**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Isolamento reprodutivo entre linhagens brasileiras de *Helicoverpa*
zea e *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)**

Dayana Rosalina de Sousa

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

**Piracicaba
2016**

Dayana Rosalina de Sousa
Bacharela em Ciências Biológicas

Isolamento reprodutivo entre linhagens brasileiras de *Helicoverpa zea* e *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)

Orientador:
Prof. Dr. **ALBERTO SOARES CORRÊA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

Piracicaba
2016

RESUMO

Isolamento reprodutivo entre linhagens brasileiras de *Helicoverpa zea* e *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)

O gênero *Helicoverpa* Hardwick, 1965 (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae) compreende insetos pragas de distribuição cosmopolita. Historicamente no Brasil, *H. zea* (Boddie) é a principal praga do gênero, no entanto, em 2013 foi reportado pela primeira vez no território brasileiro *H. armigera* (Hübner). Estudos filogenéticos, morfológicos e ecológicos têm relacionado estas duas espécies como irmãs. A possibilidade de hibridação entre *H. armigera* e *H. zea* em condições naturais desperta interesse sobre os mecanismos genéticos, reprodutivos, de desenvolvimento e comportamentais de especiação dessas espécies. Além disso, *H. armigera* e *H. zea* são pragas severas para diversos cultivos, o que torna o entendimento destes processos crucial para o desenvolvimento de estratégias de controle. Dentro deste contexto, nosso objetivo foi confirmar a viabilidade e a adaptabilidade da prole híbrida entre as linhagens brasileiras de *H. zea* e *H. armigera*. Associado a isso, nós também testamos a tolerância da linhagem híbrida a deltametrina e plantas geneticamente modificadas (*Bt*). E por último, aplicamos marcadores moleculares em indivíduos oriundos do campo para identificar a ocorrência natural de possíveis indivíduos híbridos em diferentes cultivos e regiões do território brasileiro. Nossos resultados confirmam a possibilidade de surgimento de uma prole híbrida fértil entre as linhagens brasileiras de *H. zea* e *H. armigera*. Assim como os marcadores nucleares sugerem a presença de indivíduos híbridos em condições naturais no território brasileiro. Os mecanismos pré-copulatórios de especiação parecem ser menos efetivos na manutenção do isolamento reprodutivo, visto que os testes de escolha revelaram cruzamentos interespecíficos recíprocos entre as espécies. As linhagens híbridas tiveram um menor intervalo de tempo entre cada geração (T) ao serem comparadas com as linhagens parentais puras, porém a capacidade de fêmeas gerarem fêmeas e a capacidade de manter a população em crescimento (R_0 , r_m) foram menores que as linhagens puras, indicando uma tendência à extinção das populações ao longo das gerações. As proles híbridas tiveram índice de sobrevivência a deltametrina equivalente ao da linhagem parental *H. armigera*, já os indivíduos híbridos da geração F2 (F1x F1) apresentaram menor sobrevivência em relação a *H. armigera*. Não houve sobrevivência das linhagens parentais e híbridas nos testes de sobrevivência ao algodão *Bt*. A baixa viabilidade de cruzamentos híbridos em laboratório e a baixa frequência no campo confirmaram isolamento reprodutivo entre *H. zea* e *H. armigera*, mesmo que parcial.

Palavras-chave: Hibridação; Especiação; *Fitness*; Marcadores moleculares; MIP

ABSTRACT

Reproductive isolation between Brazilian strains of *Helicoverpa zea* and *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)

The genus *Helicoverpa* Hardwick, 1965 (Lepidoptera: Noctuidae: Heliethinae) includes insect pests of cosmopolitan distribution. Historically in Brazil, *H. zea* is the main pest of the genus (Boddie), however in 2013 *H. armigera* (Hübner was first reported in Brazil). Phylogenetic, morphological and ecological traits have suggested these two species are “sibling species”. The possibility of hybridization between *H. armigera* and *H. zea* under natural conditions arouses interest in genetic, reproductive, developmental and behavioral mechanisms of speciation between these species. In addition, *H. armigera* and *H. zea* are severe pests in several crops, which makes the understanding of these processes critical to the development of control strategies. Within this context, our goal was to carry out interspecific bioassays of behavior and development to confirm the viability and fitness of hybrid offspring between Brazilian strains of *H. zea* and *H. armigera*. Furthermore, we tested the tolerance of the hybrid strains to deltamethrin and genetically modified cotton plant (*Bt*). Finally, we applied molecular markers in specimens from different regions and hosts to identify the possible occurrence of natural hybrid specimens in Brazil. Our results confirm the possibility of emergence of a fertile hybrid offspring between Brazilian strains of *H. zea* and *H. armigera*. In addition nuclear markers suggest the presence of individual hybrids in natural conditions in Brazil. Pre-copulatory speciation mechanisms are not effective in the maintenance of reproductive isolation, since the choice tests showed reciprocal interspecific crosses between species. The hybrid strains showed lower developmental time among generations (T) when compared with the parental strains. However, hybrid females have lower reproductive capacity and maintaining growing population (R_0 , RM, λ), indicating an extinction trend of populations over generations. The hybrid individuals F1 showed equivalent survival to deltamethrin than *H. armigera* parental strain, however hybrid individuals F2 (F1xF1) showed lower survival to *H. armigera*. There were no survival of the parental and hybrid strains to *Bt* cotton. The low viability of interspecific crosses in the laboratory and the low frequency in the field confirmed reproductive isolation between *H. zea* and *H. armigera* Brazilian strains, even partial.

Keywords: Hybridization; Speciation; Fitness, Molecular markers; IPM

INTRODUÇÃO

O gênero *Helicoverpa* está relacionado a grandes problemas na área agrícola em vários países. As espécies *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) têm causado danos econômicos no Brasil, especialmente nos últimos dois anos, quando ocorreu o primeiro registro oficial de *H. armigera* no continente americano (SPETCH et al., 2013; CZEPACK et al., 2013). As larvas são polípagas alimentando-se da estrutura vegetativa e reprodutiva de importantes plantas cultivadas como milho, trigo, algodão, soja, tomate e várias outras espécies de cereais, leguminosas e hortícolas (FITT, 1989; ZALUCKI et al., 1994; SOUZA; REIS, 2003).

Estudos filogenéticos, morfológicos e ecológicos têm relacionado estas duas espécies como espécies-irmãs (CHO et al., 2008; POGUE, 2013; LEITE et al., 2014). Tal fato sugere que as populações de *H. zea* encontradas nas Américas possivelmente se originaram por especiação alopátrica devido a eventos evolutivos como efeito fundador de um pequeno grupo de *H. armigera* oriundo do velho mundo (BEHERE et al., 2007).

O isolamento geográfico que havia entre essas populações permitiu que houvesse uma diferenciação entre elas, tornando assim duas espécies distintas, mas estritamente relacionadas. O isolamento é a principal chave para a especiação e ele se dá por meio de acúmulo de características que direcionam mecanismos pré-zigóticos, que precedem a fecundação do zigoto impedindo que ela aconteça (FEDER, 2007; JUNG, 2013), e/ou mecanismos pós-zigóticos, que atua na inviabilidade do zigoto, infertilidade ou menor adaptabilidade da prole híbrida (ARNOLD; HODGES, 1995; COYNE; ORR, 2004; RIDLEY, 2006; SCHLUTER, 2001).

Porém com a recente aproximação geográfica dessas duas espécies e seus hábitos ecológicos comuns, aumenta a possibilidade de acasalamentos interespecíficos, já que, esses mecanismos são passíveis de falhas. Em heliotíneos existem casos reportados de hibridação (LASTER, 1972; MILLER et al., 1986; TEAL; OOSTENDORP, 1995; ZHAO et al., 2005; MING et al., 2007), inclusive entre *H. zea* e *H. armigera* em condições de laboratório (LASTER; HARDEE, 1995; LASTER; SHENG, 1995).

A hibridação é o resultado do fluxo gênico entre espécies interespecíficas podendo gerar ou não prole viável e fértil (MALLET, 2005). Quando a prole híbrida apresenta adaptação compatível com a prole intraespecífica ocorre o surgimento de zonas de hibridação com fluxo gênico interespecífico entre os espécimes relacionados (HARRISON; ARNOLD, 1982). Hibridação pode gerar vigor híbrido na prole (heterose) e introgressões no genoma de uma espécie aumentando suas chances de adaptação em novos ecossistemas (JIGGINS et al., 2008; BAACK; RIESEBERG, 2007; ABBOT et al., 2013).

No âmbito agrícola a detecção de híbridos pode requerer um novo arranjo nas estratégias de Manejo Integrado de Pragas (MIP). A confirmação da possibilidade de um híbrido entre *H. armigera* e *H. zea* deve ser abordada com o intuito de esclarecer questões relacionadas a rápida adaptação de *H. armigera* no Brasil, e a adaptação de possíveis híbridos em relação a hospedeiros, fertilidade, capacidade de dispersão, resistência a inseticidas e plantas geneticamente modificadas, que são de extrema relevância para o controle de pragas. Visto que, após confirmação da presença no Brasil em 2013, *H. armigera* já atingiu uma ampla distribuição em toda América do Sul e Central com recente coleta em armadilhas de feromônio na Florida, USA (LEITE et al., 2014; MASTRANGELO et al., 2014; MURÚA et al., 2014; SENAIVE, 2014; HAYDEN; BRAMBILA, 2015).

A possibilidade de hibridação entre *H. armigera* e *H. zea* em condições naturais desperta interesse sobre os mecanismos genéticos, reprodutivos, de desenvolvimento e comportamentais de especiação dessas espécies. Além disso, *H. armigera* e *H. zea* são pragas severas para diversos cultivos, o que torna o entendimento destes processos crucial para o desenvolvimento de estratégias de manejo, uma vez que a transferência de genes/loci com potencial adaptativo é uma realidade em zonas de hibridação (ARNOLD; MARTIN, 2009; ABBOT et al., 2013, FRAÏSE et al., 2014). Sendo assim nossos objetivos foram:

- Realizar em condições laboratoriais bioensaios interespecíficos de comportamento de preferência de acasalamento entre linhagens brasileiras de *H. zea* e *H. armigera*.
- Realizar bioensaios de desenvolvimento para confirmar a viabilidade e vigor da prole híbrida entre as linhagens brasileiras de *H. zea* e *H. armigera*.

- Testar a tolerância da linhagem híbrida resultante do cruzamento interespecífico recíproco entre *H. zea* e *H. armigera* a deltametrina e algodão geneticamente modificado (*Bt*).

Aplicar marcadores moleculares em indivíduos oriundos do campo para identificar a ocorrência natural de híbridos em diferentes cultivos e regiões do território brasileiro.

CONCLUSÕES/CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Linhagens brasileiras de *H. zea* e *H. armigera* realizam copulas interespecíficas.
- Linhagens brasileiras de *H. zea* e *H. armigera* produzem uma prole híbrida fértil. No entanto, a viabilidade dos cruzamentos interespecíficos é baixa.
- O fenômeno de heterose foi reportado na fase jovem da prole híbrida de *H. zea* e *H. armigera*.
- *H. armigera* é mais tolerante a deltametrina que *H. zea*. E a prole híbrida também apresenta alta tolerância a deltametrina.
- Os marcadores mitocôndrias revelam ampla distribuição de *H. zea* e *H. armigera* no território brasileiro, sendo ampla preferência de *H. zea* por milho e *H. armigera* por plantas dicotiledôneas como soja e algodão.
- Os marcadores nucleares sugerem a presença de acasalamentos interespecíficos em condições naturais, no entanto existe uma baixa frequência de indivíduos híbridos entre *H. zea* e *H. armigera* em condições naturais.
- Proporcionalmente, plantas de algodão apresentam uma maior ocorrência de indivíduos híbridos.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, R.; ALBACH, D.; ANSELL, S.; ARNTZEN, J.W.; BAIRD, S.J.E.; BIERNE, N.; BOUGHMAN, J. Hybridization and speciation. **Journal of Evolutionary Biology**, Basel, v. 26, n. 2, p. 229-246, 2013.
- ARNOLD, M.L.; HODGES, S.A. Are natural hybrids fit or unfit relative to their parents? **Trends in Ecology & Evolution**, Cambridge, v. 10, n. 2, p. 67–71, 1995.
- BAACK, E. J.; RIESEBERG, L. H. A genomic view of introgression and hybrid speciation. **Current Opinion in Genetics & Development**, London, v. 17, n. 2, p. 513–518, 2007.
- BEEBEE, T.J.C.; ROWE, G. **An introduction to molecular ecology**. Oxford University Press, New York, 2008. 7 p.
- BEHERE, G.T.; TAY, W.T.; RUSSELL, D.A.; BATTERHAM, P. Molecular markers to discriminate among four pest species of *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae). **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 98, n. 6, p. 599-603, 2008.
- BEHERE, G.T.; TAY, W.T.; RUSSELL, D.A.; HECKEL, D.G.; APPLETON, B.R.; KRANTHI, K.R.; BATTERHAM, P. Mitochondrial DNA analysis of field populations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera : Noctuidae) and of its relationship to *H. zea*. **BMC Evolutionary Biology**, London, v. 7, n. 1, p. 117, 2007.
- BIRKHEAD, T. R.; BRILLARD, J. P. Reproductive isolation in birds: postcopulatory prezygotic barriers. **Trends in Ecology & Evolution**, Cambridge v. 22, n. 5, p. 266–272, 2007.
- BUTT, B.A.; CANTU, E. **Sex determination of lepidopterous pupae**. Washington: USDA, 1962. 7 p.
- CARVALHO, R.P.L. Pragas do milho. In: PATERNIANI, E. **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. Piracicaba: Fundação Cargill, 1980. p. 505-570, 1980.
- CHANG, A. S. Conspecific sperm precedence in sister species of *Drosophila* With overlapping ranges. **Evolution**, Lancaster, v. 58, n. 4, p. 781–789, 2004.
- CHO, S.; MITCHELL, A.; MITTER, C.; REGIER, J.; MATTHEWS, M.; ROBERTSON, R. Molecular phylogenetics of heliothine moths (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae), with comments on the evolution of host range and pest status. **Systematic Entomology**, Oxford, v. 33, n. 4, p. 581-594, 2008.
- CORRÊA, A.S.; OLIVEIRA, L.O.; BRAGA, L.S.; GUEDES, R.N.C. Distribution of the related weevil species *Sitophilus oryzae* and *S. zea mays* in Brazil. **Insect Science**, Malden, v. 20, n.6, p. 763-770, 2013.

COYNE, J.A.; ORR, H.A. Patterns of speciation in *Drosophila*. **Evolution**, Lancaster, v. 43, n. 2, p. 362–381, 1989.

COYNE, J.A.; ORR, H.A. **Speciation**. Sunderland: Sinauer Associates, 2004. 545 p.

CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K.C.; VIVAN, L.M.; GUIMARÃES, H.O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 1, p. 110-113, 2013.

DEGRANDE, P.E.; OMOTO, C. Estancar prejuízos. **Revista Cultivar**, Cultivar Grandes Culturas, Pelotas, p. 32-35, abr. 2013.

EL-LISSY, O. **Detection of old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Florida**. Disponível em:

<http://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/owb/downloads/DA-2015-43.pdf>. Acesso em: 24 nov. 2015.

FATOUROS, N. E.; HILKER, M.; JÜRGEN, G. Reproductive isolation between populations from Northern and Central Europe of the leaf beetle *Chrysomela lapponica* L. **Chemoecology**, Basel, v. 16, n. 4, p. 241–251, 2006.

FEDER, J.L.; FORBES, A. A. Habitat avoidance and speciation for phytophagous insect specialists. **Functional Ecology**, Oxford, v. 21, n. 3, p. 585–597, 2007.

FITT, G.P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 34, n. 1, p. 17-52, 1989.

FRICKE, C. **Postmating sexual selection and its role in population divergence in beetles**. 2006.45 p. Dissertations (Doctor in philosophy) - Faculty of Science and Technology, Uppsala, 2006.

FRICKE, C.; ARNQVIST, G. Conspecific sperm precedence in flour beetles. **Animal Behaviour**, London, v. 67, n. 4, p. 729–732, 2004.

FU, X.; TATSUKI, S.; HOSIZAKI, S.; ISHIKAWA, Y. Study of the genetics of female sex pheromone production and male behavioral response in a moth, *Ostrinia orientalis*. **Entomological Science**, Tifton, v. 8, n. 4, p. 363–369, 2005.

GADENNE, C.; PICIMBON, J. F.; BECARD, J. M. Development and pheromone communication systems in hybrids of *Agrotis ipsilon* and *Agrotis segetum* (Lepidoptera: Noctuidae) - Springer. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 23, n. 1, p. 191–209, 1997.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D. **Manual de entomologia Agrícola**. 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988. 649 p.

GOODPASTURE, C.; LACHANCE, L.E.; RICHARD, R.D. Persistence of abnormal spermiogenesis in the backcross generations of interspecific hybrids between *Heliothis virescens* X *H. subflexa*. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v.73, n. 4, p. 397-403, 1980a.

GOODPASTURE, C.; RICHARD, R. D.; MARTIN, D.; LASTER, M. Sperm cell abnormalities in progeny from interspecific crosses between *Heliothis virescens* and *H. subflexa*. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v.73, n. 5, p. 529-532, 1980b.

GOTTSBERGER, B.; MAYER, F. Behavioral sterility of hybrid males in acoustically communicating grasshoppers (Acrididae, Gomphocerinae). **Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology**, New York, v. 193, n. 7, p. 703–714, 2007.

GREENE, G.L.; LEPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvet bean caterpillar (Lepidoptera, Noctuidae) rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 69, n. 4, p. 487-488, 1976.

GROOT, A. T.; MARR, M.; SCHÖFL, G. Host strain specific sex pheromone variation in *Spodoptera frugiperda*. **Frontiers in Zoology**, London, v. 5, n. 20, p. 13, 2008.

GUNNING, R.V.; DANG, H.T.; KEMP, F.C.; NICHOLSON, I.C.; MOORES, G.D. New resistance mechanism in *Helicoverpa armigera* threatenstransgenic crops Expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.71, n. 5, p. 2558–2563, 2005.

HARRISON, R. G.; ARNOLD, E.J. A narrow hybrid zone between closely related cricket species. **Evolution**, Lancaster, v. 36, n. 3, p. 535-552, 1982.

HAYDEN, J.; BRAMBILA, J. **Pest alert: the old world bollworm**. Disponível em: <<http://www.freshfromflorida.com/Divisions-Offices/Plant-Industry/Plant-Industry-Publications/Pest-Alerts/Pest-Alert-The-Old-World-Bollworm>>. Acesso em: 24 nov. 2015.

HEAD, G.; JACKSON, R.E.; ADAMCZYK, J.; BRADLEY, J.R.; VAN DUYN, J.; GORE, J.; HARDEE, D.D.; LEONARD, B.R.; LUTTRELL, R.; RUBERSON, J.; MULLINS, J.W.; ORTH, R.G.; SIVASUPRAMANIAM, S.; VOTH, R. Spatial and temporal variability in host use by *Helicoverpa zea* as measured by analyses of stable carbon isotope ratios and gossypol residues. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 47, n. 3, p. 583-592, 2010.

HOWARD, D.J.; GREGORY, P.G.; CHU, J.; CAIN, M.L. Conspecific sperm precedence is an effective barrier to hybridization between closely related species. **Evolution**, Lancaster, v. 52, n. 2, p. 511-516, 1998.

JIGGINS, C.D.; SALAZAR, C.; LINARES, M.; MAVAREZ, J. Hybrid trait speciation and *Heliconius* butterflies. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, London, v. 363, p. 3047–3054, 2008.

JOUSEN, N., AGNOLET, S., LORENZ, S., SCHCÖNE, S.E., ELLINGER, R., SCHNEIDER, B.; HECKEL, D.G. Resistance of Australian *Helicoverpa armigera* to fenvalerate is due to the chimeric P450 enzyme CYP337B3. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.109, n. 38, p.15206 -15211, 2012.

JUNG, C.R.; JUNG, J.K.; KIM, Y. Effects of different sex pheromone compositions and host plants on the mating behavior of two *Grapholita* species. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, Melbourne, v.16, n. 4, p. 507–512, 2013.

KARPENKO, C.P.; PROSHOLD, F.I. Fertility and mating performance of interspecific crosses between *Heliothis virescens* and *H. subflexa* backcrossed for three generations to *H. subflexa*. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 70, n.5, p.737-74, 1977.

KOROL, A.; RASHKOVETSKY, E.; ILIADI, K.; MICHALAK, P.; RONIN, Y.; NEVO, E. Nonrandom mating in *Drosophila melanogaster* laboratory populations derived from closely adjacent ecologically contrasting slopes at "Evolution Canyon". **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 97, n. 23, p. 12637–12642, 2000.

LACHANCE, L.E. Hybrid sterility: Eupyrene sperm production and abnormalities in the backcross generations of interspecific hybrids between *Heliothis subflexa* and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 77, n.1, p. 93-101, 1984.

LANSMAN, R.A.; AVISE, J.C.; HUETTEL, M.D. Critical experimental test of the possibility of "paternal leakage" of mitochondrial DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 80, n. 7, p. 1969-1971, 1983.

LASTER, M.L. Interspecific hybridization of *Heliothis virescens* and *H. subflexa*. **Environmental Entomology**, College Park, v. 6, p. 682–687, 1972.

LASTER, M.L.; HARDEE, D.D. Intermating compatibility between north american *Helicoverpa zea* and *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Russia. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 88, n. 1, p. 77-80, 1995.

LASTER, M.L.; SHENG, C.F. Search for hybrid sterility for *Helicoverpa zea* in crosses between the north american *H. zea* and *H. armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 88, n. 5, p. 1288-1291, 1995.

LASTER, M.L.; KING, E.G.; FURR, R.E. Interspecific hybridization of *Heliothis subflexa* and *H. virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) from Argentina. **Environmental Entomology**, College Park, v.17, n.6, p.1016–1018, 1988.

LEITE, N.A. **Genetic diversity and susceptibility to Vip3Aa20 protein in Brazilian populations of *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2016. 146 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

LEITE, N.A.; ALVES-PEREIRA, A.; CORRÊA, A.S.; ZUCCHI, M.I.; OMOTO, C. Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. **PLoS One**, Berkeley, v. 9, n. 11, p. e113286, 2014.

LEITE, N.A.; CORRÊA, A.S.; CAMPOS, J.B.; ZUCCHI, M. I.; OMOTO, C. Cross-species amplification and polymorphism of microsatellite loci in *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera : Noctuidae) in Brazilian cropping systems. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 2, p. 1-12, 2016.

MAIA, A.D. H.; LUIZ, A J.; CAMPANHOLA, C. Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, n. 2, p. 511–518, 2000.

MALLET, J. Hybridization as an invasion of the genome. **Trends in Ecology and Evolution**, Berkeley, v. 20, n. 5, p. 229–237, 2005.

_____. Hybrid speciation. **Nature**, New York, v. 446, p. 279-284, 2007.

_____. Hybridization, ecological races and the nature of species: empirical evidence for the ease of speciation. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, London, v. 363, n.1506, p. 2971–2986, 2008.

MALLET, J.; KORMAN, A.; HECKEL, D.; KING, P. Biochemical genetics of *Heliothis* and *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae) and evidence for a founder event in *Helicoverpa zea*. **Annals of Entomological Society of America**, College Park, v. 86, n.2, p. 189–197, 1993.

MANTRAGOLO, W.J.R.; CRUZ, I.; DELLA LUCIA, T.M.C. Densidade populacional de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) nas fases de ovo, larva e adulto em milho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 21-28, 1998.

MARTIN, T.; OCHOU, O. G.; HALA-N'KLO, F.; VASSAL, J. M.; VAISSAYRE, M. Pyrethroid resistance in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hubner) in West Africa. **Pest Management Science**, Sussex, v. 56, n. 6, p. 549–554, 2000.

MASTRANGELO, T.; PAULO, D.; BERGAMO, L.; MORAIS, E.; SILVA, M.; BEZERRA-SILVA, G.; AZEREDO-ESPIN, A. Detection and Genetic Diversity of a Heliothine Invader (Lepidoptera: Noctuidae) From North and Northeast of

Brazil. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 107, n. 3, p. 970-980, 2014.

MATHENGE, C.W.; HOLFORD, P.; HOFFMANN, J. H.; ZIMMERMANN H.G.; SPOONER-HART, R.N.; BEATTIE, G.A.C.. Hybridization between *Dactylopius tomentosus* (Hemiptera: Dactylopiidae) biotypes and its effects on host specificity. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 100, n. 3, p. 331–8, 2010.

MILLER, S. G.; HUETTEL, M. D.; DAVIS, M. B.; WEBER, E. H.; WEBER, L. A. Male sterility in *Heliothis virescens* X *H. subflexa* backcross hybrids. Evidence of abnormal mitochondrial transcripts in testes. **Molecular Genetics and Genomics**, Berlin, v. 203, n.3, p. 451-461, 1986.

MURÚA, M.G.; SCAROLA, F.S.; NAVARRO, F.R.; CAZADO, L.E.; CASMUZ, A.; VILLAGRÁN, M.E.; LOBOS, E.; GASTAMINZA, G. First record of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 97, n. 2, p. 854-856, 2014.

NASERI, B.; FATHIPOUR, Y.; MOHARRAMIPOUR, S.; HOSSEININAVEH, V. Comparative reproductive performance of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on thirteen soybean varieties. **Journal of Agricultural Science and Technology**, Mandeville, v. 13, n. 1, p. 17-26, 2011.

NASREEN, A.; MUSTAFA, G. Biology of *Helicoverpa armigera* (Hubner) reared in laboratory on natural diet. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Deira, v. 3, p. 1668-1669, 2000.

NAIR, R.; KALIA, V.; AGGARWAL, K. K.; GUJAR, G.T. Variation in the cadherin gene sequence of Cry1Ac susceptible and resistant *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and the identification of mutant alleles in resistant strains. **Current Science**, Bangalore, v. 104, p. 215-223, 2013.

NAVARRO, R. V. Comportamiento de emergencia y reproducción del gusano del jojoto (*Heliothis zea* Boddie). *Agronomía Tropical*, Maracay, v. 37, p. 55-61, 1987.

NORTH AMERICAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION. **Detection of old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Puerto Rico**. 2014. Disponível em <<http://www.pestalert.org/oprDetail.cfm?oprID=600>>. Acesso em: 24 nov. 2015.

PERERA, O. P.; ALLEN, K. C.; JAIN, D. Rapid Identification of *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) Using Ribosomal RNA Internal Transcribed Spacer 1. **Journal of Insect Science**, Tucson, v. 15, n. 1, p. 155, 2015.

POGUE, M. A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *H. zea* and *H. armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliethinae). **Annals of Entomology Society of America**, College Park, v. 97, n. 6, p. 1222-1226, 2004.

POGUE, M.G. Revised status of Chloridea Duncan and (Westwood), 1841, for the *Heliothis virescens* species group (Lepidoptera: Noctuidae: Heliethinae) based on morphology and three genes. **Systematic Entomology**, Oxford, v. 38, n. 3, p. 523-542, 2013.

PRICE, C.S. Conspecific sperm precedence in *Drosophila*. **Nature**, New York, v. 388, n. 6643, p. 663–666, 1997.

RABELING, C.; SCHULTZ, T. R.; PIERCE, N. E.; BACCI, M. A Social Parasite evolved reproductive isolation from its fungus-growing ant host in sympatry. **Current Biology**, London, v. 24, n. 17, p. 2047–2052, 2014.

RASOOL, A.; JOUBEN, N.; LORENZ, S.; ELLINGER, R.; SCHNEIDER, B.; KHAN, S. A.; HECKEL, D. G. An independent occurrence of the chimeric P450 enzyme CYP337B3 of *Helicoverpa armigera* confers cypermethrin resistance in Pakistan. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 53, p. 54-65, 2014.

RIDLEY, M. **Evolução**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed; 2006. 752 p.

RUMMEL, D. R.; LESER, J. F.; SLOSSERS, J. E.; PUTERKA, G. J.; NEEB, C. W.; WALKER, J. K.; BENEDICT, J. H.; HEILMAN, M. D.; NAMKEN, L. N.; NORMAN, J. W.; YOUNG, J. H. Theory and tactics of *Heliothis* population management. USDA. **Cultural Biology Control Bulletin**, Oklahoma, v.316, 1986. 38 p.

SANCHEZ, L.; DUBENDORFER, A. Development of imaginal discs from lethal hybrids between *Drosophila melanogaster* and *Drosophila mauritiana*. **Wilhelm Roux's Archives of Developmental Biology**, Berlin, v. 192, n. 1, p. 48–50, 1983.

SAVOLAINEN, V.; ANSTETT, M.-C.; LEXER, C.; HUTTON, I.; CLARKSON, J.J.; NORUP, M.V.; POWELL, M.P.; SPRINGATE, D.; SALAMIN, N.; BAKER, W.J. Sympatric speciation in palms on an oceanic island. **Nature**, New York, v. 441, n. 7090, p. 210–213, 2006.

SCHLUTER, D. Ecology and the origin of species. **Trends in Ecology & Evolution**, Berkeley, v. 16, n. 7, p. 372–380, 2001.

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS. **Senave en alerta tras ingreso de peligrosa plaga agrícola**. Disponível em <<http://www.abc.com.py/edicion-impresaeconomia/senave-en-alerta-rasingreso-de-peligrosa-plaga-agricola-629240.html>>. Acesso em: 24 nov. 2015.

SHULL, G.H. *What Is heterosis*. **Genetics**, Pittsburgh, v. 33, p. 439–446, 1948.

SOUZA, J. C.; REIS P. R. Principais pragas do tomate para mesa: bioecologia, dano e controle. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 24, p. 79-92, 2003.

SPECHT, A.; SOSA-GOMÉZ, D.R.; PAULA-MORAES, S.V.; YANO, S.A.C. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 6, p. 689-692, 2013.

TABATA, J.; ISHIKAWA, Y. Genetic basis to divergence of sex pheromones in two closely related moths, *Ostrinia scapularis* and *O. zealis*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 31, n. 5, p. 1111–1124, 2005.

TAY, W.T.; SORIA, M.F.; WALSH, T.; THOMAZONI, D.; SILVIE, P.; BEHERE, G.T.; ANDERSON, C.; DOWNES, S. A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **PLoS One**, Berkeley, v. 8, n. 11, p. e80134, 2013.

TOKUMARU, S.; ABE, Y. Interspecific hybridization between *Liriomyza sativae* (Blanchard) and *L. trifolii* (Burgess) (Diptera : Agromyzidae). **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 40, n. 4, p. 551–555, 2005.

TURELLI, M.; BARTON, N. H. .; COYNE, J. A. Theory and speciation. **Trends in Ecology and Evolution**, Berkeley, v. 16, n. 7, p. 330–343, 2001.

WADE, M. J.; PATTERSON, H.; CHANG, N. W.; JOHNSON, N. A. Postcopulatory, prezygotic isolation in flour beetles. **Heredity**, London, v. 72, n. 23, p. 163–167, 1994.

WALSH, T.; DOWNES, S.; GASCOYNE, J.; JAMES, W.; PARKER, T.; ARMSTRONG, J.; MAHON, R. Dual Cry2Ab and Vip3A resistant strains of *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae); testing linkage between loci and monitoring of allele frequencies. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 107, n. 4, p. 1610-1617, 2014.

WANG, H.; FANG, Y.; WANG, L.; ZHU, W.; JI, H.; WANG, H.; XU, S.; SIMA, Y. Heterosis and differential gene expression in hybrids and parents in *Bombyx mori* by digital gene expression profiling. **Scientific Reports**, New York, v. 5, p. 8750, 2015.

WU, K.M.; LU, Y.H.; FENG, H.Q.; JIANG, Y.Y.; ZHAO, J.Z. Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with Bt toxin-containing cotton. **Science**, Washington, v. 321, n. 5896, p. 1676-1678, 2008.

XUE, H. J.; MAGALHÃES, S.; LI, W. Z.; YANG, X. K. Reproductive barriers between two sympatric beetle species specialized on different host plants. **Journal of Evolutionary Biology**, Basel, v. 22, n. 11, p. 2258–2266, 2009.

YANG, Y.; LI, Y.; WU, L. Current status of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* after 15 years of Bt cotton planting in China. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 106, n. 1, p. 375–381, 2013.

ZHAO, C. J.; HAN, G. C.; QIN, Y. H.; WU, C. Differentiating among horse (*Equus caballus*), donkey (*Equus asinus*) and their hybrids with combined analysis of nuclear and mitochondrial gene polymorphism. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, Berlin, v. 122, n. 4, p. 285–288, 2005a.

ZHAO, X. . C.; DONG, J. F.; TANG, Q. B.; et al. Hybridization between *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae): development and morphological characterization of F1 hybrids. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 95, n. 5, p. 409–416, 2005b.

ZALUCKI, M.P.; MURRAY, D.A.H.; GREGG, P. C.; FITT, G. P.; TWINE, P. H.; JONES, C. Ecology of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *H. punctigera* (Wallengren) in the inland of Australia: larval sampling and host plant relationships during winter and spring. **Australian Journal Zoology**, Victoria, v. 42, p. 329–346, 1994.