

Comunicado 143

Técnico

ISSN 9192-0099
Brasília, DF
Março, 2006

Caracterização por meio de RAPD de *Helicoverpa armigera* (HUBNER) (Lepidoptera, Noctuidae), proveniente de Burkina Faso

Luzia Helena Corrêa Lima¹
Paulo Roberto Queiroz²
Maria Regina Vilarinho de Oliveira³

Resumo

Insetos-pragas pertencentes à Ordem Lepidoptera são em muitos casos destrutivos, cosmopolitas e polípagos. A identificação e diagnose correta de espécies dessa ordem são essenciais na elaboração de políticas públicas de sanidade vegetal. *Helicoverpa armigera* é uma das principais pragas polípagas das culturas agrícolas do mundo todo. Insetos provenientes de Burkina Faso, coletados em diferentes regiões e plantas hospedeiras foram caracterizados por meio de RAPD, no Laboratório de Biologia Molecular, da Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal - EQGV, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Por se tratar de uma praga quarentenária para o Brasil, a manipulação das larvas para extração de DNA ocorreu em ambiente seguro já que a EQGV é uma estação quarentenária de nível 1. Os resultados preliminares obtidos com as análises de variância molecular (AMOVA) revelaram que a elevada fonte de variação genética foi o resultado da variabilidade dentro de cada população. As causas que levaram a essa variabilidade precisaram ser mais bem avaliadas nos países onde a praga ocorre.

Termos para indexação: *Helicoverpa armigera*, Burkina Faso, RAPD, identificação molecular.

¹Bióloga, Doutora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70849-970. E.mail: luzia@cenargen.embrapa.br

²Biólogo, Doutorando, Departamento de Biologia Animal, Universidade de Brasília/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70849-970. E.mail: queiroz@cenargen.embrapa.br

³Bióloga, Doutora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70849-970. E.mail: vilarin@cenargen.embrapa.br

Introdução

As lepidópteras representam cerca de 10% do reino animal. São insetos que apresentam o desenvolvimento holometabólico (ovo, larva, pupa e adulto) e grande variação no tamanho, sendo que a maioria das espécies de expressão econômica é de tamanho pequeno a médio (HOLLOWAY et al., 1987; PAULA et al., 2004).

Muitas espécies estão em áreas restritas e outras estão dispersas em grande extensão geográfica. Algumas são pragas específicas de determinadas plantas hospedeiras, outras são capazes de atacar várias plantas de gêneros diversos ou de famílias botânicas variadas. As injúrias que podem ocorrer no tecido vegetal por esta ordem de insetos são causadas pela fase de larva e pode-se citar a formação de minas no parênquima foliar, desfolha, broqueamento de caule e raiz, destruição da estrutura foliar, bem como destruição de sementes e frutos (HOLLOWAY et al., 1987; PAULA et al., 2004).

Além da capacidade de vôo dos adultos de algumas espécies, a dispersão de todas as fases do ciclo de vida ocorre principalmente em

função do trânsito de material vegetal comercializado em torno do mundo (HOLLOWAY et al., 1987; PAULA et al., 2004). A abertura e globalização de mercados têm contribuído para que um grande número de espécies seja introduzido em novas áreas, com colonização e estabelecimento da espécie exótica, causando sérios impactos econômicos na exploração agrícola de várias espécies cultivadas.

A caracterização e diagnose correta de espécies dessa ordem é essencial na elaboração de políticas públicas de sanidade vegetal. *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma das principais pragas polífagas das culturas agrícolas do mundo todo e exótica para o Brasil. Essa espécie integra a lista de pragas quarentenárias para o país, de acordo com a Instrução Normativa nº. 38, de 14 de outubro de 1999 (OLIVEIRA et al., 2003). Os estágios imaturos alimentam-se em todos os estágios de desenvolvimento da planta, danificando as estruturas frutíferas e não frutíferas (JOHNSON e ZALUCKI, 2005). As larvas dessa espécie atacam ramos, flores e cápsulas da semente de plantas desenvolvidas (SANNINO, 2005). Essa praga se alimenta das partes da planta que são

de maior valor para o consumo humano provocando reduções na quantidade de alimentos disponíveis. Por exemplo, as perdas anuais na produção de feijão-guandu provocadas por *H. armigera* têm sido estimadas em U\$ 317 milhões no mundo todo (SHANOWER et al., 1999).

O comércio de plantas ornamentais e flores de corte é um bom meio de dispersão dessa praga. As larvas podem alimentar-se no interior de frutas e vegetais, tornando a detecção difícil. Alternativamente, podem ser encontradas perto dos orifícios que abrem nas frutas e nas flores. Os danos externos causados pela alimentação dos ínstares mais avançados são prontamente detectáveis. O material vegetal deve ser inspecionado cuidadosamente para detectar ovos, devido seu tamanho reduzido. Os machos adultos podem ser capturados usando armadilhas de feromônio específicas e adultos de ambos os sexos podem ser capturados em armadilhas luminosas (EUROPEAN..., 2003).

A identificação das espécies de lepidoptera é tradicionalmente realizada com base em caracteres morfológicos. Entretanto, outras técnicas como a análise molecular são ferramentas úteis auxiliando no

estabelecimento do perfil genético dos insetos, caracterização e identificação de marcadores que sejam específicos para populações de lepidópteras de interesse quarentenário.

Dessa forma, a técnica de RAPD (WILLIAMS et al., 1990) tem sido muito utilizada por apresentar características que permitem a obtenção de um grande número de informações para a análise de genomas onde pouco se conhece a respeito de sua composição, uma vez que, emprega a utilização de um único primer de seqüência arbitrária com potencial de reconhecer regiões desconhecidas do DNA alvo. Os marcadores RAPD se baseiam na amplificação do DNA, gerando informações com simplicidade e rapidez a baixos custos. Assim, grande quantidade de polimorfismo, na forma de segmentos de DNA, podem ser obtidos em curto espaço de tempo. Para que haja a amplificação de um fragmento RAPD duas seqüências de DNA complementares ao primer devem estar adjacentes (a menos de 4 kb) e em orientação oposta, para permitir a amplificação pela *Taq* DNA polimerase (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998). Uma característica deste tipo de marcador é o seu comportamento como marcador

genético dominante. Lembrando que a dominância, neste caso, não se refere à interação genética entre alelos de um mesmo loco e sim a interpretação relativa entre fenótipo e genótipo (CIAMPI e MAGALHÃES, 2001).

Objetivo

O presente trabalho teve como objetivo estabelecer uma metodologia de extração de DNA para *H. armigera*, determinar perfis eletroforéticos para essa praga exótica, assim como, analisar, de modo preliminar, a variabilidade genética entre as populações desse inseto. Para entender melhor o processo de identificação das pragas regulamentadas no país, utilizando-se perfis moleculares, a ficha bioecológica da praga foi acrescentada, de modo a dar subsídios ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para a elaboração de políticas públicas em Sanidade Vegetal, caso haja necessidade da informação.

Materiais & Métodos

1. Insetos

Dez populações de *H. armigera*, coletadas em diferentes regiões e culturas, em Burkina Faso foram enviadas para o Laboratório de Biologia Molecular, da Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal - EQGV, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pelo pesquisador Dr. Rémy Dabire, entomologista do INERA/ Farakoba em Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, para auxílio na caracterização molecular das populações (Tabela 1). Larvas de insetos foram enviadas para identificação em vasilhames de vidros em presença de álcool 95°C. Por se tratar de uma praga quarentenária para o Brasil, a manipulação das larvas para extração de DNA ocorreu em ambiente seguro já que a EQGV é uma estação quarentenária de nível 1. A descrição da ficha bioecológica dessa espécie quarentenária de inseto foi elaborada.

Tabela 1. Lista das populações de *H. armigera* utilizadas na caracterização molecular.

Amostra	Data de coleta	Cultura	Região
AlSo1	7 de setembro de 2001	Algodão	Soumoussou
AlSo2	11 de novembro de 2001	Algodão	Soumoussou
ToSo3	7 de janeiro de 2002	Tomate	Soumoussou
AIND4	6 de setembro de 2001	Algodão	N'Dorola
AIND5	13 de novembro de 2001	Algodão	N'Dorola
ToND6	17 de janeiro de 2002	Tomate	N'Dorola
AlGa7	12 de outubro de 2001	Algodão	Gaoua
ToGa8	25 de janeiro de 2002	Tomate	Gaoua
AlRe9	12 de outubro de 2001	Algodão	Réo
ToRe10	24 de janeiro de 2002	Tomate	Réo

2. Perfil molecular

Para os estudos de caracterização molecular, cinco indivíduos de cada população foram utilizados em um protocolo de extração de DNA (QUEIROZ et al., 2004) adaptado especificamente para essa finalidade.

A obtenção de DNA total foi feita utilizando-se tecidos provenientes da metade posterior das larvas que foram submetidos à maceração. A seguir, adicionou-se 500 µL de tampão de extração (Tris-HCl 10 mM pH 8,

EDTA 1 mM, Triton X-100 0,3% e Proteinase K 120 µg.mL⁻¹), incubando-se por 30 min a 65°C. O homogenato foi centrifugado por 10 min a 10.000xg e, o sobrenadante, transferido para um tubo plástico. Adicionou-se 500 µL de fenol/clorofórmio/álcool isoamílico (25:24:1) e as fases foram homogeneizadas em vortex por 5 s. O material foi centrifugado por 10 min a 10.000xg e a 10°C. A fase aquosa foi então transferida para um novo tubo plástico, repetindo-se a etapa anteriormente descrita.

O DNA foi precipitado pela adição de 30 μL de NaCl 5 M e 1 mL de etanol absoluto incubando-se por 2 h a -20°C . Após centrifugação a $10.000\times g$ por 10 min a 10°C , o DNA precipitado foi lavado duas vezes com 500 μL de etanol 70%, seco e ressuspenso em TE 0,1 X (Tris-HCl 1 mM pH 8, EDTA 0,1 mM) e armazenado a -20°C . Para as análises por RAPD, utilizou-se o DNA diluído 10 X em TE 0,1 X.

3. Reações de RAPD

Para os estudos de caracterização molecular, o DNA extraído a partir de cinco indivíduos de cada população foi utilizado em 30 μL de uma reação de RAPD contendo tampão Tris-HCl 6 mM (pH 8,8), KCl 50 mM, MgCl_2 2 mM, dNTP's 0,2 mM, 0,4 μM de um primer de seqüência aleatória da Operon Technologies, Inc. (Tabela 2), 2,5 $\text{U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ de *Taq* DNA polimerase (Pharmacia) e 5 μL de DNA (20 ng).

Tabela 2. Primers usados nas reações de RAPD.

Primer	Seqüência (5' $\rightarrow$ 3')
OPA-02	TGC CGA GCT G
OPA-03	AGT CAG CCA C
OPA-04	AAT CGG GCT G
OPA-10	GTG ATC GCA G
OPA-11	CAA TCG CCG T
OPA-13	CAG CAC CCA C

4. Obtenção de perfis eletroforéticos

As amplificações foram efetuadas em termociclador (PTC 100 MJ Research) programado para 45 ciclos, contendo uma etapa inicial de desnaturação de 3 min a 94°C . Cada ciclo foi constituído de uma etapa de desnaturação de 1 min a 93°C ,

anelamento por 1 min a 35°C e extensão por 2 min a 72°C . Após os ciclos, foi realizada uma etapa de extensão final de 5 min a 72°C . Os produtos de amplificação foram visualizados em gel de agarose 1,5% submerso em tampão TBE 1X (Tris-borato 9 mM e EDTA 1 mM), fotografados e arquivados no sistema

Eagleeye. Em todos os géis, marcadores de massa molecular (Leader 100 bp - GIBCO) foram usados para a determinação do tamanho dos fragmentos amplificados.

5. *Análise dos dados*

As fotos das amplificações com os vários primers foram usadas para a análise do polimorfismo entre os indivíduos de uma mesma população e entre as populações em estudo. As bandas presentes nos géis foram consideradas como marcadores RAPD. Foi gerada então uma matriz de similaridade levando-se em consideração a relação entre indivíduo, primer e massas moleculares das bandas obtidas com um dado primer. Utilizou-se como padrão o valor 1 para a presença de um marcador. Na ausência de marcador, atribuiu-se o valor 0. No caso de dúvida o número 9 foi usado

como padrão. A seguir, a planilha obtida foi submetida a um programa de análise estatística multivariada para a determinação das similaridades entre os indivíduos. O programa usado foi o NTSYS versão 2.02pc (ROHLF, 1993) e tem como função a análise estatística multivariada de diferentes análises com matrizes de similaridade. A matriz de similaridade e agrupamento para esta análise foi feita por UPGMA (Unweighted PairGroup Method, Arithmetic Average) agrupando os indivíduos par a par e determinando um dendrograma.

A seguir, os valores obtidos e tabelados em uma planilha foram submetidos à análise de variância molecular (AMOVA) para a determinação estatística das possíveis origens das variabilidades encontradas nas populações pela aplicação de algoritmos específicos pelo programa Arlequin ver. 2000 (SCHNEIDER et al., 2000).

Resultados & Discussão

1. Descrição da ficha bioecológica de *H. armigera*, espécie quarentenária para o Brasil

***Helicoverpa armigera* (Hubner, 1808)**

Posição taxonômica

Classe: Insecta

Ordem: Lepidoptera

Família: Noctuidae

Sinonímia

Heliothis armigera Hubner

Heliothis fusca Cockerell

Chloridea armigera Hübner

Noctua armigera Hübner

Nomes vulgares

american bollworm

corn ear-worm

corn earworm

cotton ball worm

cotton bollworm

gram caterpillar

gram pod-borer

groundnut leafminer

old world bollworm

pod borer

tobacco budworm

tomato fruitworm

Plantas hospedeiras

Abelmoschus esculentus (quiabo),

Malvaceae (SRIVASTAVA et al., 2002;

KAKIMOTO et al., 2003;

BALAKRISHNAN et al., 2004)

Allium sp., Liliaceae (SRIVASTAVA et al., 2002)

Allium cepa (cebola, Liliaceae)

(SRIVASTAVA et al., 2002)

Amaranthus viridis (caruru verde),
Amaranthaceae (SINGH et al., 1990)

Arachis hypogaea (amendoim),
Fabaceae (SHI QINGNING et al.,
1995; SHANOWER et al., 1999)

Asparagus officinalis (aspargo),
Liliaceae (DAVIS e VENETTE, 2004)

Brassica oleracea var. botrytis (couve-
flor), Brassicaceae (ANIL KUMAR et
al., 2004)

Brassica oleracea var. capitata
(repolho), Brassicaceae (SAUCKE et
al., 2000; ANIL KUMAR et al., 2004)

Cajanus cajan (guandu), Fabaceae
(MINJA et al.; SHANOWER et al.,
1999; MARFO, 2000; ANIL KUMAR et
al., 2004)

Capsicum sp. Solanaceae
(SRIVASTAVA et al., 2002;
KAKIMOTO et al., 2003)
Carthamus tinctorius (cártamo),
Asteraceae (SRIVASTAVA et al.,
2002)
Chenopodium album (ançarinha
branca), Chenopodiaceae (JOGINDER
SINGH et al., 1990; SATPUTE et al.,
2002; ANIL KUMAR et al., 2004)
Chenopodium quinoa (quinoa,
Chenopodiaceae) (ANIL KUMAR et al.,
2004)
Cicer arietinum (grão de bico),
Fabaceae (SHANOWER et al., 1999;
SATPUTE et al., 2002; ANIL KUMAR
et al., 2004)
Citrus sinensis (laranja), Rutaceae
(REDDY e REDDY, 1999)
Commelina benghalensis (trapoeraba),
Commelinaceae (SATPUTE et al.,
2002)
Convolvulus arvensis (siminho),
Convolvulaceae (JOGINDER SINGH
et al., 1990; SATPUTE et al., 2002)
Cucumis anguria (maxixe),
Cucurbitaceae (RAVI et al., 1998)
Cucumis melo (melão), Cucurbitaceae
(RAO e RAO, 1999)
Datura stramonium (zabumba),
Solanaceae (SATPUTE et al., 2002)
Dianthus caryophyllus (cravo),
Caryophyllaceae (GANESHAN et al.,
1997)

Digera arvensis, Amaranthaceae
(SATPUTE et al., 2002)
Fragaria ananassa (morando),
Rosaceae (RAJPAL SINGH et al.,
2004)
Glycine max (soja), Fabaceae
(LUONG MINH CHAU, 1995;
KAKIMOTO et al., 2003)
Gossypium hirsutum (algodão),
Malvaceae (SHI QINGNING et al,
1995; GOZE et al., 2003; MELLET et
al.; NIBOUCHE et al., 2004)
Gossypium sp. (algodão), Malvaceae
(MUKHITDINOV, 1994; PASCUA et
al., 1997; MATTHEWS, 1999; JAVAID
et al.; MICHEL et al., 2000; ADNAN
BABI et al.; SRIVASTAVA et al., 2002;
KAKIMOTO et al., 2003;
BALAKRISHNAN et al., 2004)
Helianthus annuus (girassol),
Asteraceae (SRIVASTAVA et al.,
2002; BALAKRISHNAN et al.;
HORVATH et al., 2004))
Hordeum vulgare (cevada), Poaceae
(PRASAD, 1997)
Hyptis suaveolens (jitirana), Labiatae
(WILSON, 1997)
Ipomoea batatas (batata doce),
Solanaceae (SHI QINGNING et al,
1995)
Lactuca sativa (alface) Asteraceae
(ANIL KUMAR et al., 2004)
Lens culinaris (lentilha), Fabaceae
(SRIVASTAVA et al., 2002)

Linum usitatissimum (linho), Linaceae (SATPATHI, 2003)
Lycopersicon esculentum (tomate), Solanaceae (GANESHAN et al., 1997; AHEER et al., 1998; SRIVASTAVA et al.; TUMWINE et al., 2002; KAKIMOTO et al., 2003)
Malus pumila (maçã), Rosaceae (LI DINGXU et al., 1998)
Medicago sativa (alfafa), Fabaceae (SRIVASTAVA et al., 2002)
Momordica charantia (melão-de-são-caetano), Cucurbitaceae (MATHEW et al., 1996)
Nicotiana sp., Solanaceae (TITMARSH et al., 1990; GANESHAN et al., 1997)
Nicotiana tabacum (tabaco), Solanaceae (SANNINO, 2005)
Papaver somniferum (papoula), Papaveraceae (SRIVASTAVA et al., 2002)
Pennisetum glaucum (milheto), Poaceae (SHANOWER et al., 1999; BALAKRISHNAN et al., 2004)
Phaseolus vulgaris (feijão), Fabaceae (SHI QINGNING et al., 1995)
Pisum sativum (ervilha), Fabaceae (SRIVASTAVA et al., 2002)
Ricinus communis (mamona), Euphorbiaceae (SRIVASTAVA et al., 2002; GEETHA et al., 2003)
Rosa chinensis (rosa), Rosaceae (GAHUKAR, 2002)

Solanum melongena (berinjela), Solanaceae (SRIVASTAVA et al., 2002)
Solanum tuberosum (batata), Solanaceae (GANESHAN et al., 1997; SRIVASTAVA et al., 2002)
Solanum viarum (joá), Solanaceae (TALEKAR et al., 1999)
Sonchus arvensis, Asteraceae (SATPUTE et al., 2002)
Sorghum bicolor (sorgo), Fabaceae (BALAKRISHNAN et al., 2004)
Sorghum sp., Fabaceae (SHANOWER et al., 1999; BOCK et al., 2001)
Trifolium alexandrinum (trevo-de-Alexandria), Fabaceae (SRIVASTAVA et al., 2002; ANIL KUMAR et al., 2004)
Triticum aestivum (trigo), Poaceae (SHI QINGNING et al., 1995)
Vigna sp. Fabaceae (SRIVASTAVA et al., 2002)
Vigna mungo (feijão), Fabaceae (BALAKRISHNAN et al., 2004)
Vigna radiata (feijão mungo), Fabaceae (ADAMU et al., 2001; BALAKRISHNAN et al., 2004)
Vigna unguiculata (caupi), Fabaceae (GALANIHE e RANASINGHE, 1991; BALAKRISHNAN et al., 2004)
Zea mays (milho), Poaceae (SHI QINGNING et al., 1995; SHANOWER et al., 1999; SRIVASTAVA et al., 2002; BAGRINTSEVA et al.;

BALAKRISHNAN et al.; FAURE et al., 2004)

Distribuição geográfica

África

África do Sul (MELLET et al., 2004)
Burkina Faso (GOZE et al., 2003)
Camarões (GOZE et al., 2003;
NIBOUCHE et al., 2004)
Costa do Marfim (MARTIN, 2003)
Egito (EL MERGAWY et al., 2003)
Gana (MARFO, 2000)
Madagascar (KUKLINSKI e
BORGEMEISTER, 2002)
Malawi (MINJA et al., 1999)
Mali (MICHEL et al., 2000)
Marrocos (HMIMINA et al., 1993)
Maurício (GANESHAN et al., 1997)
Moçambique (JAVAID et al., 2000)
Nigéria (ADAMU et al., 2001)
Quênia (MINJA et al., 1999; BOCK et
al., 2001)
Senegal (DAVIS e VENETTE, 2004)
Sudão (ABDELRAHMAN et al., 1998)
Tanzânia (MINJA et al., 1999)
Uganda (MINJA et al., 1999;
TUMWINE et al., 2002)
Zimbábue (MATTHEWS, 1999)

Ásia

Bangladesh (MUSA et al., 1999)
Cazaquistão (AIMANBETOV e
AZHBENOV, 2004)

China (SHI QINGNING et al., 1995)

Filipinas (PASCUA et al., 1997)

Índia (MATHEW et al., 1996; RAVI et
al., 1998; REDDY e REDDY, 1999;
GAHUKAR; SINGH et al.;
SRIVASTAVA et al., 2002; GEETHA et
al.; SATPATHI, 2003; ANIL KUMAR et
al.; RAJPAL SINGH et al., 2004)

Indonésia (BERG et al., 2000)

Israel (ZHOU XIAOFENG et al., 2000)

Japão (ENDO et al., 2000)

Nepal (APEL et al., 1999)

Omã (ELAWAD et al., 1997)

Paquistão (AHEER et al., 1998)

Rússia (BAGRINTSEVA et al., 2004)

Síria (ADNAN BABI et al., 2002)

Sri Lanka (GALANIHE e
RANASINGHE, 1991)

Tadjiquistão (MUKHITDINOV, 1994)

Tailândia (BUHOLZER et al., 1997)

Taiwan (TALEKAR et al., 1999)

Turquia (KARSAVURAN e CETIN,
2002)

Uzbequistão (SAGDULLAEV et al.,
2003)

Vietnã (LUONG MINH CHAU, 1995)

Europa

Alemanha (HOPPE et al., 1994)

Belarus (KULAK e SOLODOVNIKOV,
2002)

Eslovênia (GOMBOC, 1999)

Espanha (BUHOLZER et al., 1997)

França (FAURE et al., 2004)

Holanda (VOS, 2000)
Hungria (HORVATH et al., 2004)
Itália (SANNINO et al., 2004)
Noruega (HANSEN, 1989)
Portugal (LEANDRO et al., 2003)
Romênia (ROMAN et al., 1996)
Suíça (HACHLER et al., 1998)

Oceania

Austrália (TITMARSH et al., 1990;
WILSON, 1997)
Nova Caledônia (DALY, 1999)
Nova Zelândia (CAMERON et al.,
2001)
Papua-Nova Guiné (SAUCKE et al.,
2000)

Via-de-ingresso

Parte aérea da planta (flor, estruturas reprodutivas, pontos de crescimento, folha, gemas, fruto/vagem).

Sintomas

Os instares mais jovens (1 a 5 dias) alimentam-se muito nas folhas e flores do grão-de-bico, enquanto os mais velhos (terceiro ínstar em diante) alimentam-se nas folhas (se os frutos não estão disponíveis) e nos frutos. Entretanto, no amendoim, a larva alimenta-se bastante nas folhas terminais. Para quandu e algodão o

maior dano é causado nas estruturas reprodutivas. A larva alimenta-se nas folhas quando as estruturas reprodutivas não estão disponíveis (SHARMA et al., 2005).

H. armigera é uma das principais pragas polífagas das culturas agrícolas do mundo todo. Os estágios imaturos alimentam-se em todos os estágios de desenvolvimento da planta, danificando as estruturas frutíferas e não frutíferas (JOHNSON e ZALUCKI, 2005). As larvas dessa espécie atacam ramos, flores e cápsulas da semente de plantas desenvolvidas (SANNINO, 2005).

Deteção

O comércio de plantas ornamentais e flores de corte é um bom meio de dispersão da praga. As larvas podem alimentar-se no interior de frutas e vegetais, tornando a detecção difícil, mas podem ser encontradas perto dos furos nas frutas e nas flores. Os danos externos causados pela alimentação dos instares mais avançados são prontamente detectáveis. O material vegetal deve ser inspecionado cuidadosamente para detectar ovos, devido seu tamanho reduzido. Os machos adultos podem ser capturados

usando armadilhas de feromônio específicas e adultos de ambos os sexos podem ser capturados em armadilhas luminosas (EUROPEAN..., 2003).

Expressão Econômica

As perdas anuais na produção de guandu, devido a *H. Armigera*, têm sido estimadas em U\$ 317 milhões no mundo todo, a praga se alimenta na parte mais valiosa para o ser humano, o alimento (SHANOWER et al., 1999).

Medidas Quarentenárias

O maior risco de introdução desta praga em regiões onde ainda não existe é a partir da entrada de larvas ou pupas em plantas hospedeiras e partes de plantas ornamentais, como arranjos florais (COMMONWEALTH..., 1996). Nos portos e aeroportos, as brotações, as folhas novas, os frutos em desenvolvimento e outras partes de vegetais, principalmente de plantas ornamentais, devem ser cuidadosamente examinados, com o auxílio de lupas de bolso (x30). Em caso de suspeita, o material deve ser

tratado imediatamente. Recomenda-se que todas as plantas hospedeiras e parte destas, bem como outro tipo de material de propagação, sejam provenientes de sementeiras ou locais livres da praga e quando importadas, estejam acompanhadas de um Certificado Fitossanitário, bem como fumigados antes do envio. O Certificado Fitossanitário deve especificar o tratamento realizado no material vegetal.

2. Identificação e caracterização molecular de *H. armigera* utilizando-se a técnica de RAPD.

A partir da adaptação da metodologia de extração de DNA para *H. armigera*, foram obtidos diferentes perfis eletroforéticos entre os indivíduos analisados utilizando-se os primers OPA-02, OPA-03, OPA-04, OPA-10, OPA-11 e OPA-13 nas reações de RAPD. Empregando-se o primer OPA-02 nas reações de amplificação, observou-se diferentes padrões de bandas entre os indivíduos de uma mesma população, como também, entre populações distintas (Figuras 1 e 2).

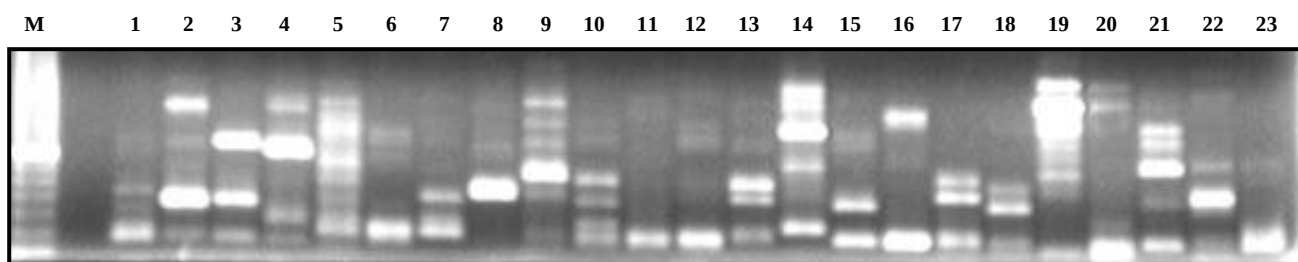


Figura 1 – Perfis eletroforéticos de *H. armigera* obtidos com o primer OPA-02. Os números indicam: 1 a 5, tomate em N'Dorola; 6 a 10, algodão em Gaoua; 11 a 15, tomate em Gaoua; 16 a 20, algodão em Réo; 21 a 23, tomate em Réo. A letra M indica o marcador de massa molecular 100 pb ladder.

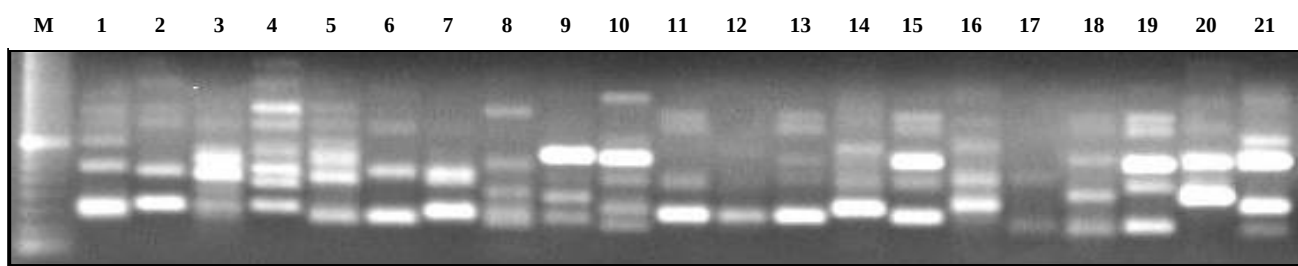


Figura 2 – Perfis eletroforéticos de *H. armigera* obtidos com o primer OPA-02. Os números indicam: 1 a 5, algodão em Soumouso; 6 a 10, algodão em Soumosso; 11 a 15, tomate em Soumosso; 16 a 20, algodão em N'Dorola, e 21, algodão em N'Dorola. A letra M indica o marcador de massa molecular 100 pb ladder.

Empregando-se o primer OPA-02 não foi possível identificar qualquer padrão monomórfico de bandas entre os indivíduos dessa espécie. Contudo, a utilização daquele primer revelou a variabilidade genética existente nas populações de *H. armigera* analisadas nesse estudo.

Resultado diferente foi obtido com o primer OPA-10, onde foram identificadas duas bandas monomórficas em todas as populações de *H. armigera* analisadas nesse estudo (Figuras 3 e 4).

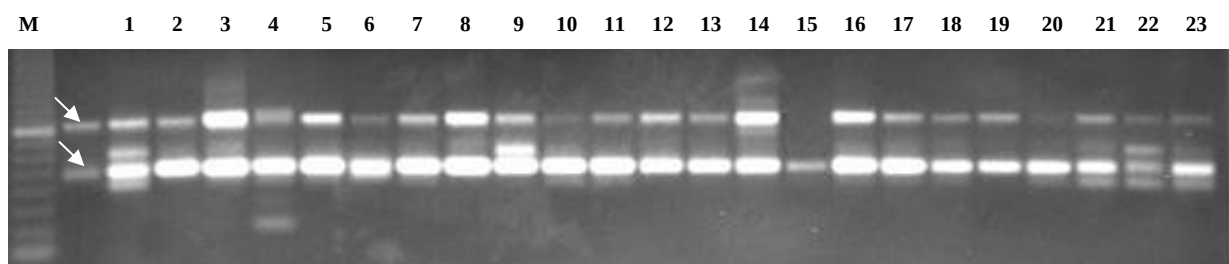


Figura 3 – Perfis eletroforéticos de *H. armigera* obtidos com o primer OPA-10. Populações coletadas de: 1 a 5, tomate em N'Dorola; 6 a 10, algodão em Gaoua; 11 a 15, tomate em Gaoua; 16 a 20, algodão em Réo; 21 a 23, tomate em Réo. A letra M indica o marcador de massa molecular 100 pb ladder. As setas indicam as bandas de 500 pb e de 850 pb.

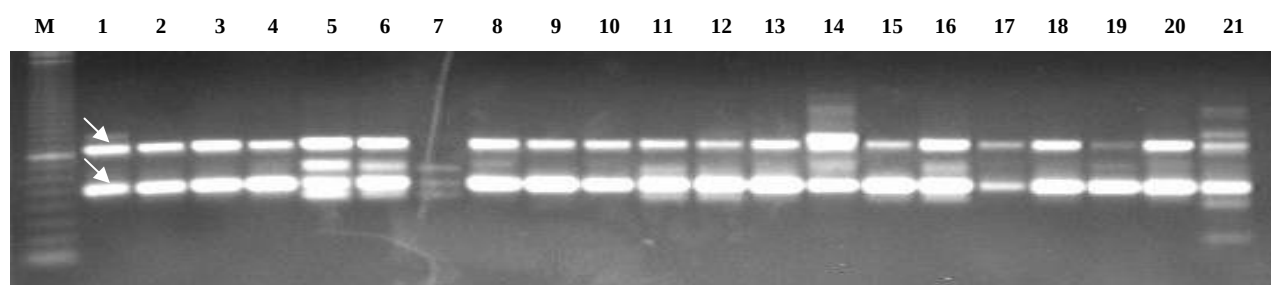


Figura 4 – Perfis eletroforéticos de *H. armigera* obtidos com o primer OPA-10. Populações coletadas de: 1 a 5, algodão em Soumouso; 6 a 10, algodão em Soumouso; 11 a 15, tomate em Soumouso; 16 a 20, algodão em N'Dorola, e 21, algodão em N'Dorola. A letra M indica o marcador de massa molecular 100 pb ladder. As setas indicam as bandas de 500 pb e de 850 pb.

O uso do primer OPA-10 nas reações de amplificação por RAPD produziu duas bandas de 500 pb e de 850 pb que foram identificadas nos indivíduos componentes de todas as populações de *H. armigera* que foram recebidas

para a determinação dos perfis eletroforéticos de RAPD (números assinalados em vermelho na Fig. 5). Essas bandas apresentaram potencial de serem exploradas para o desenvolvimento de marcadores

específicos para a caracterização dessa espécie quando da comparação das populações coletadas em diferentes plantas hospedeiras e regiões geográficas.

Para os demais primers observou-se uma variação no padrão de marcadores RAPD entre os

indivíduos. Contudo, mesmo com a utilização de poucos primers, foi possível identificar polimorfismos entre os indivíduos analisados nesse estudo. Sendo assim, o polimorfismo produzido por cada organismo foi então utilizado para a determinação da matriz de distância genética (Figura 5).

AISo1.1 1.1 1.2 1.3 1.4 1.5 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 3.1 3.2 3.3 3.4 3.5 4.1 4.2 4.3 4.4 4.5 5.1 5.2 5.3 5.4 5.5 6.1 6.2 6.3 6.4 6.5 7.1 7.2 7.3 7.4 7.5 8.1 8.2 8.3 8.4 8.5 9.1 9.2 9.3 9.4 9.5 10.1 10.2 10.3 10.4 10.5
 0.00
 AISo1.2 0.14 0.00
 AISo1.3 0.17 0.13 0.00
 AISo1.4 0.16 0.08 0.15 0.00
 AISo1.5 0.20 0.19 0.16 0.24 0.00
 AISo2.1 0.19 0.18 0.25 0.28 0.20 0.00
 AISo2.2 0.21 0.18 0.23 0.28 0.24 0.11 0.00
 AISo2.3 0.33 0.27 0.20 0.33 0.24 0.23 0.25 0.00
 AISo2.4 0.33 0.36 0.25 0.36 0.28 0.27 0.29 0.13 0.00
 AISo2.5 0.28 0.28 0.20 0.32 0.19 0.26 0.25 0.23 0.23 0.00
 ToSo3.1 0.20 0.21 0.23 0.21 0.17 0.24 0.28 0.36 0.40 0.21 0.00
 ToSo3.2 0.21 0.15 0.22 0.22 0.19 0.18 0.16 0.27 0.33 0.18 0.09 0.00
 ToSo3.3 0.22 0.25 0.23 0.23 0.22 0.27 0.28 0.36 0.33 0.28 0.10 0.13 0.00
 ToSo3.4 0.39 0.36 0.27 0.32 0.36 0.39 0.38 0.30 0.38 0.25 0.26 0.26 0.33 0.00
 ToSo3.5 0.29 0.28 0.23 0.32 0.21 0.34 0.35 0.40 0.37 0.28 0.18 0.18 0.18 0.25 0.00
 AIND4.1 0.29 0.30 0.25 0.35 0.33 0.28 0.33 0.28 0.37 0.33 0.31 0.31 0.31 0.23 0.30 0.00
 AIND4.2 0.23 0.14 0.21 0.19 0.21 0.17 0.19 0.21 0.25 0.21 0.22 0.15 0.25 0.36 0.28 0.31 0.00
 AIND4.3 0.32 0.30 0.30 0.33 0.36 0.27 0.26 0.25 0.33 0.26 0.32 0.32 0.29 0.37 0.38 0.26 0.20 0.00
 AIND4.4 0.28 0.18 0.20 0.22 0.20 0.25 0.33 0.28 0.34 0.25 0.21 0.20 0.21 0.36 0.18 0.30 0.10 0.23 0.00
 AIND4.5 0.39 0.34 0.32 0.32 0.40 0.37 0.42 0.36 0.38 0.34 0.38 0.39 0.35 0.33 0.36 0.32 0.30 0.28 0.25 0.00
 AIND5.1 0.32 0.34 0.33 0.34 0.31 0.32 0.31 0.23 0.25 0.28 0.44 0.39 0.40 0.35 0.41 0.31 0.29 0.31 0.34 0.23 0.00
 AIND5.2 0.24 0.16 0.23 0.21 0.22 0.18 0.18 0.23 0.25 0.23 0.19 0.09 0.23 0.33 0.23 0.34 0.05 0.29 0.18 0.35 0.31 0.00
 AIND5.5 0.22 0.15 0.21 0.20 0.24 0.19 0.20 0.21 0.23 0.21 0.21 0.11 0.24 0.33 0.25 0.36 0.03 0.27 0.16 0.33 0.32 0.00
 ToND6.1 0.33 0.31 0.31 0.28 0.32 0.25 0.29 0.36 0.37 0.36 0.32 0.21 0.32 0.37 0.38 0.40 0.21 0.41 0.29 0.46 0.44 0.20 0.22 0.00
 ToND6.2 0.34 0.28 0.26 0.28 0.30 0.36 0.40 0.31 0.38 0.31 0.27 0.23 0.31 0.33 0.33 0.38 0.21 0.42 0.24 0.44 0.46 0.22 0.20 0.16 0.00
 ToND6.3 0.31 0.25 0.30 0.32 0.29 0.31 0.35 0.30 0.37 0.25 0.26 0.16 0.30 0.34 0.35 0.35 0.22 0.36 0.25 0.42 0.44 0.23 0.21 0.17 0.12 0.00
 ToND6.4 0.37 0.31 0.33 0.34 0.34 0.37 0.41 0.36 0.43 0.34 0.34 0.28 0.41 0.44 0.40 0.48 0.25 0.47 0.31 0.49 0.47 0.24 0.22 0.25 0.16 0.17 0.00
 ToND6.5 0.35 0.33 0.28 0.33 0.35 0.38 0.39 0.37 0.37 0.31 0.36 0.25 0.36 0.40 0.32 0.47 0.31 0.52 0.33 0.48 0.50 0.28 0.26 0.23 0.21 0.26 0.23 0.00
 AIGa7.1 0.24 0.17 0.27 0.25 0.31 0.25 0.25 0.30 0.32 0.23 0.26 0.11 0.30 0.39 0.30 0.42 0.16 0.36 0.25 0.36 0.38 0.13 0.11 0.24 0.22 0.20 0.24 0.22 0.00
 AIGa7.2 0.29 0.25 0.33 0.32 0.38 0.31 0.28 0.37 0.36 0.27 0.26 0.13 0.30 0.39 0.32 0.42 0.21 0.36 0.28 0.46 0.48 0.20 0.18 0.29 0.29 0.20 0.29 0.26 0.13 0.00
 AIGa7.3 0.34 0.28 0.33 0.35 0.36 0.36 0.37 0.32 0.36 0.30 0.36 0.29 0.43 0.46 0.40 0.47 0.21 0.41 0.32 0.46 0.41 0.20 0.18 0.28 0.24 0.23 0.17 0.28 0.17 0.23 0.00
 AIGa7.4 0.34 0.25 0.32 0.30 0.36 0.30 0.33 0.32 0.42 0.40 0.34 0.27 0.41 0.43 0.42 0.40 0.22 0.41 0.32 0.46 0.49 0.25 0.23 0.22 0.21 0.25 0.26 0.21 0.22 0.31 0.22 0.00
 AIGa7.5 0.25 0.21 0.28 0.23 0.33 0.31 0.32 0.37 0.38 0.28 0.17 0.13 0.21 0.40 0.26 0.39 0.18 0.33 0.23 0.41 0.47 0.17 0.16 0.29 0.24 0.21 0.24 0.21 0.16 0.16 0.29 0.24 0.00
 ToGa8.1 0.26 0.22 0.29 0.24 0.35 0.28 0.32 0.29 0.36 0.32 0.27 0.20 0.33 0.39 0.37 0.39 0.19 0.33 0.25 0.36 0.40 0.18 0.17 0.19 0.16 0.17 0.18 0.27 0.14 0.20 0.24 0.19 0.16 0.00
 ToGa8.2 0.32 0.31 0.41 0.33 0.44 0.32 0.33 0.38 0.37 0.38 0.31 0.25 0.31 0.42 0.36 0.43 0.20 0.27 0.26 0.40 0.45 0.21 0.19 0.22 0.27 0.26 0.36 0.40 0.25 0.23 0.30 0.31 0.19 0.20 0.00
 ToGa8.3 0.32 0.43 0.33 0.28 0.32 0.36 0.38 0.34 0.23 0.19 0.27 0.44 0.31 0.41 0.18 0.35 0.22 0.38 0.45 0.17 0.15 0.18 0.21 0.20 0.23 0.23 0.19 0.22 0.23 0.22 0.09 0.15 0.15 0.00
 ToGa8.4 0.39 0.40 0.47 0.43 0.52 0.44 0.45 0.50 0.49 0.47 0.42 0.37 0.46 0.49 0.40 0.53 0.39 0.49 0.43 0.56 0.59 0.36 0.34 0.32 0.39 0.29 0.29 0.27 0.29 0.24 0.26 0.31 0.25 0.33 0.25 0.28 0.00
 ToGa8.5 0.30 0.28 0.

Figura 5 - Matriz de distância genética entre os indivíduos de dez populações de *H. armigera*. Os códigos indicam: AlSo1, Algodão Soumouso; AlSo2, Algodão Soumouso; ToSo3, Tomate Soumouso; AlND4, Algodão N'Dorola; AlND5, Algodão N'Dorola; ToND6, Tomate N'Dorola; AlGa7, Algodão Gaoua; ToGa8, Tomate Gaoua; AlRe9, Algodão Réo; ToRe10, Tomate Réo.

A partir da organização dos dados binários produzidos pelos marcadores, obteve-se a matriz de distância genética entre os vários indivíduos analisados que variou de 2 %, entre os indivíduos AIND5.3 e AIND5.5, pertencentes a uma mesma população coletada em algodão em N'Dorola, a 56 %, entre os indivíduos ToGa8.4 e AIND5.1, originários de populações coletadas em tomate

(Gaoua) e algodão (N'Dorola). Por esses dados, observa-se a variabilidade genética existente nas populações em análise.

A seguir, os dados binários correspondentes aos vários indivíduos foram utilizados para a determinação de um dendrograma para o estabelecimento das relações filogenéticas entre as dez populações de *H. armigera* (Figura 6).

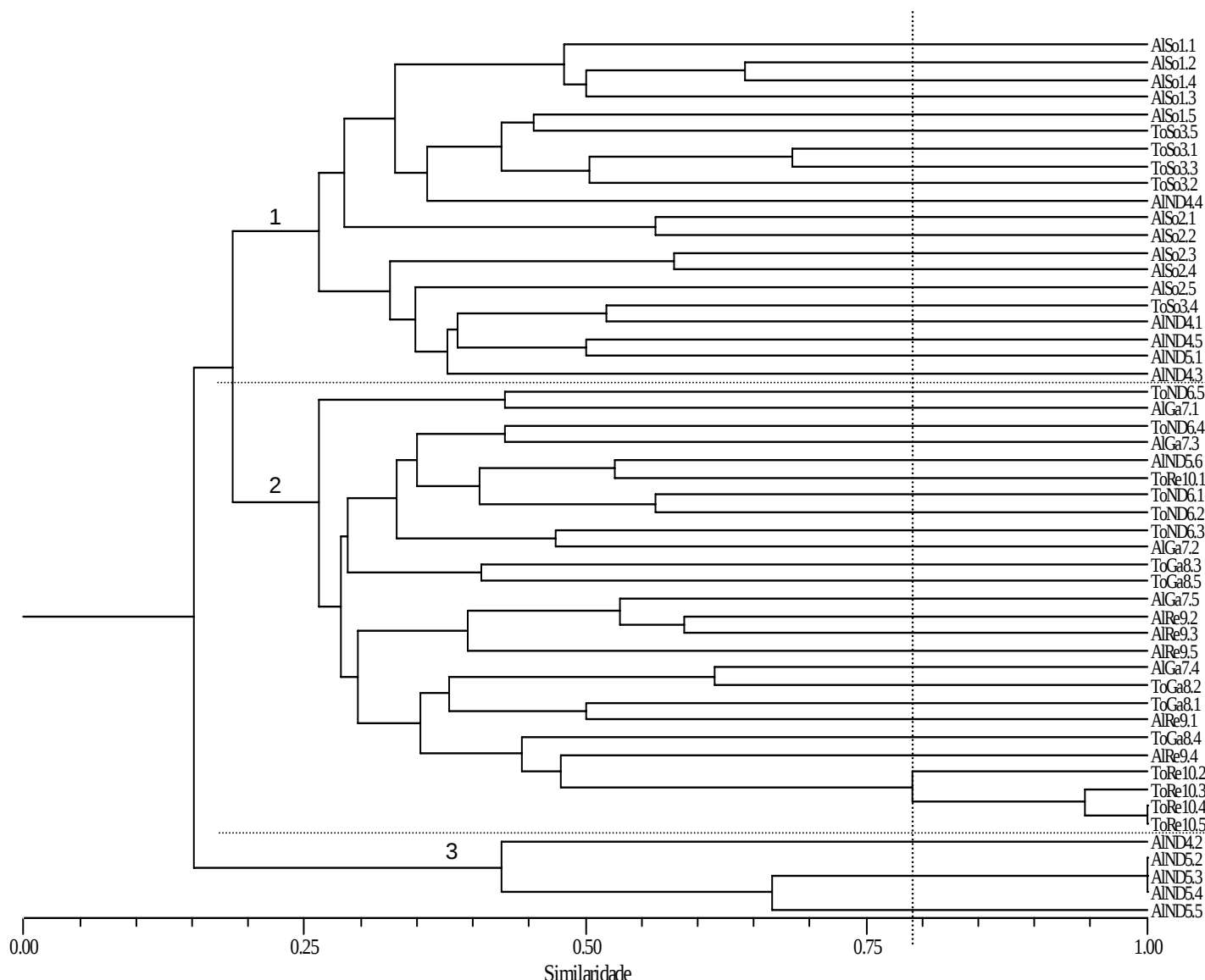


Figura 6 - Dendrograma construído a partir de dados obtidos a partir de reações de RAPD com 6 primers de dez populações de *H. armigera* coletadas em culturas de algodão e tomate em três localidades africanas. Os códigos indicam: AlSo1, Algodão Soumouso; AlSo2, Algodão Soumouso; ToSo3, Tomate Soumouso; AIND4, Algodão N'Dorola; AIND5, Algodão N'Dorola; ToND6, Tomate N'Dorola; AlGa7, Algodão Gaoua; ToGa8, Tomate Gaoua; AlRe9, Algodão Réo; ToRe10, Tomate Réo. As linhas pontilhadas horizontais indicam a separação dos agrupamentos dentro do dendrograma e a linha pontilhada vertical indica o limite máximo de similaridade encontrado entre as populações de *H. armigera*.

A análise do dendrograma permitiu identificar três agrupamentos principais. Os indivíduos componentes do agrupamento 1 foram constituídos

pelas duas populações coletadas em algodão (Soumosso), uma em tomate (Soumosso) e uma em algodão (N'Dorola). As populações

constituintes do agrupamento 2 foram coletadas em tomate (N'Dorola), algodão (Gaoua), algodão (N'Dorola), tomate (Réo), tomate (Gaoua) e algodão (Réo). Esses dois agrupamentos apresentaram, entre si, aproximadamente 20 % de similaridade fenética. O agrupamento 3 foi composto apenas por uma população coletada em algodão em N'Dorola. Essa população apresentou em torno de 15 % de similaridade fenética em relação aos agrupamentos 1 e 2. Dos resultados analisados no dendrograma observou-se que a similaridade genética entre as populações de *H. armigera* foi inferior a 80 %, indicando uma alta variabilidade genética entre os indivíduos que foram analisados nesse estudo. A exceção ficou apenas para a população coletada em tomate (Réo) que apresentou índices de similaridade superiores a 80 %.

Para a confirmação e validação estatística dos resultados obtidos, realizou-se a seguir uma análise de variância molecular (AMOVA) para a determinação das fontes de variação genética que foram observadas nos agrupamentos no dendrograma. A primeira análise consistiu em determinar a fonte de variação quando todas as populações foram

consideradas, independentemente da cultura e do local de coleta. Os dados de AMOVA revelaram que 24,26 % da variação observada era proveniente de variações entre os grupos e que, 75,74 % eram de variações observadas dentro da população. Analisando-se, posteriormente, os indivíduos em relação às respectivas plantas hospedeiras observou-se que, para a cultura de algodão, 23,53% da variação obtida era originária de variações entre as populações e que, 76,47% estava associada a variações dentro das populações. Para a cultura de tomate foram obtidos valores muito semelhantes, ou seja, 23,48% de variação entre populações e 76,52%, dentro da população.

A influência das localidades na distribuição das populações de *H. armigera* foi, também, analisada. Os resultados indicaram 9,07% de variação entre os grupos, 16,42% entre populações nos grupos e 74,51, dentro das populações. Das análises de similaridade fenética e de AMOVA, observou-se uma elevada variabilidade genética dentro dos grupos analisados. A técnica de RAPD não foi utilizada para caracterizar a espécie mas, mostrou-se útil na determinação de perfis de DNA comuns a todos os indivíduos das dez

populações analisadas, empregando-se apenas seis primers de sequência aleatória. Em virtude de seu amplo espectro de uso, a técnica de RAPD tem sido aplicada em diferentes níveis de estudo na caracterização molecular tanto de populações de insetos-praga quanto das possíveis espécies relacionadas.

Monnerat et al. (2004), por exemplo, demonstraram que não havia variabilidade genética intra-populacional em três espécies do gênero *Diadegma* (Hymenoptera: Ichneumonidae), um importante parasitóide de larvas das traças das crucíferas *Plutella xylostella*. Tsai et al. (2003) utilizando essa mesma técnica, demonstraram o potencial de uso do RAPD para a análise filogenética de protozoários parasitas intercelulares obrigatórios do gênero *Nosema* associados a espécies de lepidópteros, *Spodoptera litura*, *S. exigua*, *Helicoverpa armigera*, *P. xylostella* e *Pieris* spp. Nesse trabalho, observou-se que os isolados de *Nosema*, presentes em *Pieris* spp., *S. exigua* e *H. armigera*, eram mais próximos filogeneticamente.

Além disso, a partir dos marcadores moleculares gerados por RAPD é possível o desenvolvimento de primers específicos para várias

espécies de insetos. Essa estratégia foi aplicada por Agusti et al. (1999) que desenvolveram primers específicos para a detecção de *H. armigera* no intestino de possíveis predadores dessa espécie, como *Dicyphus tamaninii* (Heteroptera: Miridae). Usando a técnica de RAPD gerou-se um fragmento de 1200 pb - presente apenas em *H. armigera* e ausente em *D. tamaninii*. Com essa estratégia foi possível detectar a presença do inseto no intestino do respectivo predador.

Os marcadores moleculares obtidos por RAPD mostram-se úteis para o desenvolvimento de várias estratégias para o estudo da dinâmica das populações de *H. armigera*.

Conclusão

O sucesso na obtenção de marcadores moleculares via RAPD é dependente da qualidade do DNA obtido a partir dos tecidos do inseto. A técnica de extração de DNA que foi adaptada para esse trabalho, forneceu DNA com quantidade e qualidade para analisar a variabilidade genética de dez populações de *H. armigera* utilizando-se apenas seis primers de RAPD. Os perfis moleculares obtidos nesse trabalho, por meio de RAPD, demonstrou ser eficaz para a análise

da variabilidade genética de *H. armigera* provenientes de Burkina Faso. O perfil será utilizado como diagnóstico-padrão para outras espécies do mesmo gênero encontradas no Brasil. Contribuirá para uma identificação preliminar de *H. armigera*, caso ela venha a ser interceptada ou introduzida no país, permitindo agilidade e segurança nas ações de quarentena e na elaboração de políticas públicas para pragas quarentenárias.

Referências bibliográficas:

- ABDELRAHMAN, A. A.; ALSAFFAR, A.; MUNIR, B.; STAM, P. A. Cotton integrated pest management in central Sudan. **Arab Journal of Plant Protection**, Beirut, v. 16, n. 1, p. 52-54, 1998.
- ADAMU, R. S.; DIKE, M. C.; AKPA, A. D. Insect fauna associated with greengram (*Vigna radiata* (L.) Wilc.) in the Northern Guinea Savanna of Nigeria. **Journal of Sustainable Agriculture and the Environment**, Abia State, Nigeria, v. 3, n. 2, p. 331-336, 2001.
- ADNAN BABI; AL NABHAN, M.; PINTUREAU, B. A study on the effect of *Trichogramma principium* releases on cotton bollworms and the chrysopid predator *Chrysoperla carnea* in Syrian cotton fields. **Arab Journal of Plant Protection**, Beirut, v. 20, n. 1, p. 59-61, 2002.
- AGUSTI, N.; DE VICENTE, M. C.; GABARRA, R. Development of sequence amplified characterized region (SCAR) markers of *Helicoverpa armigera*: a new polymerase chain reaction-based technique for predator gut analysis. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 8, 1467-1474, 1999.
- AHEER, G. M.; MUHAMMAD LATIF; MUHAMMAD SAEED. Quantitative losses of tomato fruits caused by tomato fruit borer, *Heliothis armigera* (Hb.). **Pakistan Entomologist**, Faisalabad, Pakistan v. 20, n. 1/2, p. 87-88, 1998.
- AIMANBETOV, M. Z.; AZHBENOV, V. K. Plant protection in Kazakhstan. **Zashchita i Karantin Rastenii**, Moscow, n. 3, p. 18-21, 2004.
- ANIL KUMAR; PARIHAR, S. B. S.; RAMKISHORE. Host plants of *Helicoverpa armigera* (Hubner) in Uttar Pradesh. **Insect Environment**,

Bangalore, Índia, v. 10, n. 3, p. 139-141, 2004.

APEL, H.; HERRMANN, A.; RICHTER, O. A Decision Support System for Integrated Pest Management of *Helicoverpa armigera* in the tropics and subtropics by means of a rule-based Fuzzy Model. **Zeitschrift fur Agrarinformatik**, Munster-Hiltrup, Germany, v. 7, n. 4, p. 83-90, 1999.

ARMSTRONG, A. M. Additional new records of armyworms (*Spodoptera frugiperda* & *S. exigua*) attacking cabbage in Puerto Rico. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, Puerto Rico, v. 78, n. 1-2, p. 69-70, 1994.

BADILLA FERNANDEZ, F. A successful biological control program of insect pests in sugar cane in Costa Rica. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia**, Turrialba, Costa Rica, n. 64, p. 77-87, 2002.

BAGRINTSEVA, V. N.; BORSHCH, T. I.; SHTAIN, S. E.; CHEBYKINA, L. A. Dangerous pests of maize. **Zashchita i Karantin Rastenii**, Moscow, n. 5, p. 34, 2004.

BALAKRISHNAN, N.; BASKARAN, R. K. M.; MAHADEVAN, N. R. Feeding and ovipositional preference of *Helicoverpa armigera* (Hubn.) on different plant hosts. **Journal of Applied Zoological Researches**, Cuttack, Índia, v. 15, n. 1, p. 14-16, 2004.

BASTOS, C. S.; GALVAO, J. C. C.; PICANCO, M. C.; CECON, P. R.; PEREIRA, P. R. G. Incidência de insetos filófagos e de predadores no milho e no feijão cultivados em sistema exclusivo e consorciado. **Ciência Rural**, Santa Maria, Brasil, v. 33, n. 3, p. 391-397, 2003.

BERG, H. van den; AZIZ, A.; MACHRUS, M. On-farm evaluation of measures to monitor and control soybean pod-borer *Etiella zinckenella* in East Java, Indonesia. **International Journal of Pest Management**, Abingdon, UK, v. 46, n. 3, p. 219-224, 2000.

BLEICHER, E.; OLIVEIRA, I. S. R. de; VIDAL NETO, F. das C. Controle da lagarta-do-cartucho do milho usando-se areia como veículo de inseticida. **Revista Ciência Agrônômica**,

Fortaleza, CE, Brasil, v. 34, n. 1, p. 51-56, 2003.

BOCK, C. H.; SONGA, J.; JULIAN, A. M. Survey of sorghum pests and pathogens in eastern Kenya. **Tropical Science**, London, v. 41, n. 1, p. 16-22, 2001.

BUHOLZER, F.; DRABER, J.; BOURGEOIS, F.; GUYER, W. CGA 184'699 a new acylurea insecticide. **Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent**, Ghent Belgium, v. 57, n. 3A, p. 781-790, 1997.

BUSATO, G. R.; GRUTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; GIOLO, F. P.; ZOTTI, M. J.; BANDEIRA, J. de M. Exigências térmicas e estimativa do numero de gerações dos biótipos "milho" e "arroz" de *Spodoptera frugiperda*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, Brasil, v. 40, n. 4, p. 329-335, 2005.

BUSATO, G. R.; GRUTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; GIOLO, F. P.; ZOTTI, M. J.; BANDEIRA, J. DE M. Exigências térmicas e estimativa do numero de gerações dos biotipos

"milho" e "arroz" de *Spodoptera frugiperda*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, Brasil, v. 40, n. 4, p. 329-335. 2005.

BUSATO, G. R.; GRUTZMACHER, A. D.; OLIVEIRA, A. C. DE; VIEIRA, E. A.; ZIMMER, P. D.; KOPP, M. M.; BANDEIRA, J. DE M. MAGALHAES, T. R. Analise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas as culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, Londrina, Brasil, v. 33, n. 6, p. 709-716. 2004.

CAMERON, P. J.; WALKER, G. P.; HERMAN, T. J. B.; WALLACE, A. R. Development of economic thresholds and monitoring systems for *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in tomatoes. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, USA, v. 94, n. 5, p. 1104-1112, 2001.

CIAMPI, A. Y.; MAGALHÃES, M. T. Q. **Análise de variabilidade genética de três espécies arbóreas utilizando marcador molecular RAPD**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 8p. (Embrapa

Recursos Genéticos e Biotecnologia, Comunicado Técnico, 60)

COMMONWEALTH OF AUSTRALIA.

Stem Borers: (Lepidoptera: Pyralidae), *Chilo partellus* (Swinhoe, 1885), *C. infurcatellus* (Snellen), *C. auricillius* (Dudgeon), *C. terrenellus* (Pagenstecher). Canberra: AQIS, 1996. Não paginado (Plant Quarantine Leaflet, 83).

CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY (CBD). Alien species that threaten ecosystems, habitats or species. In: CONFERENCE OF THE PARTIES TO THE CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY, 6., 2002, The Hague, the Netherlands. **Annals...** The Hague: UNEP/CBD/COP/6/20, 2002. p. 54-60.

CRUZ, I.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. Pragas: pragas da fase vegetativa e reprodutiva. In: CRUZ, I.; VERSIANI, R. P.; FERREIRA, M. T. R. (Ed.). **Cultivo do milho**. Sete Lagoas, Minas Gerais: Embrapa Milho e Sorgo, 2000 (Embrapa Milho e Sorgo, Sistemas de Produção, 1). Disponível em: < <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho/prvegetativa.htm> >. Acesso em: 13 out. 2005.

DALY, P. Vegetable crops in New Caledonia: a report on diseases and pests. **Phytoma**, Paris, n. 519, p. 28-31, 1999.

DAVIS, E. E.; VENETTE, R. C. Methyl bromide provides phytosanitary security: a review and case study for Senegalese asparagus. **Plant Health Progress**, Saint Paul, USA, nov., p. 1-6, 2004.

DIDONET, J.; DIDONET, A. P. P.; ERASMO, E. L.; SANTOS, G. R. dos. Incidência e densidade populacional de pragas e inimigos naturais em arroz de terras altas, em Gurupi-TO. **Bioscience Journal**, Uberlândia, Brazil, v. 17, n. 1, p. 67-76, 2001.

DUFFIELD, S. J.; CHAPPLE, D. G. Within-plant distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Helicoverpa punctigera* (Wallengren) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs on irrigated soybean. **Australian Journal of Entomology**, Melbourne, Austrália, v. 40, p. 151–157. 2001.

EL MERGAWY, R.; LI YI; EL SHEIKH, M.; EL SAYED, M.; ABOL ELA, S.; BERGOIN, M.; TIJSEN, P.; FEDIERE, G. Epidemiology and

biodiversity of the Densovirus MIDNV in the field populations of *Spodoptera littoralis* and other noctuid pests. **Bulletin of Faculty of Agriculture**, Cairo, v. 54, n. 2, p. 269-281, 2003.

ELAWAD, S.; AHMAD, W.; REID, A. P. *Steinernema abbasi* sp. n. (Nematoda: Steinernematidae) from the Sultanate of Oman. **Fundamental and Applied Nematology**, Montrouge, França, v. 20, n. 5, p. 435-442, 1997.

ENDO, M.; KATO, H.; SHIMIZU, K. Occurrence and insecticide susceptibility of tobacco budworms, *Helicoverpa armigera* and *H. assulta*, in Chiba Prefecture. **Annual Report of the Kanto Tosan Plant Protection Society**, Tsukuba, Japan, n. 47, p. 129-131, 2000.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION (EPPO). *Helicoverpa armigera*. **EPPO Bulletin**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 289-295, 2003.

EVANS, D. C.; STANSLY, P. A. Weekly economic injury levels for fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) infestation of corn in lowland Ecuador. **Journal of Economic Entomology**,

Lanham, USA, v. 83, n. 6, p. 2452-2454, 1990.

FANTON, C. J. **Principais pragas das pastagens no Espírito Santo**. Marilândia, ES: EMCAPA, 1990. p. 14-21. (Documentos, n. 73).

FAURE, A.; GUERY, B.; GUINEFOLEAU, J. P.; WEISSENBERGER, A.; NAIBO, B.; DECOIN, M. Corn crops - 2003 plant health review: drought and insects. **Phytoma**, Paris, n. 567, p. 39-41, 2004.

FAVERO, S.; CONTE, C. de O.; SILVA, M. V. da. Resistência de duas populações de *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) a deltametrina. **Ensaio e Ciência: Série Ciências Biológicas, Agrárias, e da Saúde**, Campo Grande, Brasil, v. 4, n. 2, p. 71-80, 2000.

FERNANDES, M. G.; BUSOLI, A. C.; BARBOSA, J. C. Distribuição espacial de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae) em algodoeiro. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, Brasil, v. 8, n. 3, p. 203-211, 2002.

FERREIRA, E.; BARRIGOSI, J. A. F. Manejo dos principais insetos fitófagos. In: SANTOS, A. B. dos; BIAVA, M. (Ed.). **Cultivo do Arroz Irrigado no Estado do Tocantins**. Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. (Embrapa Arroz e Feijão, Sistema de Produção, 3). Disponível em: < http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoTocantins/manejo_insetos_fitofagos.htm >. Acesso em 13 out. 2005.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 220 p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **Glossary of Phytosanitary Terms**. Reference Standard. Rome: Secretariat of the International Plant Protection Convention, 2002. (ISPM Publ., n. 5).

GAHUKAR, R. T. Population dynamics of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) on rose flowers in central India. **Journal of Entomological Research**, New Delhi, v. 26, n. 4, p. 265-276, 2002.

GALANIHE, L. D.; RANASINGHE, M. A. S. K. Survey of cowpea pod boring caterpillars in Mahaweli system C. **Sri Lankan Journal of Agricultural Sciences**, Peradeniya, Sri Lanka, n. 28, p. 53-62, 1991.

GANESHAN, S.; RAJABALEE, A.; SOMA, A. Notes on the parasitoids of *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) on Mauritius. **African Entomology**, Pretoria, ZA, v. 5, n. 1, p. 164-167, 1997.

GARCIA R., F.; MOSQUERA E., M. T.; VARGAS S., C. A.; ROJAS A, L. Biological, microbiological and physical control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in corn and other crops in Colombia. **Revista Colombiana de Entomologia**, Bogota, Colômbia, v. 28, n. 1, p. 53-60, 2002.

GEETHA, B.; VENKATESAN, S.; SHANMUGAM, K. Occurrence of *Helicoverpa armigera* (Hubner) on castor capsules in Tamil Nadu. **Insect Environment**, Bangalore, Índia, v. 9, n. 4, p. 170-171, 2003.

GIAVENO, C. D.; PARAVANO, A. S.; CURIS, M. C; PORTMANN, E.

Breeding maize for resistance to fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Argentina: genetic and environmental effects. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, Brasil, v. 4, n. 4, p. 434-440, 2004.

GOMBOC, S. *Helicoverpa armigera* HBN. (Lep., Noctuidae) - a quarantine pest which has a rather long history in Slovenia. In: ZBORNIK PREDAVANJ IN REFERATOV 4. SLOVENSKEGA POSVETOVANJA O VARSTVU RASTLIN V PORTOROŽU OD 3. DO 4. mar. Slovenia, 1999. p. 247-253.

GOMEZ, S. A.; AVILA, C. J. **Controle químico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1792), na cultura do trigo**. Mato Grosso do Sul: Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. (Embrapa Agropecuária Oeste, Boletim de Pesquisa, 9).

GONZALEZ, P. A. de; LEMOS, M. A.; RAMALHO NETO, C. E.; REIS, O. V. dos; TABOSA, J. T.; TAVARES FILHO, J. J. Correlações genéticas, fenotípicas e ambientais em dois ciclos de seleção no milho Dentado Composto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, Brasil, v. 29, n. 3, p. 419-425, 1994.

GOZE, E.; NIBOUCHE, S.; DEGUINE, J. P. Spatial and probability distribution of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton: systematic sampling, exact confidence intervals and sequential test. **Environmental Entomology**, Lanham, USA, v. 32, n. 5, p. 1203-1210, 2003.

GUERREIRO, J. C.; BERTI FILHO, E.; BUSOLI, A. C. Ocorrência estacional de *Doru luteipes* na cultura do milho em São Paulo, Brasil. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia**, Turrialba, Costa Rica, n. 70, p. 46-49, 2003.

HACHLER, M.; JERMINI, M.; BRUNETTI, R. Two new harmful noctuids on tomatoes in glasshouse in South and Western Switzerland. **Revue Suisse de Viticulture, d' Arboriculture et d' Horticulture**, Nyon, Suica, CH, v. 30, n. 5, p. 281-285, 1998.

HANSEN, L. O. Six species of Lepidoptera new to Norway. **Fauna Norvegica, B**, v. 36, n. 2, p. 119-123, 1989.

HMIMINA, P. M.; POITOUT, S.; BUES, R. Variability of diapause in populations of *Heliothis armigera* Hb. (Lep., Noctuidae). **Journal of Applied**

Entomology, Berlin, v. 116, n. 3, p. 273-283, 1993.

ROHLF, F. J. **NTSYS-pc**: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.9. New York: Applied Biostatistics, 1993. Não paginado

HOLLOWAY, J. D.; BRADLEY, J. D.; CARTER, D. J. **CIE Guides to insects of importance to man. I. Lepidoptera**. London: CAB International, 1987. 217p.

HOPPE, H.; KALLIES, A.; WEGNER, H. A contribution on the noctuid fauna of western Mecklenburg (Lep., Noc.). **Entomologische Nachrichten und Berichte**, Dresden, Germany, v. 38, n. 2, p. 95-107, 1994.

HORVATH, Z.; BOROS, J.; SKORIC, F. D. Damage of sunflower caused by the cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*, Hubner) in the region of Kecskemet and Bacsalmás in 2003. **Helia**, Novi Sad, Serbia and Montenegro, v. 27, n. 41, p. 173-179, 2004.

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

(INRA). **Spodoptera frugiperda**. Disponível em: <
<http://www.inra.fr/Internet/Produits/HYPPZ/RAVAGEUR/6helarm.htm> > .
Acesso em: 14 de outubro de 2005.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ (IAPAR). **Arroz irrigado: praticas de cultivo**. Londrina, 2001. (Circular Instituto Agrônômico do Paraná, n. 119).

JAVOID, I.; UAINE, R. N.; MASSUA, J. Studies on very-low volume (VLV) water-based sprays for the control of cotton pests. **International Journal of Pest Management**, Abingdon, UK, v. 46, n. 2, p. 81-83, 2000.

JOGINDER SINGH; SANDHU, S. S.; SINGLA, M. L. Ecology of *Heliothis armigera* (Hub.) on chick pea in Punjab. **Journal of Insect Science**, Tucson, USA, v. 3, n. 1, p. 47-52, 1990.

JOHNSON, M. L.; ZALUCKI, M. P. Foraging behaviour of *Helicoverpa armigera* first instar larvae on crop plants of different developmental stages. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 129, n. 5, p. 239-245, 2005.

JOSE FERNANDEZ, T.; JOA, J.; CARIDAD JIMENEZ, A.; LEONIDES DANGER, E.; MELITINA ANDINO, R.; GONZALEZ, N. Biological control of *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) with *Bacillus thuringiensis* Berliner (strain LBT-24) in the province of Granma, Cuba. I. **Centro Agrícola**, Santa Clara, Cuba, v. 28, n. 3, p. 5-10, 2001.

KAKIMOTO, T.; FUJISAKI, K.; MIYATAKE, T. Egg laying preference, larval dispersion, and cannibalism in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, USA, v. 96, n. 6, p. 793-798, 2003.

KARSAVURAN, Y.; CETIN, M. Studies on the economic threshold level for *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) on the processing tomato. **Turkiye Entomoloji Dergisi**, Bornova, Turkey, v. 26, n. 1, p. 63-80, 2002.

KUKLINSKI, F.; BORGEMEISTER, C. Cotton pests and their natural enemies in Madagascar. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 126, n. 2/3, p. 55-65, 2002.

KULAK, A. V.; SOLODOVNIKOV, I. A. New and rare species of noctuids

(Lepidoptera, Noctuidae) in Belarus. **Vestsi Natsyyanal' nai Akademii Navuk Belarusi Seryya Biyalagichnykh Navuk**, Minsk, Belarus, n. 2, p. 102-105, 2002.

KUNIYOSHI, C. H.; RUEDA, A.; TRABANINO, R.; CAVE, R. Evaluation of the use of pheromones for the control and monitoring of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa zea* in sweetcorn. **CEIBA**, Tegucigalpa, Honduras, v. 44, n. 1, p. 61-65, 2003.

LEANDRO, M. J.; OLIVEIRA, M.; MELO, C.; MEXIA, A. Survey of the insect population on a Protea plantation in the Southwest of Portugal. **Acta Horticulturae**, The Hague, Holanda, n. 602, p. 67-74, 2003.

LI DINGXU; CHEN GENQING; ZHANG YIMIN; LIU JIANBIAO. Occurrence, dynamics and control of *Helicoverpa armigera* in apple orchards. **Plant Protection**, Beijing, China, v. 24, n. 4, p. 20-22, 1998.

LIMA, L. H. C.; QUEIROZ, P. R.; OLIVEIRA, M. R. V. **Protocolo de extração de DNA e análise da variabilidade genética de**

***Helicoverpa armigera* por meio de RAPD.** Brasília,D.F. 13 p. Trabalho não publicado.

LOPEZ, O.; REYES, E. Control of *Spodoptera frugiperda* in maize under irrigated and non-irrigated cropping systems. In: MEMORIAS DE LA REUNION LATINOAMERICANA, 3., Y REUNION DE LA ZONA ANDINA DE INVESTIGADORES EN MAIZ, 16., Cochabamba, Santa Cruz, Bolivia. Annales... Cochabamba: [s.n.], 1995. p. 1071-1081.

LUONG MINH CHAU. Integrated pest management: a strategy to control resistance of *Spodoptera exigua* and *Helicoverpa armigera* caterpillars to insecticides on soybean in the Mekong Delta. **Pesticide Science**, Oxford, Inglaterra, v. 43, n. 3, p. 255-258, 1995.

MARFO, K. O. Insect population dynamics and some physiological yield determinants as affected by planting dates and insecticide application in pigeon pea genotypes. **Tropical Agriculture**, Surrey, GB, v. 77, n. 1, p. 33-37, 2000.

MARTIN, T.; OCHOU, G. O.; VAISSAYRE, M.; FOURNIER, D. Monitoring of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* (Hubner) from 1998 to 2002 in Cote d'Ivoire, West Africa. **Resistant Pest Management Newsletter**, East Lansing, USA,, v. 12, n. 2, p. 51-55, 2003.

MATHEW, M. P.; PAUL, T. S.; NAIR, S. R.; MADHU, S. *Heliothis* [*Helicoverpa*] *armigera*, a new pest of bittergourd. **Journal of Tropical Agriculture**, Thrissur, Índia, v. 34, n. 2, p. 154, 1996.

MATTHEWS, G. Cotton insect pest control in Zimbabwe. **Pesticide Outlook**, Cambridge, UK, v. 10, n. 5, p. 198-200, 1999.

MEAGHER JUNIOR, R. L.; MITCHELL, E. R. Collection of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) using selected pheromone lures and trap designs. **Journal of Entomological Science**, Tifton, Ga., USA, v. 36, n. 2, p. 135-142, 2001.

MELLET, M. A.; SCHOEMAN, A. S.; BROODRYK, S. W.; HOF, J. L. Bollworm (*Helicoverpa armigera* (Hubner), Lepidoptera: Noctuidae)

occurrences in Bt- and non-Bt-cotton fields, Marble Hall, Mpumalanga, South Africa. **African Entomology**, Pretoria, ZA, v. 12, n. 1, p. 107-115, 2004.

MICHEL, B.; TOGOLA, M.; TERETA, I.; TRAORE, N. N. Cotton pest management in Mali: issues and recent progress. **Cahiers Agricultures**, v. 9, n. 2, p. 109-115, 2000.

MINJA, E. M.; SHANOWER, T. G.; ONG' ARO, J. M.; NDERITU, J.; SONGA, J. M. Natural enemies associated with arthropod pests of pigeonpea in Eastern Africa. **International Chickpea and Pigeonpea Newsletter**, Patancheru, Índia, n. 6, p. 47-50, 1999.

MONNERAT, R. G.; LEAL-BERTIOLI, S.; BERTIOLLI, D. J.; BUTT, T.; BORDAT, D. Variabilidade genética do parasitóide *Diadegma* sp. através de RAPD-PCR. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 90-92, 2004.

MUKHITDINOV, S. M. Cotton moth: agronomic practice and prediction. **Zashchita Rastenii Moskva**, n. 12, p. 37-38, 1994.

MUSA, A. M.; JOHANSEN, C.; KUMAR, J.; HARRIS, D. Response of chickpea to seed priming in the High Barind Tract of Bangladesh. **International Chickpea and Pigeonpea Newsletter**, Patancheru, Índia, n. 6, p. 20-22, 1999.

NAGOSHI, R. N.; MEAGHER, R. L. Behavior and distribution of the two fall armyworm host strains in Florida. **Florida Entomologist**, Lutz, USA, v. 87, n. 4, p. 440-449, 2004.

NAGOSHI, R. N., MEAGHER, R. L. Seasonal distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae), host strains in agricultural and turf grass habitats. **Environmental Entomology**, Lanham, USA, v. 33, p. 8810-889. 2004. ISSN 0046-225X.

NIBOUCHE, S.; BABIN, R.; BEYO, J.; GOZE, E. Within-plant distribution of cotton boll-infesting lepidoptera: application to sampling. **Environmental Entomology**, Lanham, USA, v. 33, n. 5, p. 1458-1464, 2004.

OLIVEIRA, M. R. V. de; MARTINS, O. M.; MARINHO, V. L. A.; MENDES, M. A. S.; FONSECA, J. N. L.; TENENTE,

R. C. V.; BATISTA, M. F. **O mandato da quarentena vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 61p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Documentos, 110)

OSTRAUSKAS, H. Moths caught in pheromone traps for southern armyworm (*Spodoptera eridania* Cr.), fall armyworm (*S. frugiperda* Sm.), and Egyptian cotton leafworm (*S. littoralis* Bsd.) (Noctuidae, Lepidoptera) during 1999-2001 in Lithuania. **Acta Zoologica Lituanica**, Vilnius, Lithuania, v. 13, n. 4, p. 411-424, 2003.

PASCUA, L. T.; HUIS, A. VAN; LENTEREN, J. C. van. Cotton bollworm in the Philippines: a review. **Philippine Journal of Science**, Manila, PH, v. 126, n. 1, p. 63-79, 1997.

PAULA, S. V.; OLIVEIRA, M. R. V.; FERREIRA, D. N. M.; PINHEIRO, F. **Lepidópteras quarentenárias para o Brasil:** subsídios para identificação e análise de risco de pragas. Brasília:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. CD ROM. 172p.

PINANGO, L.; ARNAL, E.; RODRIGUEZ, B. Population fluctuation of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) on corn under three tillage systems. **Entomotropica**, Maracay, Venezuela, v. 16, n. 3, p. 173-179, 2001.

PRASAD, C. S. Host range and seasonal incidence of *Helicoverpa armigera* Hub. in the lower Kumaon Hills of Uttar Pradesh. **Insect Environment**, Bangalore, Índia, v. 3, n. 2, p. 33-34, 1997.

QUEIROZ, P. R., MARTINS, E. S., MONNERATT, R. G., LIMA, L. H. C. **Análise da variabilidade de uma população de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (Lepidóptera: Noctuidae) por meio de marcadores moleculares RAPD.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. 18p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 75).

RAJPAL SINGH; LAKHANPAL, S. C.; KARKARA, B. K. Pests of strawberry in Paonta Valley, Himachal Pradesh.

Insect Environment, Bangalore, Índia, v. 10, n. 2, p. 81-82, 2004.

RAO, E. S.; RAO, S. R. K. Muskmelon (*Cucumis melo*), a new host of *Helicoverpa armigera* (Hubner). **Indian Journal of Entomology**, New Delhi, Índia, v. 61, n. 2, p. 198-199, 1999.

RAVI, K. C.; PUTTASWAMY; VIRAKTAMATH, C. A.; MALLIK, B. Seasonal incidence of insect pests of gherkins *Cucumis anguria* L. In: ADVANCES IN IPM FOR HORTICULTURAL CROPS. NATIONAL SYMPOSIUM ON PEST MANAGEMENT IN HORTICULTURAL, 1., Bangalore, India, 1997. **Proceedings...** Bangalore: [s.n], 1998. p. 132-134.

REDDY, M. R. S.; REDDY, G. S. An eco-friendly method to combat *Helicoverpa armigera* (Hub.) on sweet orange (*Citrus sinensis* L.). **Insect Environment**, New Delhi, Índia, v. 4, n. 4, p. 143-144, 1999.

ROJAS, J. C.; VIRGEN, A.; MALO, E. A. Seasonal and nocturnal flight activity of *Spodoptera frugiperda* males (Lepidoptera: Noctuidae) monitored by pheromone traps in the coast of

Chiapas, Mexico. **Florida Entomologist**, Lutz, USA, v. 87, n. 4, p. 496-503, 2004.

ROMAN, T.; TUDOSE, M.; NEGRU, G. Systematic and bio-ecological research on armyworms *Helicoverpa* spp. (ord. Lepidoptera, fam. Noctuidae) attacking vegetable crops. **Anale Institutul de Cercetari pentru Legumicultura si Floricultura**, Vidra, n. 14, p. 287-294, 1996.

SAGDULLAEV, A. U.; BOLTAEV, B. S.; YUSUPOV, N. Marshal as a means to control cotton bollworm. **Zashchita i Karantin Rastenii**, Moscow, n. 11, p. 32, 2003.

SANNINO, L. Insect pests of tobacco. **Informatore Fitopatológico**, Bologna, Italy, v. 55, n. 2, p. 7-10, 2005.

SANNINO, L.; ESPINOSA, B.; CAPONERO, A.; MANUCCI, F. Unusual Lepidoptera infestations of crops in the year 2003. **Informatore Fitopatologico**, Bologna, Italy, v. 54, n. 12, p. 35-38, 2004.

SATPATHI, C. R. Insect pests of linseed in West Bengal. **Insect**

Environment, New Delhi, Índia, v. 9, n. 1, p. 31-32, 2003.

SATPUTE, U. S.; DESHMUKH, S. D.; UKEY, S. P.; SADAWARTE, A. K.; AHERKAR, S. K. New host plants of *Helicoverpa armigera* (Hubner) found around Akola, Maharashtra. **Insect Environment**, New Delhi, Índia, v. 8, n. 3, p. 109-110, 2002.

SAUCKE, H.; DORI, F.; SCHMUTTERER, H. Biological and integrated control of *Plutella xylostella* (Lep., Yponomeutidae) and *Crociodolomia pavonana* (Lep., Pyralidae) in brassica crops in Papua New Guinea. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, Inglaterra, v. 10, n. 5, p. 595-606, 2000.

SCHMIDT, F. G. V., MONNERAT, R., BORGES, M., CARVALHO, R. **Criação de insetos para avaliação de agentes entomopatogênicos e semioquímicos**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Circular Técnica, 11).

SCHNEIDER, S., ROESSLI, D.; EXCOFFIER, L. **Arlequin ver. 2000**: A software for populations genetics data

analysis. Switzerland: Genetics and biometry laboratory, University of Geneva, 2000.

SHANOWER, T. G.; ROMEIS, J.; MINJA, E. M. Insect pests of pigeonpea and their management. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, USA, n. 44, p. 77-96, 1999.

SHARMA, H. C.; PAMPAPATHY, G.; DHILLON, M. K.; RIDSDILL SMITH, J. T. Detached leaf assay to screen for host plant resistance to *Helicoverpa armigera*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, USA, v. 98, n. 2, p. 568-576, 2005.

SHI QINGNING; LIU WENXU; SHAO ZEYUN; JIA HAIMIN. Population distribution of *Heliiothis armigera* on different host crops. **Acta Agriculturae Boreali Sinica**, n. 10, p. 125-129, 1995.

SILVA, P. S. L. e; DINIZ FILHO, E. T.; GRANJEIRO, L. C.; DUARTE, S. R. Effects of nitrogen rates and deltamethrin application on yields of green ears and grain yield of maize. **Revista Ceres**, Vicosa, MG, v. 47, n. 269, p. 75-87, 2000.

SILVAIN, J. F.; REMILLET, M. Ecology and biology of *Noctuidonema guyanense* (Nematoda, Aphelenchoididae), an ectoparasite of *Spodoptera frugiperda* (Lep., Noctuidae), in French Guiana. **Entomophaga**, Paris, v. 38, n. 4, p. 465-474, 1993.

SINGH, S. P.; BALLAL, C. R.; POORANI, J. Old World bollworm *Helicoverpa armigera*, associated Heliothinae and their natural enemies. **Technical Bulletin Project Directorate of Biological Control-ICAR**, Bangalore, India, n. 31, 2002.

SRIVASTAVA, A. K.; ABHISHEK SHUKLA; NAIN, R. P. Survey to record host plants of *Helicoverpa armigera* (Hubner) at Udaipur. **Insect Environment**, Bangalore, Índia, v. 8, n. 4, p. 163-164, 2002.

TALEKAR, N. S.; HAU, T. B. H.; CHANG, W. C. *Solanum viarum*, a trap crop for *Helicoverpa armigera*. **Insect Environment**, Bangalore, Índia, v. 5, n. 3, p. 142, 1999.

TITMARSH, I. J.; STOREY, R. I.; STRICKLAND, G. R. The species composition of *Helicoverpa* Hardwick

(*Heliothis* Ochsenheimer) (Lepidoptera: Noctuidae) infestations on tobacco in far north Queensland. **Journal of the Australian Entomological Society**, v. 29, n. 2, p. 81-86, 1990.

TASAI, S. J.; LO, C. F.; SOICHI, Y.; WANG, C. H. The characterization of microsporidian isolates (Nosematidae: Nosema) from five important lepidopteran pests in Taiwan. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 83, p. 51-59, 2003.

TUMWINE, J.; FRINKING, H. D.; JEGER, M. J. Tomato late blight (*Phytophthora infestans*) in Uganda. **International Journal of Pest Management**, Abingdon, UK, v. 48, n. 1, p. 59-64, 2002.

VANEGAS, J. A. Abstracts of theses in the field of entomology at the Institute of Agricultural Science, Nicaragua. **Revista Nicaragüense de Entomologia**, Leon, Nicaragua, n. 13, p. 1-12, 1990.

VARGAS, H.; BOBADILLA, D. The experimental use of tralomethrin against some Lepidopterous larvae attacking vegetable crops in northern

Chile. **IDESIA**, Arica, Chile, v. 21, n. 2, p. 115-124, 2003.

VIANA, P. A.; PRATES, H. P. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. **Bragantia**, Campinas, Brasil, v.62, no.1, p.69-74. 2003.

VIGNES, W. G. des. Monitoring and control of fall armyworm, (*Spodoptera frugiperda*) (J.E. Smith), on corn in Trinidad. **Journal of the Agricultural Society of Trinidad and Tobago**, n. 88, p. 41-46, 1991.

VOS, R. de. Migratory Lepidoptera in 1999 (sixtieth report). **Entomologische Berichten**, Amsterdam, Netherlands, v. 60, n. 12, p. 217-230, 2000.

WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphism amplified by

arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.18, n.22, p.6531-6535, 1990.

WILSON, C. G. Phytophagous insect fauna of two weeds, *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. and *Jatropha gossypifolia* L., in Australia's Northern Territory. **Australian Entomologist**, Indooroopilly, Austrália, v. 24, n. 2, p. 55-60, 1997.

WORLD TRADE ORGANIZATION (WTO). Agreement on the application of sanitary and phytosanitary measures. In: WORLD TRADE ORGANIZATION. **Agreement establishing the World Trade Organization**: Annex 1A: Multilateral agreements on trade in goods. Geneva, 1994.

ZHOU XIAOFENG; APPLEBAUM, S. W.; MOSHE COLL. Overwintering and spring migration in the bollworm *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Israel. **Environmental Entomology**, Lanham, USA, v. 29, n. 6, p. 1289-1294, 2000.

Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Rémy Dabire,
entomologista do INERA/ Farakoba

em Bobo-Dioulasso, Burkina Faso,
pelo envio das amostras de
Helicoverpa armigera.

Comunicado Técnico, 143	Exemplares desta edição podem ser adquiridos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Serviço de Atendimento ao Cidadão Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) – Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624 http://www.cenargen.embrapa.br e.mail:sac@cenargen.embrapa.br	Comitê de Publicações	Presidente: XXXXXX Secretário-Executivo: <i>Maria da Graça Simões Pires Negrão</i> Membros: Arthur da Silva Mariente Maria Alice Bianchi Maria da Graça S. P. Negrão Maria de Fátima Batista Maria Isabel de O. Penteado Maurício Machain Franco Regina Maria Dechechi Carneiro Sueli Correa Marques de Mello Vera Tavares de Campos Carneiro Supervisor editorial: <i>Maria da Graça S. P. Negrão</i> Normalização Bibliográfica: <i>Maria Iara Pereira Machado</i> Editoração eletrônica: <i>Maria da Graça Simões Pires Negrão</i>
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento	1ª edição 1ª impressão (2004): 150 unidades	Expediente	