

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

Avaliação da diversidade genética do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* do estado de São Paulo utilizando sequências do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I.

Samuel Felipe Zampa

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências, obtido no Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Maura Helena Manfrin

Ribeirão Preto, SP
2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Zampa, Samuel Felipe

Avaliação da diversidade genética do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* do estado de São Paulo utilizando sequências do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I. Ribeirão Preto, 2023.

44 p.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Biologia Comparada

Orientador: Manfrin, Maura Helena

1. *Tetranychus urticae*. 2. Gene COI. 3. Avaliação populacional. 4. estado de São Paulo.

Nome: Samuel Felipe Zampa

Título: Avaliação da diversidade genética do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* do estado de São Paulo utilizando sequências do gene Citocromo Oxidase I mitocondrial.

Dissertação apresentada ao Programa de Biologia Comparada da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.

Instituição:

Julgamento:

Prof. Dr.

Instituição:

Julgamento:

Prof. Dr.

Instituição:

Julgamento:

Dedico

A Deus, que me sustenta, me dá Sabedoria, direção e discernimento em todos os meus afazeres.

A minha esposa que em todos os momentos me auxilia e me apoia.

Aos meus pais que investiram e investem constantemente em minha vida com sua sabedoria e direções.

Ao meu irmão que sempre foi uma fonte de inspiração na minha vida.

AGRADECIMENTOS

- À Profa. Dra. Maura Helena Manfrin (FFCLRP/USP) pela oportunidade de realizar o mestrado, pelo apoio, incentivo para meu crescimento. Agradeço pela orientação durante todo o processo e conclusão do mestrado.
- Ao Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade (FCAV/UNESP) pela oportunidade, confiança, apoio do mestrado, especialmente para definição de amostra, reconhecimento dos indivíduos, o que foi fundamental para o desenvolvimento do projeto. Agradeço de coração por, desde minha graduação, incentivar e apoiar meu crescimento pessoal, profissional e acadêmico. Obrigado pelo carinho, amizade e aliança!
- À Dra. Dora Yovana Barrios Leal pelo apoio e instruções tanto nos processos laboratoriais como no auxílio da escrita da dissertação.
- Ao técnico Paulo Ricardo Epifânio pela amizade e companheirismo.
- A Naomi Yukie Eto, amiga do Laboratório de Genética Evolutiva, pela amizade e companheirismo e agradeço por todos os auxílios durante os processos laboratoriais.
- Ao Programa de Biologia Comparada da FFCLRP – USP e a Vera Cassia Cicilini de Lucca pela ajuda com as pendências burocráticas e pela disponibilização de recursos.
- Ao Departamento de Genética da FMRP/USP e seus funcionários, especialmente ao Técnico Paulo Ricardo Epifanio pela ajuda, disponibilização dos recursos e espaço físico para a realização deste trabalho.

- A todos, meu muito obrigado!

“Mas a sabedoria que vem do alto é antes de tudo pura; depois, pacífica, amável, compreensiva, cheia de misericórdia e bons frutos, imparcial e sincera” (Tiago 3:17)

RESUMO

ZAMPA, S. F. **Avaliação da diversidade genética do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* do estado de São Paulo utilizando sequências do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I.** 2023. 44p. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil é considerado o quinto maior país do mundo em extensão territorial, sendo que aproximadamente 7,17%, são dedicados à agricultura. O setor agrícola demanda consideráveis investimentos em agrotóxicos. Destacando-se como um protagonista na produção agropecuária nacional, o estado de São Paulo ocupa a terceira posição em contribuição para o faturamento desse setor. No contexto agrícola paulista, o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* emerge como uma praga de significativa relevância econômica, impondo prejuízos tanto estéticos quanto financeiros às culturas infestadas. Os danos causados por esse ácaro podem resultar na diminuição da qualidade e quantidade da produção agrícola, e em casos mais graves, levar à morte das plantas, acarretando perdas substanciais para os agricultores. Este estudo concentrou-se na análise de sequências parciais do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI), amplamente utilizado em análises filogenéticas de Tetranychidae e outros grupos taxonômicos. Sua alta taxa de mutação torna-o informativo para inferir relações evolutivas entre populações. O objetivo foi avaliar a variabilidade genética do gene COI de *T. urticae* em São Paulo, comparando-o com sequências depositadas no *GenBank*, e conduzir uma reconstrução filogenética para elucidar suas relações evolutivas. O estudo envolveu a coleta, extração de material genético e sequenciamento de 19 indivíduos de quatro populações em São Paulo. Adicionalmente, foram recuperadas 154 sequências do gene COI no *GenBank*. As análises revelaram a presença de 34 haplótipos distintos, agrupados em quatro clusters. Destacou-se uma relativa homogeneidade genética entre as amostras. Além disso, a árvore haplotípica exibiu uma possível correlação com a distribuição geográfica, proporcionando insights relevantes para a compreensão da dinâmica populacional de *T. urticae* e potencialmente guiando o desenvolvimento de estratégias mais eficazes para o controle de pragas agrícolas.

Palavras-chave: *Tetranychus urticae*, Gene COI, variabilidade genética, estrutura populacional.

ABSTRACT

ZAMPA, S. F. **Evaluation of the genetic diversity of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* in the state of São Paulo using mitochondrial cytochrome oxidase I gene sequences.** 2023. 44p. Master's Dissertation. Faculty of Philosophy, Sciences, and Letters of Ribeirão Preto, University of São Paulo

According to data from the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE), Brazil is considered the fifth largest country in the world in terms of territorial extension, with approximately 7.17% dedicated to agriculture. The agricultural sector requires significant investments in agricultural pesticides. Standing out as a protagonist in national agribusiness, the state of São Paulo ranks third in contribution to the sector's revenue. In the agricultural context of São Paulo, the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* emerges as a pest of significant economic relevance, imposing both aesthetic and financial losses on infested crops. The damage caused by this mite can result in a decrease in the quality and quantity of agricultural production, and in more severe cases, lead to the death of plants, causing substantial losses for farmers. This study focused on the analysis of partial sequences of the mitochondrial gene Cytochrome Oxidase I (COI), widely used in phylogenetic analyses of Tetranychidae and other taxonomic groups. Its high mutation rate makes it informative for inferring evolutionary relationships between populations. The aim was to assess the genetic variability of the COI gene in *T. urticae* in São Paulo, comparing it with sequences deposited in *GenBank*, and to conduct a phylogenetic reconstruction to elucidate its evolutionary relationships. The study involved the collection, extraction of genetic material, and sequencing of 19 individuals from four populations in São Paulo. Additionally, 154 COI gene sequences were retrieved from *GenBank*. Analyses revealed the presence of 34 distinct haplotypes, grouped into four clusters. A relative genetic homogeneity among samples was highlighted. Furthermore, the haplotype tree exhibited a possible correlation with the geographical distribution, providing relevant insights into understanding the population dynamics of *T. urticae* and potentially guiding the development of more effective strategies for agricultural pest control.

Keywords: *Tetranychus urticae*, COI gene, genetic variability, population structure.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura de um ácaro-rajado, *Tetranychus urticae*, se alimentando de uma folha de rosa. Crédito: Eric Erbe, USDA. Colorização digital por Chris Pooley, USDA 14

Figura 2. Rede A de haplótipos não enraizada do gene mitocondrial COI de populações de *Tetranychus urticae*. Haplótipos são representados por círculos, cujos tamanhos são proporcionais ao número de indivíduos que os possuem. Os pontos representados entre os haplótipos indicam haplótipos ausentes. Al=Alemanha, Br=Brasil, Can=Ilhas Canárias, CN=China, Esp=Espanha, Fr=França, Gr=Grécia, Mex=México, Trq=Turquia. As setas realçam as amostras localizadas no Brasil. 24

Figura 3. Distribuição geográfica dos 34 haplótipos utilizando o gene mitocondrial COI de populações de *Tetranychus urticae*. 25

Figura 4. Rede B de haplótipos não enraizada do gene mitocondrial COI de populações de *Tetranychus urticae*. Haplótipos são representados por círculos, cujos tamanhos são proporcionais ao número de indivíduos que os possuem. Os círculos pequenos azuis indicam haplótipos ausentes. 26

Figura 5. Árvore consenso originada a partir de análise de sequência do gene mitocondrial COI de diferentes populações de *Tetranychus urticae*. Número de acesso do *GenBank*, associado ao local de origem ou a espécie. *Panonychus mori* foi usada como grupo externo. A Probabilidade Posterior Bayesiana é mostrada nos nódulos. B= amostras do Brasil, BG= amostras do Brasil recuperada do *GenBank* 27

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Locais de coleta de *Tetranychus urticae* no estado de São Paulo. 18
- Tabela 2.** Número de indivíduos e de populações de *Tetranychus urticae* adquiridos do *GenBank* e neste estudo. 21
- Tabela 3.** Índices de diversidade genética de populações de *Tetranychus urticae* utilizando sequências do gene COI. 23

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	12
1 1 Considerações Iniciais.....	12
1 2 Produções Agrícolas em São Paulo.....	12
1 3 Modelo Biológico: <i>Tetranychus urticae</i>	13
2 OBJETIVOS	17
3 MATERIAIS E MÉTODOS	18
3 1 Coletas e identificação morfológicas	18
3 2 Extração, isolamento, amplificação e sequenciamento do gene mitocondrial COI ..	18
3 3 Análises descritivas	20
3 4 Busca no <i>GenBank</i> e redes haplotípicas	20
3 5 Análise filogenética	21
4 RESULTADOS	23
4 1 Análises das sequências do gene mitocondrial COI	23
4 2 Rede haplotípica	23
4 3 Reconstrução filogenética	26
5 DISCUSSÃO	28
5 1 Diversidade genética	28
5 2 Especialização planta-hospedeiro	29
5 3 Relações Filogenéticas e Proximidades Haplotípicas	30
6 REFERÊNCIAS	32
7 ANEXOS	38

1. INTRODUÇÃO

1.1. Considerações iniciais

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2023), o Brasil possui uma área total de 8.510.417.771 km², o que o coloca como o quinto maior país do mundo em extensão territorial. Dessa área, 7,17 % são destinados à agricultura (BRASIL MAPBIOMAS, 2023). O agronegócio brasileiro desempenha um papel significativo na economia do país, impulsionando o crescimento do Produto Interno Bruto (PIB) do setor. Segundo o Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA, 2022), o PIB do agronegócio representou 27,4% do PIB brasileiro em 2021. Esse impacto econômico impulsiona investimentos em pesquisa, desenvolvimento e tecnologia voltados para a área agrícola.

Dentre as várias produções agrícolas no Brasil, destacam-se por área cultivada: a soja (*Glycine max* L., 1753), o milho (*Zea mays* L., 1753), a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L., 1753), o café (*Coffea* sp.), o algodão (*Gossypium hirsutum* L., 1753), o arroz (*Oryza sativa* L., 1753), a mandioca (*Manihot esculenta* L., 1753), a laranja (*Citrus sinensis* L., 1753), o trigo (*Triticum* sp.) (IBGE, 2021). Toda esta produção exige um grande investimento financeiro na parte de agrotóxicos. Os estados que mais utilizam agrotóxicos são: Mato Grosso (27%); São Paulo e Minas Gerais (18%); Bahia, Maranhão, Piauí, Tocantins e Pará (13%); Rio Grande do Sul e Santa Catarina (12%); Paraná (11%); Goiás e Distrito Federal (9%); Mato Grosso do Sul (8%) e o restante dos estados (2%) (Sindicato Nacional de Produtos para Defesa Vegetal - SINDIVEG, 2023).

De acordo com o Sindicato Nacional de Produtos para Defesa Vegetal (SINDIVEG, 2023), houve um crescimento de 6,47% nas vendas de agrotóxicos em 2022 em comparação com o ano anterior. Além disso, o custo total dos produtos aplicados aumentou significativamente em 37,7% em relação a 2021.

1.2. Produções agrícolas em São Paulo

De acordo com o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA, 2023), o estado de São Paulo desempenha um papel significativo na produção agropecuária do Brasil, sendo classificado em terceiro lugar, o estado contribui substancialmente para o faturamento do setor. O estado de São Paulo (SP) representa metade do Valor Bruto da Produção Agropecuária (VBP) da região Sudeste, demonstrando seu impacto significativo no cenário agrícola nacional. De acordo com o IBGE (2021), as principais

produções agrícolas do estado de São Paulo são: a cana-de-açúcar (*S. officinarum*), a soja (*G. max*), a laranja (*C. sinensis*), o milho (*Z. mays*), o café (*Coffea* sp.), o amendoim (*Arachis hypogaea* L., 1753), o tomate (*Solanum lycopersicum* L., 1753), a banana (*Musa* sp.), o limão (*Citrus limon* L., 1753) e a borracha a partir da seringueira (*Hevea brasiliensis* (A. Juss.) Müll. Arg., 1865).

Dentre as diversas pragas que afetam as culturas agrícolas no estado SP, as espécies de ácaros da Família Tetranychidae desempenham um papel de grande importância. Cerca de 100 espécies dessa Família já foram relatadas no Brasil, porém destaca-se o ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* Koch, 1836, devido à sua relevância econômica. Esse ácaro tem a capacidade de infestar uma ampla variedade de plantas, o que aumenta seu impacto nas produções agrícolas (MIGEON; DARKELD, 2008).

1.3. Modelo biológico: *Tetranychus urticae*

O *T. urticae* é uma espécie pertencente à família Tetranychidae, que é conhecida por incluir ácaros produtores de seda (MORAES; FLECHTMANN, 2008). Análises filogenéticas sugerem uma possível origem no Mediterrâneo Ocidental, seguida de disseminação para outras regiões do mundo (NAVAJAS *et al.*, 1998). Essa espécie é cosmopolita, ou seja, está presente em todo o mundo, e é capaz de infestar ou possui uma ampla gama de hospedeiros, tanto espécies cultivadas quanto selvagens. Com cerca de 90 Mb, contém o menor genoma sequenciado dos artrópodes (GRBIĆ *et al.*, 2011). Uma característica distintiva do *T. urticae* são os dois pares de manchas escuras em seu dorso, que são responsáveis pelo nome comum "ácaro-rajado" (Figura 1). Além disso, o corpo desse ácaro é coberto por longas setas, que desempenham um papel importante na sua identificação morfológica e existem diferenças de tamanho e formato entre os machos (0,25mm de comprimento) e as fêmeas (0,46mm) (BERNARDI *et al.*, 2010).



Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura de um ácaro-rajado, *Tetranychus urticae*, se alimentando de uma folha de rosa. Crédito: Eric Erbe, USDA. Colorização digital por Chris Pooley, USDA.

A fêmea realiza a postura dos ovos nas folhas, geralmente nas proximidades das nervuras ou sobre as sedas já depositadas. Durante um período de aproximadamente 10 dias, uma fêmea pode depositar, em média, de 50 a 60 ovos (MARTINS, 2003). O período médio de incubação dos ovos é de cerca de quatro dias (MARTINS, 2003).

Conforme mencionado por Bernard *et al.* (2015), o ciclo de vida do ácaro-rajado compreende os estágios de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto, com duração média de 10 a 12 dias. No entanto, em temperaturas mais elevadas, o ciclo de vida pode ser reduzido. Essa variação na duração do ciclo de vida pode ter implicações significativas para a população e dispersão do ácaro-rajado em diferentes condições ambientais.

O ácaro-rajado se reproduz sexuada e assexuadamente. No caso da reprodução assexuada, ocorre um fenômeno conhecido como partenogênese arrenótoca, na qual os ovos não fecundados originam machos haploides. Por outro lado, os ovos fecundados dão origem a fêmeas diploides (HELLE; PIJNACKER, 1985).

A seda produzida pelo *T. urticae* desempenha diversas funções, como proteção contra predadores, proteção contra fatores abióticos, locomoção dos ácaros, seleção de micro-habitat, coesão de grupo e substrato para feromônios sexuais (DAVIS, 1952; LE GOFF *et al.*, 2012; SABELIS *et al.*, 2017; BAKKER, 1992; TIEN; SABELIS; EGAS, 2009; ZHANG, 2002; YANO, 2008;)

Uma função de grande importância para a dispersão das colônias de *T. urticae* é o uso da seda na formação de balonismo ou *collective silk balls*. Essa estrutura é inicialmente formada pela deposição de seda e pela captura de indivíduos nas camadas interiores. As bolas de seda são encontradas nos ápices das plantas infestadas e são compostas por indivíduos não relacionados em diferentes estágios de desenvolvimento

(CLOTUCHE *et al.*, 2011; CLOTUCHE *et al.*, 2013; LI; MARGOLIES, 1993; OSAKABE *et al.*, 2008).

A alimentação de *T. urticae* causa danos e impactos significativos nos processos fisiológicos da planta. Esse processo ocorre por meio da ruptura das células vegetais e da sucção do conteúdo intracelular, resultando na remoção da clorofila e na injeção de saliva, o que, por sua vez, gera disfunções nas folhas, como amarelecimento, necrose e perfuração (COUTO, 2003; TOMCZYK, 1985). Esses efeitos podem levar a danos estéticos nas plantas infestadas pelo ácaro-rajado, resultando em manchas e amarelamento nas folhas, o que afeta negativamente sua aparência visual e reduz o valor estético da cultura agrícola. Além disso, tais danos estéticos podem ocasionar prejuízos econômicos, uma vez que a qualidade e o valor comercial dos produtos agrícolas podem ser comprometidos devido à aparência prejudicada. Em situações de infestação severa, causam queda das folhas mais velhas da planta, expondo os frutos à ação direta dos raios solares, afetando sua qualidade, como afirmado por Martins e Marin (1998). Além disso, outros estudos, como o de Valadão *et al.* (2012), apontam que essas infestações podem ocasionar a morte de plantas, resultando em perdas expressivas para os agricultores. Em cultivos de soja, por exemplo, estudos mostraram que a infestação desse ácaro pode resultar em danos econômicos de até 15% (SUEKANE *et al.*, 2012). Em plantações de algodão, a infestação por *T. urticae* pode levar a perdas que variam de 5% a 30% na produção de algodão em caroço (AGOSTINI *et al.*, 2014). Além disso, em cultivos de feijão, a presença do ácaro-rajado pode causar reduções na produtividade que chegam a 40% (SUEKANE *et al.*, 2015). Esses prejuízos significativos destacam a importância de estratégias eficazes de controle desse ácaro para evitar perdas econômicas e garantir a segurança alimentar no país.

Assim, avaliar a diversidade genética do ácaro-rajado é relevante, pois pode gerar informações para nossa compreensão sobre sua capacidade de adaptação a medidas de controle, sua persistência em diferentes ambientes agrícolas e a eficácia das estratégias de manejo implementadas. Estudar e entender a diversidade genética dessa praga é crucial para o desenvolvimento de abordagens mais eficazes no controle do ácaro-rajado e na redução de seus impactos econômicos em cultivos agrícolas.

Para isso, são usados marcadores moleculares que podem trazer informações relevantes em estudos de identificação taxonômica, diversidade genética e filogenética dos ácaros da família Tetranychidae. Entre esses marcadores, está o gene Citocromo Oxidase subunidade I mitocondrial (COI) que codifica uma proteína envolvida na cadeia

respiratória mitocondrial de muitos organismos e tem sido amplamente utilizado em estudos intra e interespecíficos de tetraniquídeos (HINOMOTO; TAKAFUJI, 2001; MÁRQUEZ-CHÁVEZ *et al.*, 2019; ROS; BREEUWER, 2007). As sequências do gene COI são conhecidas por apresentarem grandes diversidades entre as espécies de Tetranychidae (HINOMOTO *et al.*, 2001; HINOMOTO; TAKAFUJI, 2001) e por auxiliarem na identificação de espécies dentro do gênero *Tetranychus* (ROS; BREEUWER, 2007). As informações fornecidas pelo gene COI têm sido utilizadas devido à sua alta taxa de mutação, o que o torna ideal para inferir as relações entre populações de uma mesma espécie (HINOMOTO *et al.*, 2001; HINOMOTO; TAKAFUJI, 2001; NAVAJAS *et al.*, 1998; XIE; HONG; XUE, 2006)

2. OBJETIVOS

- Avaliar a diversidade genética de *T. urticae* do estado de São Paulo por meio de análise das sequências do gene mitocondrial COI.

- Comparar a diversidade genética de *T. urticae* do estado de São Paulo com sequências de COI de outras origens geográficas para estabelecer as relações de origem e evolutivas entre elas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Coletas e identificação morfológica.

As populações de *T. urticae* foram coletadas em plantações de tomate rasteiro (*Lycopersicon lycopersicum* L., 1753), no estado de São Paulo (Tabela 1). As coletas foram feitas entre os meses de junho a agosto de 2022. Para encontrar os ácaros na plantação e fazer uma pré-identificação, foram analisadas várias folhas utilizando lupa de bolso de 10x de aumento. Ao encontrar e fazer uma identificação prévia, as folhas foram coletadas, armazenadas em sacolas, as quais foram armazenadas em um compartimento resfriado para retardar o metabolismo do ácaro. Após coletado, o material foi transportado para o Laboratório de Genética Evolutiva da FFCLRP-USP. Com ajuda de um estereoscópio, cada folha foi cuidadosamente observada e cerca de 30 ácaros adultos (fêmeas e machos) foram coletados e colocados em tubos coletores de 1,5µL com álcool 70° e armazenados a uma temperatura de -20°C. Para que posteriormente, os espécimes fossem utilizados para a identificação morfológica, extração, isolamento, amplificação e sequenciamento de seu material genético.

A confirmação da identificação morfológica foi realizada no Laboratório de Acarologia (AcaroLab) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, câmpus de Jaboticabal (Unesp-FCAV) - sob coordenação do Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade.

Tabela 1 - Locais de coleta de *Tetranychus urticae* no estado de São Paulo.

População	CG		N	ID
Jaboticabal	21°10'25.7"S	48°19'27.3"O	5	J1 – J5
Porto Ferreira	21°49'19.7"S	47°31'57.7"O	5	P1 – P5
Votuporanga1	20°16'18.5"S	49°55'46.5"O	5	V1 – V5
Votuporanga2	20°18'23.4"S	50°03'06.1"O	4	V6 – V9

CG = Coordenadas Geográficas, N = Número de indivíduos sequenciados. ID = Identificação das populações e amostras.

3.2. Extração, isolamento, amplificação e sequenciamento do gene mitocondrial

COI

A extração do DNA das amostras foi realizada a partir de um único indivíduo por extração, utilizando o conjunto de reagentes Quiagen' DNeasy® Blood & Tissue Kit, de acordo com as instruções do fabricante.

O isolamento e a amplificação do gene mitocondrial COI foram realizados por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). A PCR continha entre 30 a 50 ng de

DNA, 200 μM de dNTP, 0,4 μM de cada um dos primers (oligonucleotídeos iniciadores), 1X de tampão flexi (200 mM Tris-HCl pH 8,4 ; 500 mM KCl), 0,3 μl (1U) de Taq polimerase (Promega®) e água mili-Q para completar 30 μL de volume final. A PCR foi feita em um Termociclador AB Applied Biosystems (Veriti 96 well Thermal Cycler) e as condições de amplificação foram: 94°C por 3' e 35 ciclos de 1' a 94°C, 1' a 46°C, 2' a 72°C e o ciclo final 10' a 72°C. Os oligonucleotídeos iniciadores utilizados para amplificar o gene mitocondrial COI, foram 5'-AAGAGGAGGAGGAGACCCAA-3' (forward) e 5' -AAACCTCTAAAAATAGCGAATACAGC-3' (reverse) descritos em HINOMOTO e TAKAFUJI (2001). Os produtos amplificados foram verificados por eletroforese, usando um gel de agarose 1% corado com SYBR® (safe DNA gel stain). Os produtos foram visualizados por meio de exposição à luz UV em um transiluminador e seus tamanhos foram estimados a partir do padrão de bandas do marcador de peso molecular Low DNA Mass Ladder (©Invitrogen Corporation).

Para a purificação do produto de PCR foi usado o kit de purificação Illustra™ (Ge Healthcare) seguindo as instruções do fabricante, seguidamente cada amostra foi dosada no nanodrop™ e a concentração ajustada para o sequenciamento. A reação de sequenciamento foi realizada com auxílio do conjunto de reagentes ABI PRISM BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit. A reação de sequenciamento constituiu-se de 1 μl de Big Dye, 1.5 μl de tampão de Big Dye 5X, 10 μmol de oligonucleotídeos iniciadores, 50 ng/ μl de DNA e água mili-Q para completar 10 μl de volume final. Para o sequenciamento foram usados os mesmos oligonucleotídeos iniciadores e as condições de amplificação foram: 94°C por 1' e 39 ciclos de 15" a 94°C, 15" a 53°C, e 4' a 60°C.

Finalmente, para precipitar o produto de sequenciamento foram adicionados 80 μl de isopropanol 65% à placa de PCR (PCR® microplate) contendo os produtos das reações de sequenciamento e seguidamente mantidos em repouso por 15 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, a placa foi centrifugada a 4.000 rpm por 45 minutos a 4°C e o sobrenadante descartado por inversão da placa. Posteriormente, foi adicionado 200 μl de etanol 70% gelado a cada produto e centrifugada a placa a 14.000 rpm por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante foi descartado por inversão novamente da placa. O procedimento anterior da adição do etanol gelado foi repetido. Por último a placa é centrifugada com um spin invertido a 1000 rpm por 1 minuto e secada a 37°C na placa aquecedora por 1 hora para a evaporação do etanol. As amostras foram sequenciadas em sequenciador automático de DNA modelo ABI Prism 377.

3.3. Análises descritivas

As sequências *forward* e *reverse* foram analisadas, comparadas, corrigidas e editadas usando o programa Chromas Lite 2.0. O alinhamento múltiplo das sequências foi gerado no algoritmo ClustalW Multiple Alignment 1.8 (THOMPSON; HIGGINS; GIBSON, 1994) implementado no programa BioEdit versão 7.0.9.0 (HALL, 1999). Os índices de estatística descritiva estimados foram: número médio de diferenças nucleotídicas por sítio entre duas sequências (π) (NEI, 1987), o número de haplótipos (h), o índice de diversidade haplotípica (Hd) (NEI, 1987), o número médio de diferenças nucleotídicas (k); (NEI, 1987). Todos esses parâmetros foram estimados por meio do programa DnaSP 5.10 (ROZAS *et al.*, 2003).

3.4. Busca no *GenBank* e Redes haplotípicas

Foi feita uma busca de sequências do gene mitocondrial COI de *T. urticae* no *GenBank* (disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) com auxílio da ferramenta *blast* e as sequências obtidas neste trabalho. Na Tabela 2 está descrito o número de indivíduos e populações por país utilizadas nas diferentes análises. No Anexo 1, estão descritas informações mais detalhadas como: os números de acesso do *GenBank* com suas respectivas referências, as coordenadas e as plantas hospedeiras.

Para a construção da rede haplotípica, foram utilizadas 135 sequências recuperadas do *GenBank*, juntamente com as 19 sequências obtidas neste trabalho. Inicialmente, uma árvore de Máxima Verossimilhança foi gerada usando o MEGA v11 (TAMURA; STECHER; KUMAR, 2021) e usada como entrada para gerar a rede haplotípica no Haplotype Viewer (disponível em: <http://www.cibiv.at/~greg/haploviewer>).

A distribuição dos haplótipos da rede foi feita no programa QGIS v3.30.3 (TEAM, 2021). Os materiais cartográficos foram obtidos do ArcGIS Hub (HUB, 2023) e as coordenadas geográficas extraídas de cada referência (ver anexo A).

Tabela 2. Número de indivíduos e de populações de *Tetranychus urticae* a partir dos quais foram obtidas as sequências no *GenBank* para este estudo.

País	N	P	ID	Referência
Alemanha	1	1	Al	(ÍNAK <i>et al.</i> , 2019)
Brasil (PE)	1	1	Br	(DE MENDONÇA <i>et al.</i> , 2011)
Brasil (SP)	19	4	Br	Neste estudo
Canárias	5	4	Can	(DE MENDONÇA <i>et al.</i> , 2011)
China*	29	11	CN	(YU <i>et al.</i> , 2011)
Espanha	5	4	Esp	(DE MENDONÇA <i>et al.</i> , 2011)
França	6	6	Fr	(DE MENDONÇA <i>et al.</i> , 2011)
Grécia	1	1	Gr	(DE MENDONÇA <i>et al.</i> , 2011)
México	79	10	Mex	(MÁRQUEZ-CHÁVEZ <i>et al.</i> , 2019)
Turquia	8	5	Trq	(ÍNAK; <i>et al.</i> , 2019)

N= número de indivíduos, P=número de populações, ID= identificação. *Algumas seqüências dos dados da China foram duplicadas, segundo as informações populacionais do estudo, mas o total disponível no *GenBank* foram 13.

3.5. Análise filogenética

Com o auxílio do programa jModelTest v2.1.10 (DARRIBA *et al.*, 2012), foi selecionado o modelo de substituição nucleotídica que melhor explica a evolução das seqüências obtidas. Posteriormente uma árvore filogenética foi gerada com auxílio do programa MrBayes v3.1.2 (NIELSEN; HUELSENBECK; RONQUIST, 2005). A seqüência da espécie *Panonychus mori* Ehara, 1952 (número de acesso *GenBank* AB041256), gênero pertencente à família Tetranychidae, foi utilizada como grupo externo. O modelo de substituição de nucleotídeos GTR (*General Time Reversible*) foi assumido e uma árvore de consenso foi construída após quatro execuções independentes de dez milhões de gerações; cada árvore foi amostrada a cada 1000 gerações e com 25% de *burn-in*. A convergência e estabilidade dos parâmetros foram verificadas usando TRACER [tamanho efetivo da amostra (ESS) \geq 200] (DRUMMOND *et al.*, 2003). A visualização da árvore foi feita pelo programa Fig Tree v.1.4.4 (XIE; HONG; XUE, 2006).

Para a construção da árvore filogenética, foram incluídas no estudo outras espécies de Tetranychidae como referência. Essas espécies incluíram *Panonychus citri* (McGregor, 1916) (número de acesso de *GenBank* AB041252), *Tetranychus kanzawai* Schicha, 1980 (número de acesso de *GenBank* AB079036), *Tetranychus truncatus* Ehara, 1966 (número de acesso de *GenBank* AB257317), *Tetranychus pacificus* McGregor, 1950 (número de acesso de *GenBank* X80858), *Tetranychus neocaledonicus* André, 1935

(número de acesso de *GenBank* X80859) e *Tetranychus mcdanieli* McGregor, 1931 (número de acesso de *GenBank* X80857).

4. RESULTADOS

4.1. Análise descritivas das sequências do gene mitocondrial COI

Foram analisadas 379 pares de bases (pb) de sequências do gene COI de 19 amostras coletadas em quatro populações de *T. urticae* localizadas no estado de São Paulo. No total foram encontrados dois haplótipos nas 19 amostras avaliadas. As populações do município de Votuporanga apresentaram a maior diversidade haplotípica e nucleotídica e é constituída por dois haplótipos. As populações de Jaboticabal e Porto Ferreira apresentaram um único haplótipo (Tabela 3).

Tabela 3. Índices de diversidade genética de populações de *Tetranychus urticae* utilizando sequências do gene COI.

Município	N	H	h	S	Hd	π_1	K
Jaboticabal	5	H1 (5)	1	0	*-	0	*-
Porto Ferreira	5	H1 (5)	1	0	*-	0	*-
Votuporanga 1	5	H1(1) H2(4)	2	4	0,40	0,00399±0,00237	1,6
Votuporanga 2	4	H1(3) H2(2)	2	6	0,68	0,00993±0,00304	4,0
Total	19		2	4	0,46	0,00455±0,00085	1,8

N = número de indivíduos; H = haplótipo pertencente; h = número de haplótipos; S = número de sítios polimórficos; Hd = diversidade haplotípica; π_1 = diversidade nucleotídica (desvio-padrão); k = número médio de diferenças nucleotídicas, *- = dado não computado pelo programa pela falta de variabilidade da amostra.

4.2. Rede Haplotípica

A rede haplotípica foi construída utilizando as 154 sequências do gene mitocondrial de *T. urticae*, resultando em um total de 34 haplótipos. A abordagem utilizada resultou em duas representações distintas da rede: a rede A e a rede B. Na rede A (Figura 2), as cores indicam os países de origem das sequências COI obtidas do banco de dados. Já na rede B (Figura 4), as cores são utilizadas para representar as plantas hospedeiras das quais as coletas foram realizadas.

A configuração dos grupos haplotípicos revelou quatro grupos distintos. Os haplótipos encontrados nas populações do estado de São Paulo, resultantes deste estudo, foram compartilhados com amostras do México (H1), amostra da Alemanha (H4) e uma amostra da China (um haplótipo) (H2) no grupo 1. No grupo 2, foram agrupados alguns haplótipos da Turquia (quatro haplótipos) e Grécia (um haplótipo). A amostra brasileira de Pernambuco obtida do *GenBank* foi agrupada com amostras de outros países, incluindo

Ilhas Canárias, França, Turquia (quatro haplótipos) e Espanha (H3) no grupo 3. O grupo 4 consiste principalmente de sequências da China (Figura 2).

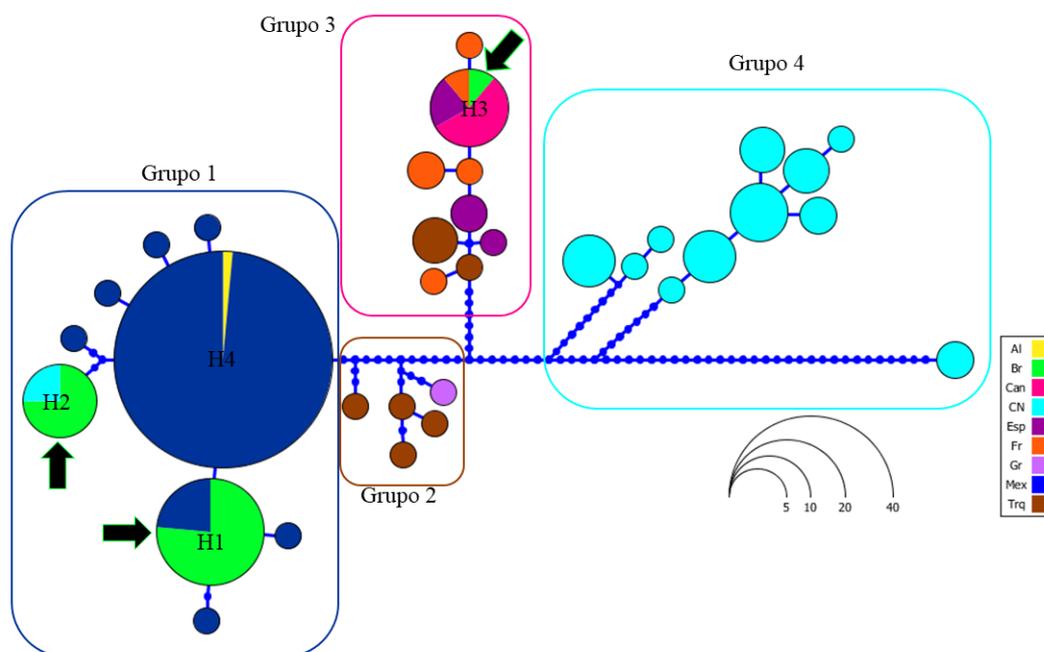


Figura 2. Rede A de haplótipos não enraizada do gene mitocondrial COI de populações de *Tetranychus urticae*. Haplótipos são representados por círculos, cujos tamanhos são proporcionais ao número de indivíduos que os possuem. Os pontos representados entre os haplótipos indicam haplótipos ausentes. Al=Alemanha, Br=Brasil, Can=Ilhas Canárias, CN=China, Esp=Espanha, Fr=França, Gr=Grécia, Mex=México, Trq=Turquia. As setas realçam as amostras localizadas no Brasil.

A distribuição geográfica dos haplótipos (Figura 3), permitindo uma visualização clara das áreas de origem das amostras. As cores na figura representam os agrupamentos de amostras que compartilham o mesmo haplótipo, com destaque para os haplótipos 1, 2, 3 e 4, representados pelas cores amarela, vermelha, verde e azul, respectivamente.

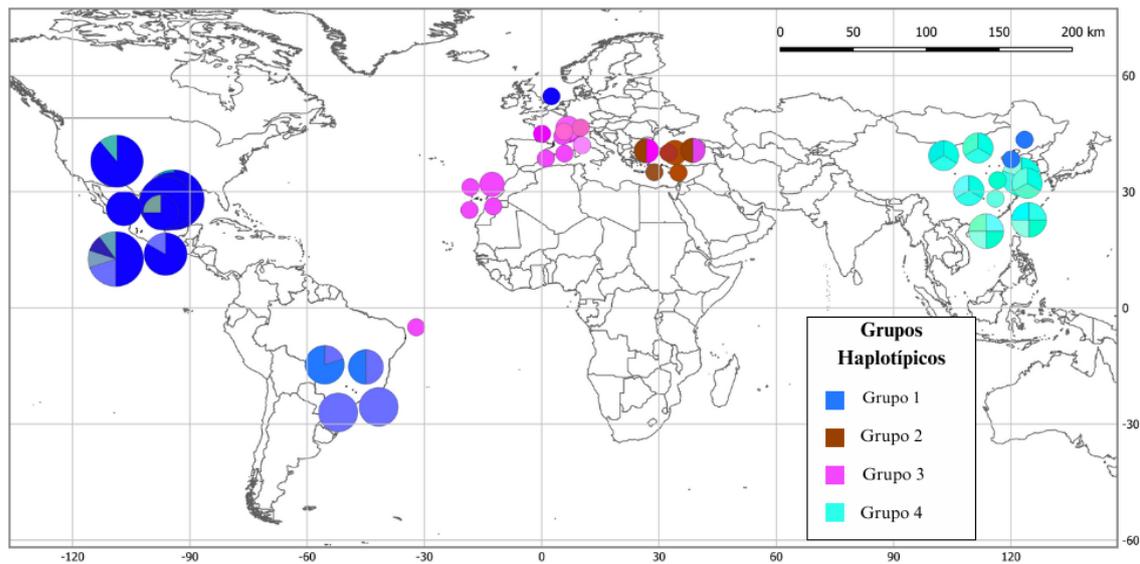


Figura 3. Distribuição geográfica dos 34 haplótipos utilizando o gene mitocondrial COI de populações de *Tetranychus urticae*. Na qual a tonalidade de cores dentro dos grupos indica os diferentes haplótipos.

A configuração da rede não sugere relação entre os grupos haplotípicos e as plantas hospedeiras. O grupo 1 é composto por amostras coletadas de *Rubus idaeus*, *Rubus ulmifolius*, *Phaseolus* sp., *Lycopersicon lycopersicum* e Cidade. O grupo 2 é formado por amostras de *Phaseolus* sp., *Carica papaya* e *Solanum melongena*. O grupo 3 inclui amostras de *Urtica dioica*, *Solanum lycopersicum*, *S. melongena*, *Solanum nigrum*, *Piper nigrum*, *Cucumis sativus*, *Datura stramonium*, *Nerium oleander*, *Musa acuminata*, *C. papaya* e *Phaseolus vulgaris*. O grupo 4 é composto por amostras coletadas em cidades, plantações e parques. Especificamente para as amostras do Brasil, os haplótipos 1 e 2 foram encontrados na planta *L. lycopersicum*. E no haplótipo 3, foi encontrada na planta *C. papaya*.

As cores na rede apresentada na Figura 4 representam as diferentes espécies de plantas hospedeiras das quais as amostras de *T. urticae* foram coletadas. Essas espécies incluem *Phaseolus* sp. (Ps), *C. papaya* (Cp), *L. lycopersicum* (Ll), *M. acuminata* (Ma), *S. lycopersicum* (Sl), Cidade (Ci), Plantação (Plan), Parque (Par), *S. melongena* (Sm), *S. nigrum* (Sn), *N. oleander* (No), *D. stramonium* (Ds), *U. dioica* (Ud), *P. vulgaris* (Pv), *R. ulmifolius* (Ru), *R. idaeus* (Ri), *Cucurbita pepo* (Cpp), *P. nigrum* (Pn) e *C. sativus* (Cs). É importante observar que para as amostras da China não há informações sobre as plantas hospedeiras das quais foram coletadas. Para essas amostras, foram realizadas inferências com base em imagens obtidas do Google Maps e nas coordenadas fornecidas no artigo. Assim, foram agrupadas nas categorias Cidade, Parque e Plantação.

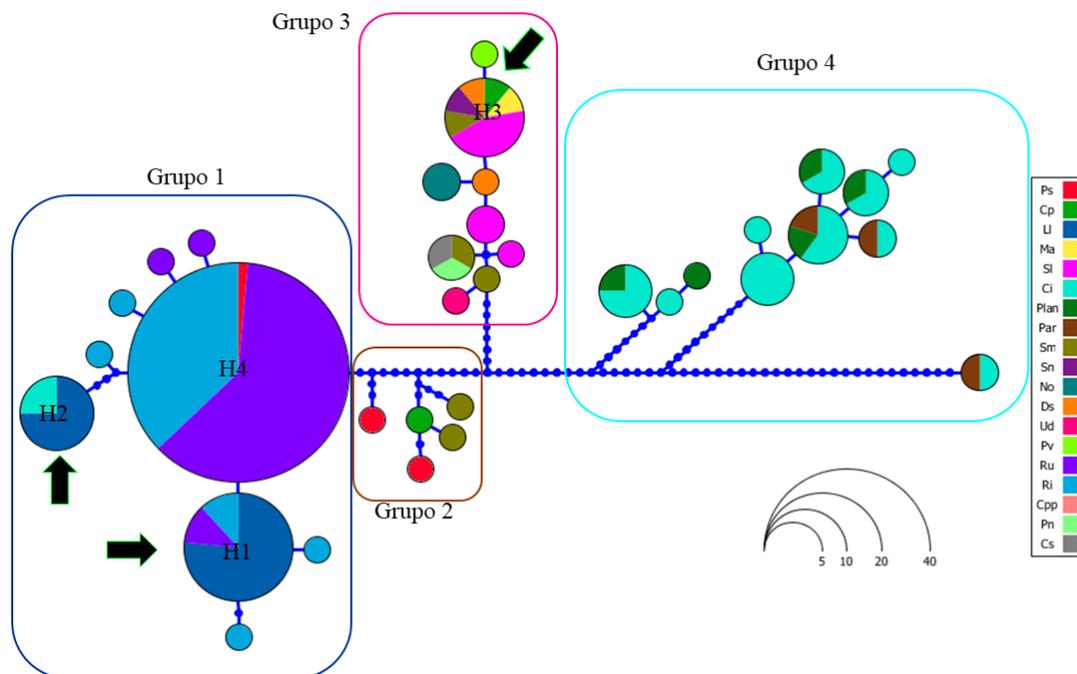


Figura 4. Rede B de haplótipos não enraizada do gene mitocondrial COI de populações de *Tetranychus urticae*. Haplótipos são representados por círculos, cujos tamanhos são proporcionais ao número de indivíduos que os possuem. Os pontos representados entre os haplótipos indicam haplótipos ausentes.

4.3. Reconstrução Filogenética

A árvore filogenética baseada na Inferência Bayesiana é apresentada na Figura 5. Na análise, a espécie *P. mori* foi utilizada como grupo externo e formou um grupo irmão com *P. citri*. O grupo 1 inclui amostras do Brasil deste estudo, do México, da Alemanha e uma amostra da China, com alta Probabilidade Posterior Bayesiana (PPB = 0,99). O grupo 2 é composto por algumas amostras da Turquia e Grécia, com PPB de 0,87. O grupo 3 é formado pelas amostras das Ilhas Canárias, Espanha, Turquia, França e uma amostra do Brasil recuperada do *GenBank*, apresentando PPB de 1. O grupo 4 consiste nas amostras da China e outras espécies de *Tetranychus*. Algumas amostras estão agrupadas com *T. truncatus* (PPB = 1), outras com *T. kanzawai* (PPB = 1) e a última está mais distante, posicionada como um grupo externo (PPB = 0,99).

5. DISCUSSÃO

O ácaro-rajado, *T. urticae*, é uma praga cosmopolita de grande relevância nas plantações, devido à sua ampla variedade de plantas hospedeiras e à notável resistência extrema a agrotóxicos. Com o intuito de fornecer informações sobre a diversidade genética dessa espécie no Brasil, foi realizado uma comparação entre 19 indivíduos de quatro populações de agrossistemas no estado de São Paulo, utilizando o gene mitocondrial COI. Analisamos em conjunto com as amostras deste estudo sequências de várias populações do mundo, totalizando 154 amostras. Nossos resultados indicaram uma baixa diversidade genética, onde os haplótipos encontrados no estado de São Paulo compartilham o mesmo grupo com amostras do México, China e Alemanha (Figura 2 e 3). Esses resultados estão em concordância com pesquisas prévias, exemplificadas pelo estudo de Navajas *et al.* (1998), que utilizou o mesmo gene. Isso evidencia que o *T. urticae*, de maneira geral, exibe uma baixa diversidade genética.

5.1 Diversidade genética

Navajas *et al.* (1998) sugerem em seu trabalho, que a homogeneização da diversidade de suas amostras reflete mais a colonização do que uma expansão local. Isso se deve ao fato de que os autores estabeleceram uma relação entre o Mediterrâneo e a presença de amostras com alta diversidade, enquanto as amostras não-mediterrâneas demonstraram uma diversidade mais baixa. Essa disparidade indica a possibilidade de uma colonização originária do Mediterrâneo. Nesse sentido, nosso estudo também corrobora a persistência desse padrão de colonização e homogeneização da diversidade, uma vez que nosso estudo apresenta baixa variabilidade do gene COI (Tabela 3), e no contexto global, apresenta compartilhamento de haplótipos com outros países (Figura 2).

O tipo de reprodução partenogenética pode exercer um impacto significativo na diversidade de *T. urticae*. Devido a esse mecanismo, a prole será geneticamente idêntica à mãe, resultando em menor variabilidade genética entre as gerações sucessivas. Essa característica de reprodução assexuada é comum em espécies de ácaros fitófagos, permitindo uma rápida proliferação sem a necessidade de acasalamento, em ambientes favoráveis como agrossistemas, onde existe um número reduzido de predadores e competidores por exemplo. Estudos em pulgões (*Sitobion* sp.), como demonstrados por Wilson (1999), têm mostrado que eles utilizam a reprodução partenogenética para a dispersão, resultando em genótipos únicos por áreas amplas de amostragem. É possível que o mesmo ocorra com *T. urticae*, o que poderia indicar sua baixa diversidade genética.

Estudos conduzidos por Van Pottelberge *et al.* (2013) estabeleceram uma ligação entre genes mitocondriais e a resistência em *T. urticae*, sugerindo que desempenham um papel crucial na adaptação a compostos químicos. Essa resistência possivelmente é influenciada por interações complexas com outros genes mitocondriais. Além disso, Dearmauw *et al.* (2013) exploraram a capacidade do *T. urticae* de se alimentar de várias plantas hospedeiras e como esse comportamento pode desempenhar um papel central no desenvolvimento da resistência a pesticidas. A adaptação dos ácaros a diferentes ambientes vegetais não apenas envolve respostas genéticas relacionadas aos mecanismos de detoxificação, mas também pode estar conectada a modificações no mtDNA. Considerando a diversidade de plantas hospedeiras e a exposição a uma ampla variedade de compostos químicos, inclusive aqueles utilizados como acaricidas, é plausível que a polifagia e a variação no gene COI possam estar correlacionadas com a capacidade de desenvolver resistência a pesticidas. Assim, é provável que a homogeneidade do gene COI dentro das populações de *T. urticae*, seja de significativa importância para a sobrevivência desse organismo. De acordo com Van Leeuwen, Tirry e Nauen (2006), foi demonstrado que acaricidas de diversos grupos químicos interagem de maneira específica com a respiração mitocondrial em ácaros, afetando diferentes posições na cadeia de transporte de elétrons. No entanto, a fim de obter uma compreensão mais aprofundada do papel do COI em sua resistência, são requeridos estudos adicionais.

5.2 Especialização planta-hospedeiro

A especialização planta-hospedeiro tem sido muitas vezes reivindicada como direcionador importante na diversidade genética em insetos fitófagos (MOPPER; STRAUSS, 1998). A especialização planta-hospedeiro também foi sugerida em ácaros (FRY, 1990; GOTOH *et al.*, 1993; NAVAJAS *et al.*, 2000). De acordo com Navajas *et al.* (2000), as plantas hospedeiras têm um papel significativo na influência sobre a diversidade genética das populações de *T. urticae*. No entanto, essa relação não deve ser considerada de forma isolada. Embora a adaptação às plantas hospedeiras possa impulsionar a diferenciação genética, outros fatores também desempenham um papel crucial nesse processo. Navajas *et al.* (2000) mencionam que nem todas as populações de *T. urticae* associadas à planta "rose bay" (*Rosa canina*) mostram diferenciação genética em relação a outras populações desse ácaro. Isso sugere que, embora a planta hospedeira seja um fator importante, não é o único determinante da variação genética observada. A falta de fluxo gênico entre populações, eventos de deriva genética e mudanças no

ambiente causadas pela colheita e plantio em agrossistemas são fatores que podem contribuir para a diversidade genética das populações de *T. urticae*.

É importante salientar que os resultados obtidos a partir de esta pesquisa não permitem uma afirmação conclusiva sobre o impacto das plantas hospedeiras na diversificação genética de *T. urticae*, dado que nossas amostras são provenientes de um único tipo de planta hospedeira. Portanto, é crucial considerar uma escala mais abrangente e incorporar diferentes tipos de plantas hospedeiras para compreender adequadamente as complexidades da relação entre plantas hospedeiras e a diversidade genética de *T. urticae*.

A presença de uma ampla diversidade de plantas hospedeiras, aliada à exposição a distintos compostos químicos presentes nas lavouras (DEARMAUW *et al.*, 2013; TIRRY; NAUEN, 2006), potencialmente poderiam desempenhar um papel crucial em manter a uma alta diversidade genética nas comunidades de ácaros. No entanto, nossos resultados mostram um panorama contrário, mesmo considerando as amostras globais, demonstrando que outros processos podem estar influenciando estas relações. Por exemplo, o processo de fluxo gênico entre essas populações poderia contrabalançar os efeitos do tamanho amostral e a ação da seleção natural para manter populações homogêneas.

5.3 Relações filogenéticas e haplotípicas

A árvore filogenética recuperou clados consistentes com os haplogrupos encontrados na rede de haplótipos (Figura 2) em relação a distribuição geográfica.

A proximidade das relações genéticas observada entre as amostras de *T. urticae* coletadas em São Paulo, Brasil, e outros países do mundo, levanta a possibilidade de rotas de migração ou dispersão que conectam essas regiões. Além disso, neste caso por tratar-se de uma praga se devem considerar a influência das dinâmicas comerciais e logísticas, e as rotas de distribuição de diferentes produtos comercializados.

No caso, a amostra de Pernambuco, compartilha haplótipos com populações distantes como Ilhas Canárias, Espanha, Turquia e França, pode ser um exemplo de como as rotas de comércio podem afetar a dispersão deste acaro. A análise dos canais de distribuição utilizados na exportação de flores tropicais no estado de Pernambuco, conforme observado no estudo de Pedrosa Filho e Favero (2007), reforça a influência do mercado europeu nesse contexto. A União Europeia se destaca como o principal destino das exportações de flores tropicais de Pernambuco, abrangendo cerca de 99,12% do total

vendido ao exterior em 2005. No entanto, mais estudos detalhados são necessários sobre o impacto da comercialização de produtos afetados por esta praga

Outro aspecto a considerar são as pressões atuando de forma semelhante em ambas as regiões. Uma convergência adaptativa pode ser uma resposta às demandas específicas dos ambientes em que essas populações estão inseridas, incluindo a exposição a compostos químicos presentes nas plantas hospedeiras e à pressão seletiva exercida por acarícidas (DEARMAUW *et al.*, 2013; TIRRY; NAUEN, 2006). A seleção de características genéticas que permitam a sobrevivência e adaptação diante desses fatores pode ter contribuído para a similaridade genética observada entre as populações do estado de São Paulo e outros países.

Na reconstrução filogenética, um resultado de particular interesse foi observado que as amostras da China, com exceção da HM486513, que possui o haplótipo 2, foram agrupadas com outras espécies utilizadas como grupo externo. Este achado pode sugerir que algumas das amostras podem ter sido erroneamente identificadas como pertencentes à espécie *T. urticae*. De fato, um dos principais desafios enfrentados em bancos de dados diz respeito à inclusão de informações não confirmadas sobre a espécie, o que pode resultar em imprecisões e acarretar sérias consequências para projetos futuros. A falta de precisão nos dados taxonômicos e a insuficiência de anotações nos bancos de dados de DNA comprometem a confiabilidade de estudos filogenéticos e ecológicos, assim como as inferências baseadas nessas sequências (HOLST-JENSEN; VRALSTAD; SCHUMACHER, 2004). No entanto, informações taxonômicas dos autores seriam necessárias para confirmação de nossos resultados.

Finalmente, este estudo representa uma contribuição significativa para a compreensão da variação genética mitocondrial e sua distribuição no ácaro-rajado, tanto em São Paulo quanto globalmente. As populações de *T. urticae* no estado paulista revelaram uma baixa diversidade genética, indicando uma variabilidade limitada dessa espécie em um contexto global mais abrangente. Além disso, observou-se que a distribuição da variação genética de *T. urticae* aparenta estar correlacionada com seus padrões de dispersão. As conclusões deste trabalho são relevantes para a implementação de estratégias de controle mais eficazes no futuro.

REFERÊNCIAS

AGOSTINI, Lucas Trevisoli et al. Compatibility among insecticides, acaricides, and *Bacillus thuringiensis* used to control *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton fields. **Afr J Agric Res**, v. 9, p. 941-949, 2014.

BERNARDI, D.; BOTTON, N.; NAVA, D. E.; ZAWADNEAK, M. A. C. **Guia para a identificação e monitoramento de pragas e seus inimigos naturais em morangueiro**. 1ª edição ed. Embrapa, 2015.

BÍBLIA. Tradução Almeida Revista e Corrigida. São Paulo: Sociedade Bíblica do Brasil, 1995.

RASIL MAPBIOMAS. Área de agropecuária no Brasil cresceu 50% nos últimos 38 anos. Disponível em: <https://brasil.mapbiomas.org/2023/10/06/area-de-agropecuaria-no-brasil-cresceu-50-nos-ultimos-38-anos/>. Acesso em: 13 de novembro de 2023

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA - CEPEA. **Cadeia da soja e do biodiesel - PIB, empregos e comércio exterior**. 2022.

CLOTUCHE, G.; MAILLEUX, A.-C.; ASTUDILLO FERNÁNDEZ, A.; DENEUBOURG, J.-L. *et al.* The Formation of Collective Silk Balls in the Spider Mite *Tetranychus urticae* Koch. **PLOS ONE**, 6, n. 4, p. e18854, 2011.

CLOTUCHE, G.; NAVAJAS, M.; MAILLEUX, A.-C.; HANCE, T. Reaching the Ball or Missing the Flight? Collective Dispersal in the Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae*. **PLOS ONE**, 8, n. 10, p. e77573, 2013.

COUTO, A. D. O. F. E. A. Ocorrência de ácaro-rajado em sistemas de produção integrada e convencional de mamão no norte do Espírito Santo. *In: Papaya Brazil*, 2003, Vitória. Incaper, p. 545-548.

DARRIBA, D.; TABOADA, G. L.; DOALLO, R.; POSADA, D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature Methods**, 9, n. 8, p. 772-772, 2012/08/01 2012.

DE MENDONÇA, R. S.; NAVIA, D.; DINIZ, I. R.; AUGER, P. *et al.* A critical review on some closely related species of *Tetranychus sensu stricto* (Acari: Tetranychidae) in the public DNA sequences databases. **Experimental and Applied Acarology**, 55, n. 1, p. 1-23, 2011/09/01 2011.

DERMAUW, W.; WYBOUW, N.; ROMBAUTS, S.; MENTEN, B. *et al.* A link between host plant adaptation and pesticide resistance in the polyphagous spider mite *Tetranychus urticae*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 110, n. 2, p. E113-E122, 2013/01/08 2013.

DRUMMOND, A. J.; PYBUS, O. G.; RAMBAUT, A.; FORSBERG, R. *et al.* Measurably evolving populations. **Trends in Ecology & Evolution**, 18, n. 9, p. 481-488, 2003.

FRY, J. D. Trade-Offs in Fitness on Different Hosts: Evidence from a Selection Experiment with a Phytophagous Mite. **The American Naturalist**, 136, n. 5, p. 569-580, 1990/11/01 1990.

GOTOH, T.; BRUIN, J.; SABELIS, M. W.; MENKEN, S. B. J. Host race formation in *Tetranychus urticae*: genetic differentiation, host plant preference, and mate choice in a tomato and a cucumber strain. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 68, n. 2, p. 171-178, 1993/08/01 1993. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1993.tb01700.x>.

GRBIĆ, M. *et al.* The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. **Nature**, v. 479, n. 7374, p. 487-492, 2011.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. p. 95-98, 1999.

HELLE, W.; PIJNACKER, L. P. Parthenogenesis, chromosomes and sex. In: HELLE, W.; SABELIS, M. W. (Eds.). Spider mites: their biology, natural enemies and control. World Crop Pests, vol. 1A, cap.1.2, p. 129-139. Amsterdam, The Netherlands: **Elsevier Science Publisher**, 1985.

HINOMOTO, N.; OSAKABE, M.; GOTOH, T.; TAKAFUJI, A. Phylogenetic analysis of green and red forms of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), in Japan, based on mitochondrial cytochrome oxidase subunit I sequences. **Applied Entomology and Zoology**, 36, n. 4, p. 459-464, 2001.

HINOMOTO, N.; TAKAFUJI, A. Genetic diversity and phylogeny of the Kanzawa spider mite, *Tetranychus kanzawai*, in Japan. **Experimental & Applied Acarology**, 25, n. 5, p. 355-370, 2001/05/01 2001.

HOLST-JENSEN, A.; VRALSTAD, T.; SCHUMACHER, T. On reliability. **New Phytologist**, 161, p. 11-13, 2004.

HUB, A., 2023. Disponível em: https://hub.arcgis.com/datasets/a21fdb46d23e4ef896f31475217cbb08_1/explore. Acesso em: 17 de julho de 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Produção Agropecuária. 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/>. Acesso em: 16/08/2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Áreas Territoriais. 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/geociencias/organizacao-do-territorio/estrutura-territorial/>. Acesso em: 16/08/2023.

LI, J.; MARGOLIES, D. C. Effects of mite age, mite density, and host quality on aerial dispersal behavior in the twospotted spider mite. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 68, n. 1, p. 79-86, 1993/07/01 1993. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1993.tb01691.x>.

MARTINS, D.S.; MARIN, S.L.D. Pragas do mamoeiro. In: BRAGA SOBRINHO, L. B.; CARDOSO, J. E.; CHAGAS, F. das (Eds.). **Pragas de fruteiras tropicais de importância agroindustrial**. Brasília: EMBRAPA CNPAT, 1998. p. 143-153.

MARTINS, D. S. Manejo de Pragas do mamoeiro. In: MARTINS, D. S. e COSTA, A. F. S. D. (Ed.). **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória: Incaper, 2003. p. 311-344.

MIGEON, A.; DORKELD, F. Spider Mites Web: a comprehensive database for the Tetranychidae. Disponível em: <http://www.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb>. Acesso em: 14 de novembro de 2023

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. Valor da Produção Agropecuária fecha 2022 em R\$ 1,189 trilhão. 2023

MOPPER, S.; STRAUSS, S. Y. **Genetic structure and local adaptation in natural insect populations**. New York: 1998.

MORAES, G. J. D.; FLECHTMANN, C. H. W. **Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil**. 2008.

MÁRQUEZ-CHÁVEZ, A.; GUZMÁN-FRANCO, A. W.; SANTILLÁN-GALICIA, M. T.; TAMAYO-MEJÍA, F. *et al.* Effect of host plant on the genetic diversity of *Tetranychus urticae* Koch populations and their susceptibility to fungal infection. **Biological Control**, 137, p. 104015, 2019/10/01/ 2019.

NAVAJAS, M.; LAGNEL, J.; GUTIERREZ, J.; BOURSOT, P. Species-wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider mite *Tetranychus urticae* contrasts with extensive mitochondrial COI polymorphism. **Heredity**, 80, n. 6, p. 742-752, 1998/06/01 1998.

NAVAJAS, M.; TSAGKARAKOV, A.; LAGNEL, J.; PERROT-MINNOT, M.-J. Genetic Differentiation in *Tetranychus Urticae* (Acari: Tetranychidae): polymorphism, host races or sibling species? **Experimental & Applied Acarology**, 24, n. 5, p. 365-376, 2000/05/01 2000.

NEI, M. **Molecular evolutionary genetics**. Columbia university press, 1987.

NIELSEN, R.; HUELSENBECK, J. P.; RONQUIST, F. **Bayesian analysis of molecular evolution using MrBayes**. 2005.

OSAKABE, M.; ISOBE, H.; KASAI, A.; MASUDA, R. *et al.* Aerodynamic advantages of upside down take-off for aerial dispersal in *Tetranychus* spider mites. **Experimental and Applied Acarology**, 44, n. 3, p. 165-183, 2008/03/01 2008.

PEDROSA FILHO, M. X.; FAVERO, L. A. Exportação de flores tropicais no estado de Pernambuco: análise da inserção dos canais de distribuição. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, Lavras, v. 9, n. 3, p. 376-388, 2007.

ROS, V. I. D.; BREEUWER, J. A. J. Spider mite (Acari: Tetranychidae) mitochondrial COI phylogeny reviewed: host plant relationships, phylogeography, reproductive parasites and barcoding. **Experimental and Applied Acarology**, 42, n. 4, p. 239-262, 2007/08/01 2007.

ROZAS, J.; SÁNCHEZ-DELBARRIO, J. C.; MESSEGUER, X.; ROZAS, R. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. **Bioinformatics**, 19, n. 18, p. 2496-2497, 2003.

SINDICATO NACIONAL DE PRODUTOS PARA DEFESA VEGETAL - SINDIVEG. Mercado de Defensivos Agrícolas no Brasil. 2023. Disponível em: <https://sindiveg.org.br/>.

SUEKANE, Renato et al. Damage level of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in soybeans. **Revista Ceres**, v. 59, p. 77-81, 2012.

SUEKANE, Renato et al. Nível de dano de ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch (acari: tetranychidae) em soja. **Ceres**, v. 59, n. 1, 2015.

TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. **Molecular Biology and Evolution**, 38, n. 7, p. 3022-3027, 2021.

TEAM, Q. D. **QGIS geographic information system**. 2021.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, 22, n. 22, p. 4673-4680, 1994.

TOMCZYK, A. Effects on the host plant. *In*: **Spider mites: their biology, natural enemies, and control**, 1985. v. 1, p. 317-329.

VALADÃO, Gisele Santos et al. Resistência de cultivares de videira ao ácaro-rajado *Tetranychus urticae* na região de Jales, Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 1051-1058, 2012.

VAN LEEUWEN, Thomas; TIRRY, Luc; NAUEN, Ralf. Complete maternal inheritance of bifenthrin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) and its implications in mode of action considerations. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 36, n. 11, p. 869-877, 2006.

VAN LEEUWEN, T.; VANHOLME, B.; VAN POTTELBERGE, S.; VAN NIEUWENHUYSE, P. *et al.* Mitochondrial heteroplasmy and the evolution of insecticide resistance: Non-Mendelian inheritance in action. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 105, n. 16, p. 5980-5985, 2008/04/22 2008.

VEGETAL, S. N. D. P. P. D. **Mercado de Defensivos Agrícolas no Brasil**. 2023. Disponível em: <https://sindiveg.org.br/>.

WILSON, A. C. C.; SUNNUCKS, P.; HALES, D. F. Microevolution, low clonal diversity and genetic affinities of parthenogenetic *Sitobion* aphids in New Zealand. **Molecular Ecology**, 8, n. 10, p. 1655-1666, 1999/10/01 1999. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00751.x>.

XIE, L.; HONG, X.-Y.; XUE, X.-F. Population Genetic Structure of the Twospotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae) from China. **Annals of the Entomological Society of America**, 99, n. 5, p. 959-965, 2006.

YU, M. Z.; ZHANG, K. J.; XUE, X. F.; HONG, X. Y. Effects of *Wolbachia* on mtDNA variation and evolution in natural populations of *Tetranychus urticae* Koch. **Insect Molecular Biology**, 20, n. 3, p. 311-321, 2011/06/01 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2010.01066.x>.

ZHANG, Z. Q. **Mites of Greenhouses: Identification, Biology and Control.** 2003.

İNAK, E.; ALPKENT, Y. N.; ÇOBANOĞLU, S.; DERMAUW, W. *et al.* Resistance incidence and presence of resistance mutations in populations of *Tetranychus urticae* from vegetable crops in Turkey. **Experimental and Applied Acarology**, 78, n. 3, p. 343-360, 2019/07/01 2019.

ANEXOS

Anexo 1. Número de acesso das sequências do gene COI de *Tetranychus urticae* recuperadas do *GenBank*, juntamente com o país, sua localização e referência.

Nº do acesso	País	Localidade		Referência
MK508722	Alemanha	51°48'33.0"N	0°21'21.6"O	(İNAK; ALPKENT; ÇOBANOĞLU; DERMAUW <i>et al.</i> , 2019)
HM565908	Brasil	7°49'25.3"S	34°54'59.8"O	(DE MENDONÇA; NAVIA; DINIZ; AUGER <i>et al.</i> , 2011)
HM565902	Canárias	28°17'45.4"N	16°48'58.6"O	(DE MENDONÇA; NAVIA; DINIZ; AUGER <i>et al.</i> , 2011)
HM565903		28°07'12.7"N	16°34'36.8"O	
HM565904		28°10'39.9"N	16°28'46.0"O	
HM565905		28°10'21.7"N	16°28'23.8"O	
HM565906		27°54'14.8"N	15°26'44.3"O	
HM486502		China	25°06'N	
HM486503		28°14'N	117°03'L	
HM486504		29°54'N	116°33'L	
		28°14'N	117°03'L	
		26°05'N	119°18'L	
		25°06'N	117°01'L	
		25°06'N	117°01'L	
HM486505		34°46'N	113°40'L	
		28°14'N	117°03'L	
HM486506		28°14'N	117°03'L	

HM486507		25°06'N	117°01'L	
		28°14'N	117°03'L	
		26°05'N	119°18'L	
HM486508		26°05'N	119°18'L	
HM486509		36°36'N	114°28'L	
		32°11'N	119°27'L	
HM486510		34°37'N	105°42'L	
		36°36'N	114°28'L	
		34°46'N	113°40'L	
		32°11'N	119°27'L	
		28°14'N	117°03'L	
HM486511		34°37'N	105°42'L	
		36°36'N	114°28'L	
		34°46'N	113°40'L	
		26°05'N	119°18'L	
HM486512		34°37'N	105°42'L	
HM486513		40°37'N	120°41'L	
		36°40'N	117°00'L	
HM486514		32°11'N	119°27'L	
		28°12'N	112°59'L	
HM565894	Espanha	41°38'26.50"N	02°43'00.74"L	(DE MENDONÇA; NAVIA; DINIZ; AUGER <i>et al.</i> , 2011)

HM565898		42°8'57.084"N	02°52'26.26"L	
HM565899		42°02'12.70"N	02°54'54.18"L	
HM565900		42°02'12.70"N	02°54'54.18"L	
HM565901		41°34'20.52"N	02°28'56.52"L	
HM565891	França	42°35'57.28"N	02°57'59.02"L	(DE MENDONÇA; NAVIA; DINIZ; AUGER <i>et al.</i> , 2011)
HM565892		42°36'33.02"N	02°58'05.68"L	
HM565893		42°42'05.66"N	02°53'38.94"L	
HM565895		42°40'09.61"N	02°59'27.44"L	
HM565896		43°43'17.95"N	07°09'04.98"L	
HM565897		43°42'11.45"N	07°15'09,13"L	
HM565907	Grécia	35°01'22.00"N	25°44'35.00"L	(DE MENDONÇA; NAVIA; DINIZ; AUGER <i>et al.</i> , 2011)
MH285704	México	19°34'24.60"N	102°25'32.68"O	(MÁRQUEZ-CHÁVEZ; GUZMÁN-FRANCO; SANTILLÁN-GALICIA; TAMAYO-MEJÍA <i>et al.</i> , 2019)
MH285705				
MH285706				
MH285707				
MH285708				
MH285727				
MH285728				
MH285729				

MH285730

MH285731

MH285732

MH285775

MH285697 19°34'18.31"N 102°25'36.70"O

MH285698

MH285699

MH285700

MH285701

MH285702

MH285703

MH285723

MH285724

MH285725

MH285726

MH285709 19°56'3.36"N 102°17'14.83"O

MH285710

MH285711

MH285712

MH285721

MH285722

MH285713	19°35'53.14"N	102°30'45.38"O
MH285714		
MH285715		
MH285716		
MH285717	19°35'44.76"N	102°31'24.79"O
MH285718		
MH285719		
MH285720		
MH285756	19°23'44.37"N	103°36'2.67"O
MH285757		
MH285758		
MH285759		
MH285760		
MH285761		
MH285762		
MH285763		
MH285764		
MH285765		
MH285733	20°30'55.82"N	103°39'16.20"O
MH285734		
MH285735		

MH285736		
MH285737		
MH285738		
MH285739		
MH285740		
MH285741		
MH285742		
MH285743	19°49'38.02"N	103°28'45.53"O
MH285744		
MH285745		
MH285746		
MH285747		
MH285748		
MH285749		
MH285750		
MH285751		
MH285752	20°21'39.86"N	103°31'36.41"O
MH285753		
MH285754		
MH285755		
MH285766	30°33'54.72"N	115°58'28.32"O

MH285767
 MH285768
 MH285769
 MH285770
 MH285771
 MH285772
 MH285773
 MH285774

MK508712	Turquia	36°54'59.3"N	34°53'42.5"L	(İNAK; ALPKENT; ÇOBANOĞLU; DERMAUW <i>et al.</i> , 2019)
MK508713				
MK508714		36°22'00.7"N	30°17'09.1"L	
MK508715				
MK508717		36°59'14.2"N	30°42'56.9"L	
MK508718		36°50'29.8"N	30°30'05.9"L	
MK508719				
MK508721		36°35'33.3"N	31°53'43.1"L	
