 milhões de toneladas, ficando atrás apenas da safra 2016/17 (CONAB, 2018).

Das culturas de ciclo curto, o milho e a soja sobressaem às demais, possuindo os maiores valores de produção e área plantada, podendo atingir respectivamente, 81,3 e 119,2 milhões de toneladas na safra de 2017/18. Na safra 2017/18 estima-se 35,149 milhões de hectares plantadas com soja, apresentando-se 69,9% superior à safra 2006/07, sendo o décimo primeiro incremento consecutivo na área total semeada. Esta leguminosa, no Brasil, lidera o *ranking* de área cultivada desde a safra 1997/98. Com acréscimo de 14,5 milhões de hectares, nas últimas 12 safras, esta cultura constitui 57% da área total cultivada com grãos no país (CONAB, 2018).

O Brasil é o segundo maior produtor de soja do mundo, os Estados Unidos e Argentina ocupam, respectivamente, o primeiro e o terceiro lugar nesta disputa. Na safra 2016/17 o Brasil foi responsável pela produção de mais de 110 milhões de toneladas do grão, este valor representa cerca de 30% do total produzido no mundo (AMAZONAS, et al. 2017).

Para a produção mundial de milho o país ocupa o terceiro lugar estando atrás apenas dos Estados Unidos e da China. Na safra 2016/17 produziu 98,5 milhões de toneladas e exportou 36 milhões de toneladas, tornando-se o segundo país com maior volume de exportação do grão (DEAGRO, et al., 2017). Também para a mesma safra foram contabilizados 12 milhões de hectares plantados, esta é a oitava safra com aumento consecutivo em área plantada com a gramínea no Brasil (CONAB, 2018).

A estimativa da produção brasileira de algodão, na safra 2017/18, é de 2 milhões de toneladas, 23% superior à safra passada. O aumento da área plantada, os volumes ideais de precipitação e temperaturas favoráveis, ao longo do ciclo do algodão, são fatores

responsáveis por tal crescimento (CONAB, 2018). O país é o quinto maior produtor mundial desta cultura, atrás de Índia, China, Estados Unidos e Paquistão. Estes cinco países produziram 77% das fibras de todo o mundo na safra 2016/17. O Brasil é também o quarto maior exportador de algodão e com a boa perspectiva de mercado esse setor produtivo está otimista para a corrente safra (COÊLHO, 2018).

Devido a esta crescente produção de grãos, segundo projeções oficiais, em breve o Brasil pode se tornar o maior produtor mundial. Porém, em virtude dos problemas fitossanitários, que o setor agrícola enfrenta, este panorama de crescente produção poderá não se concretizar (ÁVILA, et al., 2013). Um dos principais problemas que os agricultores têm encontrado, em quase todas as regiões produtoras, é a presença de lagartas da espécie *Helicoverpa armigera* (*H. armigera*). Desde 2013, estes insetos têm devastado diversas culturas como milho, soja, algodão e feijão, sendo estas culturas transgênicas ou não (CZEPAK, et al., 2013).

A ampla distribuição desta espécie no mundo está precisamente relacionada à sua alta capacidade de difusão, na fase adulta podem realizar migração com até 1000 km de distância. Por possuir grande capacidade de se desenvolver em extensa gama de plantas hospedeiras, a *H. armigera* é considerada uma praga extremamente polígafa. Esta lagarta tem como hospedeiro mais de 180 espécies de plantas, sendo elas cultivadas ou daninhas, distribuídas em 45 Famílias, incluindo Asteraceae, Fabaceae, Malvaceae, Poaceae e Solanaceae. Aqui no Brasil já foram registradas causando danos em diversas culturas de interesse econômico como algodão, crotalária, feijão, guandu, milheto, milho, soja, sorgo e tomate (ÁVILA, et al., 2013) (GONÇALVES, 2016).

A *H. armigera* na fase adulta apresenta elevada resistência a inseticidas (ÁVILA, et al., 2013). O uso intenso de forma não controlada tem gerado populações resistentes a inseticidas como clorfenapir, fipronil, indoxacarbe, spinosad e vários piretróides. Estima-se que em todo o mundo a espécie possui resistência à cerca de 640 inseticidas (AGOSTINI, 2014).

As fêmeas adultas, além de possuírem alta fecundidade se reproduzem rapidamente, podendo colocar até 3000 mil ovos. Quando o clima é adequado, como o das regiões tropicais, esta espécie pode chegar a 11 gerações no ano (GONÇALVES, 2016). A umidade

do ar, temperatura e fotoperíodo condiciona a *H. armigera* (AGOSTINI, 2014), por isso, o tamanho populacional e o número de gerações são determinados pelos fatores climáticos e pela quantidade de hospedeiros disponíveis (GONÇALVES, 2016), variando de acordo com o ano e local.

As condições adequadas para o desenvolvimento desta praga são temperatura com média de 25°C, variando entre 15°C e 35°C, umidade relativa próxima de 90% e fotoperíodo de 16 horas (AGOSTINI, 2014). Estas ótimas condições ambientais estão presentes nas principais regiões produtoras do Brasil favorecendo o estabelecimento e a proliferação desta praga (GONÇALVES, 2016).

1.2. Taxonomia da *H. armigera*

Conforme demonstrou Pinóia (2012), a posição taxonômica desta espécie é definida com: Reino: *Animalia*; Filo: *Artropoda*; Classe: *Insecta*; Ordem: *Lepidoptera*; Família: *Noctuedae*; Subfamília: *Heliothinae*; Gênero: *Helicoverpa*; Espécie: *Helicoverpa armigera*.

A Família *Noctuedae* reúne 48 subfamílias e, com 34 registros comprovados no Brasil, possui extrema importância agrícola. Por ter características herbívoras durante sua fase larval, causa imenso dano a lavouras, podendo provocar perdas totais de produção em culturas anuais quando sua população alcança números elevados (FARIAS, 2017).

1.3. O Gênero *Helicoverpa*

O gênero *Helicoverpa* compreende por volta de 18 espécies (GONÇALVES, 2016). Algumas espécies desse gênero como *Helicoverpa zea* (*H. zea*) e *Helicoverpa assulta* (*H. assulta*), através da morfologia, podem ser confundidas com a *H. armigera* (BEHERE, et al., 2013), tornando as políticas de controle ineficazes. Desta forma, torna-se imprescindível a correta identificação desses indivíduos, bem como o entendimento sobre a dinâmica populacional e diversidade genética (GONÇALVES, 2016). Dentre elas a *H. armigera* e *H. zea* são as que mais infestam lavouras no Brasil (ÁVILA, et al., 2013). A *H. zea* quando em fase larval é conhecida como broca-do-tomateiro ou lagarta-da-espiga-do-milho (ÁVILA, et al., 2013). Esta espécie tem frequentemente atacado botões florais, flores

e maçãs do algodoeiro, bem como frutos de tomateiros, espigas de milho e sistema reprodutivo da soja (ÁVILA, et al., 2013) (CZEPAK, et al., 2013).

No ano de 2006 a *H. armigera* estava presente na África, Ásia, Europa e Oceania em áreas de clima tropical e temperado (figura 01) (LAMMERS, et al., 2007). Ela foi encontrada em 47 países da África, 41 da Ásia, 26 da Europa e 19 da Oceania, e causou severas perdas em várias culturas, principalmente algodão, milho e tomate (GONÇALVES, 2016). A comercialização internacional de plantas ornamentais e possíveis falhas de biossegurança são fatores que contribuem para a disseminação deste inseto (AGOSTINI, 2014).

Diferente da *H. zea*, que já era presente no Brasil, a espécie *H. armigera*, foi considerada, até meados de 2013, uma praga quarentenária A1 no país. Praga quarentenária é um organismo de natureza animal ou vegetal, na maioria dos casos, exótico, que constitui ameaça a economia agrícola do país importador. Pragas do tipo A1 são exóticas e não estão presentes no país importador, já as do tipo A2 estão presentes, porém com disseminação localizada e submetidas a programa oficial de controle (GONÇALVES, 2016).

No ano de 2013 esta praga foi encontrada nos estados da Bahia, Goiás e Mato Grosso, infestando principalmente lavouras de algodão e soja (CZEPAK, et al., 2013), sendo esta observação a primeira confirmação da ocorrência desta espécie no Continente Americano.

As lagartas da espécie *H. armigera* (figura 3) são capazes de se alimentarem dos órgãos reprodutivos e vegetativos de diversas espécies de plantas de interesse econômico. Elas se alimentam de hastes e folhas, porém preferem as partes reprodutivas como inflorescências, botões florais, maçãs, frutos e espigas, proporcionando podridões ou deformações nestas estruturas podendo induzir até a senescência da planta (ÁVILA, et al., 2013).

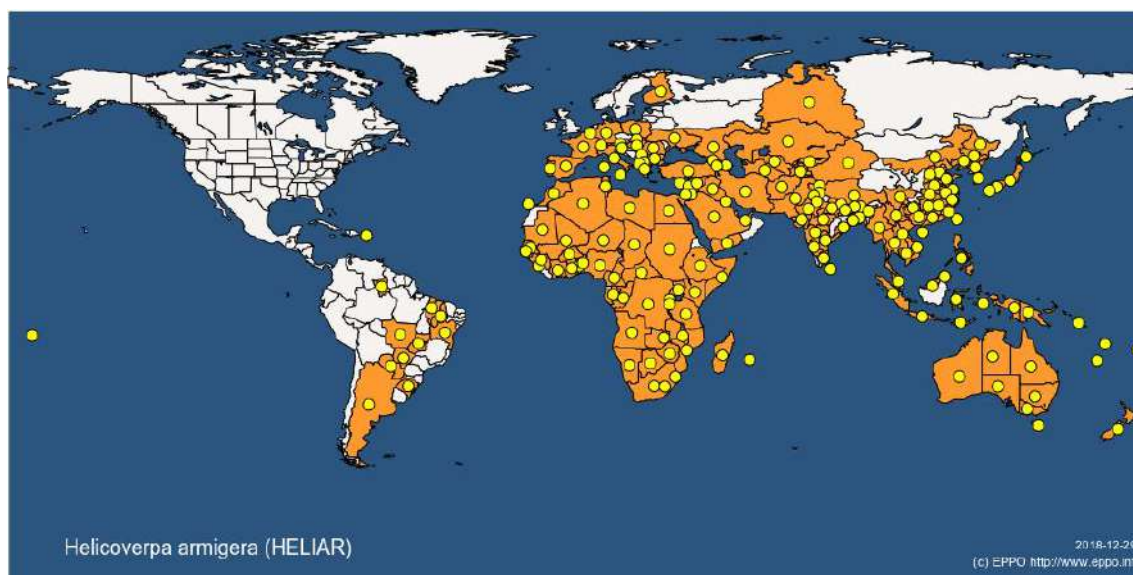


Figura 01: Distribuição geográfica de *H. armigera*, atualizado em 25/06/2018 pela Organização Europeia de Proteção às Plantas (EPPO).

Fonte: EPPO, 2018.

1.4. Caracterização morfológica

A *H. armigera*, assim como os demais insetos do táxon dos lepidópteros, deve passar pela etapa completa de metamorfose para completar seu ciclo biológico, constituída pelas fases de ovo, larva, pré-pupa, pupa e adulta (FARIAS, 2017).

1.4.1. Ovo

O ovo possui diâmetro de 0,5mm com formato aproximadamente esférico e nervuras longitudinais esculpidas em sua superfície (FARIAS, 2017). Nos extremos do ovo forma uma porção apical lisa e o centro da base é achatado (AGOSTINI, 2014). A coloração do ovo, logo após a deposição, é branco-amarelada com aparência brilhante, adquirindo cor marrom-escura perto do momento da eclosão (figura 02) (ÁVILA, et al., 2013), que ocorre cerca de três dias após a postura (FARIAS, 2017).

A fêmea ovoposita de 2000 a 3000 ovos e os primeiros geralmente são inférteis. Os ovos são depositados, em pequenos grupos ou de forma isolada, preferencialmente na face superior das folhas ou sobre brotações terminais, talos, flores e frutos (AGOSTINI, 2014).



Fonte: ÁVILA, et al., 2013.

Figura 02: Ovo de *H. armigera* recentemente depositado sobre o substrato.

1.4.2. Ínstares larvais

A espécie *H. armigera* pode apresentar até seis ínstaes larvais, sendo que fatores como qualidade do alimento, condições climáticas e características genéticas influenciam a existência ou não do sexto ínstar (ARAÚJO, 1990). A fase larval completa dura entre 14 a 24 dias, dependendo da alimentação e das condições ambientais (FARIAS, 2017).

O primeiro ínstar larval apresenta linhas de cor amarelada de forma longitudinal, pernas com cor escura, cápsula cefálica e dura em média dois dias (AGOSTINI, 2014). Neste primeiro estágio a larva possui pelos castanhos escuros, dispostos em um corpo transparente, a placa anal, o tórax, a cabeça e as patas também são de coloração castanha escura (figura 03 A e B) (ARAÚJO, 1990).

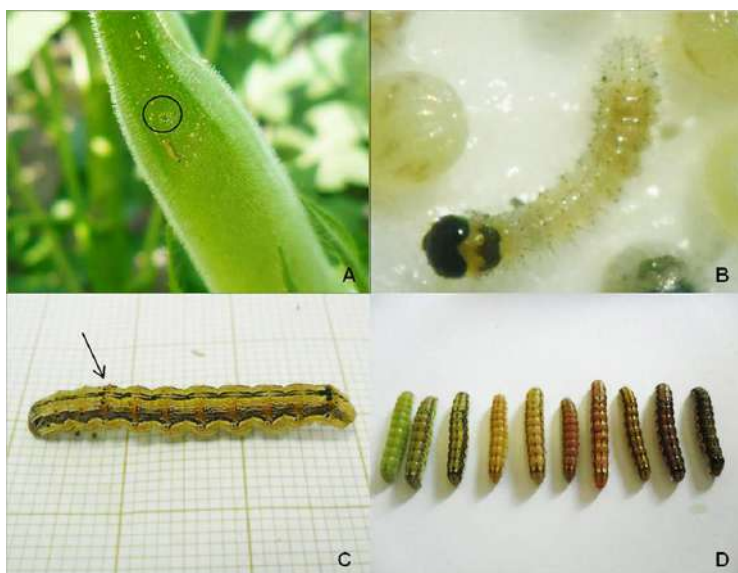
No segundo ínstar a larva possui coloração marfim leitosa e um ponto preto no dorso, centralizado no terceiro segmento, caracteriza esta fase (ARAÚJO, 1990). A duração média deste estágio também é de dois dias (AGOSTINI, 2014). As lagartas dos dois instares iniciais tem-se alimentado das partes mais jovens das plantas, podendo produzir um tipo de teia e até mesmo formar um pequeno casulo com os fios da mesma (FARIAS, 2017).

As lagartas, a partir do terceiro ínstar, têm cores variando de amarelo-palha ao verde desenvolvendo listras laterais ao centro dorsal de coloração marrom claro e na cabeça

dependendo da alimentação (AGOSTINI, 2014). A disposição das patas proporciona um movimento típico às larvas sendo cinco pares de patas falsas abdominais e três pares de patas torácicas (ARAÚJO, 1990).

O quarto estágio representa uma grande capacidade de crescimento larval (ARAÚJO, 1990), possuindo tubérculos em forma de “C” bem visíveis e escuros na região dorsal (figura 03 C), esta característica é determinante para diferenciar e identificar lagartas da espécie *H. armigera* (AGOSTINI, 2014). Nesta fase as larvas, com coloração muito variada (figura 03 D), surpreendentemente se adaptam aos substratos de alimentação e são extremamente agressivas com comportamento canibal (ARAÚJO, 1990).

No quinto ínstar as lagartas permanecem predominantemente no baixeiro das plantas hospedeiras e, no interior de frutos verdes de tomateiro, se alimentam de parte das sementes, afetando vários frutos sobrepostos. Elas se movimentam entre frutos adjacentes sem sair para o exterior, conseqüentemente não se expõem aos inseticidas nem aos inimigos naturais. Fatores como qualidade da alimentação, condições climáticas e características genéticas influenciam a existência ou não do sexto ínstar (ARAÚJO, 1990).



Fotos: Jakeline Maria dos Santos (TEODORO, et al. 2015).

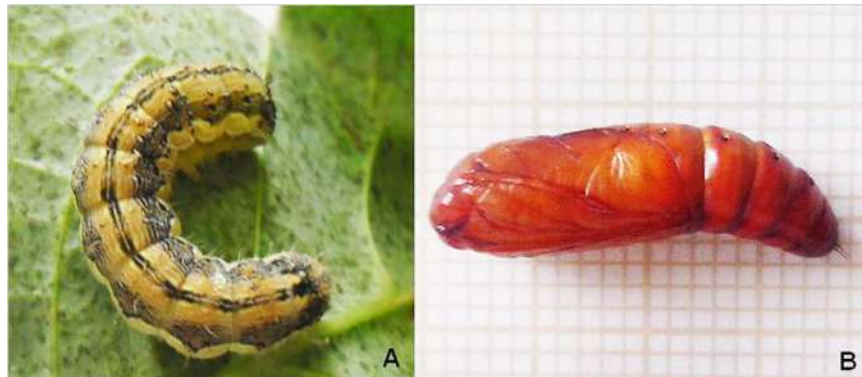
Figura 03. Características de lagartas de *H. armigera*: orifício de alimentação realizado por lagarta logo após a eclosão (A), lagarta recém-eclodida (B), presença de tubérculos em forma de “C” na região dorsal (C), e variação de cores em lagartas de quarto ínstar (D).

1.4.3. Pré-pupa

Esta é uma fase distinta caracterizada por antecipar a fase de pupa. Esta etapa do desenvolvimento se inicia quando larvas, exatamente no período de quinto ou sexto instar, cessam sua alimentação e assim ficam até o início da fase de pupa (FARIAS, 2017). Após paralisar sua alimentação ela desloca-se até o solo para encontrar condições de temperatura e umidade adequadas (AGOSTINI, 2014). A pré-pupa tritura o substrato encontrado no solo para, através de fios de seda, confeccionar uma proteção externa, na forma de casulo dando origem posteriormente à pupa (ARAÚJO, 1990).

1.4.4. Pupa

A pupa possui coloração verde clara no início e depois de um tempo o tegumento fica rígido com cor marrom-escuro (figura 04) (AGOSTINI, 2014). Assim como ocorre em Lepidóptera, a pupa é do tipo obtecta, e também recebe o nome de crisália (FARIAS, 2017). Através da análise da genitália externa é possível identificar o sexo do inseto nesta fase (ARAÚJO, 1990). As dimensões da lagarta variam de 12 a 14 mm, nesta fase, e dura de 10 a 14 dias (AGOSTINI, 2014).



Fotos: Jakeline Maria dos Santos (TEODORO, et al. 2015).

Figura 04. Lagarta de *H. armigera* em período de pré-pupa (A) e pupa (B).

1.4.5. Adulto

Os adultos da espécie *H. armigera* (figura 05) manifestam dimorfismo sexual, podendo o macho e a fêmea ser diferenciados pelo tamanho e coloração das asas (AGOSTINI,

2014). Os machos possuem asas com cores mais próximas de cinza-esverdeado possuindo, no centro de cada, uma mancha escura na forma de rim, enquanto nas fêmeas as asas dianteiras são de cor amarelo-palha (FARIAS, 2017).

Outro aspecto morfológico que diferencia os dois sexos é o abdômen, que nas fêmeas são de formato arredondado (AGOSTINI, 2014). Os machos sobrevivem em média 9 dias enquanto as fêmeas vivem por volta de 11 dias, sendo aproximadamente 5 dias o período de oviposição, podendo cada uma colocar de 2000 a 3000 ovos, o que enfatiza a elevada capacidade de reprodução desta praga (FARIAS, 2017).

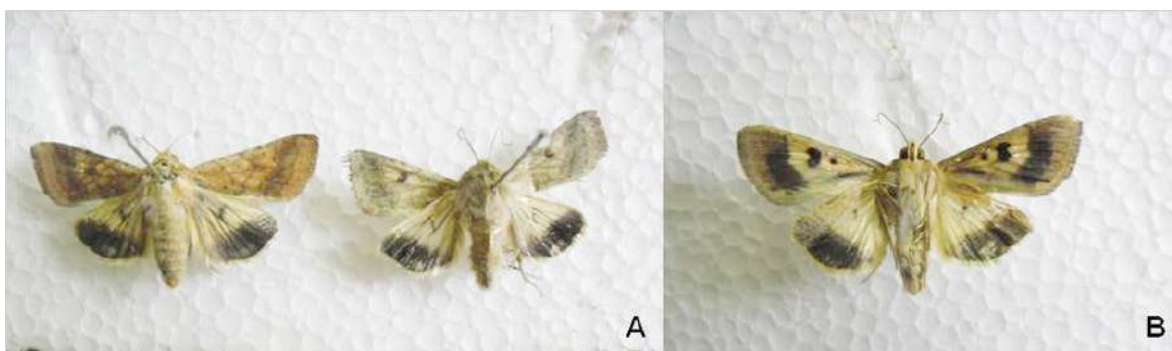


Foto: Jakeline Maria dos Santos (TEODORO, et al. 2015).

Figura 05: Adulto de *H. armigera*. Fêmea À esquerda e macho à direita (A) e vista ventral (B).

1.5 CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA

O genoma mitocondrial animal, diferente do genoma nuclear, é uma molécula geralmente pequena e compacta. O DNA mitocondrial (DNAMt) também possui algumas características que o diferenciam do material genético nuclear como se encontrar em abundância e se organizar estruturalmente em duplo filamento circular, estando presente em muitas cópias dentro de uma única célula. O genoma mitocondrial sendo haplóide que se comporta como um único haplótipo, sem apresentar recombinação, possui herança predominantemente materna. Possui uma taxa evolutiva (substituições de base) mais alta do que o genoma nuclear. A maior parte do genoma mitocondrial animal se caracteriza pela inexistência de introns, transposons, pseudogenes ou DNA repetitivo. Através dessas características, o DNAMt tem sido bastante usado em estudos evolutivos e filogenia (GONÇALVES, 2016).

Utilizando uma região parcial do gene COI do DNAm, observaram que apenas quatro haplótipos respondiam por mais de 80% da variabilidade genética observada e que todos os haplótipos presentes em mais de um inseto possuíam uma ampla distribuição geográfica. Portanto, estudos de filogenia envolvendo o gene COI da *H. armigera*, pode fornecer informações a respeito da diversidade deste inseto na América do Sul que serão importantes para entender sua dispersão e fluxo gênico contribuindo para a criação de estratégias de controle efetivo (GONÇALVES, 2016).

2. OBJETIVO

Este trabalho, através da filogenia, tem o objetivo de investigar a diversidade genética do gene mitocondrial *citocromo oxidase subunidade I* (COI) da *H. armigera* através de sequências genéticas devidamente depositadas no National Center for Biotechnology Information – NCBI.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Para verificar a diversidade genética do gene COI da espécie *H. armigera*, foi utilizado sequências de nucleotídeos devidamente depositadas no National Center for Biotechnology Information – NCBI. No total, foram utilizadas 37 sequências, de cinco espécies pertencentes a sete países diferentes (Tabela 01).

Tabela 01: Sequências utilizadas para construção da árvore filogenética.

ID	Código - NCBI	Espécie	País
01	KF150295	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Brasil-MT
02	KM573143	<i>Heliothis nubigera</i>	Austrália
03	KU128888	<i>H. armigera</i>	Brasil-RS
04	KU128875	<i>H. armigera</i>	Brasil-RS
05	KM275049	<i>H. armigera</i>	Brasil-BA
06	KM275050	<i>H. armigera</i>	Brasil-BA
07	KM275205	<i>H. armigera</i>	Brasil-BA
08	KM275206	<i>H. armigera</i>	Brasil-BA
09	KT946050	<i>H. armigera</i>	Brasil-BA
10	KU170530	<i>H. armigera</i>	Brasil-DF
11	KF150291	<i>H. armigera</i>	Brasil-MT
12	KF150292	<i>H. armigera</i>	Brasil-MT
13	KF150293	<i>H. armigera</i>	Brasil-MT
14	KM275091	<i>H. armigera</i>	Brasil-MT
15	KU170528	<i>H. armigera</i>	Brasil-GO
16	KU170529	<i>H. armigera</i>	Brasil-GO
17	KU176136	<i>H. armigera</i>	Brasil-SP
18	KP984523	<i>H. armigera</i>	Argentina
19	KP279738	<i>H. armigera</i>	Argentina
20	KT946080	<i>H. armigera</i>	Austrália
21	KT946072	<i>H. armigera</i>	Austrália
22	KP123574	<i>H. armigera</i>	China
23	KX440923	<i>H. armigera</i>	China
24	KU255542	<i>H. armigera</i>	Paraguai
25	KU255541	<i>H. armigera</i>	Paraguai
26	KU255535	<i>H. armigera</i>	Uruguai
27	KU255536	<i>H. armigera</i>	Uruguai
28	KX422499	<i>H. assulta</i>	Austrália
29	KX440941	<i>H. assulta</i>	China
30	GQ892860	<i>H. assulta</i>	China
31	KY323059	<i>H. assulta</i>	P. N. Guine
32	KY623667	<i>H. zea</i>	Argentina
33	KP984521	<i>H. zea</i>	Argentina
34	KT946041	<i>H. zea</i>	Brasil-MT
35	KM275067	<i>H. zea</i>	Brasil-MT
36	KM275036	<i>H. zea</i>	Brasil-Ms
37	KM275037	<i>H. zea</i>	Brasil-Ms

A fim de realizar o alinhamento das sequências, utilizou-se o algoritmo de alinhamento ClustalW Multiple alignment (THOMPSON, et al., 1994) com bootstrap de 1000 replicações. Para a edição das sequências utilizou-se o software Bioedit sequence alignment editor (TIPPMANN, 2004).

Para determinar as relações filogenéticas das sequências, baixadas no banco de dados NCBI e alinhadas com o Bioedit, usou-se o software Molecular Evolutionly Genetics Analysis – MEGA v. 6.06 (KUMAR, et al., 2016), com o Método Estatístico de Máxima Parcimônia (MEMP), com bootstrap de 1000 replicações.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o resultado deste trabalho (figura 06), pode-se explorar a diversidade genética da espécie *H. armigera*. As sequências de *Spodoptera frugiperda* e *Heliothis nubigera*, representam dois controles que são do gênero diferente da *Helicoverpa*. Os controles ficaram distribuídos entre as sequências da *H. armigera* sinalizando considerável diversidade genética a esta espécie. As sequências da espécie *H. assulta* ficaram distribuídas dentro do clado da *H. armigera* realçando a diversidade genética desta espécie.

Diferentes populações de *H. armigera* podem ser geradas através do isolamento geográfico devido a sua grande facilidade de dispersão. Por consequência pode ocorrer o isolamento reprodutivo, dando origem a grupos de indivíduos fisiologicamente diferentes. Esta diversidade genética dificulta as práticas de controle de forma que as populações, dentro desta mesma espécie, necessitam de estratégias específicas de manejo (AGOSTINI 2014). De acordo com Anderson et al (2018), a *H. armigera* possui uma diversidade genética significativamente alta, supostamente contribuindo para sua alta capacidade adaptativa, o que possibilitou sua entrada, estabelecimento e proliferação no país.

A diversidade genética contribui para o estabelecimento de uma espécie em um novo hábitat e conseqüentemente para sua persistência em situação de mudança de ambiente (ARAÚJO, 2007). Portanto a entrada e o estabelecimento da espécie *H. armigera* no Brasil foi facilitado pela diversidade genética atribuída a ela.

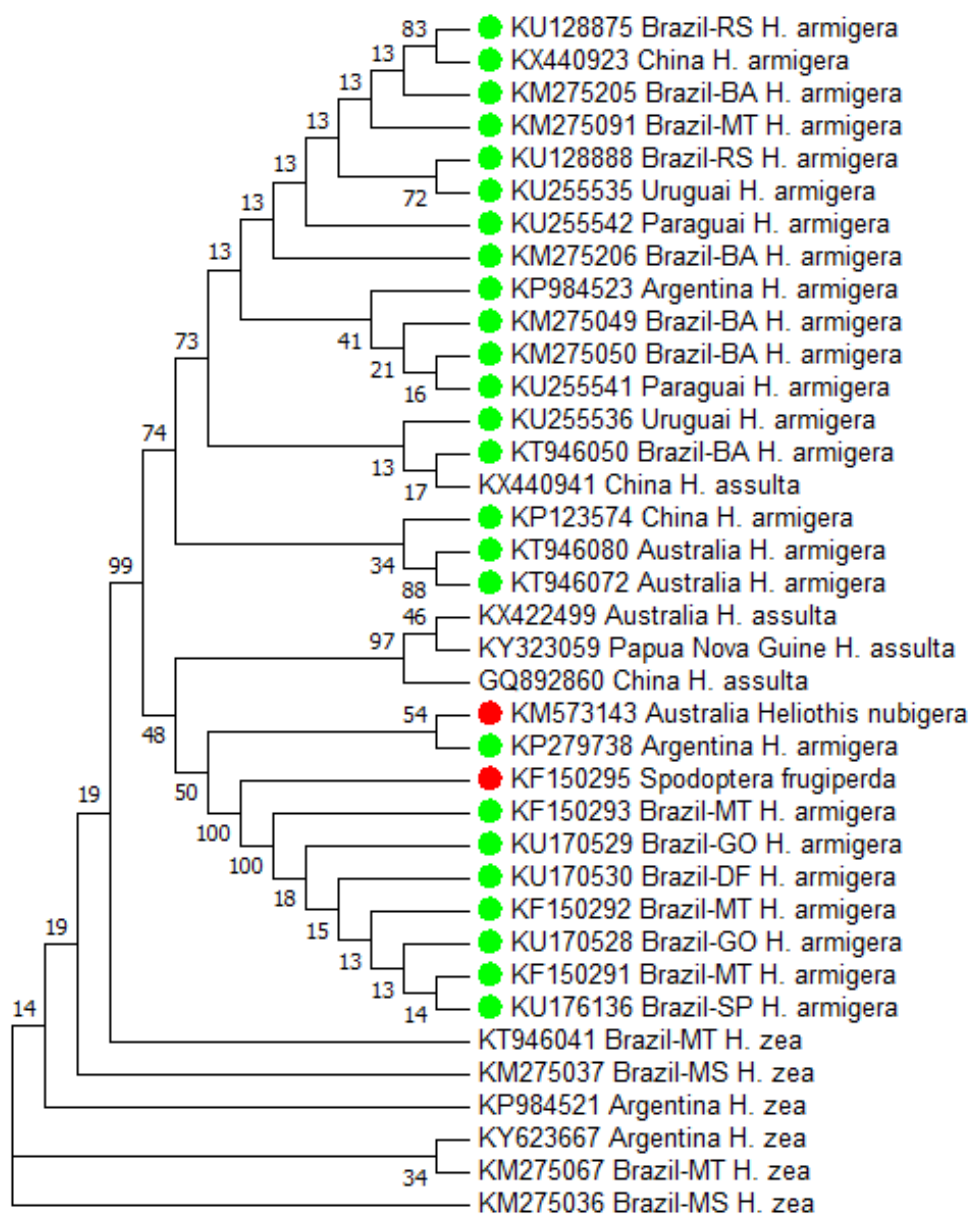


Figura 06: Árvore Filogenética Molecular pelo MEMPH. A história evolutiva foi inferida usando o MEMPH baseada no modelo de Tamura-Nei com bootstrap de 1000 replicações (KUMAR, et al., 2016). A análise envolveu 37 seqüências nucleotídicas obtidas do banco de dados NCBI.

5. CONCLUSÃO

Este trabalho confirma a considerável diversidade genética atribuída à espécie *H. armigera*, reforçando a importância e a necessidade de desenvolver estudos de taxonomia molecular. Bem como expõe o risco que esta praga oferece ao setor agrícola, podendo influenciar as estratégias de controle, comprometendo o cenário de crescente produção agropecuária do país. Ainda existe muito trabalho a ser feito na área de análise de dados genômicos, envolvendo a diversidade genética da espécie *H. armigera*. Logo, pretendemos com este trabalho, envolver diversas áreas de pesquisa do Instituto de Ciências Agrárias, campus de Unai contemplando diversos professores com propósito de implementar e aperfeiçoar o estudo da diversidade genética da espécie *H. armigera*.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINI, L. T.** (2014). SUSCETIBILIDADE DE *Helicoverpa armigera* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) A ENTOMOPATÓGENOS. JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL.
- AMAZONAS, L., CONAB, Sugof, & Gerpa.** (2017). Conjuntura de Soja – 2017/18. Brasília, DF.
- ANDERSON, CRAIG J., et al.** 2018. *Hybridization and gene flow in the mega-pest lineage of moth, Helicoverpa. PNAS 8 de Maio de 2018 115 (19) 5034-5039; publicado antes da impressão 2 de abril de 2018 <https://doi.org/10.1073/pnas.1718831115>.*
- ARAÚJO, A. C.** (1990). LUTA BIOLÓGICA CONTRA *Heliothis armigera* NO ECOSISTEMA AGRÍCOLA "TOMATE PARA INDÚSTRIA". ÉVORA.
- ARAÚJO, M. A.** (2007). Unidades de Conservação no Brasil: da República à Gestão de Classe Mundial. Belo Horizonte SEGRAC - Editora e Gráfica.
- ÁVILA, C. J., VIVAN, L. M., & TOMQUELSKI, G. V.** (2013). *Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégia de manejo de Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas; Circular técnica 23. Embrapa. Dourados-MT.*
- BEHERE, G., WT, T., DA, R., KR, K., & P, B.** (2013). Estrutura genética populacional do algodão bollworm *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) na Índia como inferido a partir de ADN de PCR EPIC-Marcadores. PLoS NE 8 (1): e53448. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053448>.
- BUENO, A. d., RUFINO, C., HOFFMANN-CAMPO, C., SOSA-GOMEZ, D., HIROSE, E., ADEGAS, F., & ROGGIA, S.** (2013). *Helicoverpa armigera*: desafios na cultura da soja. Londrina: Embrapa Soja, 2013. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/Helicoverpa>>.
- COÊLHO, JACKSON DANTAS.** PRODUÇÃO DE ALGODÃO. Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste - ETENE. 2018.
- CONAB.** (2018). *Acompanhamento da safra brasileira, Acomp. safra bras. grãos, v. 12 Safra 2017/18 - Décimo segundo levantamento, Brasília, p. 1-148, setembro 2018.* Brasília: Estúdio Nous, Sumac, Gepin.
- CZEPAK, C., ALBERNAZ, K. C., VIVAN, L. M., GUIMARÃES, H. O., & CARVALHAIS, T.** (2013). First reported occurrence of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. e-ISSN 1983-4063 - www.agro.ufg.br/pat - Pesq. Agropec. Trop., Goiânia, v. 43, n. 1, p. 110-113, Jan./Mar. 2013.
- DEAGRO, & FIESP.** (2017). Safra Mundial de Milho 2017/18 - 7º Levantamento do USDA.
- EPPO.** 2018. Heliar/Distribuição. *EPPO GLOBAL DATABASE*. [Online] 25 de 05 de 2018. [Citado em: 01 de 01 de 2019.] <https://gd.eppo.int/taxon/HELIAR/distribution>.

- FARIAS, P. H.** (2017). Efeito de formulações comerciais de azadirachta indica A. Juss incorporadas à dieta artificial, sobre a biologia de *Helicoverpa armigera* (Hubner, 1808) (Lepidoptera: *Noctuidae*). Rio Largo, AL.
- GONÇALVES, R. M.** (2016). DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DA PRAGA. Campinas-SP.
- KUMAR, S., STECHER, G., & TAMURA, K.** (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33(7):1870–1874 doi:10.1093/molbev/msw054 Advance Access publication March 22.
- PINÓIA, SARA SOFIA FERREIRA.** 2012. Eficácia de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) e *spinosade* no combate a *Helicoverpa armigera* (Hbn) (Lepidoptera: *Noctuidae*) em tomateiro. Lisboa: ISA, 2012, 89 p. Lisboa : s.n., 2012.
- THOMPSON, J. D., HIGGINS, D. G., & GIBSON, T. J.** (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 1994, Vol. 22, No. 22 4673-4680.
- TIPPMANN, H. F.** (2004). Software review Analysis for free: Comparing programs for sequence analysis. Plant Research Department, Risø National Laboratory, DK-4000 Roskilde, Denmark, Tel: 0045 4677 4291, E-mail: helge.tippmann@tu-berlin.de.

AUTORIZAÇÃO

Autorizo a reprodução e/ou divulgação total ou parcial do presente trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

Justiniano Diogo da Silva Cardoso

justindiogo04@gmail.com

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Campus Unai: Avenida Vereador João Narciso, 1380 – Bairro Cachoeira – Unai/MG –

CEP: 38610-000 PABX: (38) 3577-9950