

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

**Dinâmica populacional histórica e contemporânea de *Chrysodeixis
includens* (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil**

Cleane de Souza Silva

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba
2020**

Cleane de Souza Silva
Engenheira Agrônoma

Dinâmica populacional histórica e contemporânea de *Chrysodeixis includens*
(Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil

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

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2020

RESUMO

Dinâmica populacional histórica e contemporânea de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil

Dentre as várias espécies de lepidópteros que acometem os cultivos agrícolas no Brasil, as espécies pertencentes a subfamília Plusiinae recebem grande destaque pelos severos danos que promovem as plantas cultivadas. Entre essas espécies, *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae), popularmente conhecida como lagarta-falsa-medideira, recebe maior destaque pelo seu grande número de hospedeiros e pelos frequentes surtos populacionais, relatados com maior frequência, desde o início dos anos 2000. Essa condição elevou o status dessa espécie a uma praga-chave em culturas como a soja e o algodão. São diversas as hipóteses para explicar os surtos populacionais de *C. includens*. Porém informações sobre a demografia, fluxo gênico, e a estrutura genética de *C. includens* são escassas no Brasil e a falta delas podem comprometer futuros estudos para suprimir as populações deste inseto-praga. Nesse contexto, nossos objetivos gerais foram utilizar marcadores moleculares (mitocondriais, SSR e SNPs), isótopos estáveis de Carbono e um marcador bioquímico (heliocídio H) para inferir a história demográfica e a dinâmica populacional de *C. includens* nas regiões brasileiras e em diferentes hospedeiros, conseguindo assim, obter informações sobre os eventos evolutivos que moldaram e, ainda, moldam as atuais populações de *C. includens* no Brasil. Ao analisar dois fragmentos de genes mitocondriais e marcadores SNPs obtivemos uma baixa diversidade nucleotídica, relações haplotípicas recentes e indicação de recente expansão demográfica e espacial das populações de *C. includens*. A estimativa do tempo de início da expansão demográfica foi de 300 anos, que coincide com os eventos de expansão agrícola no Brasil pré e pós-colônia. Além disso, os marcadores SNPs e microssatélites estimaram uma inicial estruturação genética no espaço e por hospedeiros (soja e algodão) de *C. includens*. As análises de SNPs sob seleção indicaram 109 loci candidatos sob seleção positiva quando avaliamos todas as populações, dos quais podemos destacar genes associados ao metabolismo digestivo e resistência a pesticidas e plantas geneticamente modificadas que expressam proteína Bt, demonstrando que as populações de *C. includens* estão sob processo de seleção promovido pela atual paisagem agrícola brasileira e principalmente pela soja. Por fim, o estudo temporal da flutuação populacional de *C. includens* em quatro regiões indicaram uma ampla variação no número de mariposas capturadas semanalmente com forte associação a presença de cultivos de soja. Os marcadores de isótopos estáveis de Carbono C₁₃ e do marcador bioquímico para algodão indicaram que *C. includens* alimentam-se exclusivamente de plantas com mecanismo fotossintético tipo C₃ e que algodão é um hospedeiro importante para manutenção das populações de *C. includens*. Não houve a presença de indivíduos com associação positiva para o biomarcador para algodão nas outras três regiões brasileiras (MT, PR e RS). Os índices de F_{ST} baseados nos marcadores de microssatélites apontam uma estrutura espacial entre algumas subpopulações de *C. includens*. Por fim, o marcador bioquímico para algodão reforça a hipótese de recente expansão geográfica e baixa capacidade de dispersão de *C. includens* entre as regiões brasileiras.

Palavras-chave: Falsa-medideira-da-soja; Filogeografia; Fluxo gênico; Estrutura populacional; Adaptação; Flutuação populacional.

ABSTRACT

Historical and contemporary population dynamics of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil

Among the numerous species of Lepidoptera that affect the Brazilian crops, the Plusiinae subfamily species have great prominence due to the severe damages that promote to cultivated plants. Among these species, *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae), popularly known as soybean looper, has a large number of hosts with many reports of population outbreaks since the early 2000s. These traits raised the status of this species to a key pest in crops such as soybean and cotton. There are several hypotheses to explain these population outbreaks of *C. includens*. However, information about demographics, gene flow, genetic structure, and genetic diversity of *C. includens* are rare in Brazil and the lack of them may affect future studies of suppressing the natural populations of this insect pest. In this context, our general objectives were to use molecular markers, stable carbon isotopes and a biochemical marker (heliocide H) to infer the demographic history and population dynamics of *C. includens* in different Brazilian regions and different hosts, thereby obtaining information on the evolutionary events that have shaped and, still, shaping the current populations of *C. includens* in Brazil. We analysed two fragments of mitochondrial genes and SNPs markers which obtained low nucleotide diversity, a recent haplotypic relationships, and indication of recent demographic and spatial expansion of the populations of *C. includens* in Brazil. The estimated time for expansion was approximately 300 years, which coincides with agricultural expansion in Brazil. In addition, despite being weak, the SNPs and microsatellite markers estimated an initial genetic structure in space and by hosts (soybean and cotton) of *C. includens*. The analysis of SNPs indicated 109 candidate loci under positive selection when we evaluated all populations, of which we can highlight genes associated with digestive metabolism, pesticides and plants genetically modified to express the Bt protein resistance, demonstrating that the *C. includens* populations are under a strong selection process promoted by the current agricultural landscape. Finally, a temporal study of the *C. includens* population fluctuation in four Brazilian regions indicated a wide variation in the number of moths captured weekly associated with the presence of soybean crops. The stable isotope markers of Carbon C13 and the biochemical marker for cotton indicated that *C. includens* feeds exclusively on plants with type C3 photosynthetic mechanism and cotton is an important host for *C. includens* populations at Luiz Eduardo Magalhães in Bahia. There were no more individuals with a positive association for the cotton biomarker in the other three Brazilian regions. F_{ST} indices based on microsatellite markers indicated a spatial genetic structure among some subpopulations of *C. includens*. Finally, the biochemical marker for cotton reinforces our hypothesis of recent expansion and low dispersion capacity of *C. includens* among Brazilian regions.

Keywords: Soybean looper, Phylogeography; Gene flow; Population structure; Adaptation; Population fluctuation.

1. INTRODUÇÃO

Dentro da ordem Lepidoptera, a família Noctuidae destaca-se por ser uma das mais diversas, com cerca de 21.000 espécies de ampla distribuição mundial e com grande ocorrência na região tropical (Fujihara *et al.*, 2011). São espécies, que em sua maioria, evidenciam-se pela relação com diversos ambientes e recursos, sendo algumas espécies consideradas pragas agrícolas de extrema importância econômica (Holloway *et al.*, 1992). As mariposas desta família possuem tamanhos variados, desde muito grandes, chegando a 30 cm, até microlepidópteros com menos de 15 cm de envergadura. Além de possuírem diversos tipos de coloração: parda, cinza, amareladas e com presença de manchas (Holloway *et al.*, 1992; Fujihara *et al.*, 2011).

Entre os lepidópteros da família Noctuidade, a subfamília Plusiinae recebe destaque por apresentar como principal característica apenas três pares de pernas abdominais desenvolvidas nas formas jovens, um par em cada um dos segmentos 5, 6 e 10. E por isso, as lagartas fazem um looper à medida que se locomovem, como se estivesse medindo palmos (Eichlin and Cunningham, 1978; Sosa-Gómez *et al.*, 2010). Plusiinae é uma subfamília com um pequeno número de espécies dentro da família Noctuidae, no entanto possui distribuição em todo o mundo e com um número estimado de 400 espécies (Goater *et al.*, 2003).

Uma dessas espécies é *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae), popularmente conhecida como lagarta-falsa-medideira, considerada praga de plantas economicamente importantes como soja, algodão, tabaco, feijão, girassol e diversas hortaliças (Herzog, 1980). Atualmente sabe-se que *C. includens* utiliza como hospedeiro cerca de 174 plantas pertencentes a 39 famílias. No Brasil, são registradas 26 destas plantas hospedeiras que garante a sobrevivência e persistência dessa espécie ao longo de todas as estações do ano, mesmo na ausência de extensos cultivos agrícolas (Specht *et al.*, 2015).

Os adultos de *C. includens* são mariposas com asas dispostas de forma inclinada, com aproximadamente 35 mm de envergadura. Essas asas são de coloração escuras, com duas manchas prateadas brilhantes na parte central do primeiro par de asas, e as asas posteriores são de coloração marrom (Gallo *et al.*, 2002; Sosa-Gómez *et al.*, 2010). As fêmeas depositam seus ovos de forma isolada na face abaxial das folhas. Esses ovos são de formato globular, medindo aproximadamente 0,5 mm de diâmetro e apresentam coloração clara que tendem a escurecer próximo a eclosão, além de um desenvolvimento embrionário de aproximadamente 5 dias (Peterson, 1964; Mascarenhas and Pitre, 1997; Barrionuevo *et al.*, 2012).

As larvas de *C. includens*, ao eclodirem, são de coloração verde-clara, com listas longitudinais brancas e pontuações pretas espalhadas ao corpo. A duração do período imaturo da lagarta-falsa-medideira é de aproximadamente 23 dias, atingindo aproximadamente 45 mm de comprimento, com uma média de seis instares larvais até formar a pupa, que ocorre em uma teia, com período pupal de 7 a 9 dias até a emergência dos adultos. O ciclo de vida completo de *C. includes* leva um período de aproximadamente 43 dias (Sosa-Gómez *et al.*, 2010; Barrionuevo *et al.*, 2012).

A distribuição de *C. includens* estende-se do norte da América do Norte ao sul da América do Sul (Herzog, 1980; Alford and Hammond, 1982). No hemisfério norte, especialmente nos Estados Unidos, as populações de *C. includens* apresentam comportamento migratório, habitando em regiões tropicais e subtropicais entre o Equador e o Trópico de Câncer durante o inverno (como sul da Flórida e do Texas, nos EUA), onde a espécie se reproduz o ano todo (Mason *et al.*, 1989). No Brasil, *C. includens* pode ser encontrada periodicamente e com diferentes densidades populacionais em todo o seu território (Marsaro Junior *et al.*, 2010; Specht *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2017). No entanto, as informações sobre o padrão de dispersão são escassas para essa espécie no Brasil, deixando a possibilidade de ampla capacidade de dispersão da espécie também como hipótese para o recente aumento populacional de *C. includens* (Palma *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2017).

Até a década de 90, *C. includens* ocorria em baixa densidade populacional na cultura da soja, sendo considerada uma praga secundária que exigia poucas medidas de controle. No entanto a partir dos anos 2000, houve um aumento expressivo nas populações dessa praga elevando seu status para uma praga-chave (Guedes *et al.*, 2011; Moscardi *et al.*, 2012). São diversas as hipóteses usadas para explicar estes surtos populacionais de *C. includens*. Entre elas a mais citada, mas ainda não plenamente testada, é a baixa ocorrência de agentes naturais de controle, principalmente do fungo *Metarhizium rileyi* (Ascomycota: Clavicipitaceae), gerada pelo excesso a aplicação de defensivos agrícolas não seletivos para o controle da ferrugem-da-soja e outras pragas agrícolas (Stansly and Orellana, 1990; Sosa-Gómez *et al.*, 2003).

Outra hipótese é a forte expansão de áreas agrícolas no Brasil, onde paisagens de biomas vem sendo alteradas, propondo uma conversão do habitat nativo para o agrícola e consequente maior disponibilidade de alimento (Spehar, 1995; Fearnside, 2001). Até o início dos anos 70 a cultura da soja se restringia ao sul do Brasil, porém os avanços nos métodos de cultivos e a disponibilidade de novas tecnologias e variedades permitiram a expansão dessa cultura para novas fronteiras, ocupando e fragmentando novos biomas, como o Cerrado e mais recentemente a Floresta Amazônica (Klink, 1994; Spehar, 1995; Klink, 1995; Camargo, 2001).

O efeito da sobreposição de áreas de cultivo de soja e algodão, que de acordo com Burleiger (1972), diminui a eficiência do controlador biológico, pode aumentar aspectos como longevidade, oviposição e frequência de cópulas, uma vez que a espécie pode usufruir de fontes de recurso de mais hospedeiros.

Para o manejo integrado de pragas (MIP) conhecimentos sobre a estrutura populacional e o fluxo gênico entre populações podem fornecer informações importantes para o manejo eficiente e sustentável de pragas agrícolas (Scott *et al.*, 2005; Enderby *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2013; Leite *et al.*, 2014; Corrêa *et al.*, 2017; Leite *et al.*, 2017; Arias *et al.*, 2019; Ferronato *et al.*, 2019; Bakovic *et al.*, 2019). Estudos sobre a estrutura populacional bem como sobre fluxo gênico podem estimar o grau de isolamento e a troca de material genético de uma determinada espécie entre populações, ao longo do tempo e do espaço, fornecendo uma estimativa da taxa de invasão ou re-colonização de determinada área, e ainda inferir linhagens diferenciadas e isoladas que ocupam diferentes culturas (Pashley, 1986; Martel *et al.*, 2003; Busato *et al.*, 2004; Soares *et al.*, 2018; Corrêa *et al.*, 2019). No entanto, as informações sobre a demografia, estrutura e a diversidade genética, da falsa-medidiera-da-soja são escassas no território brasileiro e em todo o continente Americano.

A diversidade genética de uma espécie corresponde a variação hereditária encarregada das diferenciações fenotípicas dos indivíduos de uma população, garantindo a espécie potencial adaptativo aos efeitos ambientais, como mudanças climáticas, predação, competição, patologias e fatores abióticos diversos (Amos and Harwood, 1998). A distribuição dessa variabilidade genética nas populações é denominada de estrutura genética e sua manutenção ocorre devido a interação entre fatores ecológicos (sistema reprodutivo, a distribuição espacial, o tamanho efetivo e a dispersão) com fatores evolutivos (seleção natural, deriva genética, mutação e fluxo gênico) (Hamrick, 1989; Brown, 1990). O fluxo gênico, uma mudança evolutiva na frequência dos alelos causada pelo movimento de genes entre populações de uma mesma espécie, atua promovendo a homogeneidade genética (Slatkin, 1985; Futuyma, 1992).

Neste contexto, o uso de marcadores moleculares tem se revelado uma importante e eficiente ferramenta para quantificar a diversidade genética e o fluxo gênico existentes entre e dentro das populações de insetos. O uso das sequências de DNA mitocondrial (mtDNA) tornou-se nos últimos anos o método mais comum para uma ampla gama de aspectos de investigações taxonômicas, populacionais e evolutivas em animais (Lunt *et al.*, 1996). Esse uso se vale pelas características deste marcador, como alta taxa de substituições de base, facilidade de isolamento, cópia única e herança uni parental (Arias, 2003). Essas são características vantajosas por permitirem a reconstrução de linhagens evolutivas sem que haja interferência

dos efeitos da hereditariedade biparental e da recombinação existente no DNA nuclear (Pakendorf and Stoneking, 2005).

Outro marcador que se destaca em estudos de estrutura genética de insetos são os microssatélites. Embora originalmente projetado para pesquisa em seres humanos, a análise por microssatélites tornou-se uma ferramenta poderosa para a pesquisa em animais (Schlötterer *et al.*, 1991). Por serem marcadores codominantes, eles fornecem mais informação genética por loco e possibilitam inferir a heterozigosidade de uma população. Além disso, apresentam vantagens como um alto número de alelos por locus, alta taxa de mutação e reprodutibilidade (Ferreira and Grattapaglia, 1998; Oliveira *et al.*, 2006). Marcadores microssatélites são utilizados em estudos com lepidópteras pragas para investigar estrutura genética, padrões de hibridização e fluxo gênico entre populações (Endersby *et al.*, 2006; Domingues *et al.*, 2012; Leite *et al.*, 2017; Arias *et al.*, 2019).

Contudo, populações altamente conectadas e/ou recentemente divergentes de tamanhos efetivos grandes, muitas vezes mostram fraca diferenciação genética, diminuindo assim o poder de ferramentas genéticas para definir unidades de gestão e atribuindo indivíduos à sua origem (Allendorf *et al.*, 2010). A promessa das tecnologias NGS (Sequenciamento de Nova Geração) para identificar regiões genômicas divergentes entre populações que anteriormente acreditava-se ser em grande parte não diferenciado, é uma perspectiva empolgante tanto para aumentar nosso conhecimento sobre divergência adaptativa quanto para identificar marcadores úteis para a designação populacional de indivíduos (Ackerman *et al.*, 2011).

Um dos métodos de NGS é a Genotyping-by-sequencing (GBS), que aumentam o poder de genotipagem do SNP (Single Nucleotide Polymorphisms), coletando simultaneamente milhões de sequências de leitura curta para cada indivíduo e melhorando a cobertura da sequência por locus através da redução da complexidade do genoma com minimização de custos financeiros. É uma abordagem promissora para estudos populacionais, e outras aplicações, em diversos organismos (Elshire *et al.*, 2011). Os SNPs ou polimorfismos de nucleotídeo único são originados de mutações pontuais na cadeia de nucleotídeos como as transições e transversões (Turchetto-Zolet *et al.*, 2017). São abundantes e amplamente distribuídos nos genomas, podendo estar presentes em praticamente todos os loci gênicos, o que representa grande vantagem nas análises genéticas (Perkel, 2008). A partir de dados de SNPs é possível identificar variação e associação entre estrutura genética de uma determinada praga com seu hospedeiro, além de origem e fluxo gênico de uma espécie (Elshire *et al.*, 2011).

Neste contexto o uso de marcadores mitocondriais e nucleares podem auxiliar no conhecimento sobre origem, demografia, diversidade genética e fluxo gênico de *C. includens* no Brasil, permitindo desbravar pistas para responder questões sobre a origem dos surtos populacionais, a dinâmica populacional no espaço e em diferentes hospedeiros e a capacidade adaptativa dessa espécie no agroecossistema brasileiros. Dessa forma, nosso objetivo geral foi inferir a dinâmica populacional histórica e contemporânea de *C. includens* em diferentes regiões brasileiras e em diferentes hospedeiros.

Referências

- Ackerman, M.W., Habicht, C., Seeb, L.W., 2011. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) under diversifying selection provide increased accuracy and precision in mixed-stock analyses of sockeye salmon from the Copper River, Alaska. *Transactions of the American Fisheries Society*, 140, 865–881.
- Alford, A. R., Hammond Junior, A. N., 1982. Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae), populations in Louisiana soybeans ecosystems as determined with looplure-baited traps. *Journal of Economic Entomology*, Lanham. 75, 4, 647-650.
- Allendorf, F.W., Hohenlohe, P.A., Luikart, G., 2010. Genomics and the future of conservation genetics. *Nature Reviews Genetics*, 11, 697–709.
- Amos, W., Harwood, J., 1998. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 353, 1366, 177–186.
- Arias, M.C., Francisco, F.O., Silvestre, D., 2003. O DNA mitocondrial em estudos populacionais e evolutivos de meliponíneos. In *Apoidea Neotropica* (G.A.R. Mello & I. Alves-dos-Santos, eds.). Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 305-309.
- Arias, O., Cordeiro, E., Corrêa, A.S., Domingues, F.A., Guidolin, A.S., Omoto, C., 2019. Population genetic structure and demographic history of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): implications for insect resistance management programs. *Pest Management Science* DOI 10.1002/ps.5407.
- Bakovic, V., Schuler, H., Schebeck, M., Feder, J. L., Stauffer, C., Ragland, G. J., 2019. Host plant-related genomic differentiation in the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi* (L., 1758) (Diptera: Tephritidae). *Molecular Ecology*. doi:10.1111/mec.15239

- Barrionuevo, M.J., Murúa, M.G., Goane, L., Meagher, R., Navarro, F., 2012. Life table studies of *Rachiplusia nu* (Guenée) and *Chrysodeixis* (= *Pseudoplusia*) *includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) on artificial diet. Fla. Entomol. 95, 944–951.
- Brown, A. H. D., 1990. Genetic characterization of plant mating systems. In: Brown, A. H. D.; Clegg, M. T.; Kahler, A. L.; Weir, B. S. (Ed.). Plant populations genetics, breeding and genetic resources. Sunderland: Sinauer Associates. 145-162 p.
- Burleigh, J.G., 1972. Population dynamics and biotic controls of the soybean looper in Louisiana. Environmental Entomology, 1, 290-294.
- Busato, G.R., Grutzmacher, A.D., Oliveira, A.C., Vieira, E.A., Zimmer, P.D., Kopp, M.M., Bandeira, J.D., Magalhães, T.R., 2004. Analysis of the molecular structure and diversity of *Spodoptera frugiperda* (JE smith) (Lepidoptera: Noctuidae) populations associated to the corn and rice crops in Rio Grande do Sul State, Brazil. Neotropical Entomology, Londrina, 33, 709-716.
- Camargo, A.J.A., 2001. Insect diversity in cultivated areas and nature reserves: considerations and recommendations. (Diversidade de insetos em áreas cultivadas e reserva legal: considerações e recomendações.) Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Embrapa Cerrados, 1:27.
- Corrêa, A.S.; Vinson, C. C.; Braga, L.S.; Guedes, R.N.C.; Oliveira, L. O. 2017. Ancient origin and recent range expansion of the maize weevil *Sitophilus zeamais*, and its genealogical relationship to the rice weevil *S. oryzae*. Bulletin Of Entomological Research, v. 107, p. 9-20.
- Corrêa, A.S.; Cordeiro, E.M.G.; Omoto, C. 2019. Agricultural insect hybridization and implications for pest management. Pest Management Science, v. 75, p. 2857-2864.
- Domingues, F.A., Silva-Brandão, K.L., Abreu, A.G., Perera, O.P., Blanco, C.A., Consoli, F.L., Omoto, C., 2012. Genetic Structure and Gene Flow Among Brazilian Populations of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). Journal Of Economic Entomology, 105, 6, 2136 -2146.
- Eichlin, T. D., Cunningham, H. B., 1978. The Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae) of America North of Mexico, emphasizing genitalic and caterpillar morphology. Technical Bulletin 1567. U. S. Department of Agriculture, Washington, DC.
- Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Sun Q., Poland, J.A., Kawamoto, K., Buckler, E.S., Mitchell, S.E., 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. Plos One, 6(5): e19379. doi:10.1371/journal.pone.0019379

- Endersby, N.M., Mckechnie, S.W., Ridland, P.M., Weeks, A.R., 2006. Microsatellites reveal a lack of structure in Australian populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Molecular Ecology*, Oxford, 15, 107-118.
- Ferreira, M.E., Grattapaglia, D., 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Embrapa-CENARGEN, Brasília. 220p.
- Fearnside, P. M., 2001. Soybean cultivation as a threat to the environment in Brazil. *Environmental Conservation* 28, 23-38.
- Ferronato, P., Woch, A. L., Soares, P. L., Bernardi, D., Botton, M., Andrezza, F., ... & Corrêa, A. S., 2019. A phylogeographic approach to the *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) invasion in Brazil. *Journal of Economic Entomology*, 112(1), 425-433.
- Fujihara, R.T., Forti, L.C., Almeida, M. C., Baldin, E.L.L., 2011. Insetos de importância econômica: Guia ilustrado para identificação de famílias. Botucatu: Editora FEPAF, 391.
- Futuyma, D.J., 1992. *Biologia evolutiva*. 2. ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética. 631.
- Gallo, D., Nakano, O., Silveira Neto, S., Carvalho, R.P.L., Baptista, G.C., Berti Filho, E., Parra, J.R.P., Zucchi, R.A., Alves, S.B., Vendramim, J.D., Marchini, L.C., Lopes, J.R.S., Omoto, C., 2002. *Entomologia Agrícola*. Piracicaba: FEALQ, 920.
- Goater, B., Ronkay, L., Fibiger, M., 2003. *Noctuidae Europaeae. Catocalinae, Plusiinae*, vol. 10. Entomological Press, Sorø
- Guedes, J.V.C., Stecca, C.S., Rodrigues, R.B., Bigolin, M., 2011. Nova dinâmica. *Cultivar Grandes Culturas*. 139, 24-26.
- Hamrick, J.L., 1989. Isozymes and analysis of genetic structure in plant populations. In: Soltis, D.E., Soltis, P. *Isozymis and analysis of genetic structure in plant populations*. New York: Chapman and Hall. 87-105.
- Herzog, D.C., 1980. Sampling soybean looper on soybean. In: Kogan, M., Herzog, D.C. (Eds.), *Sampling Methods in Soybean Entomology*. Springer Verlag, New York, pp. 141–162.
- Holloway, J. D., Bradley, J. D., Carter, D. J., 1992. *II E Guides to Insects of Importance to Man*. 1. Lepidoptera. London, The Natural History Museum, 263.
- Klink, C. A., Macedo, R. H., Mueller, C. C., 1994. Cerrado: Processo de ocupação e implicações para a conservação e utilização da sua diversidade biológica. Brasília, Brazil: World Wide Fund for Nature (WWF-Brasil): 104.
- Klink, C.A., 1995. *De Grão em Grão: O Cerrado Perde Espaço*. Brasília, Brazil: World Wide Fund for Nature (WWF-Brasil): 66.

- Leite, N. A., Alves-Pereira, A., Corrêa, A. S., Zucchi, M. I., Omoto, C., 2014. Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. PLoS one, 9(11): e113286.
- Leite, N.A., Correa, A.S., Michel, A.P., Alves-Pereira, A., Pavinato, V.A.C., Zucchi, M.I., Omoto, C., 2017. Pan-American Similarities in Genetic Structures of *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) With Implications for Hybridization. Environ Entomol. 146(4):1024-1034.
- Lunt, D.H., Zhang, D.X., Szymura, J.M., Hewitt, G.M., 1996. The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies. Insect Mol. Biol. 5:153–65.
- Marsaro Junior, A.L., Pereira, P.R.V.S., Silva, W.R., Griffel, S.C.P., 2010. Flutuação populacional de insetos-praga na cultura da soja no estado de Roraima. Revista Acadêmica. Ciências Agrárias e Ambientais, São José dos Pinhais. 8, 71-76.
- Martel, C., Réjasse, A., Rousset, F., Bethenod, M. T., Bourguet, D., 2003. Host plant associated genetic differentiation in Northern French populations of the European corn borer. Heredity, London. 90, 141-149.
- Mascarenhas, R.N., Pitre, H.N., 1997. Oviposition responses of soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) to varieties and growth stages of soybeans. Environmental Entomology. 26, 76-83.
- Mason, L.J., Johnson, S.J., Woodring, J., 1989. Seasonal and ontogenetic examination of the reproductive biology of *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae). Environmental Entomology. 18, 980-985.
- Moscardi, F., Bueno, A.F., Sosa-Gómez, D.R., Roggia, S., Hoffmann-Campo, C.B., Pomari, A. F., Corso, I.C., Yano, S.A.C., 2012. In: Hoffmann-Campo, B.C., Corrêa-Ferreira, B.S., Moscardi, F. Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga, Embrapa, 859.
- Oliveira, E. J., Pádua, J. G., Zucchi, M. I., Vencovsky, R., Vieira, M. L. C., 2006. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. Genetics and Molecular Biology, Ribeirão Preto. 29, 2, 294-307.
- Oliveira, M. R. C., Correa, A. S., de Souza, G. A., Guedes, R. N. C., & de Oliveira, L. O. 2013. Mesoamerican origin and pre-and post-Columbian expansions of the ranges of *Acanthoscelides obtectus* Say, a cosmopolitan insect pest of the common bean. PLoS One, 8(7), e70039.
- Pakendorf, B., Stoneking, M., 2005. Mitochondrial DNA and Human Evolution. Annual Review of Genomics and Human Genetics 6: 165-183.

- Palma, J., Maebe, K., Guedes, J.V.C., Smagghe, G., 2015. Molecular Variability and Genetic Structure of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), an Important Soybean Defoliator in Brazil. PLoS ONE 10(3): e0121260.
- Pashley, D.P., 1986. Host-associated genetic differentiation in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): a sibling species complex. Ann. Entomol. Soc. Am. 79: 898-904.
- Perkel, J., 2008. SNP genotyping: Six technologies that keyed a revolution. Nat Methods 5:575–575. doi: 10.1038/nmeth0608-575b
- Peterson, A., 1964. Egg types among moths of the Noctuidae. Florida Entomologist. 47, 71-100.
- Santos, S. R., Specht, A., Carneiro, E., Paula-Moraes, S. V., Casagrande, M. M., 2017. Interseasonal variation of *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) populations in the Brazilian Savanna. Revista Brasileira de Entomologia, 61(4), 294-299. <https://dx.doi.org/10.1016/j.rbe.2017.06.006>.
- Schlötterer, C., Amos, B., Tautz, D., 1991. Conservation of polymorphic simple sequence loci in cetacean species. Nature 354:63-65
- Scott, K.D., Lawrence, N., Lange, C.L., Scott, L.J., Wilkinson, K.S., Merritt, M.A., Miles, M., Murray, D., Graham, G.C., 2005. Assessing moth migration and population structuring in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) at the regional scale: example from the darling downs, Australia. Journal of Economic Entomology, Lanham. 98, 6, 2210-2219.
- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. Annual Review of Ecology and Systematics, Palo Alto.16, 393-430.
- Sosa-Gómez, D.R., Corrêa-Ferreira, B.S., Hoffmann-Campo, C.B., Corso, I.C., Oliveira, L.J., Moscardi, F., Panizzi, A.R., Bueno, A. F., Hirose, E., 2010. Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja. Londrina: Embrapa-CNPSO. 90 (Embrapa – CNPSO. Documentos, 269).
- Sosa-Gómez, D.R., Delpin, K.E., Moscardi, F., Nozaki, M.D.H., 2003. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. Neotropical Entomology. 32, 287-291.
- Soares, P. L., Cordeiro, E. M. G., Santos, F. N. S., Omoto, C., Correa, A. S., 2018. The reunion of two lineages of the Neotropical brown stinkbug on soybean lands in the heart of Brazil. Nature. 8, 2496.

- Specht, A., Paula-Moraes, S.V., Sosa-Gómez, D.R., 2015. Host plants of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae, Plusiinae). *Revista Brasileira de Entomologia*. 59: 343–345.
- Spehar, C. R., 1995. Impact of strategic genes in soybean on agricultural development in the Brazilian tropical savannahs. *Field Crops Research*. 1, 141-146.
- Stansly, P.A., Orellanam, G.J., 1990. Field Manipulation of *Nomuraea rileyi* (Moniliales: Moniliaceae): Effects on Soybean Defoliators in Coastal Ecuador). *Journal of Economic Entomology*. 83(6): 2193-2195.
- Turchetto, C., Turchetto-Zolet, A.C., Passaia, G., Zanella, C.M., 2017. Marcadores genéticos baseados em DNA. In: Turchetto-Zolet, A.C., Turchetto, C., Zanella, C.M., Passaia, G., *Marcadores Moleculares na Era genômica: Metodologias e Aplicações*. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto. 12-20.

2. FILOGEOGRAFIA E DEMOGRAFIA MOLECULAR DE *Chrysodeixis includens* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) NO BRASIL

Dados submetidos junto ao manuscrito: C.S. Silva; E.M.G. Cordeiro; J.B. Paiva; P.M. Dourado; R.A. Carvalho; G. Head; S. Martinelli; A.S. Correa. Population expansion and genomic adaptation to agricultural environments of the soybean looper, *Chrysodeixis includens*. EVOLUTIONARY APPLICATIONS. 2020

RESUMO

Dentre as pragas mais importantes da atualidade, *Chrysodeixis includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) vem se destacando pelo seu alto grau de polifagia e grande aumento populacional. Com o objetivo de conhecer a dinâmica histórica desta praga, nós sequenciamos dois marcadores mitocondriais para conduzir uma investigação filogeográfica da dinâmica histórica de *C. includens*. Ao analisar os dois fragmentos concatenados obtivemos diversidade haplotípica e nucleotídica total de $Hd = 0.455$ e $\pi = 0.00048$, respectivamente. A maior diversidade haplotípica e nucleotídica de *C. includens* foi encontrada no bioma Cerrado $Hd = 0.621$ e $\pi = 0.00067$, seguido pela Mata Atlântica, $Hd = 0.505$ e $\pi = 0.00059$. O Bioma Caatinga apresentou diversidade nula, onde todos os locais de amostragem tinham um único haplótipo. As análises demográficas F_s de F_u , D de Tajima e *Mismatch distribution* indicaram uma recente expansão demográfica e espacial de *C. includens* no território brasileiro. Já a AMOVA apontou uma falta de estrutura genética entre as populações de *C. includens*. As redes de haplotipos geradas apresentaram uma topologia com formato de estrela, ou seja, um haplótipo central com alta frequência e com ampla distribuição geográfica (haplótipo H1), e haplotipos adicionais em baixas frequências, conectados ao haplótipo central por um único evento mutacional. Nós encontramos baixa diversidade genética, recente expansão populacional e falta de estrutura populacional de *C. includens* no Brasil, características que podem estar associadas a aberturas de fronteiras agrícolas em diferentes regiões brasileiras.

Palavras-chave: Filogeografia, falsa-medideira-da-soja, estrutura populacional, expansão espacial

Phylogeography and Molecular Demography of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil

*Data submitted in the manuscript: C.S. Silva; E.M.G. Cordeiro; J.B. Paiva; P.M. Dourado; R.A. Carvalho; G. Head; S. Martinelli; A.S. Correa. Population expansion and genomic adaptation to agricultural environments of the soybean looper, *Chrysodeixis includens*. EVOLUTIONARY APPLICATIONS. 2020

ABSTRACT

Among the most important agricultural pests, *Chrysodeixis includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) highlights by its high degree of polyphagy and high population density. In order to understand the historical dynamics of this pest, we sequenced two mitochondrial markers and we conducted a phylogeographic study of *C. includens* in Brazil. When analyzed two concatenated gene fragments, we obtained haplotype and nucleotide diversity of $Hd = 0.455$ and $\pi = 0.00048$, respectively. The highest haplotype and nucleotide diversity of *C. includens* was found in Cerrado biome $Hd = 0.621$ and $\pi = 0.00067$, followed by the Brazilian Atlantic Forest, $Hd = 0.505$ and $\pi = 0.00059$. In Caatinga biome, we found a null diversity, where all sampling sites had a single mitochondrial haplotype. The demographic analyses Fu's F_s , Tajima D , and Mismatch distribution indicated a recent demographic and spatial expansion of *C. includens* in the Brazilian territory. AMOVA analysis suggested a lack of spatial genetic structure among the populations of *C. includens*. The haplotype networks presented a star-like topology, that is, a central haplotype with high frequency and wide geographical distribution (H1 haplotype), and additional haplotypes at low frequencies, connected to the central haplotype by a single mutational event. We figured out low genetic diversity, recent population expansion, and a lack of population structure for *C. includens* in Brazil, aspects that probably are associated with the advance of agricultural areas in different Brazilian regions.

Keywords: Phylogeography, soybean looper, population structure, spatial expansion

3. ESTRUTURA GENÉTICA E FLUXO GÊNICO DE *Chrysodeixis includens* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) INFERIDA POR MARCADORES SNPS NO BRASIL

*Dados submetidos junto ao manuscrito: C.S. Silva; E.M.G. Cordeiro; J.B. Paiva; P.M. Dourado; R.A. Carvalho; G. Head; S. Martinelli; A.S. Correa. Population expansion and genomic adaptation to agricultural environments of the soybean looper, *Chrysodeixis includens*. *EVOLUTIONARY APPLICATIONS*. 2020

RESUMO

Atualmente a utilização de marcadores moleculares possibilita a investigação da dinâmica de populações de insetos em condições de campo, revelando mudanças sutis nos padrões adaptativos das espécies. *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) é uma espécie praga de grande importância para o agronegócio brasileiro, no entanto, pouco se sabe sobre os processos adaptativos em andamento e sua relação com a dinâmica populacional desta espécie e os seus surtos populacionais. Dessa forma, nós utilizamos uma abordagem genômica para produzir um grande número de marcadores SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) e assim investigar a dinâmica populacional contemporânea e os eventos adaptativos de *C. includens* em áreas cultivadas no Brasil. Nós coletamos insetos em 12 locais no Brasil com foco em dois diferentes hospedeiros, soja e algodão, e aplicamos a técnica Genotyping by Sequencing para obter 1.453 SNPs. Encontramos uma baixa variação na diversidade nucleotídica ($\pi = 0,234-0,256$), na heterozigosidade observada ($H_O = 0,167-0,185$) e no coeficiente de endogamia ($F_{IS} = 0,162$ a $0,251$) entre as populações de *C. includens*. A análise de EBSP confirma uma recente expansão demográfica com início datado em ~ 300 anos. O F_{ST} par-a-par indica baixa estruturação populacional, com inicial isolamento por distância ($r = 0,30$, $p = 0,06$). No entanto, o resultado mais impactante foi a significativa, apesar de também inicial, estruturação por hospedeiro para *C. includens* coletadas em soja e algodão em diferentes regiões da BA e MT. O aplicativo LOSITAN produziu 109 loci candidatos sob seleção positiva quando avaliamos todas as populações, dos quais podemos destacar genes associados ao metabolismo digestivo e resistência a pesticidas e plantas geneticamente modificadas para expressar a proteína Bt. Nossos resultados apontaram para uma recente expansão demográfica e uma fraca estrutura genética geográfica de *C. includens*. No entanto, uma consistente estruturação por hospedeiro foi observada. Por fim, o avanço e a intensificação dos cultivos agrícolas tem promovido seleção de alelos em populações de *C. includens* associados a herbivoria, defesa contra patógenos e supostamente resistência a agroquímicos e plantas Bt. Compreender como os processos adaptativos moldam a trajetória evolutiva das populações de pragas dificilmente impedirá a transformação contínua das populações naturais, mas pode nos guiar na busca por melhores ferramentas de monitoramento e manejo de pragas em sistemas agrícolas tropicais.

Palavras-chave: falsa-medideira-da-soja, SNPs, estrutura genética, adaptação a hospedeiro

**Genetic structure and gene flow of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae)
inferred by SNPs markers in Brazil**

*Data submitted in the manuscript: C.S. Silva; E.M.G. Cordeiro; J.B. Paiva; P.M. Dourado; R.A. Carvalho; G. Head; S. Martinelli; A.S. Correa. Population expansion and genomic adaptation to agricultural environments of the soybean looper, *Chrysodeixis includens*. EVOLUTIONARY APPLICATIONS. 2020

ABSTRACT

Currently, the use of molecular markers enabled the investigation of insect populations' dynamics in field conditions, revealing subtle changes in the adaptive patterns of species. *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) is a pest species of great importance for Brazilian agriculture, however, we do not know about the adaptive processes and its relationship with the population dynamics and population outbreaks of this species. Here, we use a genomic approach to produce a large number of SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) markers and, thus, we investigated the contemporary population dynamics and adaptive events of *C. includens* in cultivated areas in Brazil. We collected insects from 12 sites in Brazil with a focus on two different hosts, soybean and cotton, and applied the Genotyping by Sequencing tool to obtain 1,453 SNPs. We found low variation in nucleotide diversity ($\pi = 0.234-0.256$), observed heterozygosity ($H_O = 0.167-0.185$), and inbreeding coefficient ($F_{IS} = 0.162$ to 0.251) among the populations of *C. includens*. The EBSP analysis confirmed a recent demographic expansion of *C. includens* dated to ~ 300 years. The paired F_{ST} indicates low population structure, with initial isolation by distance ($r = 0.30$, $p = 0.06$). However, the most striking result was the significant, although initial, structuring by host for *C. includens* larvae collected in soybean and cotton crop in different regions from BA and MT. The LOSITAN software produced 109 candidate loci under positive selection when we evaluated all populations, of which we can highlight genes associated with digestive metabolism, resistance to pesticides and plants genetically modified to express the *Bt* protein. The results pointed to a recent demographic expansion and a weak geographical genetic structure of *C. includens*. However, consistent structuring by the host was observed. Finally, the advance and intensification of agricultural crops have promoted the selection of alleles in populations of *C. includens* associated with herbivores, defense against pathogens and pesticide and *Bt* plants resistance. Understanding how adaptive processes shape the evolutionary trajectory of pest populations will hardly prevent the continuous transformation of natural populations, but it can guide us in the search for better pest monitoring and management tools in tropical agricultural systems.

Keywords: soybean looper, SNPs, genetic structure, host adaptaton

4. ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA A FALSA-MEDIDEIRA-DA-SOJA (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

* *Publicado em:* Silva, C. S., Cordeiro, E. M. G., & Corrêa, A. S. (2019). Isolation and Characterization of Microsatellite Markers for Soybean Looper (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Science*, 19(5), 22.

RESUMO

Chrysodeixis includens Walker (Lepidoptera: Noctuidae) é uma das pragas mais severas com relatos de ataque em diversas culturas agrícolas nas Américas. Aqui, relatamos a construção de 13 marcadores microssatélites para *C. includens*. Todos os marcadores SSR foram polimórficos e não há evidência de desequilíbrio de ligação entre qualquer um dos *loci* para todas as populações estudadas. O número total de alelos por *locus* variou de 5 para L3, L9 e L11 a 26 para L6 e o número médio de alelos por *locus* considerando as três populações de *C. includens* variou de 2.333 para L3 a 14.666 para L6. Não foi encontrado desvio significativo de HWE em quatro *loci* para pelo menos uma das populações testadas (L3, L5, L9, L10), enquanto os demais *loci* não estavam em HWE. Os marcadores L6, L7, L8, L10, L11, L12 e L13 mostraram a frequência de alelos nulos $> 0,2$. As estatísticas F e a análise de STRUCTURE revelaram uma baixa estrutura populacional entre as populações de *C. includens* ($F_{ST} = 0,013$) e alta endogamia ($F_{IS} = 0,658$). Esperamos que os marcadores SSR aqui desenvolvidos se tornem ferramentas úteis para futuros estudos sobre a ecologia, demografia, dinâmica de hospedeiros e fluxo gênico de *C. includens*. Essas informações são cruciais para entender o status recente de *C. includens* como uma das principais pragas na América do Sul.

Palavras-chave: marcadores SSR, pragas agrícolas, estrutura genética, fluxo gênico, surto de pragas.

**Isolation and Characterization of Microsatellite Markers for Soybean Looper
(Lepidoptera: Noctuidae)**

Published in: Silva, C. S., Cordeiro, E. M. G., & Corrêa, A. S. (2019). Isolation and Characterization of Microsatellite Markers for Soybean Looper (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Science*, 19(5), 22.

ABSTRACT

Chrysodeixis includens (Lepidoptera: Noctuidae) is one of the most severe pests reported to damage many crops in the Americas. Here, we reported the construction of 13 microsatellite markers for *C. includens*. All SSR markers were polymorphic and no evidence of linkage disequilibrium between any of the loci in any populations. The total number of alleles per locus varied from 5 for L3, L9, and L11 to 26 for L6 and the mean number of alleles per locus considering the three populations of *C. includens* ranged from 2,333 for L3 to 14,666 for L6. No significant deviation of HWE was found in four loci for at least one tested population (L3, L5, L9, L10), while the others were not in HWE. The markers L6, L7, L8, L10, L11, L12, and L13 showed the frequency of null alleles > 0.2 . The STRUCTURE and F statistics revealed low population structure among the populations of *C. includens* ($F_{ST} = 0.013$) and high inbreeding ($F_{IS} = 0.658$). We hope that the SSR markers here developed will become useful tools for future studies on ecology, demography, host dynamics, and gene flow of *C. includens*. This information are crucial to understand the recent status of *C. includens* as a key-pest in South America.

Keywords: SSR markers, agricultural pest, genetic structure, gene flow, pest outbreak.

5. DINÂMICA POPULACIONAL TEMPORAL DE *Chrysodeixis includens* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E ASSOCIAÇÃO COM HOSPEDEIROS EM QUATRO REGIÕES BRASILEIRAS

RESUMO

Os constantes surtos populacionais da falsa-medideira-da-soja, *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) nos cultivos de soja do Brasil são comumente associadas as mudanças na forma de cultivo e expansão dessa cultura para novos ambientes. Aqui, nós investigamos as explosões populacionais desse inseto-praga em quatro estados considerados importantes produtores de soja, em um período de 54 semanas. Insetos adultos foram coletados com auxílio de armadilhas de feromônio semanalmente. Posteriormente, nós analisamos as diferenças nos valores das taxas de Carbono $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ presentes em plantas C3 e C4 e marcadores bioquímicos para algodão no intuito de investigar os hospedeiros de origem das mariposas capturadas. Por fim, com o uso de marcadores microssatélites, obtivemos informações sobre o fluxo gênico e a estrutura populacional no espaço e no tempo das subpopulações de *C. includens* coletadas em cada região. Um total de 31,017 insetos foram coletados nos quatro pontos no período de dezembro de 2014 a dezembro de 2015. O pico de captura das mariposas de *C. includens* em cada região variou entre 60 a 90 dias após o início do plantio da soja, com rápida diminuição na densidade populacional na ausência de cultivos de soja e algodão nas áreas. Os marcadores de isótopos estáveis de Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) indicaram que todas as mariposas de *C. includens* são provenientes de larvas alimentadas em plantas tipo C3. Destas, 7,76% de mariposas de *C. includens* coletadas no total atestaram positivo para o marcador bioquímico heliocídio H, indicando que as larvas alimentaram-se de algodão e todas as mariposas foram coletadas em Luís Eduardo Magalhães - BA (BALM). Para todas as subpopulações analisadas, as médias de heterozigosidades observadas (H_o) variaram de 0,107 a 0,789, enquanto as médias de heterozigosidade esperadas (H_e) variaram de 0,141 a 0,933. Encontramos uma baixa estrutura populacional total ($F_{ST} = 0,015$), no entanto, as análises de F_{ST} par-a-par indicaram uma estruturação populacional inicial para região geográfica. Nossos dados indicam que a densidade populacional de *C. includens* está diretamente associada a cultura da soja e que as populações de *C. includens* tem baixa capacidade de dispersão entre regiões produtoras no Brasil, visto que, mariposas adultas com marcação bioquímica positiva para o algodão foram encontradas apenas em áreas com plantio de algodão. Assim, a baixa estruturação genética espacial encontrada em *C. includens* é devido a recente expansão demográfica das pragas associada a expansão geográfica de cultivos para as regiões mais ao Norte do Brasil.

Palavras-chave: Lepidoptera, amplitude de hospedeiros, isótopos estáveis, estrutura genética, microssatélites.

Temporal Population Dynamics of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) and Association with hostes in four Brazilian Regions

ABSTRACT

The population outbreaks of the soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in soybean crops in Brazil are commonly associated with changes in the form of cultivation and expansion of this crop to new environments. Here, we investigate the population density of this insect pest in four Brazilian states over a period of 54 weeks. We also analyzed differences in the values of carbon rates $\delta^{13}\text{C} / \delta^{12}\text{C}$ present in C3 and C4 plants and biochemical marker for cotton in order to investigate the larval hosts of origin of the captured moths. Finally, using microsatellite markers, we intend to obtain information on gene flow and population structure in space and time for *C. includens* subpopulations collected in each region. Total of 31,017 insects were collected at the four sites from December 2014 to December 2015. The peak of capture of *C. includens* moths in each region ranged from 60 to 120 days after soybean planting, with rapid decrease in population density in the absence of soybean and cotton crops in the areas. The stable carbon isotope markers ($\delta^{13}\text{C}$) indicated that all *C. includens* moths come from larvae fed on C3 type plants and only 7.76% of *C. includens* moths collected in total tested positive for the biochemical marker heliocide H, indicating that the larvae fed on cotton and all moths were collected in Luís Eduardo Magalhães. For all subpopulations analyzed, the observed heterozygosity (H_o) ranged from 0.107 to 0.789, while the expected heterozygosity (H_e) ranged from 0.141 to 0.933. We found a low global population structure ($F_{ST} = 0.015$), however, F_{ST} paired analyzes indicated an initial population structure for the geographic region. Our data indicate that the population density of *C. includens* is directly associated with soybean culture and that the populations of *C. includens* have low dispersion capacity between producing regions in Brazil, since adult moths with positive biochemical mark for cotton were found only in regions with cotton planted areas. Thus, the low spatial genetic structure found in *C. includens* should be to the recent demographic expansion of the pest associated with the geographical expansion of crops to the northern regions from Brazil.

Keywords: Lepidoptera, host range, stable isotopes, genetic structure, microsatellites.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos estudos identificaram baixa diversidade genética mitocondrial para indivíduos de *C. includens* coletados no Brasil. Tanto a abordagem filogeográfica utilizando marcadores mitocondriais quanto as análises de múltiplos loci através de marcadores SNPs e SSRs, nos levaram a hipótese de uma recente expansão demográfica e espacial de *C. includens* no Brasil, com início datado a ≈ 300 anos. No entanto, processos iniciais de estruturação genética por distância geográfica (IBD) e por hospedeiro (soja e algodão) foram revelados por nossos marcadores moleculares e pelo marcador bioquímico para a cultura do algodão (heliocídio H). Isso é reforçado pelos SNPs sobre seleção que apontaram seleção positiva para genes associados ao metabolismo digestivo e, também, para resistência a pesticidas e plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas Bt, que sugere uma forte influência da paisagem agrícola contemporânea sobre as populações de *C. includens*. Finalmente, o levantamento populacional do número de mariposas de *C. includens*, realizado semanalmente em quatro regiões brasileiras, apontaram para uma alta associação do aumento na densidade populacional de *C. includens* com a presença de cultivos de soja em todas as regiões brasileiras ao longo de um ano agrícola. Desta forma, podemos sugerir que a expansão continua dos cultivos de soja para o Cerrado brasileiro nas últimas três décadas, e recentemente para regiões mais ao Norte do Brasil, contribui para o aumento da densidade populacional de *C. includens*, bem como para recente expansão demográfica e espacial de *C. includens* no Brasil. Além disso, o cenário agrícola atual contribui para seleção positiva de loci associados a características adaptativas como adaptação a hospedeiros e resistência a patógenos, pesticidas e plantas geneticamente modificadas.