

JEFFERSON DE BRITO MARTHE

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Zabrotes subfasciatus* E DE SUA BACTÉRIA  
*Wolbachia* sp.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

M377d  
2018 Marthe, Jefferson de Brito, 1981-  
Diversidade genética de *Zabrotes subfasciatus* e de sua  
bactéria *Wolbachia* sp. / Jefferson de Brito Marthe. – Viçosa,  
MG, 2018.  
viii, 142f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Luiz Orlando de Oliveira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 98-109.

1. *Wolbachia*. 2. *Zabrotes subfasciatus*. 3. Caruncho -  
Filogenia. 4. Caruncho - Distribuição geográfica. 5. Caruncho -  
Genética. 6. Feijão - Armazenamento - Doenças e danos.  
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia  
Geral. Programa de Pós-Graduação em Genética e  
Melhoramento. II. Título.


CDD 22. ed. 632.7648

JEFFERSON DE BRITO MARTHE

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Zabrotes subfasciatus* E DE SUA BACTÉRIA  
*Wolbachia* sp.**


Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

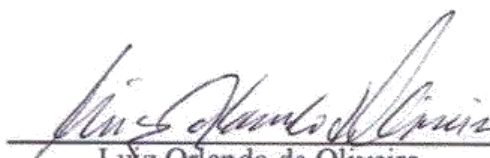
APROVADA: 26 de junho de 2018.

  
\_\_\_\_\_  
Alberto Soares Corrêa

  
\_\_\_\_\_  
Érica Mangaravite

  
\_\_\_\_\_  
Marisa Vieira de Queiroz

  
\_\_\_\_\_  
Leandro Luiz Borges

  
\_\_\_\_\_  
Luiz Orlando de Oliveira  
(Orientador)

“Assim como no fogo é forjado o aço, no calor dos campos de batalha são formados os melhores soldados”

**Hugo Alexandre C. Guimarães**

“Posso não concordar com nenhuma das palavras que você disser, mas defenderei até a morte o direito de você dizê-las.”

**Voltaire**

“Um gênio é 1% de inspiração e 99% de transpiração”

**Thomas Edison**

Aos meu pais Carlos Alberto e Eloiza Helena  
E a minha irmã Deyse

Dedico!

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Carlos Alberto e Eloiza Helena por toda a dedicação e amor na minha formação pessoal e profissional.

A minha irmã Deyse pelo amor incondicional e meu cunhado Adilson pela amizade calorosa.

Aos meus tios(as) Márcia Regina, João Carlos, Paulo César, Edmundo Rogério, Fernando, Maria (In memoriam), Milta, Ilda, Nilson, Ronilton, Edivaldo, Mara e Israel (In memoriam).

A minha avó Maria e avô Sebastião (In memoriam).

A minha avó Maria (In memoriam) e Antônio Dantas (In memoriam).

Aos demais membros da família Brito, Coelho e Marthe das quais tenho parentesco.

Ao Saulo, grande parceiro de todas as horas e sua esposa Josilene Maria.

Ao Samuel pelos bons momentos de prosa e cerveja tomadas durante nossa estada em Viçosa, sua esposa Priscila e sua sogra Valéria.

Aos padrinhos Ilda, Luiz Carlos e família.

Ao professor Luiz Orlando pela orientação.

Ao professor Raul Narciso Carvalho Guedes pela co-orientação.

A Maria Isabel Gomez Jimenez do instituto CIAT na Colômbia, a todos os produtores brasileiros, cooperativas agrícolas do Brasil e alunos que contribuíram para o esforço amostral.

A todos os professores das disciplinas oferecidas na UFV das quais eu cursei durante meu doutorado e que contribuíram para solidificar ainda mais o meu conhecimento sobre genética e evolução.

Aos meus companheiros do laboratório de Filogeografia Thiago Ferreira, Thiago Pereira, Érica, Leandro, Hugo, Juan, Alexander, Thamyres e Riziane.

A importante contribuição da Juliana Vieira e Silvério Campos da Entomologia na realização deste trabalho. Obrigado meus caros!

A Universidade Federal de Viçosa e o Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento pela possibilidade de cursar o doutorado.

Ao CNPq e a CAPES pela bolsa concedida.

A FAPEMIG pelo financiamento que tornou esse trabalho possível.

## **BIOGRAGIA**

Jefferson de Brito Marthe, filho de Carlos Alberto Coelho Marthe e Eloiza Helena de Brito Marthe, nasceu em 02 de agosto de 1981 em Ipatinga-MG. Concluiu o Ensino Fundamental em 1997 e o Ensino Médio em 2000, no Colégio São Francisco Xavier em Ipatinga-MG.

De 2001 à 2006 graduou-se em Ciências Biológicas na modalidade Bacharelado, com ênfase em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Federal de Viçosa (Campus de Viçosa-MG). De 2006 à 2008 esteve ingresso no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento pela Universidade Federal de Viçosa (Campus de Viçosa-MG), obtendo o título de Magister Scientiae. De 2010 à 2011 graduou-se em Ciências Biológicas na modalidade Licenciatura pelo Centro Universitário do Leste de Minas Gerais (Campus de Ipatinga-MG).

Durante o ano de 2013, trabalhou como professor efetivo na Escola Estadual Dom Helvécio, na cidade de Ipatinga-MG. Do período de 2014 à 2018 esteve ingresso no curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento pela Universidade Federal de Viçosa (Campus de Viçosa-MG). Em 26 de junho de 2018, submeteu-se aos exames finais para aprovação da tese, obtendo o título de Doctor Scientiae em Genética e Melhoramento.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>.vii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>.viii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1. Biologia de <i>Zabrotes subfasciatus</i> , sua importância e estratégias de controle.....	1
1.2. <i>Wolbachia</i> sp.: sua biologia, forma de identificação e importância.....	4
1.3. Objetivos.....	6
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>7</b>
2.1. Obtenção das amostras .....	7
2.2. Extração de DNA.....	9
2.3. Detecção de <i>Wolbachia</i> sp. e amplificação de <i>gatB</i> , <i>coxA</i> , <i>hcpA</i> , <i>ftsZ</i> , <i>fbpA</i> e <i>wsp</i> . ...	10
2.4. Amplificação de COI e ITS2 de <i>Zabrotes subfasciatus</i> . .....	11
2.5. Isolamento de todos os fragmentos, purificação, e sequenciamento .....	11
2.6. Alinhamento dos seis genes de <i>Wolbachia</i> sp. e seleção de cepas.....	12
2.7. Alinhamento dos produtos de PCR de COI e ITS2 de <i>Z. subfasciatus</i> .....	13
2.8. Análise Filogenética Bayesiana.....	16
2.9. Análise de Rede de haplótipos .....	16
2.10. Índices de diversidade molecular, teste de neutralidade e de expansão .....	17
<b>3. RESULTADOS</b> .....	<b>18</b>
3.1. Filogenia de <i>Wolbachia</i> sp. .....	18
3.1.1. Presença de <i>Wolbachia</i> sp. em <i>Z. subfasciatus</i> e sequenciamento.....	18
3.1.2. Comparação entre sequências de <i>Wolbachia</i> spp. e perfil MLST.....	18
3.1.3. Análise Bayesiana particionada das cepas de <i>Wolbachia</i> .....	40
3.1.4. Análises Bayesianas para cada gene.....	43
3.1.4.1. Gene <i>gatB</i> .....	43
3.1.4.2. Gene <i>coxA</i> .....	45
3.1.4.3. Gene <i>hcpA</i> .....	47
3.1.4.4. Gene <i>ftsZ</i> .....	50
3.1.4.5. Gene <i>fbpA</i> .....	52
3.1.4.6. Gene <i>wsp</i> .....	54
3.1.5. Análise das sequências de aminoácido e do perfil WSP .....	56
3.1.6. Genótipo MLST e WSP de cepas presentes em grãos armazenados.....	62

3.1.7. Genótipo MLST e WSP de cepas presentes na Ordem Coleoptera.....	65
3.1.8. Últimas observações nas cepas de Wolbachia analisadas .....	68
3.2. Estudo Filogeográfico em <i>Zabrotes subfasciatus</i> .....	71
3.2.1. Gene mitocondrial COI .....	71
3.2.1.1. Alinhamento .....	71
3.2.1.2. Análise Filogenética Bayesiana de COI .....	74
3.2.1.3. Análise da Rede de Haplótipos de COI.....	76
3.2.1.4. Distribuição geográfica dos haplótipos de COI.....	78
3.2.1.5. Análise de neutralidade e expansão demográfica para COI.....	80
3.2.2. Região ITS2.....	81
3.2.2.1. Alinhamento .....	81
3.2.2.2. Análise Filogenética Bayesiana de ITS2 .....	81
3.2.2.3. Análise da Rede de Haplótipos de ITS2.....	83
3.2.2.4. Distribuição geográfica dos haplótipos de ITS2 .....	85
3.2.2.5. Análise de neutralidade e expansão demográfica para ITS2 .....	87
<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>88</b>
4.1. Dispersão da cepa Zsub de Wolbachia por meio de <i>Z. subfasciatus</i> .....	88
4.2. Relação filogenética das cepas de Wolbachia sp.....	89
4.3. Filogeografia continental de <i>Z. subfasciatus</i> .....	95
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>97</b>
<b>6. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>98</b>
<b>7. MATERIAL SUPLEMENTAR.....</b>	<b>110</b>
<b>8. ANEXO.....</b>	<b>141</b>

## RESUMO

MARTHE, Jefferson de Brito, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2018. **Diversidade Genética de *Zabrotes subfasciatus* e de sua bactéria endossimbionte *Wolbachia* sp.** Orientador: Luiz Orlando de Oliveira. Coorientador: Raul Narciso Carvalho Guedes.

O feijão é um grão oriundo de espécies leguminosas como *Phaseolus vulgaris* ou mesmo dos gêneros *Vigna* e *Vicia*, tendo uma importância em nossa nutrição. Danos causados por *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) reduzem a qualidade do grão. Por isso, é necessário estudar a genética populacional desta praga, assim como a presença de sua bactéria endocelular *Wolbachia* sp. e sua relação filogenética com outras cepas. Para isso, analisamos amostras coletadas de *Z. subfasciatus* em onze locais do Brasil, além de Peru e Colômbia. Detectamos a presença da bactéria em populações de *Z. subfasciatus* por meio de um marcador molecular específico e a análise filogenética foi feita por meio de sequências de seis genes de *Wolbachia* sp. Também realizamos estudos filogeográficos nas populações de *Z. subfasciatus* por meio de DNA mitocondrial e nuclear. Os resultados mostraram a presença da bactéria em todas as populações e indicam o predomínio de uma única cepa chamada Zsub. As análises filogenéticas indicam que a cepa presente em *Lissorhoptrus oryzophilus* (Coleoptera: Curculionidae) é a mais próxima de Zsub. Detectamos também alelos compartilhados da cepa Zsub com cepas presentes em outros Coleópteros e pragas de grãos armazenados. Constatamos a transmissão horizontal e recombinação intra e inter-gene entre cepas. Os resultados de filogeografia mostram o predomínio de uma única linhagem mitocondrial no Brasil, efeito gargalo e compartilhamento de haplótipos entre regiões e países. Portanto, é importante que as autoridades tomem providências para prevenir a chegada de novos alelos de resistência nas populações e que dificultaria o controle dessa praga.

## ABSTRACT

MARTHE, Jefferson de Brito, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2018. **Diversity Genetics in *Zabrotes subfasciatus* and about her endosymbiont bacteria *Wolbachia* sp.** Adviser: Luiz Orlando de Oliveira. Co-adviser: Raul Narciso Carvalho Guedes.

Beans are grains from leguminous species like *Phaseolus vulgaris* or even from *Vigna* and *Vicia* genrer and it have an importance in our nutrition. Damage caused by *Zabrotes subfasciatus* (Coleptera: Chrysomelidae) reduce the grain quality. Therefore, it is necessary study the populational genetics of this pest, as the presence of its endocellular bacteria *Wolbachia* sp. and its phylogenetic relation with others *Wolbachia* sp. strains. For this reason, we analyse *Z. subfasciatus* samples from eleven Brazilian places, beside places in Peru and Colombia. We detected the bacteria presence in *Z. subfasciatus* populations by means of a *Wolbachia* specific molecular mark and the phylogenetic analyses were done by means of sequences from six *Wolbachia* genes. We also did phylogeographic studies in *Z. subfasciatus* by means of mitochondrial and nuclear DNA. The results showed the *Wolbachia* sp. presence in all populations and indicated the predominance of a unique strain called Zsub. The phylogenetic analyses indicate that the strain hosted in *Lissorhoptrus oryzophilus* (Coleoptera: Curculionidae) is the nearest to Zsub. We also detected alleles shared between Zsub and strains hosted in coleopterans and stored grain pests. We verified the horizontal transmission besides inter- and intragenic recombinations between strains. The phylogeographic results showed the predominance of a unique mitochondrial lineage and bottleneck effect in Brazilian populations and haplotype shared between regions and Countries. Therefore, it is important that the authorities will take measures to prevent the arrive of new resistance alleles in the populations, which it could difficult the control of this pest.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Biologia de *Zabrotes subfasciatus*, sua importância e estratégias de controle.

O feijão, *Phaseolus vulgaris* Linnaeus, 1753 (Fabaceae), é uma leguminosa de grande importância como fonte de proteína vegetal que, combinando com o arroz, constitui a dieta básica do brasileiro (LAZARRI, 2005). De acordo com Bitocchi et al. (2012), análises de estrutura populacional e de filogeografia mostraram que origem geográfica de *P. vulgaris* seria provavelmente mesoamericana, sendo mais especificamente originária do México.

O Brasil se destaca como um dos principais produtores de feijão a nível mundial (13%), que junto com Mianmar (18%), Índia (16%), EUA (5%), México (5%), Tanzânia (5%), e China (4%) correspondem a aproximadamente 66% da produção mundial (SEAB, 2017). Entretanto, danos causados pelos insetos ao grão de feijão reduzem a qualidade do grão, afetando sua aparência, palatabilidade e aceitabilidade pelo consumidor. Os grãos carunchados podem tornar-se impróprios para o consumo devido ao mau aspecto, mau cheiro e alteração do sabor. Em sementes, a germinação e o seu vigor podem ser reduzidos significativamente, devido ao ataque de insetos. As espécies *Zabrotes subfasciatus* (BOHEMAN, 1833) e *Acanthoscelides obtectus* (SAY, 1831) (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae), conhecidas como carunchos-do-feijão, são as principais pragas do feijão armazenado, causando grandes perdas qualitativas e quantitativas nos grãos, especialmente nas regiões mais quentes do mundo. A espécie *A. obtectus* é, na América Latina, a principal praga do grão de feijão armazenado nas regiões temperadas, com altitude em torno de 1500 m; já *Z. subfasciatus* normalmente predomina nas regiões tropicais em altitudes inferiores a 1500 m (LAZARRI, 2005), sendo nativa de determinadas áreas da América Central e do Sul (CREDLAND e DENDY, 1992).

De acordo com Romero e Johnson (2000) o gênero de *Zabrotes* é composto por 35 espécies, todas nativas do Novo Mundo, das quais pelo menos 18 já foram detectadas dentro do território mexicano: *Z. achiote*, *Z. californiensis*, *Z. flemingia*, *Z. guerrerensis*, *Z. ixtapan*, *Z. moctezuma*, *Z. sinaloensis*, *Z. amplissimus* Kingsolver, *Z. bexarensis* Kingsolver, *Z. chavesi* Kingsolver, *Z. densus* Horn, *Z. interstitialis* (Chevrolat), *Z. obliteratus* Horn, *Z. planifrons* Horn, *Z. spectabilis* Horn, *Z. subfasciatus* (Boheman), *Z. sylvestris* Romero E Johnson e *Z. victoriensis* Kingsolver. Destas 35 espécies pelo menos 12 possuem espécies vegetais como hospedeiras. Entre as principais espécies hospedeiras, estão aquelas existentes

na família Fabaceae, além de uma chance de ocorrer também nas espécies de Bixaceae. Dentre essas 12, pode-se destacar *Z. subfasciatus*, *Z. sylvestris*, *Z. obliteratus*, *Z. spectabilis*, *Z. planifrons*, *Z. amplissimus* (ROMERO e JOHNSON, 2000; KERGOAT et al., 2015). De todas elas, entretanto, a que teve o maior sucesso de dispersão cosmopolita até agora foi *Z. subfasciatus* (ROMERO e JOHNSON, 2000).

Embora *Z. subfasciatus* prefira feijões do gênero *Phaseolus*, a espécie também coloniza outras espécies da família Fabaceae de importância econômica, como os feijões do gênero *Vigna* (*V. subterranea*, *V. radiata* e *V. unguiculata*) e *Vicia faba* (HILL, 1990; PACHECO e CESAR DE PAULA, 1995; SALES et al., 2005). Como já mencionado acima, *Z. subfasciatus* tem agora uma distribuição cosmopolita, principalmente devido ao comércio de sementes de cultivares que ela ataca (AEBI et al., 2004), tendo se espalhado por outras áreas do globo como América do Norte, Europa, Ásia e África (WIGHTMAN e SOUTHGATE, 1982). Dessa forma, tem sido introduzida em muitos países europeus por meio de feijões infestados, em que tem ocasionalmente ampliado seu registro de hospedeiros, tornando-se também uma praga séria de outros legumes (SARI et al., 2003). Possui também uma ampla distribuição em regiões da África, Índia e região mediterrânea (MAGALHÃES e CARVALHO, 1988; HILL, 1990; GONZÁLEZ-RODRÍGUES et al., 2002; AEBI et al., 2004).

O besouro adulto mede de 1,8 a 2,5 mm de comprimento, apresenta cor castanho escura e os élitros, quando em repouso, deixam à mostra o pigídeo, último segmento abdominal. Os adultos apresentam dimorfismo sexual. As fêmeas são maiores que os machos e apresentam quatro manchas de cor creme nos élitros, contrastando com a cor escura brilhante do corpo. Os machos são inteiramente pardos e menores e uma fêmea coloca, em média, 22 ovos durante seus 11 dias de fase adulta (GALLO et al., 1988; YOKOYAMA, 1998). A fêmea oviposita diretamente nas sementes após a deiscência das vagens ou pode infestar as sementes ainda dentro delas, utilizando-se de perfurações realizadas por outros insetos (SARI et al., 2003). Ao contrário da maioria dos bruquídeos, as fêmeas necessitam do contato com a semente para estimular a ovogênese (SARI et al., 2003). Antes da oviposição, a fêmea expele um líquido claro e pegajoso. O ovo é colocado nesse meio, para aderi-lo ao tegumento do grão e servir de apoio para a penetração da larva no seu interior (PIMBERT e PIERRE, 1983; GALLO et al., 1988; ABATE e AMPOFO, 1996). Após a eclosão, a larva perfura o tegumento da semente e completa o seu desenvolvimento consumindo apenas o

conteúdo de uma semente. Em armazenamento, os adultos sem se alimentarem podem produzir muitas gerações de *Z. subfasciatus* (SARI et al., 2003).

Têm sido desenvolvidos alguns métodos para controlar essa praga: seja desenvolvendo novos inseticidas (CARVALHO et al., 2014a; DIAZ et al., 2016; GIRÃO FILHO et al., 2014; SAMPAIO et al., 2017) ou novas variedades de feijão geneticamente resistentes (MAZZONETTO et al., 2002; GRAZZIOTIN 2016; AMBROZIO et al., 2017).

A eficiência de estratégia de manejo de pragas frequentemente requer também um entendimento da variação genética entre e dentro de populações e como esta variação é distribuída geograficamente (KUMAR et al., 2001). Muitas das espécies de bruquídeos, por exemplo, têm a atual distribuição mundial resultante do estoque de sementes que passaram por longas distâncias de migração através de trocas humanas ao nível intra e intercontinental. (ALVAREZ et al., 2005). Levando em conta isso, vários trabalhos de genética populacional foram realizados nesse sentido: Kim e Sappington (2004), por exemplo, realizaram estudos da dispersão geográfica do gorgulho do algodão no sudoeste dos Estados Unidos; Sezonlin et al. (2006) realizaram o estudo filogeográfico de *Busseola fusca*, que é uma praga importante do milho. Em relação à *Acanthoscelides obtectus*, Oliveira et al. (2013) ao realizar análises de filogeografia, baseando-se em três genes mitocondriais, verificaram que os dois maiores centros de diversidade genética do feijão comum *P. vulgaris* (o Andes e a Mesoamérica) contém uma diversidade ampla de *A. obtectus*. Já o Brasil apresentou apenas duas linhagens, cuja diversidade é baixa e provavelmente é de origem mesoamericana. Oliveira et al. (2013) ainda sugeriram a hipótese de que as linhagens mitocondriais do Brasil possam ter contribuído para a dispersão dessa praga a nível mundial. Corrêa et al. (2017) estudaram *Sitophilus zeamais* (praga de grãos de milho) e *Sitophilus oryzae* (praga do grão de arroz) que morfológicamente são quase indistinguíveis entre si. Fazendo análises de relógio molecular nos genes mitocondriais COI (citocromo oxidase subunidade I) e COII (citocromo oxidase subunidade II) chegaram à conclusão que se trata de duas espécies distintas que sofreram processo de vicariância há aproximadamente 8,7 milhões de anos. Corrêa et al. (2017) também constataram que as populações de *S. zeamais* não têm uma estrutura genética espacial bem definida, seja em escala regional, continental ou intercontinental.

## **1.2. *Wolbachia* sp.: sua biologia, forma de identificação e importância.**

*Wolbachia* é um gênero constituído por alfa-proteobactérias intracelulares encontradas comumente em artrópodes e nematoides. Estas bactérias podem ser transmitidas verticalmente, através dos ovos do hospedeiro e podem alterar a biologia do mesmo, por indução de mudança de sexo (normalmente para o feminino), partenogênese, mortalidade do indivíduo masculino e incompatibilidade citoplasmática entre ovo e esperma. A incompatibilidade citoplasmática é o fenótipo mais comum e ocorre, quando os machos infectados com *Wolbachia* resultando em um número baixo de descendentes viáveis. Entretanto, o cruzamento entre machos e fêmeas infectadas com a mesma cepa de *Wolbachia* resulta em uma progênie viável. Apesar de substancial esforço científico, o mecanismo molecular a respeito desta incompatibilidade é atualmente desconhecido (ZHENG et al., 2011; CARVALHO et al. 2014b). *Wolbachia* pode ter também um efeito positivo no aumento da fertilidade do hospedeiro, como ocorre por exemplo no gorgulho do milho *S. zeamais* (CARVALHO et al. 2014b). Elas podem se mover também horizontalmente de uma espécie hospedeira para outra, seja através da predação ou parasitismo de uma espécie contaminada por *Wolbachia*, ou contato com secreções do indivíduo parasitado, contendo a bactéria, resultando em uma ampla distribuição global entre invertebrados (WERREN et al., 2008). O primeiro achado para *Wolbachia* ocorreu no mosquito *Culex pipiens* (HERTIG e WOLBACH, 1924). Baseando-se em sequências do gene ribossomal 16S, *Wolbachia* spp. foi dividida em oito grupos chamados supergrupos (A-H). Os supergrupos C e D são mais comuns em cepas presentes em nematoides, ao passo que o grupo A e B são mais comuns em cepas presentes em artrópodes (CASIRAGHI et al., 2005).

A ambiguidade, no que diz respeito a nomenclatura de *Wolbachia* foi o maior impedimento para organizar e entender a diversidade de cepas, possuindo um vasto número de hospedeiros e várias linhagens podem ser achadas em uma única espécie hospedeira. Em acréscimo a descoberta de várias cepas de *Wolbachia* recombinantes mudou os métodos tradicionais filogenéticos para caracterização de cepas. (WERREN et al., 2008). A maneira mais adequada para classificar as cepas de *Wolbachia* foi desenvolvido por Baldo et al. (2006a) o que se chama de sistema MLST (Tipagem de Sequência Multi-Locus), tendo como base a análise de sequência de cinco genes basais de *Wolbachia* (*gatB*, *coxA*, *hcpA*, *fbpA*, e *ftsZ*). Segundo Baldo et al. (2006a), estes genes são amplamente distribuídos ao longo do seu cromossomo genômico, constituindo assim o conjunto principal de marcadores para a

genotipagem das cepas. Cada linhagem é caracterizada pelo perfil alélico, expresso em números para cada um dos cinco alelos no que diz respeito aos loci de MLST, que é definido pela tipagem de sequência (ST). ST por sua vez funciona como um número de identidade para cada perfil MLST. Por meio dessa classificação, percebeu-se que *Wolbachia* possui uma diversidade genética notável, ou seja, as cepas de *Wolbachia* tendem a sofrer extensiva recombinação, o que afeta várias regiões do genoma, incluindo suas proteínas de superfície, como *wsp* a nível intragênico e os genes basais a nível intergênico (WERREN et al., 2008). Segundo Baldo et al. (2006b), *wsp* é um gene que sofre recombinação, a nível intragênico, sendo dividido, portanto, em 4 regiões hipervariáveis (HVRs), sendo também usado como marca (expressos na forma numérica ou a nível de aminoácido) para a diversidade genética e tipagem das cepas. Assim como MLST, um banco de dados para as 4 HVRs foi implementado para facilitar a tipagem das cepas de *Wolbachia* (WERREN et al., 2008).

Como fim prático, o estudo de *Wolbachia* tem sido muito útil para o controle de pragas e vetores de doenças, especialmente devido ao fato de seu poderoso mecanismo de interferir em populações naturais pela geração de incompatibilidade citoplasmática (TURELLI e HOFFMANN 1995). Hoffmann et al. (2011) introduziram em indivíduos fêmeas de *Aedes aegypti* (vetor da Dengue), uma cepa de *Wolbachia* extraída originalmente de *Drosophila melanogaster*. Estes indivíduos de *A. aegypti* infectados invadiram duas populações naturais da Austrália, ocorrendo a quase fixação de indivíduos portadores. Modelos com valores paramétricos significativos demonstraram que os indivíduos contaminados tiveram um pequeno custo no “fitness” ou valor adaptativo.

*Wolbachia* também já foi detectada em várias espécies de insetos-praga de grãos armazenados como por exemplo nas espécies *Lasioderma serricorne*, *Stegobium paniceum*, *S. oryzae*, *Sitophilus zeamais*, *Attagenus unicolor*, *Dermestes lardarius*, *Oryzaephilus mercator*, *Oryzaephilus surinamensis* e *Tribolium confusum* pertencente a ordem coleóptera (a mesma que *Z. subfasciatus* pertence) (LI et al., 2015).

### 1.3. Objetivos:

No presente trabalho foi realizado um estudo para a detecção de *Wolbachia* em indivíduos de populações de *Z. subfasciatus*, por meio do marcador molecular do gene *wsp* e a relação filogenética destas com as demais cepas já descritas previamente na literatura científica, usando dados de sequências de seus seis genes (*gatB*, *coxA*, *hcpA*, *fbpA*, *ftsZ* e *wsp*). Além disso, foi realizado um estudo filogeográfico baseado em dados de sequenciamento do gene *COI* e da região *ITS2* da região ribossomal entre os genes nucleares 5,8S e 28S de amostras de *Z. subfasciatus* oriundos de populações do Brasil e de outros países (México, Peru e Colômbia). Tudo isso visa responder os seguintes questionamentos:

- a) *Wolbachia* sp. está presente ou não em populações de *Z. subfasciatus* e quantas cepas distintas podem existir?
- b) *Wolbachia* sp. presente em *Z. subfasciatus* está mais próxima de qual grupo filogenético?
- c) Há evidência de transferência horizontal entre as espécies hospedeiras?
- d) A cepa de *Wolbachia* presente em *Z. subfasciatus* compartilha alelos com cepas presentes em outras espécies pragas de grãos armazenados e da Ordem coleoptera?
- e) Há algum indício de recombinação genética entre os genes?
- f) Como está distribuído o perfil haplotípico nas populações do Brasil e se há algum indício de mudanças no tamanho populacional ao longo do tempo evolutivo?
- g) Se há ou não indício de dispersão entre as populações do Brasil e de outros países (México, Peru e Colômbia)?

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Obtenção das amostras**

Para a realização do presente trabalho amostramos indivíduos de *Zabrotes subfasciatus* de onze localidades do Brasil: Ipatinga-MG, Unaí-MG, Jaboticabal-SP, Maceió-AL, Teresina-PI, Bom Jesus-PI, Santo Antônio de Goiás-GO, Brasília-DF, Rio Branco-AC, Garanhuns-PE, Euclides da Cunha-BA. Também foram obtidas amostras do Peru (Huaraz) e da Colômbia (Calima El Darién), conforme mostrado na figura 1 e na Tabela 1 e 2. Os insetos coletados foram mantidos em etanol 95% e estocados em freezer à -20 °C.



**Figura 1.** Localização geográfica das populações de *Z. subfasciatus* coletadas no subcontinente sul-americano.

## 2.2. Extração de DNA

O DNA genômico total foi extraído de cada inseto individualmente usando o protocolo adotado por Clark et al. (2001) com algumas modificações. Cada inseto foi macerado individualmente em nitrogênio líquido e posteriormente foram acrescentados 500 µL de tampão CTAB [(100 mM Tris-HCl, pH 8,0; 1,4 mM NaCl; 0,02 M EDTA, pH 8,0; CTAB (2% m/v) e β- mercaptoetanol (0,2% v/v)]. Posteriormente, as amostras foram agitadas em vórtex e levadas ao banho-maria a 65 °C por 30 minutos. Após as amostras esfriarem à temperatura ambiente foram adicionados 16 µL de proteinase K (25 mg/mL) em cada amostra, homogeneizadas no vórtex e incubadas em banho-maria a 37 °C por 1,5 h. Durante este período, as amostras foram homogeneizadas no vórtex a cada 20 minutos. Após esse tempo, as amostras foram incubadas a 65 °C por 30 minutos e no final homogeneizada mais uma vez. Após esfriar à temperatura ambiente, foram adicionados 70 µL de RNase (10 mg/mL), para cada amostra, homogeneizadas e incubadas à 37 °C por 3 h. Durante este período, as amostras foram homogeneizadas no vórtex a cada 30 minutos. Após esta incubação, as amostras foram centrifugadas à 10000 g ou 13000 rpm por 5 minutos a temperatura ambiente. Após isso, as amostras foram transferidas para novos tubos e adicionados 500 µL de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1 v/v). As amostras então foram homogeneizadas no vórtex. e centrifugadas por 15 minutos a 10000 g ou 12000 rpm. O sobrenadante de cada amostra foi transferido para novos tubos e para fins de precipitação do DNA, foram adicionados 500 µL de isopropanol e homogeneizadas por 3 vezes no vórtex. As amostras então foram incubadas na temperatura de 4 °C por um período de 12 horas. Após este período, as amostras foram centrifugadas por 12 minutos à 13000 rpm em temperatura ambiente. Foram efetuadas três lavagens com 600 µL de etanol 95% (v/v) gelado e o “pellet” foi seco em temperatura ambiente. Após isso, foram adicionadas 50 µL de tampão TE (10 mM de Tris-HCl, 1 mM de EDTA pH=7,6 v/v) e as amostras foram ressuspensas por um período de 12 horas e estocadas à -20 °C.

Para verificar a integridade do DNA extraído, (5 µL) de cada amplificado foi aplicado em um gel de agarose 1% (m/v), contendo 0,2 µg/mL de brometo de etídeo e separada por meio de eletroforese a 100 Volts em tampão TBE 1X (500 mM Tris-HCl, 60 mM ácido bórico e 83 mM EDTA). Os fragmentos de DNA foram então visualizados sob luz ultravioleta. Para checar a quantidade e pureza do DNA extraído foi realizado um teste de absorvância para a razão 260/280 nm de comprimento de onda, utilizando o aparelho NanoDrop<sup>TM</sup> 2000/2000c (Termofisher).

### 2.3. Detecção de *Wolbachia* sp. e amplificação de *gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ*, *fbpA* e *wsp*.

Para verificar se *Z. subfasciatus* continha ou não *Wolbachia* analisamos seis indivíduos de cada uma das populações acima mencionadas (exceto populações do México) por meio da detecção de produtos de PCR (Reação de Polimerase em Cadeia) do gene *wsp* (gene que codifica para a proteína de superfície de *Wolbachia*). Para fins de sequenciamento isolamos o DNA de *Wolbachia* presente em um indivíduo de cada uma das quatro seguintes populações de *Z. subfasciatus* geograficamente distantes: Ipatinga-MG e Teresina-PE no Brasil, Huaraz no Peru e de Calima El Darién na Colômbia.

A amplificação foi conduzida para as seguintes regiões gênicas de *Wolbachia* sp: *gatB* (Glutamil/Aspartato aminotransferase, subunidade B), *coxA* (Citocromo Oxidase C, subunidade I), *hcpA* (Proteína Hipotética Conservada), *ftsZ* (Mutante de Filamento Sensível a temperatura Z), *fbpA* (Frutose-Bifostato Adolase) e *wsp* (Proteína de Superfície de *Wolbachia*).

Os fragmentos desses genes foram amplificados pela reação em cadeia de polimerase (PCR) seguindo o que foi descrito por Baldo et al. (2006) com algumas adaptações. Foram utilizados: o par de primers *gatB*-F e *gatB*-R para o gene *gatB*; o par de primers *coxA*-F e *coxA*-R para o gene *coxA*; o par de primers *hcpA*-F e *hcpA*-R para o gene *hcpA*; o par de “primers” *ftsZ*-F e *ftsZ*-R para os gene *ftsZ*; o par de primers *fbpA*-F e *fbpA*-R para o gene *fbpA*; e o par de primers *wsp*-F e *wsp*R para o gene *wsp* (Tabela suplementar 1).

A PCR de todos os genes foi realizada num volume final de 25 µL, contendo 3 µL de DNA (aproximadamente 40 ng), 2,5 µL de tampão (Cellco Biotec), 2,5 µL de dNTPs (2 mM de concentração inicial), 2 µL de MgCl<sub>2</sub> (25 mM de concentração inicial) 0,2 µL de Taq polimerase (5 unidades/ µL de volume inicial) (Cellco Biotec), 2 µL de cada primer (0,4 µM de volume inicial) e 10,8 µL água ultra pura.

A amplificação por PCR para o gene *gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ*, *fbpA* e *wsp* foi realizada com um ciclo de desnaturação inicial a 94 °C por 2 minutos seguidos por um programa de 37 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, a temperatura de anelamento varia de acordo com o gene (ver Tabela Suplementar 1) por 45 segundos, a extensão a 72 °C por 1 minutos e 30 segundos e um ciclo de extensão final de 72 °C por 10 minutos.

#### **2.4. Amplificação de COI e ITS2 de *Zabrotes subfasciatus*.**

Fragmentos do gene mitocondrial COI foram amplificados, utilizando os primers L2-N-3014 e C1-J-2183 como descrito por Alvarez et al. (2005). Já os fragmentos da região ITS2 do gene nuclear 5,8S foram amplificados utilizando os primers ITS2f e ITS2r como descrito por Navajas et al. (1998) com algumas adaptações.

A PCR de ambos os genes foi realizada num volume final de 25  $\mu\text{L}$ , contendo 3  $\mu\text{L}$  de DNA (aproximadamente 40 ng), 2,5  $\mu\text{L}$  de tampão (Cellco Biotec), 2,5  $\mu\text{L}$  de dNTPs (2 mM de concentração inicial), 2  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  (25 mM de concentração inicial) 0,2  $\mu\text{L}$  de Taq polimerase (5 unidades/  $\mu\text{L}$  de concentração inicial) (Cellco Biotec), 2  $\mu\text{L}$  de cada primer (0,4  $\mu\text{M}$  de concentração inicial) e 10,8  $\mu\text{L}$  de água ultra pura.

A PCR para o gene COI foi realizada com um ciclo de desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos, seguidos por um programa de 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 58 °C de anelamento por 45 segundos e extensão a 72 °C de extensão por 1 minutos e 30 segundos e um ciclo de extensão final de 72 °C por 10 minutos.

Já a PCR para ITS2 foi realizada com um ciclo de desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos seguidos por um programa de 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 1 minuto, anelamento a 65 °C por 1 minutos e 45 segundos e extensão a 72 °C por 1 minutos e 45 segundos e um ciclo de extensão final de 72 °C por 5 minutos. Para mais detalhes sobre os primers, ver Tabela Suplementar 1.

#### **2.5. Isolamento de todos os fragmentos, purificação, e sequenciamento**

Após a PCR dos fragmentos, uma pequena porção (5  $\mu\text{L}$ ) de cada amplificado foi aplicado em um gel de agarose 2% (m/v), contendo 0,2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de brometo de etídeo e separados por meio de eletroforese a 100 Volts em tampão TBE 1X (500 mM Tris-HCl, 60 mM ácido bórico e 83 mM EDTA). Os fragmentos foram então visualizados sob luz ultravioleta para confirmar o padrão de qualidade das amplificações.

As amostras foram então purificadas (via clivagem de fita simples de DNA e primers) adicionando a cada 20  $\mu\text{L}$  de amostra, 4  $\mu\text{L}$  de uma solução purificadora contendo 0,1  $\mu\text{L}$  de Exonuclease I (EXO), 1  $\mu\text{L}$  de Fosfatase Alcalina de Camarão (SAP) e 3  $\mu\text{L}$  de tampão (Tris HCl 50 mM, pH 8,0), para um volume final de 24  $\mu\text{L}$ . Cada amostra então foi encubada à 37 °C por 40 minutos e depois à 80 °C por 20 minutos.

Uma vez purificado, o PCR de cada amostra foi quantificado, utilizando o aparelho NanoDrop™ 2000/2000c (Termofisher). Cada amostra então foi diluída para a concentração de 30 ng/μL e enviadas para sequenciamento na empresa MCLAB em São Francisco, California nos EUA.

## **2.6. Alinhamento dos seis genes de *Wolbachia* sp. e seleção de cepas**

Para realizar a edição e alinhamento das sequências dos genes *gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ* e *fbpA* foi utilizado o programa Sequencher 4.8 (GENES CODES CORPORATION). O alinhamento das sequências de *wsp* foi conduzido utilizando o padrão de alinhamento realizado por Baldo et al. (2006a) como referência. Para respeitar as regiões conservadas de *wsp* e sua janela de leitura, uma reconstrução *in silico* foi realizada por meio do programa MEGA 7 (KUMAR et al., 2016) para fins de comparação.

Além disso, foram adicionadas à análise as sequências de *Wolbachia* de outras cepas presentes no banco de dados disponíveis para download (PubMLST-Universidade de Oxford). Após a concatenação de todas as sequências dos seis genes de cada cepa de *Wolbachia*, foi realizada um teste de nível de identidade no site do “Nacional Center for Biotechnology Information” (US National Library of Medicine), utilizando o algoritmo Blast (Altschul et al. 1990), do qual 45 cepas com porcentagem de identidade na faixa de 95 à 100% relação à cepa presente em *Z. subfasciatus* foram selecionadas para análise posterior de filogenia conforme consta na Tabela Suplementar 2 e 3. Foram incluídas também cepas, cujos hospedeiros pertencem à ordem Coleoptera, as que estão presentes em espécies que atacam grãos armazenados: *Sitophilus* sp. que atacam grãos armazenados como milho, trigo ou mesmo arroz (ROSSETO, 1969); *S. oryzae* e *Corcyra cephalonica* que atacam especificamente grãos armazenados de arroz (CHOUDHURY e CHAKRABORTY, 2014; CHAUDHURI e SENAPATI, 2015); *T. confusum* que atacam farinha de trigo, cereais, grãos de feijão e temperos (NOWACZYK et al., 2009); *Ephestia kuehniella* é uma praga que ataca especificamente a farinha de trigo (TREMATERRA e SPINA, 2012); *C. cephalonica* atacam grãos armazenados de acácia (EL ATTA, 1992). Além disso algumas cepas pertencentes ao supergrupo A, cujos hospedeiros são: *Apanteles chilonis*, *Aedes albopictus*, *Odontomachus clarus*, *Pheidole coloradensis*, *Formica occulta*, *Agelenopsis emertoni*, *Suillia* sp. e as cepa *A\_PanBCI\_Calyp16* pertencente a ordem Diptera (Tabela Suplementar 2 e 3).

O alinhamento individual dos genes *gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ*, *fbpA* e *wsp* formou, respectivamente, o banco de dados W1 (369 pares de bases ou pb), W2 (402 pb), W3 (444 pb), W4 (435 pb), W5 (429 pb) e W6 (537 pb). Já o alinhamento formado a partir da concatenação desses mesmos seis genes formou o banco de dados W7 (2616 pb). Cada um deste banco de dados é formado por 62 indivíduos.

## **2.7. Alinhamento dos produtos de PCR de COI e ITS2 de *Z. subfasciatus*.**

Nem todas as amostras sequenciadas para COI e ITS2 apresentaram um bom padrão de leitura, apresentando uma quantidade muito grande de sobreposição de picos. Portanto, somente amostras, cujas sequências apresentavam uma quantidade razoável de picos distintos e sem um excesso de sobreposição foram alinhadas e analisadas. A quantidade de amostras sequenciadas e analisadas para COI e ITS2, pode ser vistas na tabela 1 e as coordenadas das localidades e dos códigos dos acessos no GenBank podem ser vistas na tabela 2.

Além disso, adicionamos seis sequências do gene mitocondrial COI de *Z. subfasciatus* depositadas no GenBank de populações do México (ALVAREZ et al. 2006) à análise de filogeografia como pode ser visto na Tabela 2.

Para realizar a edição e alinhamento das sequências foi utilizado o programa Sequencher 4.8 (GENE CODES CORPORATION). Como as sequências de COI são codificantes, o alinhamento destas foi realizado respeitando sua janela de leitura. Por isso, fizemos uma reconstrução *in silico* dos produtos gênicos das sequências de COI, usando o programa MEGA 7 (KUMAR et al., 2016) para fins de comparação. O alinhamento de COI formou o banco de dados Z1 (n=60 e 749 pb) e o alinhamento de ITS2 formou o banco de dados Z2 (n=39 e 504 pb).

**Tabela 1.** Populações de *Z. subfasciatus* amostradas com seus respectivos códigos, e os valores para o total de indivíduos sequenciados e analisados para os genes COI e da região ITS2 do gene 5,8S.

Acesso	Código	Total de Amostras Sequenciadas		Total de Sequências Analisadas	
		COI	ITS2	COI	ITS2
<b>Ipatinga-MG</b>	IPA	6	5	4	3
<b>Unai-MG</b>	UNAI	5	5	2	5
<b>Jaboticabal-SP</b>	JAB	5	5	3	3
<b>Euclides da Cunha-BA</b>	ECU	5	5	1	1
<b>Maceió-AL</b>	MAC	5	5	4	4
<b>Teresina-PI</b>	TER	6	6	4	4
<b>Bom Jesus-PI</b>	BJE	9	4	4	-
<b>Santo Antônio de Goiás-GO</b>	SAG	6	5	3	3
<b>Garanhuns-PE</b>	GAR	8	7	7	6
<b>Rio Branco-AC</b>	RBR	12	10	8	1
<b>Brasília-DF</b>	BRA	8	7	6	3
<b>Huaraz-Peru</b>	PRU	10	5	8	5
<b>Calima El Dárien-Colômbia</b>	DOR	-	3	-	1
<b>Total</b>		85	72	54	39

**Tabela 2.** Populações de *Z. subfasciatus* analisadas com seus respectivos códigos, tamanho amostral dos genes COI e da região ITS2 do gene 5,8S e a localização geográfica.

<b>Acesso</b>	<b>Código</b>	<b>COI</b>	<b>ITS2</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>	<b>Código do GenBank</b>
<b>Ipatinga-MG</b>	IPA	4	3	19°28'6"S	42°32'12"W	Em submissão
<b>Unaí-MG</b>	UNAI	2	5	16°21'6"S	46°54'43"W	Em submissão
<b>Jaboticabal-SP</b>	JAB	3	3	21°15'17"S	48°19'20"W	Em submissão
<b>Euclides da Cunha-BA</b>	ECU	1	1	10°30'27"S	39° 0'57"W	Em submissão
<b>Maceió-AL</b>	MAC	4	4	9°39'57"S	35°44'0.7"W	Em submissão
<b>Teresina-PI</b>	TER	4	4	5° 05'21"S	42°48'0.7"W	Em submissão
<b>Bom Jesus-PI</b>	BJE	4	-	9°04'28"S	44°21'31"W	Em submissão
<b>Santo Antônio de Goiás-GO</b>	SAG	3	3	16°29'8"S	49°18'32"W	Em submissão
<b>Garanhuns-PE</b>	GAR	7	6	08°53'25"S	36°29'34"W	Em submissão
<b>Rio Branco-AC</b>	RBR	8	1	09°58'29"S	67°48'36"W	Em submissão
<b>Brasília-DF</b>	BRA	6	3	15°46'48"S	47°55'45"W	Em submissão
<b>Huaraz-Peru</b>	PRU	8	5	9°31'38"S	77°31'60"W	Em submissão
<b>Calima El Dárien-Colômbia</b>	DOR	-	1	3°55'52N	76°29'11"W	Em submissão
<b>Malinalco-México</b>	CLNY	1	-	18°57'13.2"N	99°30'08.9"W	AY881233
<b>Tlayecapan-México</b>	TLA	1	-	18°57'20"N	99°03'24.4"W	DQ152241
<b>Tilapa-México</b>	OCM	1	-	19°11'24.5"N	99°25'12.2"W	DQ152242
<b>Yautepec-México</b>	YAU	1	-	18°45'31.9"N	99°01'24"W	DQ152240
<b>Elabillal-México</b>	ELA	1	-	18°00'27"N	102°21'44.8"W	DQ152239
<b>San Juan Bosco-México</b>	SJB	1	-	18°07'12.4"N	102°08'24.9"W	AY881214
<b>Total</b>		60	39			

## 2.8. Análise Filogenética Bayesiana

Realizamos análises individuais nos banco de dados W1, W2, W3, W4, W5 e W6 de *Wolbachia* sp. e em Z1 e Z2 de *Z. subfasciatus*. Também foi feita uma análise filogenética particionada no banco de dados W7 de *Wolbachia* sp.

Usando o programa MRMODELTEST 2.3 (NYLANDER 2004), foram gerados modelos evolutivos para cada um dos genes e a seleção dos melhores modelos foi realizada pelo Critério de Informação de Akaike (Akaike, 1973). Os modelos selecionados foram: GTR+I+G (gatB, wsp); GTR+G (coxA, ftsZ, fbpA); HKY+I (hcpA); HKY (COI); JC+I (ITS2).

As relações filogenéticas foram inferidas por filogenia Bayesiana utilizando o programa MRBAYES v.3.1.2 (RONQUIST e HUELSENBECK, 2003). Esta análise do MRBAYES se deu através dos supercomputadores do San Diego Supercomputer Center que foi acessado online por meio do portal CIPRES Science Gateway do Campus de San Diego CA da Universidade da Califórnia nos EUA (MILLER et al., 2010). A análise foi realizada utilizando duas corridas simultâneas, sendo uma cadeia fria e sete cadeias quentes em cada corrida. O número de gerações geradas na análise para o banco de dados W6 e W7 foi de 100.000.000 de gerações. Para os bancos de dados W1, W2, W3, W4, W5 e W6, o número de gerações foi de 40.000.000. Já no banco de dados Z1 e Z2 foi de 20.000.000. Em cada análise, árvores foram amostradas a cada 10.000 gerações.

A convergência foi diagnosticada pela divergência nos desvios padrões das duas corridas (menor que 0,01). Após o descarte dos primeiros 25% dos dados, o restante foi utilizado para gerar os valores finais dos parâmetros, dentre eles, a árvore e a probabilidade posterior dos clados. O programa Figtree v.1.3.1 foi utilizado para visualização das árvores filogenéticas (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

## 2.9. Análise de Rede de haplótipos

A genealogia dos genes realizada no banco de dados Z1 e Z2 foi predita utilizando o algoritmo Median-joining (BANDELT et al., 1999) implementado no programa NETWORK 5.0 (FLUXUS TECHNOLOGY LTD). As inserções e deleções (indels) foram consideradas como um quinto estado e cada indel, independentemente do tamanho, foi considerado como uma única mutação.

## **2.10. Índices de diversidade molecular, teste de neutralidade e de expansão**

Utilizando ainda o banco de dados Z1 e Z2, foram estimados os índices de diversidade molecular como o número de sítios polimórficos (S), número de haplótipos (H), diversidade haplotípica (Hd), diversidade nucleotídica (Pi) e número médio de diferenças nucleotídicas (K). Para verificar se as sequências estavam evoluindo em neutralidade, foram realizados os testes D de Tajima (1983) e Fs de Fu (1997). Para constatar o indício de mudanças no tamanho populacional foi usado o teste  $R_2$  de Ramos-Onsins e Rozas (2002). Todos estes parâmetros e testes foram gerados, utilizando o programa DNAsp 6.11.01 (ROZAS et al., 2018).

### **3. RESULTADOS:**

#### **3.1. Filogenia de Wolbachia sp.**

##### **3.1.1. Presença de Wolbachia sp. em *Z. subfasciatus* e sequenciamento**

A detecção de Wolbachia sp. em *Z. subfasciatus* por meio do produto da PCR do gene *wsp* foi positiva para todos os seis indivíduos analisados por localidade (Brasil, Peru (Huaraz) e Colômbia (Calima El Darién)). Além disso, o sequenciamento dos seis genes de Wolbachia (*gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ*, *fbpA* e *wsp*) de uma única amostra de *Z. subfasciatus* amostrada de quatro localidades distantes uma da outra (Ipatinga-MG e Teresina-PI no Brasil, Huaraz no Peru e de Calima El Dárien na Colômbia) constatou que as sequências são idênticas entre si não apresentado, portanto, nenhum polimorfismo.

##### **3.1.2. Comparação entre sequências de Wolbachia spp. e perfil MLST.**

As sequências dos seis genes de Wolbachia analisadas se distinguem de forma muito marcante, quando se compara a maioria dos membros dos supergrupos A e B. Comparando as cepas presentes em espécies de grãos armazenados, percebe-se também que as cepas *wKueUSDA* e *Ekue\_A* do supergrupo A e que estão presentes em *E. kuehniella* possuem sequências completamente diferentes das cepas do supergrupo B presentes também em insetos pragas de grãos. (Figura 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11) Fazendo a mesma comparação entre esses dois supergrupos pela análise do perfil MLST, percebe-se que não há nenhum indício de compartilhamento de alelo entre ambos os supergrupos de Wolbachia. (Tabela Suplementar 4)

Comparando a nível de gene as sequências da cepa *Zsub* presente em *Z. subfasciatus* com as demais constata-se que: no gene *gatB* as sequências de *Zsub* são idênticas as cepas *Lory\_B*, *wMfas1*, *Apun\_B*, *wIxp1*, *Coed\_B*, *Cpln*, *SP2*, *Calt\_B*, *Ccep\_B\_BJ*, *Oova\_B* presentes, respectivamente, em *Lissorhoptrus oryzophilus*, *Macrosteles fascifrons*, *Amblyptilia punctidactyla*, *Ixodes persulcatus*, *Coenonympha oedippus*, *Carterocephalus palaemon*, *Caryedon serratus*, *Chelymorpha alternans*, *C. cephalonica*, *Ostrinia ovalipennis* e nas cepas *Btab\_B\_W2a* e *Btab\_B\_W3* presentes em *Bemisia tabaci* (Figura 2 e Tabela Suplementar 5); em relação ao gene *coxA* a sequência mais próxima de *Zsub* é *Lory\_B* presente em *L. oryzophilus*, diferindo apenas pela troca de Adenina por Guanina na posição

460 da sequência concatenada, o que pode ser corroborada pela tabela de identidade (Figura 3 e Tabela suplementar 6); em relação ao gene *hcpA* a sequência de *Zsub* é idêntica a de *Lory\_B* (figuras 4 e 5 e Tabela Suplementar 7).; em relação ao gene *ftsZ*, a sequência mais próxima de *Zsub* é a cepa *Cpln* presente em *C. palaemon* (Figura 6 e Tabela Suplementar 8); em relação ao gene *fbpA*, a sequência presente em *Zsub* é idêntica a de *Lory\_B* (Figura 7, 8 e Tabela Suplementar 9); em relação ao gene *wsp* a sequência mais próxima de *Zsub* é a cepa *Cpln* (Figuras 9, 10 e 11 e Tabela Suplementar 10).

O mesmo padrão pode ser observado na análise de MLST, ao comparar *Zsub* com as demais cepas em relação aos genes *gatB*, *hcpA* e *fbpA*. No que diz respeito aos alelos de *coxA* e *ftsZ* de *Zsub*, esta não compartilha alelo com nenhuma outra cepa (Tabela Suplementar 4). Já a comparação do banco de dados total de MLST de *Wolbachia* no site do PubMLST (PubMLST-Universidade de Oxford) também demonstrou que os alelos de *coxA* e *ftsZ* em *Zsub* são exclusivos desta cepa.













11111111111111  
 111111122222  
 688899900011  
 913514936925

Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia) [ hcpA ]

**Z.subfasciatus (Zsub)** TAGACTAATCTC  
 L.oryzophilus (Lory\_B) B .....  
 T.urticae (wUrtCon2) B .....  
 A.punctidactyla (Apun\_B) B ...GT.GG.T..  
 C.glycerion (Cgly\_B) B ...GT.GG.T..  
 Hymenoptera Dryinidae (wWaspb) B ...GT.GG.T..  
 Diptera Chloropidae (B\_NY\_Chloro150737b) B ...GT.GG.T..  
 M.fascifrons (wMfas1) .C.....  
 C.silvicola (Csil) ...GT.GG.T..  
 H.horticola (Hhor\_B\_wHho) B ...GT.GG.T..  
 A.paphia (Apap) ...GT.GG.T..  
 P.icaricus (Pica\_B) B ...GT.GG.T..  
 I.persulcatus (wIxp1) B ...GT.GG.T..  
 C.palaemon (Cpln) .C.....  
 C.oedippus (Coed\_B) B .....  
 B.tabaci (wBtab) B .....  
 B.tabaci (Btab\_B\_W5) B .....  
 B.tabaci (Btab\_B\_wAII7\_26) B .....  
 B.tabaci (Btab\_B\_wAI\_39) B .....  
 E.furuhashii (W-Efur) B .....  
 B.tabaci (Btab\_B\_wAII6-35) B .....  
 B.tabaci (Btab\_B\_W2a) B .....  
 P.stubbendorffii (Pstu\_B) B ...GT.GG.T..  
 L.melissa (Lmel\_B) B ...GT.GG.T..  
 B.tabaci (Btab\_B\_wAI\_27) B .....  
 O.ovalipennis\_(Oova\_B) B .....  
 B.tabaci (Btab\_B\_W3) B .....  
 B.tabaci (Btab\_B\_wCN1\_11) B .....  
 B.tabaci (Btab\_B\_wCN1\_41) B .....  
 B.tabaci (Btab\_B\_wAII1\_28) B .....  
 B.tabaci (Btab\_B\_wAU\_54) B .....C.....  
 B.tabaci (Btab\_B\_wAII9\_43) B .....  
 B.tabaci (Btab\_B\_wAII6-38) B .....A.....  
 B.tabaci (Btab\_B\_wCN1\_42) B .....  
**C.serratus (SP2) B** .....

**Figura 5.** Quarta parte do alinhamento, em nível de DNA, de seis genes concatenados de Wolbachia (gatB, coxA, hcpA, ftsZ, fbpA e wsp). Nesta figura são representados apenas os sítios polimórficos de hcpA. Cada sequência concatenada pertence a uma cepa específica. Cada ponto indica similaridade com a sequência concatenada da cepa Zsub1 presente em *Z. subfasciatus*. Os números indicam a posição do sítio polimórfico, considerando a sequência concatenada de Zsub presente em *Z. subfasciatus* como referência. As sequências na forma concatenada para os seis genes possuem o tamanho total de 2616 pb. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. As cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

## Continuação

```

111111111111
111111122222
688899900011
913514936925

Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia) [ hcpA ]
B.tabaci (Btab_B_wAII1_29) B .....
B.tabaci (Btab_B_wAII3_49) B .....C.....
S.oryzae (SONDYA) B .....G.....
B.tabaci (Btab_B_wAII1-30) B .....
B.tabaci (Btab_B_W1a) B .G.GT.GG.T..
C.cephalonica (Ccep_B_BJ) B ...GT.GG.T..
T.confusum (Tcon_B_BhAvill_AK) B .....
Sitophilus sp (BOTRY) B .....G.....
B.afer (Bafe_B_wAfe_1) B ..A.T...CTCT
E.kuehniella (Ekue_B) B .G.GT.GG.T..
C.alternans (Calt_B) B .....
A.chilonis_(Ach_A_wCh3) A ..A.T...CTCT
A.albopictus (Aalb_A) A ..A.T...CTCT
O.clarus_(Oclar_A) A C.A.T...CTCT
E.kuehniella (wKueUSDA) A ..A.T...CTCT
C.obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Switz) A ..A.T...CTCT
O.cacaliae (Ocac_A_wVdO) A ..A.T...CTCT
C.obstrictus (Marsham) (Cobs_A_USA) A ..A.T...CTCT
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph) A ..A.T...CTCT
A.emertoni_(Aeme_A_LW5) A ..A.T...CTCT
E.kuehniella (Ekue_A) A ..A.T...CTCT
Suillia_sp (A_Cobb27Hel) A ..A.T...CTCT
C.obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Ger) A ..A.T...CTCT
A.sparsa (Aspa_A) A C.A.T...CTCT
F.occulta(Focc_A) A ..A.T...CTCT
Diptera (A_PanBCI_Calyp16) A ..A.TC...CTCT
P.coloradensis_(Pcol_A) A ..A.T...CTCT

```

**Figura 5.** Quarta parte do alinhamento, em nível de DNA, de seis genes concatenados de Wolbachia (gatB, coxA, hcpA, ftsZ, fbpA e wsp). Nesta figura são representados apenas os sítios polimórficos de hcpA. Cada sequência concatenada pertence a uma cepa específica. Cada ponto indica similaridade com a sequência concatenada da cepa Zsub1 presente em *Z. subfasciatus*. Os números indicam a posição do sítio polimórfico, considerando a sequência concatenada de Zsub presente em *Z. subfasciatus* como referência. As sequências na forma concatenada para os seis genes possuem o tamanho total de 2616 pb. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. As cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.









```

2222222222222222
0000000000000000
333333334555677
12345683012856

Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia) [ fbpA ]

Z.subfasciatus (Zsub) AGAAAGAGTCTGGA
L.oryzophilus (Lory_B) B .....
T.urticae (wUrtCon2) B .....A.....
A.punctidactyla (Apun_B) B .....A.....
C.glycerion (Cgly_B) B .....A.....
Hymenoptera Dryinidae (wWaspb) B .....A.....
Diptera Chloropidae (B_NY_Chloro150737b) B .....A.....
M.fascifrons (wMfas1) .....A.....
C.silvicola (Csil) .....A.....
H.horticola (Hhor_B_wHho) B .....A.....
A.paphia (Apap) .....A.....
P.icarus (Pica_B) B .....A.....
I.persulcatus (wIxp1) B .....A.....
C.palaemon (Cpln) .....A.....
C.oedippus (Coed_B) B ----A.A...AAG
B.tabaci (wBtab) B .....A.....
B.tabaci (Btab_B_W5) B .....A.....
B.tabaci (Btab_B_wAII7_26) B .....A.....
B.tabaci (Btab_B_wAI_39) B .....A.....
E.furuhashii (W-Efur) B .....A.....
B.tabaci (Btab_B_wAII6-35) B .....A.....
B.tabaci (Btab_B_W2a) B .....A.....
P.stubbendorffii (Pstu_B) B ----A.A.....
L.melissa (Lmel_B) B .....A.....
B.tabaci (Btab_B_wAI_27) B .....A.....
O.ovalipennis (Oova_B) B ----A.A.TCAAG
B.tabaci (Btab_B_W3) B .....A.....
B.tabaci (Btab_B_wCN1_11) B .....A.....
B.tabaci (Btab_B_wCN1_41) B .....A.....
B.tabaci (Btab_B_wAII1_28) B .....A.....
B.tabaci (Btab_B_wAU_54) B .....A.....
B.tabaci (Btab_B_wAII9_43) B .....A.....
B.tabaci (Btab_B_wAII6-38) B .....A.....
B.tabaci (Btab_B_wCN1_42) B .....A.....
C.serratus (SP2) B ----A.A...AAG

```

**Figura 8.** Sétima parte do alinhamento, em nível de DNA, de seis genes concatenados de Wolbachia (gatB, coxA, hcpA, ftsZ, fbpA e wsp). Nesta figura são representados apenas os sítios polimórficos de fbpA. Cada sequência concatenada pertence a uma cepa específica. Cada ponto indica similaridade com a sequência concatenada da cepa Zsub1 presente em *Z. subfasciatus*. Os números indicam a posição do sítio polimórfico, considerando a sequência concatenada de Zsub presente em *Z. subfasciatus* como referência. As sequências na forma concatenada para os seis genes possuem o tamanho total de 2616 pb. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. As cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

## Continuação

```

22222222222222
00000000000000
333333334555677
12345683012856

Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia) [ fbpA ]

B.tabaci_(Btab_B_wAII1_29) B .....A.....
B.tabaci_(Btab_B_wAII3_49) B .....A.....
S.oryzae (SONDYA) B .....A.....
B.tabaci_(Btab_B_wAII1-30) B .....A.....
B.tabaci_(Btab_B_W1a) B -----A.A...AAG
C.cephalonica (Ccep_B_BJ) B -----A.A...AAG
T.confusum (Tcon_B_BhAvill_AK) B -----A.A...AAG
Sitophilus sp (BOTRY) B -----A.A...AAG
B.afer_(Bafe_B_wAfe_1) B -----AGA.TCAAG
E.kuehniella (Ekue_B) B -----A.A...AAG
C.alternans (Calt_B) B -----A.A...AAG
A.chilonis_(Ach_A_wCh3) A .....A.AC.....
A.albopictus (Aalb_A) A .....A.A...A..
O.clarus_(Oclar_A) A .....A.A...A..
E.kuehniella (wKueUSDA) A .....A.AC.....
C.obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Switz) A .....A.A...AA.
O.cacaliae (Ocac_A_wVdO) A .....A.A...A..
C.obstrictus (Marsham) (Cobs_A_USA) A .....A.A...AA.
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph) A .....A.A...A..
A.emertoni_(Aeme_A_LW5) A .....A.A...A..
E.kuehniella (Ekue_A) A .....A.AC.....
Suillia_sp_(A_Cobb27Hel) A .....A.A...A..
C.obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Ger) A .....A.A...AA.
A.sparsa (Aspa_A) A .....A.A...A..
F.occulta (Focc_A) A .....A.A...A..
Diptera_(A_PanBCI_Calyp16) A .....A.A...A..
P.coloradensis_(Pcol_A) A .....A.A...A..

```

**Figura 8.** Sétima parte do alinhamento, em nível de DNA, de seis genes concatenados de Wolbachia (gatB, coxA, hcpA, ftsZ, fbpA e wsp). Nesta figura são representados apenas os sítios polimórficos de fbpA. Cada sequência concatenada pertence a uma cepa específica. Cada ponto indica similaridade com a sequência concatenada da cepa Zsub presente em *Z. subfasciatus*. Os números indicam a posição do sítio polimórfico, considerando a sequência concatenada de Zsub presente em *Z. subfasciatus* como referência. As sequências na forma concatenada para os seis genes possuem o tamanho total de 2616 pb. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. As cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.













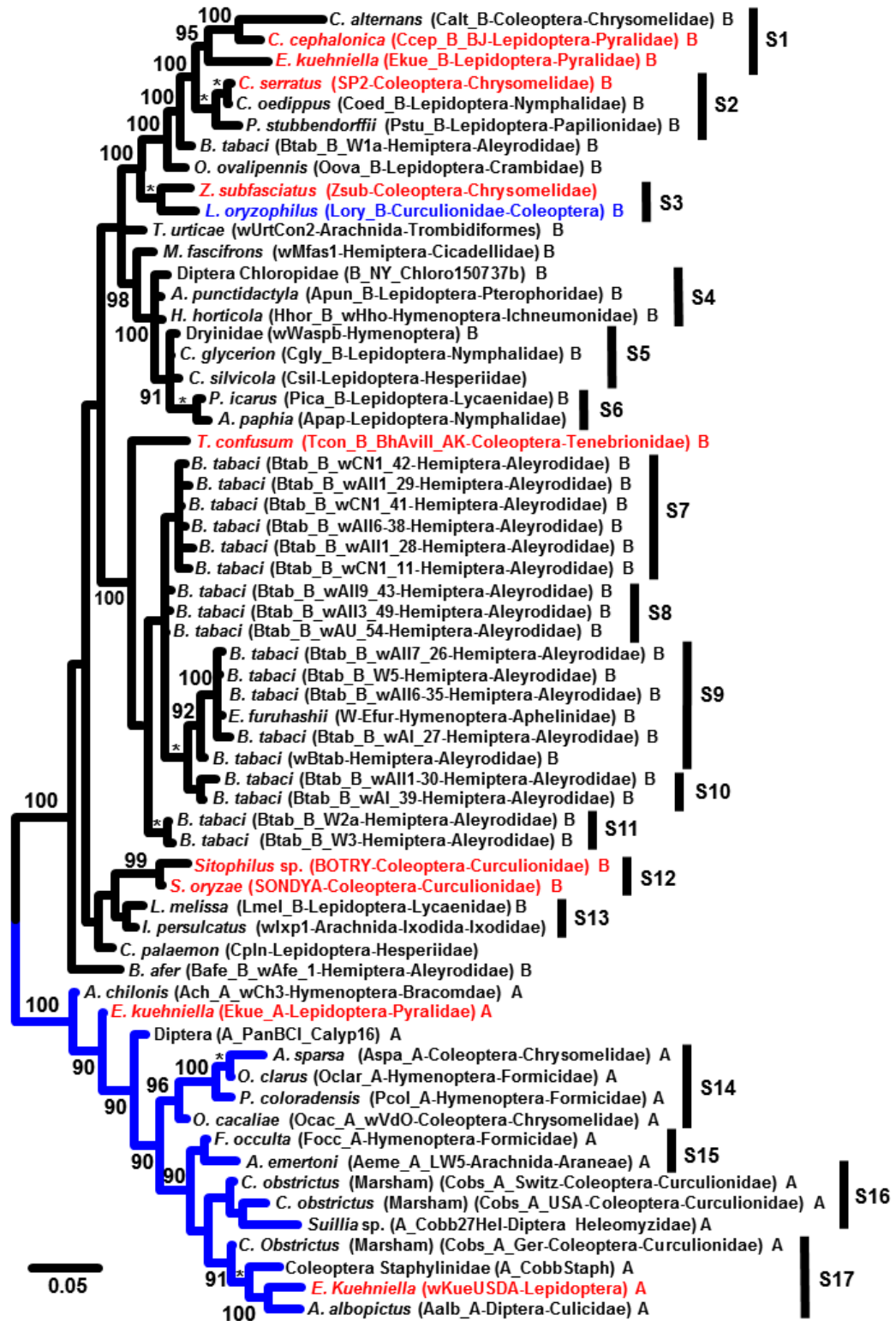
### 3.1.3. Análise Bayesiana particionada das cepas de Wolbachia

O resultado da análise bayesiana particionada (árvore consenso sem raiz) realizada no banco de dados W7 é apresentada na Figura 12. A árvore apresentou probabilidade a posteriori acima de 90% para a maior parte dos nós, o que demonstra que ela possui um bom suporte. No geral, há muita pouca semelhança entre as relações filogenéticas das cepas e das espécies hospedeiras, com excessão da maioria das cepas presentes em *B. tabaci* e no gênero *Sitophilus*. Formou-se dois grupos principais: um composto por cepas pertencentes ao supergrupo A (ramos destacados com cor azul ou agrupamento Azul) e outro grupo formado por cepas em sua maioria pertencentes ao supergrupo B (ramos destacados com cor escura ou agrupamento Escuro), exceto as cepas Zsub, Csil, Apap, wIxp1 e Cpln presentes, respectivamente, em *Z. subfasciatus*, *Carterocephalus silvicola*, *Argynnis paphia*, *I. persulcatus* e *C. palaemon* que não estão classificadas em nenhum dos supergrupos de Wolbachia (Figura 12).

O agrupamento Escuro é formado pelos subagrupamentos S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9, S10, S11, S12, S13 e pelas cepas Btab\_B\_W1a, Oova\_B, wUrtCon2, wMfas1, Tcon\_B\_BhAvill\_AK, Cpln e Bafe\_B\_wAfe\_1 presentes, respectivamente em *B. tabaci*, *O. ovalipennis*, *Tetranychus urticae*, *M. fascifrons*, *T. confusum* (espécie praga de grão armazenado), *C. palaemon* e *Bemisia afer* (Ordem Hemiptera) (Figura 12). Vale destacar outras cepas presentes em espécie praga de grãos armazenados tais como: as cepas Ccep\_B\_BJ e Ekue\_B presente, respectivamente, em *C. cephalonica* e *E. kuehniella* (as quais se agrupam com a cepa Calt\_B presente em *C. alternans* no subagrupamento S1); a cepa SP2 presente em *C. serratus* (que se agrupa com as cepas Coed\_B e Pstu\_B presentes, respectivamente, em *C. oedippus* e *Parnassius stubbendorffii* em S2); a cepa Zsub presente em *Z. subfasciatus* (que se agrupa com a cepa Lory\_B presente em *L. oryophilus* no subgrupo S3); as cepas BOTRY e SONDYA presentes, respectivamente, em *Sitophilus* sp. e *S. oryzae* formando o subgrupo S12. Em relação as cepas presentes em *B. tabaci*, além da cepa Btab\_B\_W1a, também há outras cepas agrupadas nos subgrupos S7, S8, S9 (ao qual também está agrupada a cepa W-Efur presente em *Eretmocerus. furuhashii*), S10 e S11 (Figura 12).

Já o grupo Azul é formado pelos subagrupamentos S14, S15, S16 e S17 e pelas cepas Ach\_A\_wCh3, Ekue\_A presentes, respectivamente em *A. chilonis* (Ordem Hymenoptera), *E. kuehniella* e a cepa A\_PanBCI\_Calyp16. Além de Ekue\_A, uma outra cepa presente em *E.*

kuehniella e que é componente do grupo Azul é a cepa wKueUSDA (agrupada com outras cepas no subgrupo S17). *Ceutorhynchus obstrictus* (Marsham) é a espécie hospedeira das cepas Cobs\_A\_Switz e Cobs\_A\_USA (agrupadas com a cepa A\_Cobb27Hel no subgrupo S16) e da cepa Cobs\_A\_Ge (que está agrupada com as cepas Aalb\_A e wKueUSDA no subgrupo S17) (Figura 12).



**Figura 12.** Filogenia Bayesiana (árvore consenso ou particionada) sem raiz de 62 cepas de Wolbachia resultante do alinhamento de 2616 pb de seis genes concatenados (gatB, coxA, hcpA, ftsZ, fbpA e wsp). O comprimento dos ramos foi desenhado em escala e a confiabilidade dos nós é expressa em probabilidade posterior (%), quando maior que 90% (representada também pelo asterisco). A barra de escala corresponde ao número esperado de substituição por sítio. Na ponta de cada ramo há o nome científico do organismo hospedeiro ou o grupo taxonômico a quem ele pertence, seguido pelo código da cepa de Wolbachia, entre parênteses. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. A árvore está dividida em dois grupos distinguidos pela presença de ramos azuis e escuros. As barras verticais em frente aos ramos indicam os subgrupos. A cepa em azul indica aquela que é mais próxima daquela presente em *Z. subfasciatus* e as cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

### 3.1.4. Análises Bayesianas para cada gene.

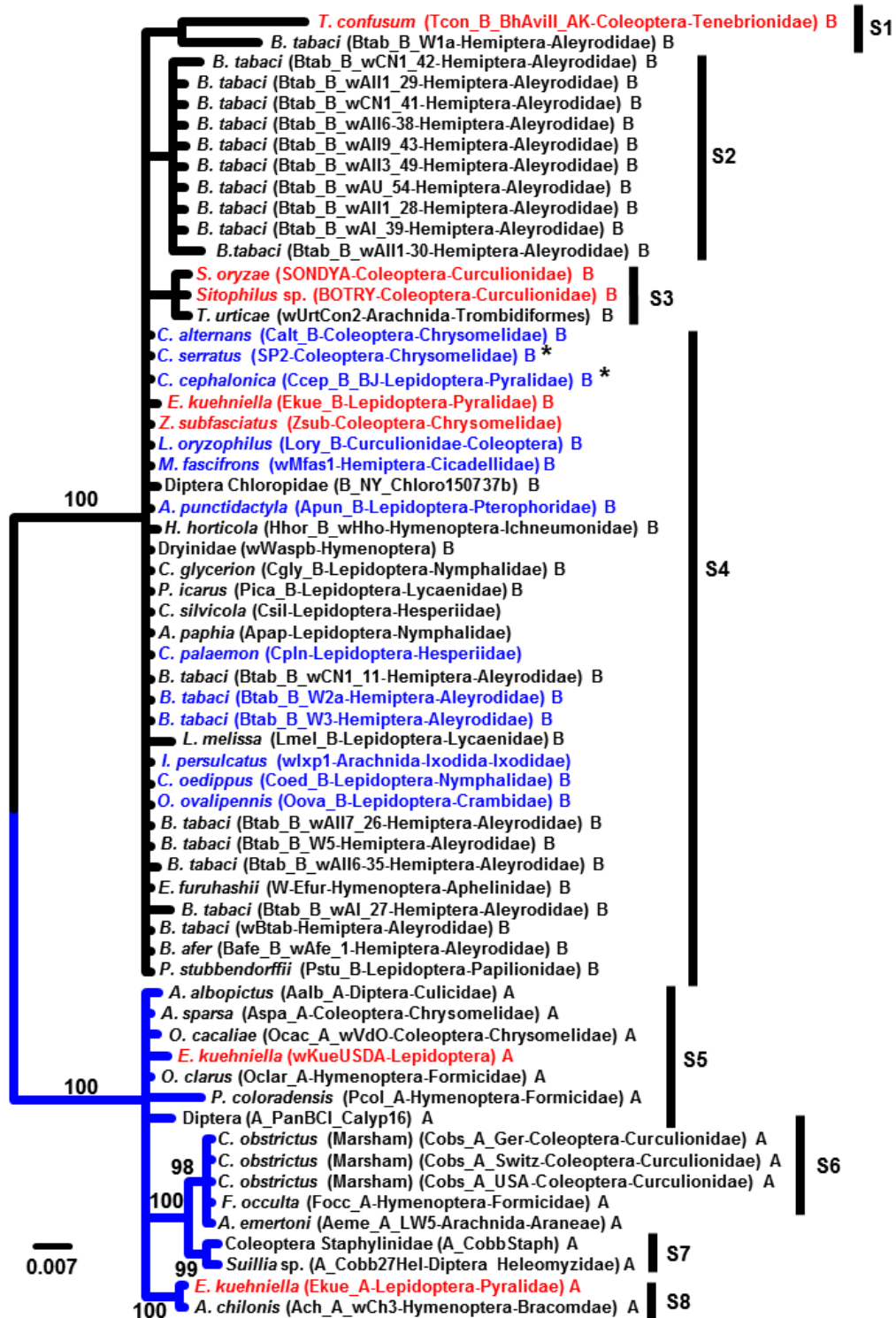
Além da análise Bayesiana parcionada para os seis genes das 62 cepas de *Wolbachia*, foi construída uma árvore bayesiana para cada gene, de forma que se pode visualizar a forma como o gene está se comportando em termos evolutivos.

#### 3.1.4.1. Gene *gatB*.

A árvore (Figura 13), apresentou probabilidade a posteriori acima de 90% para a maior parte dos nós, o que demonstra que ela possui um bom suporte. Formou-se dois grupos principais: um composto por cepas pertencentes ao supergrupo A (ramos destacados com cor azul ou grupo Azul) e outro grupo formado por cepas pertencentes ao supergrupo B (ramos destacados com cor escura ou grupo Escuro), exceto as cepas *Zsub*, *Csil*, *Apap*, *wIxp1* e *Cpln* presentes, respectivamente, em *Z. subfasciatus*, *C. silvicola*, *A. paphia*, *I. persulcatus* e *C. palaemon* que não estão classificadas em nenhum dos supergrupos de *Wolbachia*.

O grupo Escuro é constituído pelos subgrupos S1, S2, S3 e S4. Algumas cepas estão presentes em espécies praga de grãos armazenados, tais como: a cepa *Tcon\_B\_BhAvill\_AK* presente em *T. confusum* (que se agrupa com a cepa *Btab\_B\_W1a*, presente em *B. tabaci* no subgrupo S1); as cepas *BOTRYe* e *SONDYA* e presentes, respectivamente, em *Sitophilus* sp. e *S. oryzae* (que se agrupam junto com a cepa *wUrtCon2* presente em *T. urticae*, no subgrupo S3); as cepas *SP2*, *Ccep\_B\_BJ*, *Ekue\_B* e *Zsub* presentes, respectivamente, em *C. serratus*, *C. cephalonica*, *E. kuehniella* e *Z. subfasciatus* (que se agrupam com outras cepas presentes em espécies hospedeiras de diferentes táxons em S4) (Figura 13). Ainda sobre o subgrupo S4, destacam-se as cepas, cuja porcentagem de identidade é 100% idêntica as sequências de *Zsub* tais como *Calt\_B*, *SP2*, *Ccep\_B\_BJ*, *Lory\_B*, *wMfas1*, *Apun\_B*, *Cpln*, *Btab\_B\_W2a*, *Btab\_B\_W3*, *wIxp1*, *Coed\_B* e *Oova\_B* (Tabela Suplementar 5 e Figura 13).

Já o grupo Azul é constituído pelos subgrupos S5, S6, S7 e S8. Vale destacar que as cepas *wKueUSDA* e *Ekue\_A* estão, respectivamente nos subagrupamentos S5 e S8 e estão presentes também na espécie *E. kuehniella*. Todas as três cepas de *C. obstrictus* (Marshall) estão agrupadas junto com as cepas *Ocac\_A\_wVdO*, *Focc\_A* e *Aeme\_A\_LW5* presentes em *O. cacaliae*, *F. occulta*, *A. emertoni* no subgrupo no subgrupo S6 (Figura 13).



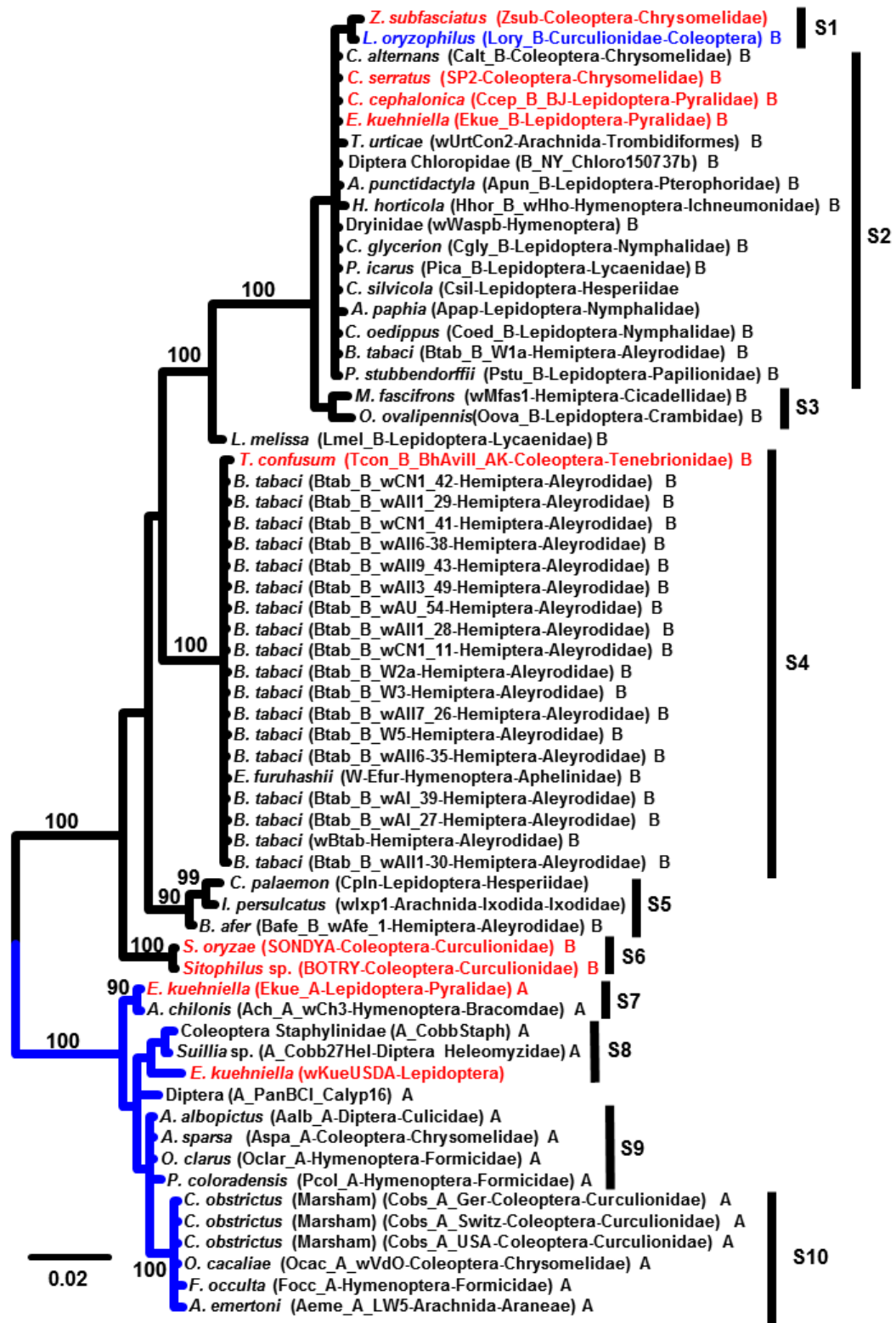
**Figura 13.** Filogenia Bayesiana sem raiz de 62 cepas de Wolbachia resultante do alinhamento de 369 pb do gene *gatB*. O comprimento dos ramos foi desenhado em escala e a confiabilidade dos nós é expressa em probabilidade posterior (%), quando maior que 90%. A barra de escala corresponde ao número esperado de substituição por sítio. Na ponta de cada ramo há o nome científico do organismo hospedeiro ou o grupo taxonômico a quem ele pertence, seguido pelo código da cepa de Wolbachia, entre parênteses. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. A árvore está dividida em dois grupos distinguidos pela presença de ramos azuis e escuros. As barras verticais em frente aos ramos indicam os sub-grupos. As cepas em azul indica aquelas cujas seqüências de *gatB* são idênticas em relação aquela presente em *Z. subfasciatus* e as cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados. O asterisco na cepa de *C. cephalonica* indica que sua espécie hospedeira também ataca grão armazenado.

### 3.1.4.2. Gene *coxA*.

A árvore (Figura 14), formada com base no banco de dados W2 apresentou probabilidade a posteriori acima de 90% para a maior parte dos nós, o que demonstra que ela possui um bom suporte. Formou-se dois grupos principais: um composto por cepas pertencentes ao supergrupo A (ramos destacados com cor azul ou grupo Azul) e outro grupo formado por cepas pertencentes ao supergrupo B (ramos destacados com cor escura ou grupo Escuro), exceto as cepas Zsub, Csil, Apap, wIxp1 e Cpln presentes, respectivamente, em *Z. subfasciatus*, *C. silvicola*, *A. paphia*, *I. persulcatus* e *C. palaemon* que não estão classificadas em nenhum dos supergrupos de Wolbachia.

O grupo Escuro é constituído pelos subgrupos S1, S2, S3, S4, S5 e S6 e a cepa Lmel\_B, presente na espécie *Lycaeides melissa* (esta tende a se agrupar em subgrupo maior com S1, S2 e S3). Algumas cepas estão presentes em espécies praga de grãos armazenados, tais como: a cepa Zsub presente em *Z. subfasciatus* (que se agrupa com a cepa Lory\_B presente em *L. oryophilus* no subgrupo S1); as cepas SP2, Ccep\_B\_BJ e Ekue\_B presentes, respectivamente em *C. serratus*, *C. cephalonica*, *E. kuehniella* (que estão agrupadas com outras cepas presentes em espécies hospedeiras de diferentes táxons em S2); a cepa Tcon\_B\_BhAvill\_AK presente em *T. confusum* (que se agrupa com todas as cepas presentes em *B. tabaci* e a cepa W-Efur presente em *E. furuhashii* no subgrupo S4); as cepas SONDYA e *Sitophilus* sp. presentes, respectivamente em *S. oryzae* e *Sitophilus* sp. e que formam o subgrupo S6 (Figura 14). Ainda sobre a cepa Zsub, as análises de porcentagem de identidade mostram que a cepa Lory\_B possui a sequência mais próxima (Tabela suplementar 6 e Figura 14).

Já o grupo Azul é constituído pelos subgrupos S7, S8, S9, S10 e a cepa A\_PanBCI\_Calyp16 (esta se agrupa em um subgrupo maior com S8, S9 e S10). Vale destacar a presença das cepas. Vale destacar que as cepas Ekue\_A e wKueUSDA estão, respectivamente nos subagrupamentos S7 e S8 e estão presentes também em *E. kuehniella*. Todas as três cepas de *C. obstructus* (Marsham) estão agrupadas junto com as cepas Ocac\_A\_wVdO, Focc\_A e Aeme\_A\_LW5 presentes em *O. cacaliae*, *F. occulta*, *A. emertoni* no subgrupo no subgrupo S10.



**Figura 14.** Filogenia Bayesiana sem raiz de 62 cepas de Wolbachia resultante do alinhamento de 402 pb do gene *coxA*. O comprimento dos ramos foi desenhado em escala e a confiabilidade dos nós é expressa em probabilidade posterior (%), quando maior que 90% (representada também pelo asterisco). A barra de escala corresponde ao número esperado de substituição por sítio. Na ponta de cada ramo há o nome científico do organismo hospedeiro ou o grupo taxonômico a quem ele pertence, seguido pelo código da cepa de Wolbachia, entre parênteses. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. A árvore está dividida em dois grupos distinguidos pela presença de ramos azuis e escuros. As barras verticais em frente aos ramos indicam os subgrupos. A cepa em azul indica aquela que é mais próxima daquela presente em *Z. subfasciatus* e as cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

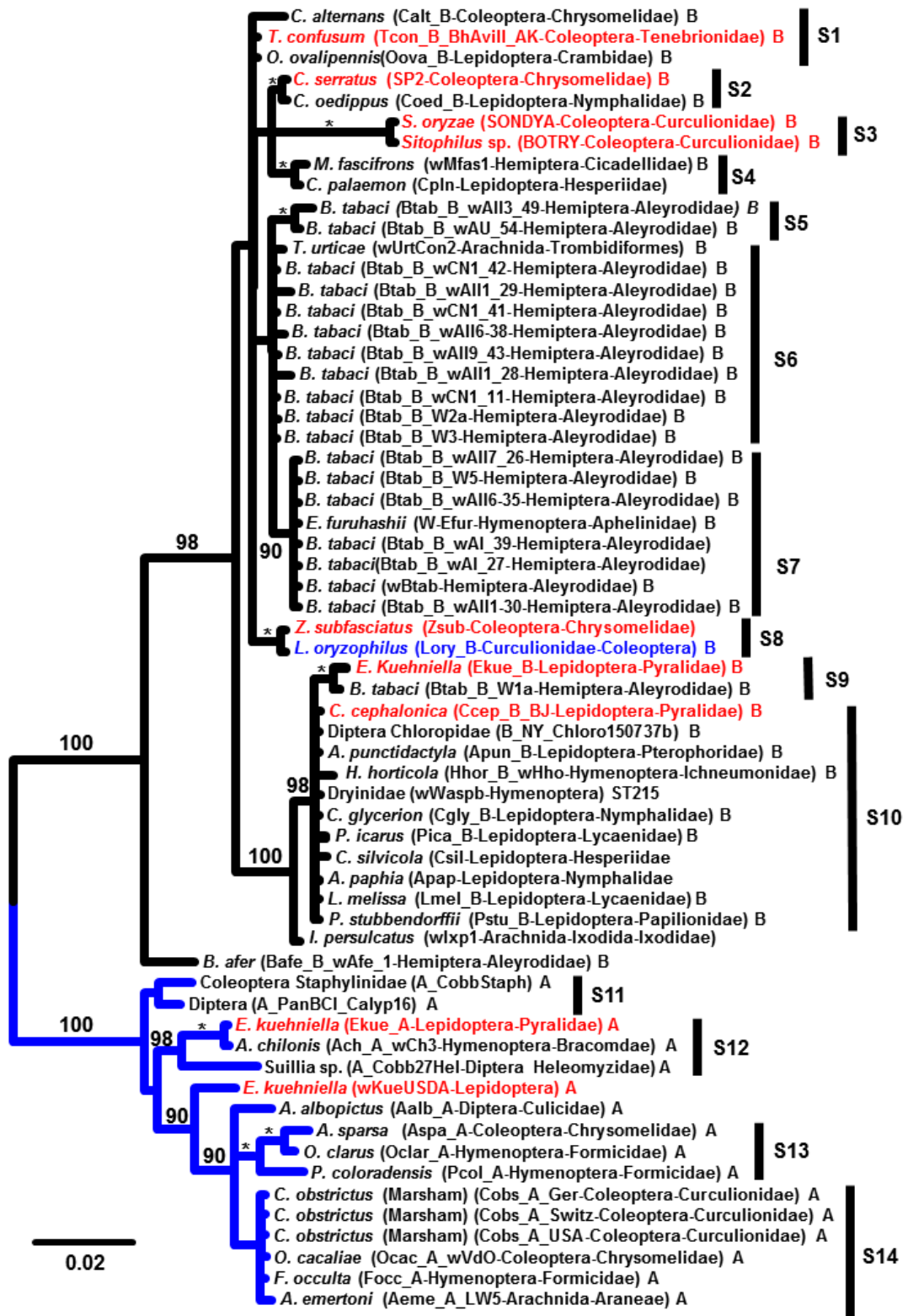
### 3.1.4.3. Gene *hcpA*

A árvore (Figura 15), formada com base no banco de dados W3 apresentou probabilidade a posteriori acima de 90% para a maior parte dos nós, o que demonstra que ela possui um bom suporte. Formou-se dois grupos principais: um composto por cepas pertencentes ao supergrupo A (ramos destacados com cor azul ou grupo Azul) e outro grupo formado por cepas pertencentes ao supergrupo B (ramos destacados com cor escura ou grupo Escuro), exceto as cepas *Zsub*, *Csil*, *Apap*, *wIxp1* e *Cpln* presentes, respectivamente, em *Z. subfasciatus*, *C. silvicola*, *A. paphia*, *I. persulcatus* e *C. palaemon* que não estão classificadas em nenhum dos supergrupos de *Wolbachia*.

O grupo Escuro por sua vez está subdividido em subgrupos S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7 S8, S9, S10 e a cepa *Bafe\_B\_wAfe\_1* presente em *B. afer*. Algumas cepas estão presentes em espécies praga de grãos armazenados, tais como: a cepa *Tcon\_B\_BhAvill\_AK* presente respectivamente em *C. alternans* (que está agrupada com as cepas presentes, respectivamente, em *C. alternans* e *O. ovalipennis* no subgrupo S1); a cepa *SP2* presente em *C. serratus* (que está agrupada com a cepa *Coed\_B* presente em *C. oedippus* no subgrupo S2); as cepas *SONDYA* e *BOTRY* presentes, respectivamente, em *S. oryzae* e *Sitophilus* sp no subgrupo S3; a cepa *Zsub* presente em *Z. subfasciatus* (que se agrupa com a cepa *Lory\_B* presente em *L. oryzophilus* no subgrupo S8); a cepa *Ekue\_B* presente em *E. Kuehniella* (que se agrupa com a cepa *Btab\_B\_W1a* presente em *B. tabaci* no subgrupo S9); a cepa *Ccep\_B\_BJ*, presente em *C. cephalonica* (que se agrupa com cepas presentes em espécies de grupos taxonômicos distintos no subgrupo S10). Ainda sobre a cepa *Zsub*, as análises de porcentagem de identidade mostram que a cepa *Lory\_B* possui 100% de porcentagem de identidade, tratando-se portanto da mesma sequência (Tabela suplementar 7 e Figura 15). Todas as cepas presentes em *B. tabaci* estão distribuídas nos subgrupos S5 (agrupamento das cepas *Btab\_B\_wAII3\_49* e *Btab\_B\_wAU\_54*), S6 (na qual está agrupada também a cepa *wUrtCon2* presente em *T. urticae*), S7 (na qual está agrupada também a cepa *W-Efur* presente em *E. furuhashii*) e S9 (na qual está a cepa *Btab\_B\_W1a* como já foi mencionado um pouco acima) (Figura 15).

O grupo Azul por sua vez é constituído pelos subgrupos S11, S12, S13 e S14 e as cepas *wKueUSDA* e *Aalb\_A*. Na espécie *E. kuehniella*, além da presença de *wKueUSDA* está presente a cepa *Ekue\_A* (agrupada no subgrupo S12, junto com as cepas *Ach\_A\_wCh3* e *A\_Cobb27Hel* presentes, respectivamente, em *A. chilonis* e *Suillia* sp. Todas as três cepas de

*C. obstrictus* (Marsham) estão agrupadas junto com as cepas *Ocac\_A\_wVdO*, *Focc\_A*, *Aeme\_A\_LW5* presentes em *O. cacaliae*, *F. occulta*, *A. emertoni* no subgrupo S14 (Figura 15).



**Figura 15.** Filogenia Bayesiana sem raiz de 62 cepas de Wolbachia resultante do alinhamento de 444 pb do gene hcpA. O comprimento dos ramos foi desenhado em escala e a confiabilidade dos nós é expressa em probabilidade posterior (%), quando maior que 90% (representada também pelo asterisco). A barra de escala corresponde ao número esperado de substituição por sítio. Na ponta de cada ramo há o nome científico do organismo hospedeiro ou o grupo taxonômico a quem ele pertence, seguido pelo código da cepa de Wolbachia, entre parênteses. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. A árvore está dividida em dois grupos distinguidos pela presença de ramos azuis e escuros. As barras verticais em frente aos ramos indicam os subgrupos. A cepa em azul indica aquela que é mais próxima daquela presente em *Z. subfasciatus* e as cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

#### 3.1.4.4. Gene *ftsZ*

Esta árvore (Figura 16), formada com base no banco de dados W4 apresentou probabilidade a posteriori abaixo de 90% para todos os nós, o que demonstra que ela possui um bom suporte. Formou-se dois grupos principais: um composto por cepas pertencentes ao supergrupo A (ramos destacados com cor azul ou grupo Azul) e outro grupo formado por cepas em sua maioria pertencentes ao supergrupo B, com exceção da cepa *Ach\_A\_wCh3* que pertence ao supergrupo A e está presente em *A. chilonis* (Hymenoptera) e as cepas *Zsub*, *Csil*, *Apap*, *wIxp1* e *Cpln* presentes, respectivamente, em *Z. subfasciatus*, *C. silvicola*, *A. paphia*, *I. persulcatus* e *C. palaemon* que não estão classificadas em nenhum dos supergrupos de *Wolbachia*. (ramos destacados com cor escura ou grupo Escuro).

O grupo Escuro é constituído pelos subgrupos S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7 e S8 e a cepa *Ach\_A\_wCh3* que está presente em *A. chilonis* que permanece isolada em relação aos outros subagrupamentos. Algumas cepas estão presentes em espécies praga de grãos armazenados, tais como: as cepas *Tcon\_B\_BhAvill\_AK*, *Ccep\_B\_BJ* e *Ekue\_B* presente, respectivamente, em *T. confusum*, *C. cephalonica* e *E. kuehniella* (agrupadas com outras cepas presentes em espécies hospedeiras de diferentes táxons no subgrupo S1); as cepas *SP2*, *SONDYA* e *BOTRY* presentes, respectivamente em *C. serratus*, *S. oryzae*, *Sitophilus* sp. e que constituem o subgrupo S4; a cepa *Zsub* presente em *Z. subfasciatus* (que se agrupa com a cepa *Cpln* presente em *C. palaemon* no subgrupo S8). Ainda sobre a cepa *Zsub*, as análises de porcentagem de identidade mostram que a cepa *Cpln* possui a sequência mais próxima (Tabela suplementar 8 e Figura 16). Todas as cepas presentes em *B. tabaci* estão distribuídas nos subgrupos S1, S5, S6, agrupadas com outras cepas presentes em espécies hospedeiras de diferentes táxons (Figura 17). Vale destacar o agrupamento da cepa *W-Efur* (presente em *E. furuhashii*) com cepas de *B. tabaci* em S6 (Figura 16).

O grupo Azul é composto pelos subgrupos S9, S10 e S11 e pelas cepas *Aalb\_A*, *Oclar\_A* e *Aspa\_A* presentes em *A. albopictus*, *O. clarus*, e *Acromis sparsa*. Na espécie *E. kuehniella* temos as cepas *Ekue\_A* e *wKueUSDA* presentes respectivamente no subagrupamento S11, junto com a cepa *A\_PanBCI\_Calyp16*. Todas cepas presentes em *C. obstrictus* (Marshall) estão agrupadas com as cepas presentes em *O. cacaliae*, *F. occulta*, *A. emertoni* e *P. coloradensis* no subgrupo S9. É preciso enfatizar que *Aalb\_A* está agrupada com S9, S10 e S11 em um subgrupo maior. Já *Aspa\_A* e *Oclar\_A* permanecem isoladas em relação a estes três subgrupos (Figura 16).



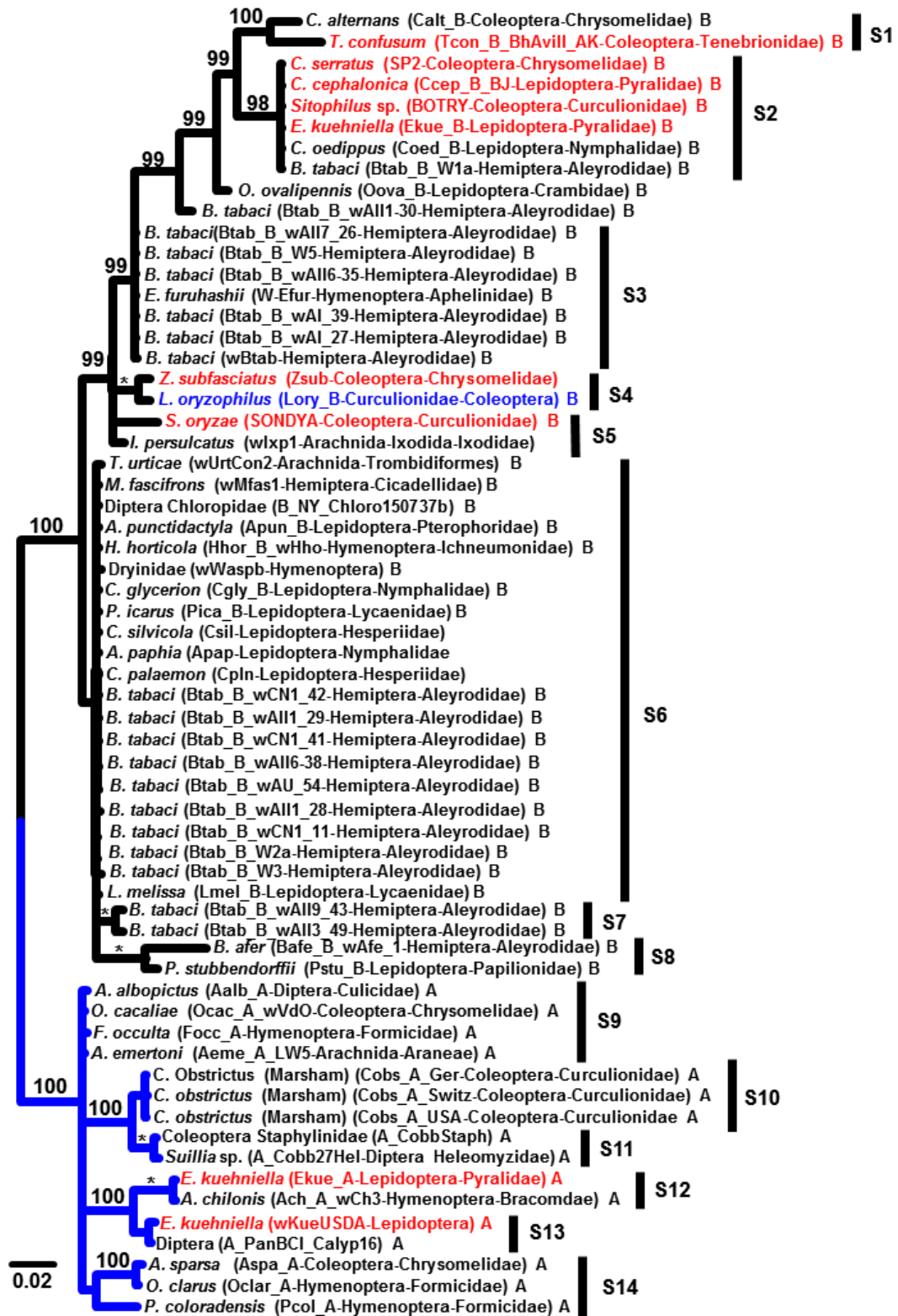
**Figura 16.** Filogenia Bayesiana sem raiz de 62 cepas de Wolbachia resultante do alinhamento de 435 pb do gene *ftsZ*. O comprimento dos ramos foi desenhado em escala e a confiabilidade dos nós é expressa em probabilidade posterior (%), quando maior que 90% (representada também pelo asterisco). A barra de escala corresponde ao número esperado de substituição por sítio. Na ponta de cada ramo há o nome científico do organismo hospedeiro ou o grupo taxonômico a quem ele pertence, seguido pelo código da cepa de Wolbachia, entre parênteses. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. A árvore está dividida em dois grupos distinguidos pela presença de ramos azuis e escuros. As barras verticais em frente aos ramos indicam os subgrupos. A cepa em azul indica aquela que é mais próxima daquela presente em *Z. subfasciatus* e as cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

### 3.1.4.5. Gene *fbpA*

Esta árvore (Figura 17), formada com base no banco de dados W5 apresentou probabilidade a posteriori abaixo de 90% para a maioria todos os nós, o que demonstra que ela possui um bom suporte. Formou-se dois grupos principais: um composto por cepas pertencentes ao supergrupo A (ramos destacados com cor azul ou grupo Azul) e outro grupo formado por cepas pertencentes ao supergrupo B, exceto as cepas Zsub, Csil, Apap, wIxp1 e Cpln presentes, respectivamente, em *Z. subfasciatus*, *C. silvicola*, *A. paphia*, *I. persulcatus* e *C. palaemon* que não estão classificadas em nenhum dos supergrupos de *Wolbachia* (ramos destacados com cor escura ou grupo Escuro).

O grupo Escuro é subdividido nos subgrupos S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7 e S8 e as cepas Oova\_B e Btab\_B\_wAII1-30 presentes em *O. ovalipennis* e *B. tabaci*. Algumas cepas estão presentes em espécies praga de grãos armazenados, tais como: a cepa Tcon\_B\_BhAvill\_AK presente em *T. confusum* (agrupada com a cepa presente em *C. alternans* no subgrupo S1); as cepas Ccep\_B\_BJ, BOTRY e Ekue\_B presente respectivamente em *C. serratus*, *C. cephalonica*, *Sitophilus* sp. e *E. kuehniella* (agrupadas com as cepas Coed\_B e Btab\_B\_W1a presentes, respectivamente, em *C. oedippus*, *B. tabaci* no subgrupo S2); a cepa Zsub presente em *Z. subfasciatus* (que se agrupa com a cepa Lory\_B presente em *L. oryzoophilus* no subgrupo S4); a cepa SONDYA presente em *S. oryzae* (agrupada com a cepa wIxp1 presente em *I. persulcatus* no subagrupamento S5); Ainda sobre a cepa Zsub, as análises de porcentagem de identidade mostram que a cepa Lory\_B possui 100% de porcentagem de identidade, tratando-se portanto da mesma sequência (Tabela suplementar 9 e Figura 17). Todas as cepas presentes em *B. tabaci* estão distribuídas nos subgrupos S2, S3, S6, agrupadas com outras cepas presentes em espécies hospedeiras de diferentes táxons, além das cepas Btab\_B\_wAII9\_43 e Btab\_B\_wAII3\_49 formando o subgrupo S7 e a cepa Btab\_B\_wAII1-30 que não está em nenhum dos subgrupos mencionados. (Figura 17). Vale destacar o agrupamento da cepa W-Efur (presente em *E. furuhashii*) com cepas de *B. tabaci* em S3 (Figura 17).

O grupo Azul é constituído pelos subgrupos S9, S10, S11, S12, S13 e S14. Na espécie *E. kuehniella* temos as cepas Ekue\_A e wKueUSDA presentes respectivamente nos subagrupamento S12 e S13. E S10 é constituído apenas pelas cepas presentes em *C. Obstrictus* (Marshall) (Figura 17).



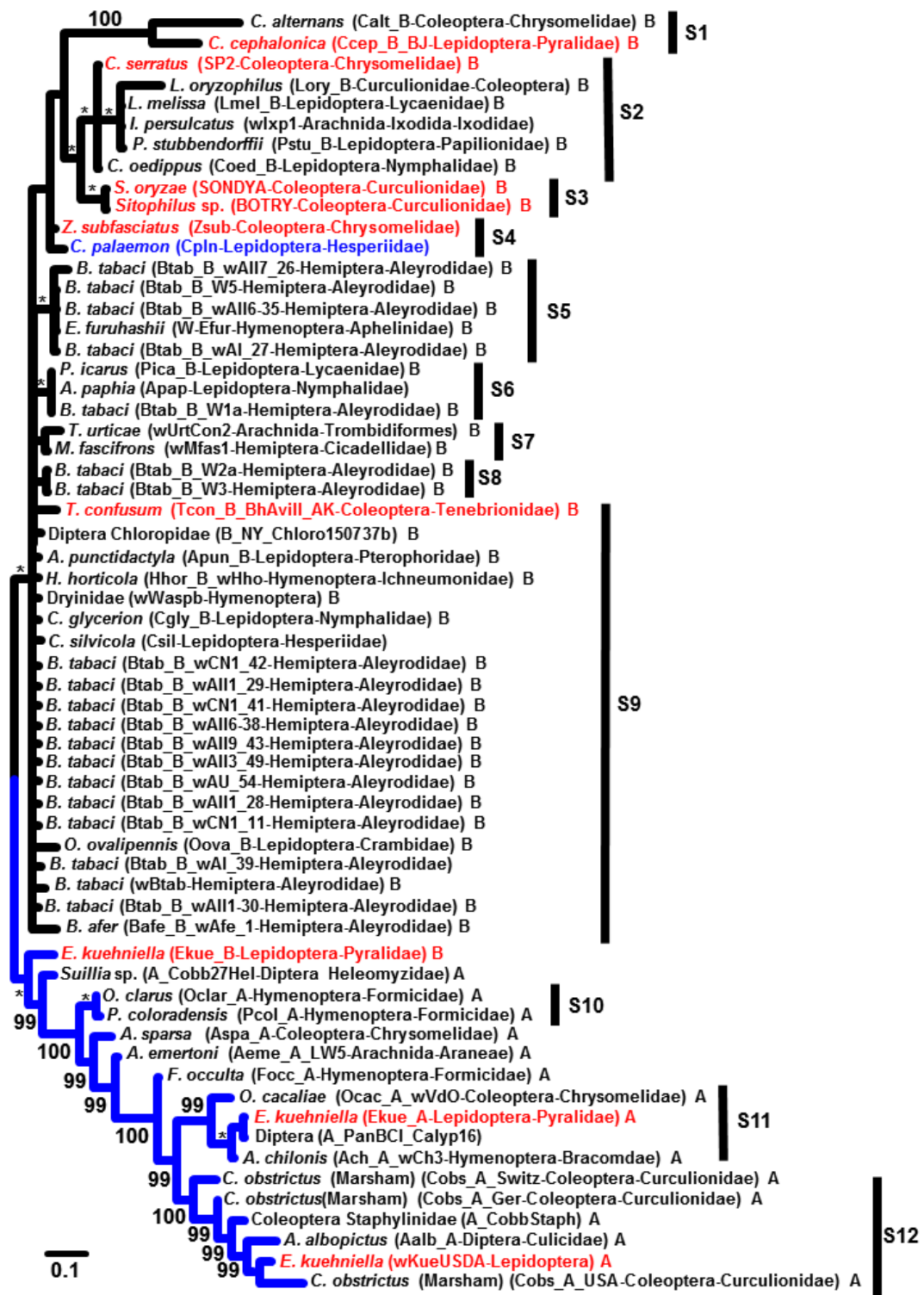
**Figura 17.** Filogenia Bayesiana sem raiz de 62 cepas de Wolbachia resultante do alinhamento de 429 pb do gene *fbpA*. O comprimento dos ramos foi desenhado em escala e a confiabilidade dos nós é expressa em probabilidade posterior (%), quando maior que 90% (representada também pelo asterisco). A barra de escala corresponde ao número esperado de substituição por sítio. Na ponta de cada ramo há o nome científico do organismo hospedeiro ou o grupo taxonômico a quem ele pertence, seguido pelo código da cepa de Wolbachia, entre parênteses. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. A árvore está dividida em dois grupos distinguidos pela presença de ramos azuis e escuros. As barras verticais em frente aos ramos indicam os subgrupos. A cepa em azul indica aquela que é mais próxima daquela presente em *Z. subfasciatus* e as cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

### 3.1.4.6. Gene wsp

A árvore (Figura 18) formada com base no banco de dados W6 apresentou probabilidade a posteriori acima de 90% para a maior parte dos nós, o que demonstra que ela possui um bom suporte. Formou-se dois grupos principais: um composto em sua maioria por cepas pertencentes ao supergrupo A com exceção da cepa Btab\_B\_W5 presente em *E. kuehniella* (Ordem Hemiptera) (ramos destacados com cor azul ou grupo Azul) e outro grupo formado por cepas pertencentes ao supergrupo B, exceto as cepas Zsub, Csil, Apap, wIxp1 e Cpln presentes, respectivamente, em *Z. subfasciatus*, *C. silvicola*, *A. paphia*, *I. persulcatus* e *C. palaemon* que não estão classificadas em nenhum dos supergrupos de *Wolbachia* (ramos destacados com cor escura ou grupo Escuro).

O grupo Escuro é constituído pelos subgrupos S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8 e S9. Algumas cepas estão presentes em espécies praga de grãos armazenados, tais como: a cepa Ccep\_B\_BJ presente em *C. cephalonica* (agrupada com a cepa presente em *C. alternans* no subgrupo S1); a cepa SP2 presente em *C. serratus* (agrupada com as cepas presentes em *L. oryophilus*, *L. melissa*, *I. persulcatus*, *P. stubbendorffii* e *C. oedippus* no subgrupo S2); a cepa SONDYA e BOTRY presente, respectivamente em *S. oryzae* e *Sitophilus* sp. (que se agrupam no subgrupo S3); a cepa Zsub presente em *Z. subfasciatus* (que se agrupa com a cepa Cpln presente em *C. palaemon* no subgrupo S4); e a cepa Tcon\_B\_BhAvill\_AK presente em *T. confusum* (que se agrupa com inúmeras cepas de presentes em diferentes táxons no subgrupo S9). Ainda sobre a cepa Zsub, as análises de porcentagem de identidade mostram que a cepa Cpln possui a sequência mais próxima (Tabela suplementar 10 e Figura 18). Todas as cepas presentes em *B. tabaci* estão distribuídas nos subgrupos S5, S6, S8 e S9, agrupadas com outras cepas presentes em espécies hospedeiras de diferentes táxons (Figura 18). Vale destacar o agrupamento da cepa W-Efur (presente em *E. furuhashii*) com cepas de *B. tabaci* em S5 (Figura 18).

Já o grupo Azul é constituído pelos subgrupos S10, S11 e S12 e as cepas Ekue\_B, A\_Cobb27Hel, Aspa\_A, Aeme\_A\_LW5 e Focc\_A. Em relação as cepas presentes em *E. kuehniella* (praga de grãos armazenados), além de Ekue\_B, outras cepas podem ser encontradas em S11 (cepa Ekue\_A) e S12 (cepa wKueUSDA). Ainda sobre o subgrupo S12, além de wKueUSDA, estão agrupadas todas as cepas presentes em *C. obstructus* (Marsham), a cepa presente em *A. albopictus* e a cepa A\_CobbStaph (Figura 18).



**Figura 18.** Filogenia Bayesiana sem raiz de 62 cepas de Wolbachia resultante do alinhamento de 537 pb do gene wsp. O comprimento dos ramos foi desenhado em escala e a confiabilidade dos nós é expressa em probabilidade posterior (%), quando maior que 90% (representada também pelo asterisco). A barra de escala corresponde ao número esperado de substituição por sítio. Na ponta de cada ramo há o nome científico do organismo hospedeiro ou o grupo taxonômico a quem ele pertence, seguido pelo código da cepa de Wolbachia, entre parênteses. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. A árvore está dividida em dois grupos distinguidos pela presença de ramos azuis e escuros. As barras verticais em frente aos ramos indicam os subgrupos. A cepa em azul indica aquela que é mais próxima daquela presente em *Z. subfasciatus* e as cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

### 3.1.5. Análise das sequências de aminoácido e do perfil WSP

Foi realizada uma reconstrução *in silico*, em nível de aminoácido, de todas as sequências do gene *wsp* para as 62 cepas analisadas e para fins de análise, ela foi dividida em 4 motivos denominados de HVR (Região de Hiper-variação). Em todos os quatro motivos pode-se perceber que as sequências se distinguem de forma muito marcante, quando se compara a maioria dos supergrupos A e B. Comparando as cepas presentes em espécies de grãos armazenados percebe-se que as cepas *wKueUSDA*, *Ekue\_A* e *Ekue\_B* do supergrupo A e que estão presentes em *E. kuehniella* possuem sequências completamente diferentes das cepas do supergrupo B presentes também em insetos pragas de grãos (Figuras 19 e 20). Fazendo a mesma comparação entre esses dois supergrupos pela análise do perfil WSP, percebe-se que não há nenhum indício compartilhamento de alelo entre ambos os supergrupos de *Wolbachia* (Tabela Suplementar 11).

Comparando a nível de motivo HVR as sequências da cepa *Zsub* presente em *Z. subfasciatus* com as demais constata-se que:

Em HVR1 a sequência de *Zsub* são idênticas as das cepas presentes em *T. urticae*, *A. punctidactyla*, *C. glycerion*, *M. fascifrons*, *C. silvicola*, *H. horticola*, *C. oedippus*, *C. serratus* e as cepas *Btab\_B\_wAI\_39*, *Btab\_B\_W2a*, *Btab\_B\_W3*, *Btab\_B\_wCN1\_11*, *Btab\_B\_wAII1\_28*, *Btab\_B\_wAU\_54*, *Btab\_B\_wAII9\_43*, *Btab\_B\_wAII6-38*, *Btab\_B\_wCN1\_42*, *Btab\_B\_wAII1\_29*, *Btab\_B\_wAII1-30* presentes em *B. tabaci* e as cepas *wWaspb* e *B\_NY\_Chloro150737b* presentes, respectivamente, em organismos da Ordem Hymenoptera e Diptera (Figuras 19 e 20). Esse resultado pode ser constatado na análise de perfil WSP das cepas (Tabela Suplementar 11).

Em HVR2 as cepas com as sequências mais similares de *Zsub* são as que estão presentes em *T. urticae*, *A. punctidactyla*, *C. glycerion*, *M. fascifrons*, *C. silvicola*, *H. horticola*, *A. paphia*, *P. icarus*, *O. ovalipennis*, *T. confusum*, as cepas *wBtab*, *Btab\_B\_wAI\_39*, *Btab\_B\_wCN1\_11*, *Btab\_B\_wCN1\_41*, *Btab\_B\_wAII1\_28*, *Btab\_B\_wAU\_54*, *Btab\_B\_wAII9\_43*, *Btab\_B\_wAII6-38*, *Btab\_B\_wCN1\_42*, *Btab\_B\_wAII1\_29*, *Btab\_B\_wAII3\_49*, *Btab\_B\_wAII1-30*, *Btab\_B\_W1a* presentes em *B. tabaci* e as cepas *wWaspb* e *B\_NY\_Chloro150737b* presentes, respectivamente, em organismos da Ordem Hymenoptera e Diptera (Figuras 19 e 20). Esse mesmo resultado pode ser constatado pela análise do perfil WSP e pela análise de identidade do motivo HVR2 das

cepas (Tabela Suplementar 12). O que difere essas cepas de Zsub em relação ao motivo HVR2 é apenas a troca do aminoácido lisina pelo de Treonina na posição 64. No que diz respeito ao alelo para a sequência do motivo HVR2 de Zsub, esta não compartilha alelo com nenhuma outra cepa (Tabela Suplementar 4). Já comparação o banco de dados total de WSP de Wolbachia no site do PubMLST (PubMLST-Universidade de Oxford) também demonstrou que o alelo de HVR2 em Zsub são exclusivos desta cepa.

Em HVR3, a sequência de Zsub são idênticas as cepas presentes em *T. urticae*, *A. punctidactyla*, *C. glycerion*, *M. fascifrons*, *C. silvicola*, *H. horticola*, *A. paphia*, *P. icarus*, *T. confusum*, e as cepas Btab\_B\_W3, Btab\_B\_wCN1\_11, Btab\_B\_wCN1\_41, Btab\_B\_wAII1\_28, Btab\_B\_wAU\_54, Btab\_B\_wAII9\_43, Btab\_B\_wAII6-38, Btab\_B\_wCN1\_42, Btab\_B\_wAII1\_29, Btab\_B\_wAII3\_49, Btab\_B\_wAII1-30, Btab\_B\_W1a presentes em *B. tabaci* e as cepas wWaspb e B\_NY\_Chloro150737b presentes, respectivamente, em organismos da Ordem Hymenoptera e Diptera. (Figuras 19 e 20). Esse resultado pode ser constatado na análise de perfil WSP das cepas (Tabela Suplementar 11).

Em HVR4, a sequência de Zsub são idênticas as cepas presentes em *I. persulcatus*, *P. stubbendorffii*, *L. melissa*, *C. serratus* (Figura 19 e 20). Esse resultado pode ser constatado na análise de perfil WSP das cepas (Tabela Suplementar 11).

Fazendo uma análise de identidade da proteína WSP como um todo, a cepa com a sequência com maior similaridade ou identidade é a cepa Cpln presente em *C. palaemon* (Tabela suplementar 13).

```

Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia) [          HVR1          ] [          HVR2          ]
[1          38] [39          88]
[*          *] [*          *]
Z.subfasciatus (Zsub)          TKVDGIT-NATGKEK-----SPLTRSFIAGGGAFGYKM          DDIRVDVEGLYSQLAKDTAVVNTSEK--NVADSLTAFSGLVNVYYDIAIE
L.oryzophilus (Lory_B) B          ...N...-.K.....-----.....          .....T..AT..FDN---KA...V.....
T.urticae (wUrtCon2) B          .....-----.....          .....T-----
A.punctidactyla (Apun_B) B          .....-----.....          .....T-----
C.glycerion (Cgly_B) B          .....-----.....          .....T-----
Hymenoptera Dryinidae (wWaspb) B          .....-----.....          .....T-----
Diptera Chloropidae (B_NY_Chloro150737b) B          .....-----.....          .....T-----
M.fascifrons (wMfas1)          .....-----.....          .....T-----
C.silvicola (Csil)          .....-----.....          .....T-----
H.horticola (Hhor_B_wHho) B          .....-----.....          .....T-----
A.paphia (Apap)          .....-.KD.-----.....          .....T-----
P. icarus (Pica_B) B          .....-.KD.-----.....          .....T-----
I.persulcatus (wIxp1) B          ...N.....-----.....          .....T..AT..SDN---KA...V.....
C.palaemon (Cpln)          .....K-.A.....-----.....          .....T..A..T-----
C.oedippus (Coed_B) B          .....-----.....          .....T..AT..SDN---KA...V.....
B.tabaci (wBtab) B          .....-----.....          .....T-----
B.tabaci (Btab_B_W5) B          .T.....-----.....          .....L..T-----
B.tabaci (Btab_B_wAII7_26) B          .T.....-----.....          .....L..T-----
B.tabaci (Btab_B_wAI_39) B          .....-----.....          .....T-----
E.furuhashii (W-Efur) B          .T.....-----.....          .....L..T-----
B.tabaci (Btab_B_wAII6-35) B          .T.....-----.....          .....L..T-----
B.tabaci (Btab_B_W2a) B          .....-----.....          .....D..T-----
P.stubbendorffii (Pstu_B) B          ...N...-T.....-----.....          .....T..AT..SDN---KA...V.....
L.melissa (Lmel_B) B          ...N.....-----.....          .....T..AT..SDN---KA...V.....
B.tabaci (Btab_B_wAI_27) B          .T.....-----.....          .....L..T-----
O.ovalipennis (Oova_B) B          .....-Q.....-F.....          .....D..T-----
B.tabaci (Btab_B_W3) B          .....-----.....          .....T-----
B.tabaci (Btab_B_wCN1_11) B          .....-----.....          .....T-----
B.tabaci (Btab_B_wCN1_41) B          .....-----.....          .....T-----
B.tabaci (Btab_B_wAIII_28) B          .....-----.....          .....T-----
B.tabaci (Btab_B_wAU_54) B          .....-----.....          .....T-----
B.tabaci (Btab_B_wAII9_43) B          .....-----.....          .....T-----
B.tabaci (Btab_B_wAII6-38) B          .....-----.....          .....T-----
B.tabaci (Btab_B_wCN1_42) B          .....-----.....          .....T-----
C.serratus (SP2) B          .....-----.....          .....T..AT..SDN---KA...V.....
B.tabaci (Btab_B_wAIII_29) B          .....-----.....          .....T-----
B.tabaci (Btab_B_wAIII_49) B          .....-----.....          .....T-----

```

**Figura 19.** Primeira parte do alinhamento a nível de aminoácido de 62 seqüências de WSP com 179 aa reconstruídas in silico, a partir de suas respectivas seqüências de DNA de 537 pb. A cadeia é dividida em quatro motivos de aminoácidos chamados HVRs (do inglês Hyper-variable regions ou regiões hiper-variáveis). Nesta figura estão representados apenas os motivos HVR 1 e 2. Cada ponto indica similaridade com a seqüência WSP de *Z. subfasciatus* (Zsub). Os números e asteriscos indicam o início e fim de cada motivo bem como o início e fim de cada seqüência. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. As cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

## Continuação

Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)	[	HVR1	]	[	HVR2	]
	[1			38]	[39	88]
	[*			*]	[*	*]
<i>S.oryzae</i> (SONDYA) B	.....	..A.....	-----	.....	.....	..AT...D--NKA...V.....
<i>B.tabaci</i> (Btab_B_wAII1-30) B	.....	.....	-----	.....	.....	.....T--.....
<i>B.tabaci</i> (Btab_B_W1a) B	.....	.....	-----	.....	.....	.....T--.....
<i>C.cephalonica</i> (Ccep_B_BJ) B	RI...	E-YKK.T.VH----	D..KA..M..A.....	.....	.....	.....N.NDVSGA-TFTPTT..N.VA.....
<i>T.confusum</i> (Tcon_B_BhAvill_AK) B	..E...	..V.....	-----	.....	.....	.....T--.....
<i>Sitophilus</i> sp (BOTRY) B	.....	..A.....	-----	.....	.....	.....AT...D--NKA...V.....
<i>B.afer</i> (Bafe_B_wAfe_1) B	.....	.....	-----	.....	.....	.....V...K...D...T--D.....
<i>E.kuehniella</i> (Ekue_B) B	..I..V.-YKS..DNN----	..KP..L.....	.....	.....	.....	.....S..AD..D--TSPA.VE.....
<i>C.alternans</i> (Calt_B) B	.....	K-YEKESKAQ----	D..KA.....	.....	.....	.....I.....N.NDVTGA-AFTPDT..NV.....
<i>A.chilonis</i> (Ach_A_wCh3) A	.....	A.GAKKKTADTGTTTDLYKA..M.....L.....	.....	.....	.....	.....S...L-DVAPTP--AI.....
<i>A.albopictus</i> (Aalb_A) A	.....	..YKSD.SDY----	..KP.....	.....	.....	.....V..Y.N.NDVKDVVFTPADTI.N...I.....
<i>O.clarus</i> (Oclar_A) A	.....	A.GAKKKNADAGTTTDLKA..M.....	.....	.....	.....	.....S...L-EKAPDP--AI.....I.....
<i>E.kuehniella</i> (wKueUSDA) A	.....	..YKDNSDY----	..KA..L.....	.....	.....	.....V..Y.N.NNVTDFRFTP-DTI..V..I.....
<i>C.obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_Switz) A	.....	A-HKS..DNN----	..KA.....	.....	.....	.....W.N..AD..G----DT..E...I.....V...
<i>O.cacaliae</i> (Ocac_A_wVdO) A	.....	A.GAKKKTADTGTTTDLYKA..M.....	.....	.....	.....	.....S.N.L-DVAPTP--AI.E...I.....
<i>C.obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_USA) A	.....	..YKDNNDY----	..KA.....	.....	.....	.....W.N..AD..G----DT..N...I.....V...
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph) A	.....	..YKDNNDY----	..KA.....	.....	.....	.....V...S.NNVTGAAFNPDT-...I.....
<i>A.emertoni</i> (Aeme_A_LW5) A	..I..V.GLKKKTGDTADTTDLYNA.....	.....	.....	.....	.....	.....I..W.N...N.TG.AVPG-A..E...I.....V...
<i>E.kuehniella</i> (Ekue_A) A	.....	A.GAKKKTADTDTTTDLYKA..M.....	.....	.....	.....	.....S...L-DVAPTP--AI.....
<i>Suillia</i> sp (A_Cobb27Hel) A	.....	A-HKS..DNN----	..KA.....	.....	.....	.....W.N..AD..G--DT--..N...I.....V...
<i>C.obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_Ger) A	.....	..YKDNNDY----	..KA.....	.....	.....	.....V...S.NNVTGAAFNP-DT...I.....
<i>A.sparsa</i> (Aspa_A) A	.....	V.GLKKKTDTDTTDTTDLA..A..M.....	.....	.....	.....	.....V...N...T.TG..VPAEGI.NN...I.....
<i>F.occulta</i> (Focc_A) A	..I..V.GLKKKTGDTADTTDLYNA.....	.....	.....	.....	.....	.....I..W.N...N.TG.AVPG-A..E...I.....V...
Diptera (A_PanBCI_Calyp16) A	.....	A.GAKKKTADTDTTTDLYKA..M.....	.....	.....	.....	.....S...L-DVAPTP--AI.....
<i>P.coloradensis</i> (Pcol_A) A	.....	A.GAKKKNADAGTTTDLKA..M.....	.....	.....	.....	.....S...L-EKAPDP--AI.....I.....

**Figura 19.** Primeira parte do alinhamento a nível de aminoácido de 62 sequências de WSP com 179 aa reconstruídas in silico, a partir de suas respectivas sequências de DNA de 537 pb. A cadeia é dividida em quatro motivos de aminoácidos chamados HVRs (do inglês Hyper-variable regions ou regiões hiper-variáveis). Nesta figura estão representados apenas os motivos HVR 1 e 2. Cada ponto indica similaridade com a sequência WSP de *Z. subfasciatus* (Zsub). Os números e asteriscos indicam o início e fim de cada motivo bem como o início e fim de cada sequência. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. As cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.



## Continuação

Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)	[	HVR3	]	[	HVR4	]
	[89			140]	[141	179]
	[*			*]	[*	*]
<i>S.oryzae</i> (SONDYA) B	.....I.....E.....-	.....L.....				
<i>B.tabaci</i> (Btab_B_wAII1-30) B	.....-.....	.....D.A-----D--DTG-.KN.				
<i>B.tabaci</i> (Btab_B_W1a) B	.....-.....	.....D.A-----A.D--DTG-.KN.				
<i>C.cephalonica</i> (Ccep_B_BJ) B	.....E.S.....-	.....A.....				
<i>T.confusum</i> (Tcon_B_BhAvill_AK) B	.....-.....	.....D.A-----A.D--DAG-.KN.				
<i>Sitophilus</i> sp (BOTRY) B	.....I.....E.....-	.....L.....				
<i>B.afer</i> (Bafe_B_wAfe_1) B	.....V.....-	.....D.A-----A.D--DTG-.KN.				
<i>E.kuehniella</i> (Ekue_B) B	.....V...LVTEITG.K.S.....	.....Y.....N.G.T-----A.D--DGG-.K-				
<i>C.alternans</i> (Calt_B) B	.....I.....L.....G...R-.L...G.V.....	.....Y.....K.A----A.TN.D-----				
<i>A.chilonis</i> (Ach_A_wCh3) A	.....T.LAT-.SS.NGK.A..G..R.....I.....	.....Y.....F..H.D.D---AA.S.D---KGEK-				
<i>A.albopictus</i> (Aalb_A) A	.....V.T.L.T-.INN.NSK...G.V.....V.....	.....Y.....F..H.D-SETGADNKKVVK--DAYK-				
<i>O.clarus</i> (Oclar_A) A	.....I.....V...LATKVTD.KAS...V.....	.....Y.....N.G.A-----A.D--DAG-.K-				
<i>E.kuehniella</i> (wKueUSDA) A	.....T.L.D-.N...SK...G.V.....V.....	.....Y.....N.D.S-----G-E.D---KGGHT-				
<i>C.obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_Switz) A	.....T.LAT-.SS.NGK.A..G..R.....V.....	.....Y.....N.D.T-----D.D--GKGEK-				
<i>O.cacaliae</i> (Ocac_A_wVdO) A	.....I.....S.LET-.N...NK...G.V.....	.....Y.....F..H.D.D---AA.N.D---KGEFK-				
<i>C.obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_USA) A	.....I.....T.L.T-.IN..NSK...G.V.....	.....Y.....N.DSD----SKKD.----GGHA-				
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph) A	.....I.....T.L.E-.N...SK...G.V.....	.....Y.....F..H.Y.D---D.T.S.D---KGEK-				
<i>A.emertoni</i> (Aeme_A_LW5) A	.....I.A.....N..LATKVTG.KDS...V.....	.....Y.....N.G.T-----A.D--DAG-.K-				
<i>E.kuehniella</i> (Ekue_A) A	.....T.LAT-.SS.NGK.A..G..R.....I.....	.....Y.....F..H.D.D---AA.S.D---KGEK-				
<i>Suillia</i> sp (A_Cobb27Hel) A	.....I.....V...LATKVTD.KAS...V.....V.....	.....Y.....N.G.T-----A.D--DSG-.K-				
<i>C.obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_Ger) A	.....T.LAT-.SS.NGK.A..G..R.....V.....	.....Y.....N.D.T-----D.D--GKGEK-				
<i>A.sparsa</i> (Aspa_A) A	.....I.....V...LAKKVTG.KAS...V.....	.....Y.....N.G.A-----KGD---AG-.K-				
<i>F.occulta</i> (Focc_A) A	.....T.LAT-.SS.NGK.A..G..R.....V.....	.....Y.....N.D.T-----D.D--GKGEK-				
Diptera (A_PanBCI_Calyp16) A	.....T.LAT-.SS.NGK.A..G..R.....I.....	.....Y.....F..H.D.N---AA.S.D---KGEK-				
<i>P.coloradensis</i> (Pcol_A) A	.....I.....V...LATKVTD.KAS...V.....I.....	.....Y.....N.G.T-----D--DAG-.K-				

**Figura 20.** Continuação da segunda parte do alinhamento a nível de aminoácido de 62 sequências de WSP com 179 aa reconstruídas in silico, a partir de suas respectivas sequências de DNA de 537 pb. A cadeia é dividida em quatro motivos de aminoácidos chamados HVRs (do inglês Hyper-variable regions ou regiões hiper-variáveis). Nesta figura estão representados apenas os motivos HVR 3 e 4. Cada ponto indica similaridade com a sequência WSP de *Z. subfasciatus* (Zsub). Os números e asteriscos indicam o início e fim de cada motivo bem como o início e fim de cada sequência. As letras A e B representam os Supergrupos A e B de Wolbachia. As cepas em vermelho indicam aquelas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

### 3.1.6. Genótipo MLST e WSP de cepas presentes em grãos armazenados.

Os resultados mostraram em relação ao genótipo MLST que as cepas com o maior nível de compartilhamento de alelos são as cepas SONDYA e BOTRY presentes, respectivamente em *S. oryzae* e *Sitophilus* sp, no que diz respeito aos loci *gatB*, *coxA*, *hcpA* e *ftsZ*. As cepas Zsub e SP2 presentes, respectivamente em *Z. subfasciatus* e *C. serratus*, compartilham o alelo 9 no locus *gatB*. Já as cepas Ccep\_B\_BJ e Ekue\_B presentes em *C. cephalonica* e *E. kuehniella*, além da cepa SP2 compartilham o alelo 14 do locus *coxA*. Já as cepas wKueUSDA e Ekue\_A presentes também em *E. kuehniella* compartilham o alelo 3 do locus *ftsZ*. E por fim as cepas SP2, Ccep\_B\_BJ, BOTRY e Ekue\_B compartilham o alelo 4 do locus *fbpA*. Por fim a cepa Tcon\_B\_BhAvill\_AK não compartilha nenhum alelo de MLST com outras cepa citadas (Tabela 3).

Já em relação ao genótipo WSP as cepas SONDYA e BOTRY compartilham os mesmos alelos, tendo portanto a mesma sequência do alelo do gene *wsp*. Zsub e SP2 compartilham o alelo 2 do locus HVR1; Zsub e Tcon\_B\_BhAvill\_AK compartilham o alelo 3 do locus HVR3; Zsub e SP2 compartilham o alelo 102 do locus HVR4. As cepas Ccep\_B\_BJ, Ekue\_B, wKueUSDA e Ekue\_A não compartilham nenhum alelo de WSP (Tabela 4).

Não há também nenhum compartilhamento de alelos entre as cepas dos supergrupos A e B em relação aos genótipos MLST e WSP. Estes mesmo resultado para estas cepas podem ser vislumbrados nas análises bayesianas para cada um dos seis genes de *Wolbachia* (Figuras 13 à 18).

**Tabela 3.** Perfil MLST de Cepas de *Wolbachia* presentes em Espécies Pragas de Grãos Armazenados

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de <i>Wolbachia</i>)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>gatB</b>	<b>coxA</b>	<b>hcpA</b>	<b>ftsZ</b>	<b>fbpA</b>	<b>ST<sup>2</sup></b>
<i>Z. subfasciatus</i> (Zsub)	-	<b>9</b>	Em submissão	125	Em submissão	180	Em submissão
<i>T. confusum</i> (Tcon_B_BhAvill_AK)	B	6	5	6	18	7	30
<i>C. serratus</i> (SP2)	B	<b>9</b>	<b>14</b>	143	94	<b>4</b>	453
<i>C. cephalonica</i> (Ccep_B_BJ)	B	39	<b>14</b>	40	36	<b>4</b>	41
<i>S. oryzae</i> (SONDYA)	B	<b>126</b>	<b>87</b>	<b>124</b>	<b>94</b>	132	189
<i>Sitophilus</i> sp. (BOTRY)	B	<b>126</b>	<b>87</b>	<b>124</b>	<b>94</b>	<b>4</b>	436
<i>E. kuehniella</i> (Ekue_B)	B	16	<b>14</b>	19	23	<b>4</b>	20
<i>E. kuehniella</i> (wKueUSDA)	A	54	59	68	<b>3</b>	67	92
<i>E. kuehniella</i> (Ekue_A)	A	7	6	7	<b>3</b>	8	19

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de *Wolbachia* que podem ser classificados em A ou B; ST<sup>2</sup>, do inglês “sequence type”, trata-se do código numérico utilizado pelo site pubmlst.org para cada combinação alélica única dos cinco genes basais de *Wolbachia* (*gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ* e *fbpA*) presentes em *Wolbachia*. Cada perfil alélico é por isso cada perfil é identificado pelas iniciais ST, seguido por um número. O mesmo ST pode ser compartilhado entre diferentes Cepas. Os números em negrito indicam os alelos dos locus de *gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ* e *fbpA* e os ST que são compartilhados entre as cepas de *Wolbachia*.

**Tabela 4.** Perfil WSP de Cepas de Wolbachia presentes em Espécies Pragas de Grãos Armazenados

<b>Organismo hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>Supergrupo</b>	<b>WSP*</b>	<b>HVR1**</b>	<b>HVR2**</b>	<b>HVR3**</b>	<b>HVR4**</b>
Z. subfasciatus (Zsub)	-	Em submissão	<b>2</b>	Em submissão	<b>3</b>	<b>102</b>
T. confusum (Tcon_B_BhAvill_AK)	B	29	22	17	<b>3</b>	22
C. serratus (SP2)	B	694	<b>2</b>	141	127	<b>102</b>
C. cephalonica (Ccep_B_BJ)	B	10	10	8	10	8
S. oryzae (SONDYA)	B	<b>678</b>	<b>88</b>	<b>151</b>	<b>141</b>	<b>300</b>
Sitophilus sp (BOTRY)	B	<b>678</b>	<b>88</b>	<b>151</b>	<b>141</b>	<b>300</b>
E. kuehniella (Ekue_B)	B	19	14	16	18	16
E. kuehniella (wKueUSDA)	A	83	51	55	15	57
E. kuehniella (Ekue_A)	A	18	13	15	17	14

\*wsp: Se refere ao respectivo número de identificação do perfil WSP, referente ao gene wsp de Wolbachia para cada cepa bacteriana presente no banco de dados do site pubmlst.org.

\*\*HVR1, HVR2, HVR3 e HVR4 refere-se ao número de identificação de cada uma das quatro regiões hipervariáveis da estrutura primária da Proteína de Parede de Wolbachia (WSP) presente no banco de dados do site pubmlst.org.

Os números em negrito indicam os alelos dos loci HVRs e WSP que são compartilhados entre as cepas de Wolbachia.

### 3.1.7. Genótipo MLST e WSP de cepas presentes na Ordem Coleoptera.

Os resultados mostraram em relação ao genótipo MLST que as cepas Cobs\_A\_Switz, Cobs\_A\_USA e Cobs\_A\_Ger presentes em *C. obstrictus* (Marsham) apresentaram o mesmo genótipo. As cepas SONDYA e BOTRY presentes, respectivamente em *S. oryzae* e *Sitophilus* sp. As cepas SONDYA e BOTRY presentes, respectivamente em *S. oryzae* e *Sitophilus* sp compartilham os mesmos alelos nos loci *gatB*, *coxA*, *hcpA* e *ftsZ*. A terceira situação com o maior compartilhamento de de alelos entre cepas são as cepas Zsub e Lory\_B, presentes, respectivamente, em *Z. subfasciatus* e *L. oryzophilus* que compartilham os mesmo alelos nos loci *gatB*, *hcpA* e *fbpA*. As cepas Calt\_B e SP2 presentes, respectivamente, em *C. alternans* e *C. serratus* compartilham os mesmos alelos nos loci *gatB* e *coxA*. A cepa Ocac\_A\_wVdO presente em *O. cacaliae* compartilham o alelo 33 com as três cepas presentes em *C. obstrictus* (Marsham) no locus *coxA* e a cepa SP2 e BOTRY compartilham o alelo 4 presente no locus *fbpA*. E por fim as cepas Tcon\_B\_BhAvill\_AK, Aspa\_A presente, respectivamente em *T. confusum* e *A. sparsa*, além da cepa A\_CobbStaph não compartilham alelos com nem entre ela e com nenhuma cepa presente na Ordem Coleoptera.

Já em relação ao genótipo WSP as cepas SONDYA e BOTRY compartilham os mesmos alelos, tendo portanto a mesma sequência do alelo do gene *wsp*. As cepas Cobs\_A\_Ger e A\_CobbStaph compartilham os mesmo alelos para os loci HVR1 e HVR2 e as cepas Cobs\_A\_Switz e Cobs\_A\_Ger compartilham os mesmos alelos para os loci HVR3 e HVR4. As cepas Cobs\_A\_Ger e A\_CobbStaph compartilham o alelo 52 com a cepa Cobs\_A\_USA no locus HVR1. Zsub e SP2 compartilham os mesmos alelos nos loci HVR1 e HVR4. A cepa Zsub e Tcon\_B\_BhAvill\_AK compartilham o alelo 3 em relação ao locus HVR3. Por fim, as cepas Calt\_B, Aspa\_A e Ocac\_A\_wVdO não compartilha nenhum alelo de WSP com outras cepas presentes na Ordem Coleoptera.

Não há também nenhum compartilhamento de alelos entre as cepas dos supergrupos A e B em relação aos genótipos MLST e WSP. Estes mesmo resultado para estas cepas podem ser vislumbrados nas análises bayesianas para cada um dos seis genes de *Wolbachia* (Figuras 13 à 18).

**Tabela 5.** Perfil MLST de Cepas de *Wolbachia* presentes em Espécies da Ordem Coleoptera

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de <i>Wolbachia</i>)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>gatB</b>	<b>coxA</b>	<b>hcpA</b>	<b>ftsZ</b>	<b>fbpA</b>	<b>ST<sup>2</sup></b>
<i>Z. subfasciatus</i> (Zsub)	-	<b>9</b>	Em submissão	<b>125</b>	Em submissão	<b>180</b>	Em submissão
<i>L. oryophilus</i> (Lory_B)	B	<b>9</b>	105	<b>125</b>	95	<b>180</b>	188
<i>C. alternans</i> (Calt_B)	B	<b>9</b>	<b>14</b>	15	12	14	7
<i>C. serratus</i> (SP2)	B	<b>9</b>	<b>14</b>	143	94	<b>4</b>	453
<i>T. confusum</i> (Tcon_B_BhAvill_AK)	B	6	5	6	18	7	30
<i>S. oryzae</i> (SONDYA)	B	<b>126</b>	<b>87</b>	<b>124</b>	<b>94</b>	132	189
<i>Sitophilus</i> sp (BOTRY)	B	<b>126</b>	<b>87</b>	<b>124</b>	<b>94</b>	<b>4</b>	436
<i>A. sparsa</i> (Aspa_A)	A	23	2	26	21	26	5
<i>O. cacaliae</i> (Ocac_A_wVdO)	A	214	<b>33</b>	42	<b>32</b>	36	375
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph)	A	60	62	65	54	64	94
<i>C. obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	<b>32</b>	<b>33</b>	<b>42</b>	<b>32</b>	<b>122</b>	<b>348</b>
<i>C. obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	<b>32</b>	<b>33</b>	<b>42</b>	<b>32</b>	<b>122</b>	<b>348</b>
<i>C. obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	<b>32</b>	<b>33</b>	<b>42</b>	<b>32</b>	<b>122</b>	<b>348</b>

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de *Wolbachia* que podem ser classificados em A ou B; ST<sup>2</sup>, do inglês “sequence type”, trata-se do código numérico utilizado pelo site pubmlst.org para cada combinação alélica única dos cinco genes basais de *Wolbachia* (*gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ* e *fbpA*) presentes em *Wolbachia*. Cada perfil alélico é por isso cada perfil é identificado pelas iniciais ST, seguido por um número. O mesmo ST pode ser compartilhado entre diferentes Cepas. Os números em negrito indicam os alelos dos locus de *gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ* e *fbpA* e os ST que são compartilhados entre as cepas de *Wolbachia*.

**Tabela 6.** Perfil WSP de Cepas de Wolbachia presentes em Espécies da Ordem Coleoptera

Organismo hospedeiro (Cepa de Wolbachia)	Supergrupo	WSP*	HVR1**	HVR2**	HVR3**	HVR4**
Z. subfasciatus (Zsub)	-	Em submissão	<b>2</b>	Em submissão	<b>3</b>	<b>102</b>
L. oryophilus (Lory_B)	B	288	121	138	129	107
C. alternans (Calt_B)	B	8	7	7	8	7
C. serratus (SP2)	B	694	<b>2</b>	141	127	<b>102</b>
T. confusum (Tcon_B_BhAvill_AK)	B	29	22	17	<b>3</b>	22
S. oryzae (SONDYA)	B	<b>678</b>	<b>88</b>	<b>151</b>	<b>141</b>	<b>300</b>
Sitophilus sp (BOTRY)	B	<b>678</b>	<b>88</b>	<b>151</b>	<b>141</b>	<b>300</b>
A. sparsa (Aspa_A)	A	5	4	4	5	4
O. cacaliae (Ocac_A_wVdO)	A	666	229	263	260	293
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph)	A	86	<b>52</b>	<b>57</b>	59	59
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	311	53	145	<b>39</b>	<b>18</b>
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	587	<b>52</b>	28	110	241
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	586	<b>52</b>	<b>57</b>	<b>39</b>	<b>18</b>

\*wsp: Se refere ao respectivo número de identificação do perfil WSP, referente ao gene wsp de Wolbachia para cada cepa bacteriana presente no banco de dados do site pubmlst.org.

\*\*HVR1, HVR2, HVR3 e HVR4 refere-se ao número de identificação de cada uma das quatro regiões hipervariáveis da estrutura primária da Proteína de Parede de Wolbachia (WSP) presente no banco de dados do site pubmlst.org.

Os números em negrito indicam os alelos dos loci HVRs e WSP que são compartilhados entre as cepas de Wolbachia.

### 3.1.8. Últimas observações nas cepas de *Wolbachia* analisadas.

Fazendo uma comparação entre os perfis da cepa Ekue\_A presente em *E. kuehniella* e da cepa Ach\_A\_wCh3 presente em *A. chilonis*, pode-se perceber uma grande similaridade entre os genótipos MLST (Tabela 7) e WSP (Tabela 8) de ambas, exceto por diferenças nos loci de *ftsZ* e de HVR1. E mesmo em termos de HVR1, a diferença se dá apenas pela troca de um aminoácido de Fenilalanina por um de Lisina na posição 34 da sequência de WSP (Figura 19).

Em relação as três cepas presentes em *C. obstrictus* (Marsham) (Ordem Coleoptera), estas além de terem uma grande semelhança como já descrito acima (Tabela 5 e 6), elas compartilham alelos com várias cepas presentes em grupos taxonômicos distintos em relação ao genótipo MLST: a cepa Aeme\_A\_LW5 presente em *A. emertoni* (Filo Arachnida, Ordem Araneae) compartilha com elas os mesmo alelos dos loci *gatB*, *ftsZ*, *fbpA*; a cepa Focc\_A presente em *F. occulta* (Ordem Hymenoptera) compartilha com elas os alelos dos loci *gatB*, *hcpA* e *ftsZ*; a cepa Ocac\_A\_wVdO presente em *O. cacaliae* (Ordem Coleoptera) compartilha com elas os alelos dos loci *coxA*, *hcpA*, *ftsZ* e *fbpA* (Tabela 7). Já em relação ao genótipo WSP: Cobs\_A\_USA e Cobs\_A\_Ger compartilha o alelo 52 no locus HVR1; Aeme\_A\_LW5 e Focc\_A compartilham o alelo 28 no locus HVR1 e o alelo 31 no locus HVR2; e as cepas Cobs\_A\_Switz, Cobs\_A\_Ger e Focc\_A compartilham o alelo 39 no locus HVR3 e o alelo 18 no locus HVR4. A cepa Ocac\_A\_wVdO não compartilha nenhum dos quatro alelos HVRs com nenhuma das cepas citadas neste tópico (Tabela 8).

**Tabela 7.** Perfil MLST das cepas presentes em *E. kuehniella*, *A. chilonis*, *C. obstrictus* (Marsham), *A. emertoni*, *F. occulta*, *O. cacaliae*

Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)	SG <sup>1</sup>	gatB	coxA	hcpA	ftsZ	fbpA	ST <sup>2</sup>
<i>E. kuehniella</i> (Ekue_A)	A	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	3	<b>8</b>	19
<i>A. chilonis</i> (Ach_A_wCh3)	A	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	138	<b>8</b>	261
<i>C. obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	<b>32</b>	<b>33</b>	<b>42</b>	<b>32</b>	<b>122</b>	<b>348</b>
<i>C. obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	<b>32</b>	<b>33</b>	<b>42</b>	<b>32</b>	<b>122</b>	<b>348</b>
<i>C. obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	<b>32</b>	<b>33</b>	<b>42</b>	<b>32</b>	<b>122</b>	<b>348</b>
<i>A. emertoni</i> (Aeme_A_LW5)	A	<b>32</b>	34	39	<b>32</b>	<b>36</b>	68
<i>F. occulta</i> (Focc_A)	A	<b>32</b>	39	<b>42</b>	<b>32</b>	44	43
<i>O. cacaliae</i> (Ocac_A_wVdO)	A	214	<b>33</b>	<b>42</b>	<b>32</b>	<b>36</b>	375

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; ST<sup>2</sup>, do inglês “sequence type”, trata-se do código numérico utilizado pelo site pubmlst.org para cada combinação alélica única dos cinco genes basais de Wolbachia (gatB, coxA, hcpA, ftsZ e fbpA) presentes em Wolbachia. Cada perfil alélico é por isso cada perfil é identificado pelas iniciais ST, seguido por um número. O mesmo ST pode ser compartilhado entre diferentes Cepas. Os números em negrito indicam os alelos dos locus de gatB, coxA, hcpA, ftsZ e fbpA e os ST que são compartilhados entre as cepas de Wolbachia.

**Tabela 8.** Perfil MLST das cepas presentes em *E. kuehniella*, *A. chilonis*, *C. obstrictus* (Marsham), *A. emertoni*, *F. occulta*, *O. cacaliae*

<b>Organismo hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>Supergrupo</b>	<b>WSP*</b>	<b>HVR1**</b>	<b>HVR2**</b>	<b>HVR3**</b>	<b>HVR4**</b>
<i>E. kuehniella</i> (Ekue_A)	A	18	13	<b>15</b>	<b>17</b>	<b>14</b>
<i>A. chilonis</i> (Ach_A_wCh3)	A	594	210	<b>15</b>	<b>17</b>	<b>14</b>
<i>C. obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	311	53	145	<b>39</b>	<b>18</b>
<i>C. obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	587	<b>52</b>	28	110	241
<i>C. obstrictus</i> (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	586	<b>52</b>	57	<b>39</b>	<b>18</b>
<i>A. emertoni</i> (Aeme_A_LW5)	A	41	<b>28</b>	<b>31</b>	34	32
<i>F. occulta</i> (Focc_A)	A	47	<b>28</b>	<b>31</b>	<b>39</b>	<b>18</b>
<i>O. cacaliae</i> (Ocac_A_wVdO)	A	666	229	263	260	293

\*wsp: Se refere ao respectivo número de identificação do perfil WSP, referente ao gene *wsp* de *Wolbachia* para cada cepa bacteriana presente no banco de dados do site pubmlst.org.

\*\*HVR1, HVR2, HVR3 e HVR4 refere-se ao número de identificação de cada uma das quatro regiões hipervariáveis da estrutura primária da Proteína de Parede de *Wolbachia* (WSP) presente no banco de dados do site pubmlst.org.

Os números em negrito indicam os alelos dos loci HVRs e WSP que são compartilhados entre as cepas de *Wolbachia*.

## **3.2. Estudo Filogeográfico em *Zabrotes subfasciatus*.**

### **3.2.1. Gene mitocondrial COI**

#### **3.2.1.1. Alinhamento**

Do banco de dados Z1(n=60 e 749 pb), 46 foram obtidas do Brasil, 8 do Peru e 6 do México (obtidas via GenBank). Foram encontrados sete haplótipos entre as sequências analisadas para o gene COI. As sequências diferem entre si por 119 sítios polimórficos que na figura 19 estão dispostos em relação ao haplótipo 1, utilizado como referência. O haplótipo 1 possui a maior frequência ao passo que o 7 a menor. Os haplótipos 2 e 7 são os que mais possuem sítios em comum com o haplótipo 1. O haplótipo 7 difere do haplótipo 2 por apenas 1 sítio de mutação na posição 35 do alinhamento. Os haplótipos 3 e 6 apresentaram muitos sítios em comum, incluindo a presença de gaps, se diferenciando entre si por apenas duas bases na posição 347 e 455 do alinhamento. Os haplótipos 4 e 5 possuem muitos sítios em comum, se diferenciando apenas por duas substituições de base na posição 39 e 675 do alinhamento. (Figura 19)

Fazendo uma reconstrução *in silico*, em nível de aminoácido das 60 sequências de COI foi gerado um alinhamento de aminoácido com 249 aminoácidos. Foi observado que os gaps presentes nos haplótipos 3 e 6 são resultantes da deleção de sete aminoácidos entre as posições 181 e 189 e da deleção de dois aminoácidos na posição 189 e 192 da sequência (Figura 20).



```

H #
      [          10          20          30          40          50          60          70          80          90          100          110          120          130          138]
      [ *            *            *            *            *            *            *            *            *            *            *            *            *            * ]
1 39  ISHIISQESGKGEAFGLMIYAMMAIGLLGFVVAHHMFTVGMDVDTRAYFTSATMIIAVPTGIKVFSSWMAFTHGTQILYKPVTLWALGFVFLFTVGGLTGVILANSSIDIVLHDTYYVVAHFHYVLSMGAVFAIMA
2 5   .....D.....
7 1   .....
3 5   .Y.....T.....I.....T.
6 2   .Y.....T.....R.....I.....T.
4 5   .....I.....
5 3   .....I.....

```

```

H #
      [140          150          160          170          180          190          200          210          220          230          240          ]
      [ *            *            *            *            *            *            *            *            *            *            *            ]
1 39  GI IQWFPLFTGLTLNDYYLKIQFFMMFIGVNVTFPPQHFLGLSGMPRRYSYDPAFMIWNISSIGSMISLVSIIFFLFILWEAFSMQRKSISSLSMTTSIEWLQHQPPE
2 5   .....
7 1   .....
3 5   .....M-----G.T...V.....P.....
6 2   .....S.....M-----G.T...V.....P.....
4 5   .....T.....Y.....
5 3   .....T.....Y.....

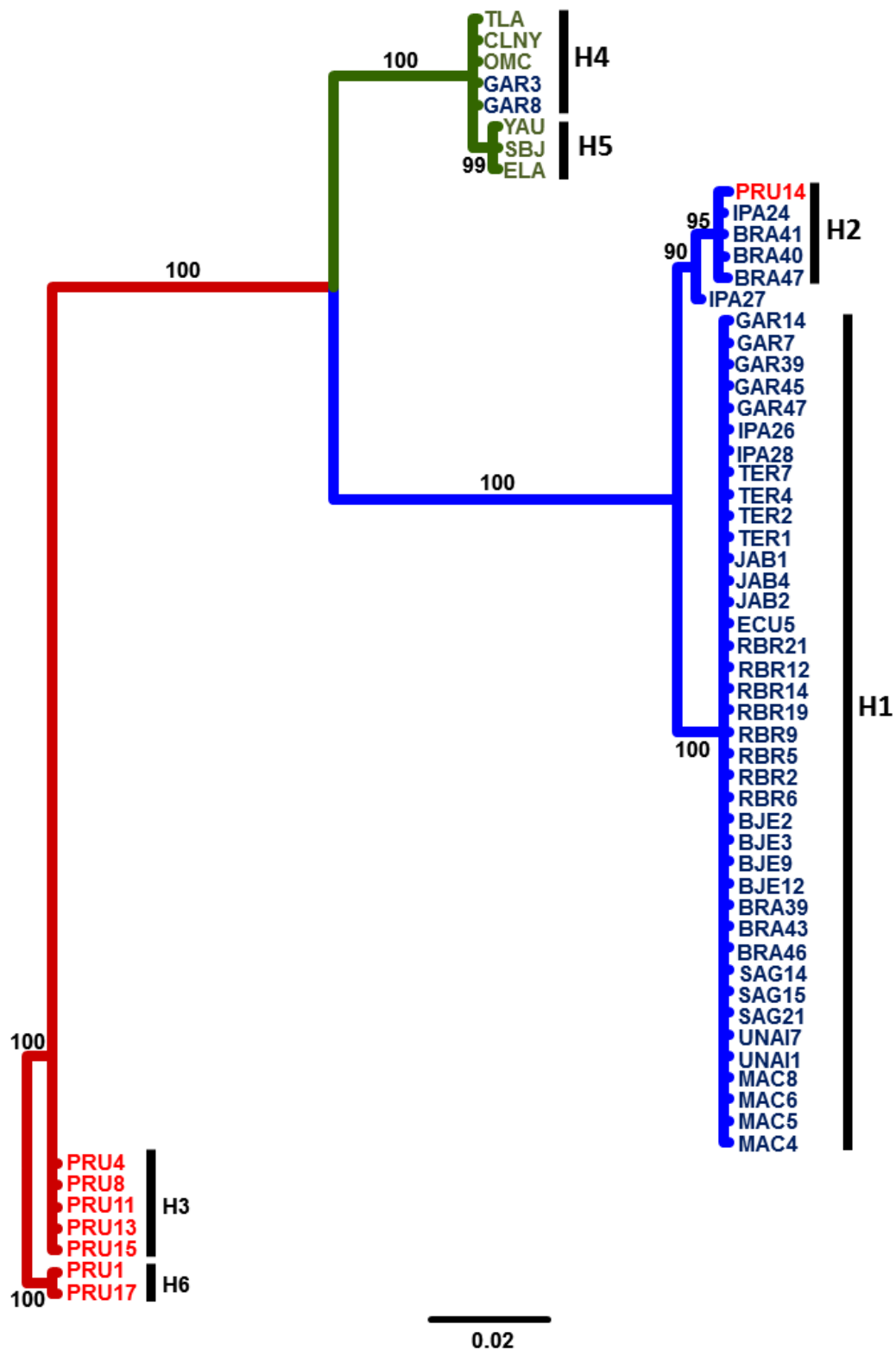
```

**Figura 22.** Alinhamento a nível de aminoácido de 60 sequências de parte da proteína do gene mitocondrial COI de *Z. subfasciatus* com 249 aminoácidos. Estas sequências foram reconstruídas in silico a partir de suas respectivas sequências de DNA de 749 pb. Os pontos indicam a similaridade a nível de aminoácido com o haplótipo 1. Os números e asteriscos delimitam a posição dos sítios de aminoácido, considerando o haplótipo 1 como referência. H indica o haplótipo e # o número de indivíduos que apresenta cada haplótipo.

### 3.2.1.2. Análise Filogenética Bayesiana de COI

A árvore apresentou probabilidade a posteriori acima de 90% para a maioria dos nós, o que demonstra que a árvore possui um bom suporte. Os indivíduos se agruparam em três grupos principais distinguidos pelas cores azul, verde e vermelha. Já as cores dos códigos nas pontas dos ramos estão levando em conta a localidade geográfica de cada amostra (Figura 21).

Observa-se que a maior parte dos indivíduos do Brasil analisados compõe o subagrupamento H1. Os indivíduos GAR3 e GAR8 do Brasil se agruparam com indivíduos da população mexicana no subagrupamento H4. Já PRU14 do Peru se agrupou no subgrupo H2 do qual é constituído majoritariamente por indivíduos do Brasil. O subagrupamento H5 é constituído apenas para indivíduos de localidades mexicanas. Já o grupo constituído por ramos vermelhos é composto apenas por indivíduos do Peru. E por fim, o indivíduo IPA27, embora esteja no grupo de ramos azuis, não está agrupado com nenhum indivíduo do subgrupo H1, e nem com o H2 (Figura 21).



**Figura 23.** Filogenia Bayesiana sem raiz resultante do alinhamento de 60 acessos de 749 pb do gene mitocondrial COI de *Z. subfasciatus*. . O comprimento dos ramos foi desenhado em escala e a confiabilidade dos nós é expressa em probabilidade posterior (%), quando maior que 90%. A barra de escala corresponde ao número esperado de substituição por sítio. Os códigos presentes nas pontas de cada ramo correspondem aos acessos presentes na tabela 1. As cores de cada código correspondem aos respectivos países de origem dos acessos: azul, Brasil; verde, México; vermelho, Peru. As cores azul, verde e vermelha dos ramos servem para distinguir os três agrupamentos principais que constituem a árvore.

### 3.2.1.3. Análise da Rede de Haplótipos de COI

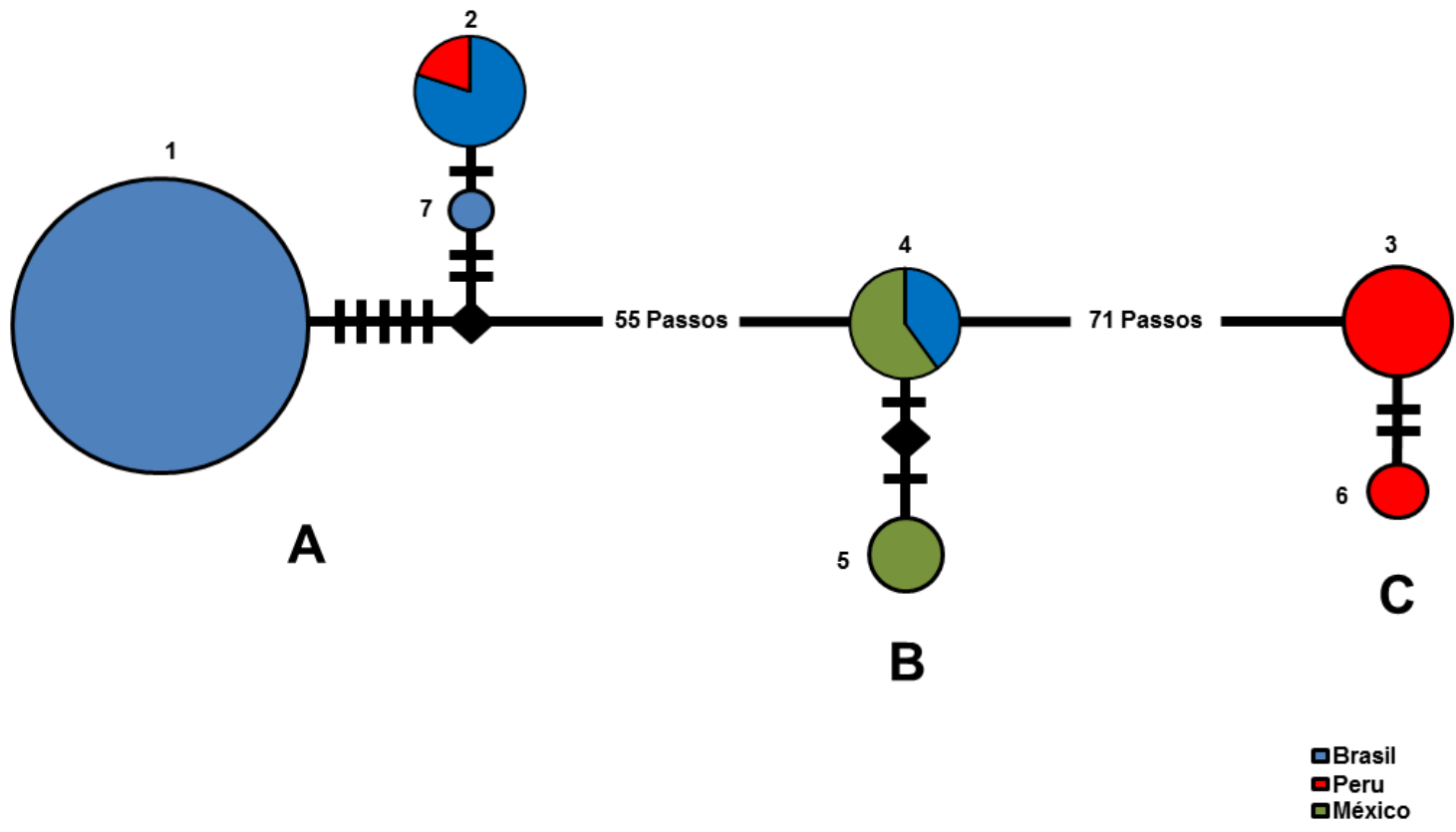
Nesta rede foram formados três haplogrupos principais denominados A, B e C, sendo que A é formado pelos haplótipos 1, 2 e 3; B pelos haplótipos 4 e 5; e C pelos haplótipos 3 e 6 (Figura 22).

O haplótipo 1 foi o haplótipo predominante no Brasil. Os haplótipos 1 e 7 mostraram serem exclusivos das populações brasileiras analisadas. O haplótipo 2 é compartilhado pelas populações do Brasil e Peru ao passo que o haplótipo 4 é compartilhado por Brasil e México (Figura 22)

Os haplótipos 3 e 6 são exclusivos das população peruana, ao passo que o haplótipo 5 é exclusivo da população mexicana (Figura 22).

O haplogrupo constituído pelos haplótipos 1, 2 e 7 se diferem dos haplótipos 4 e 5 por 55 passos de mutação. Já o haplogrupo dos haplótipos 4 e 5, se difere do haplogrupo dos haplótipos 3 e 6 por 71 passos de mutação (Figura 22).

É importante destacar que os membros de cada sub-agrupamento na árvore bayesiana de COI acima (Figura 21) possuem o mesmo haplótipo (Figura 22): O haplótipo 1, haplótipo 2, haplótipo 3, haplótipo 4, haplótipo 5, haplótipo 6 está presente em todos indivíduos que formam, respectivamente, os subagrupos H1, H2, H3, H4, H5 E H6. E por fim o haplótipo 7 é exclusivo do indivíduo IPA 27. Por essa lógica os grupos constituídos pelos ramos em azul, verde e vermelho da árvore (figura 21) correspondem, respectivamente aos indivíduos que fazem parte do haplogrupo A, B e C (figura 22).



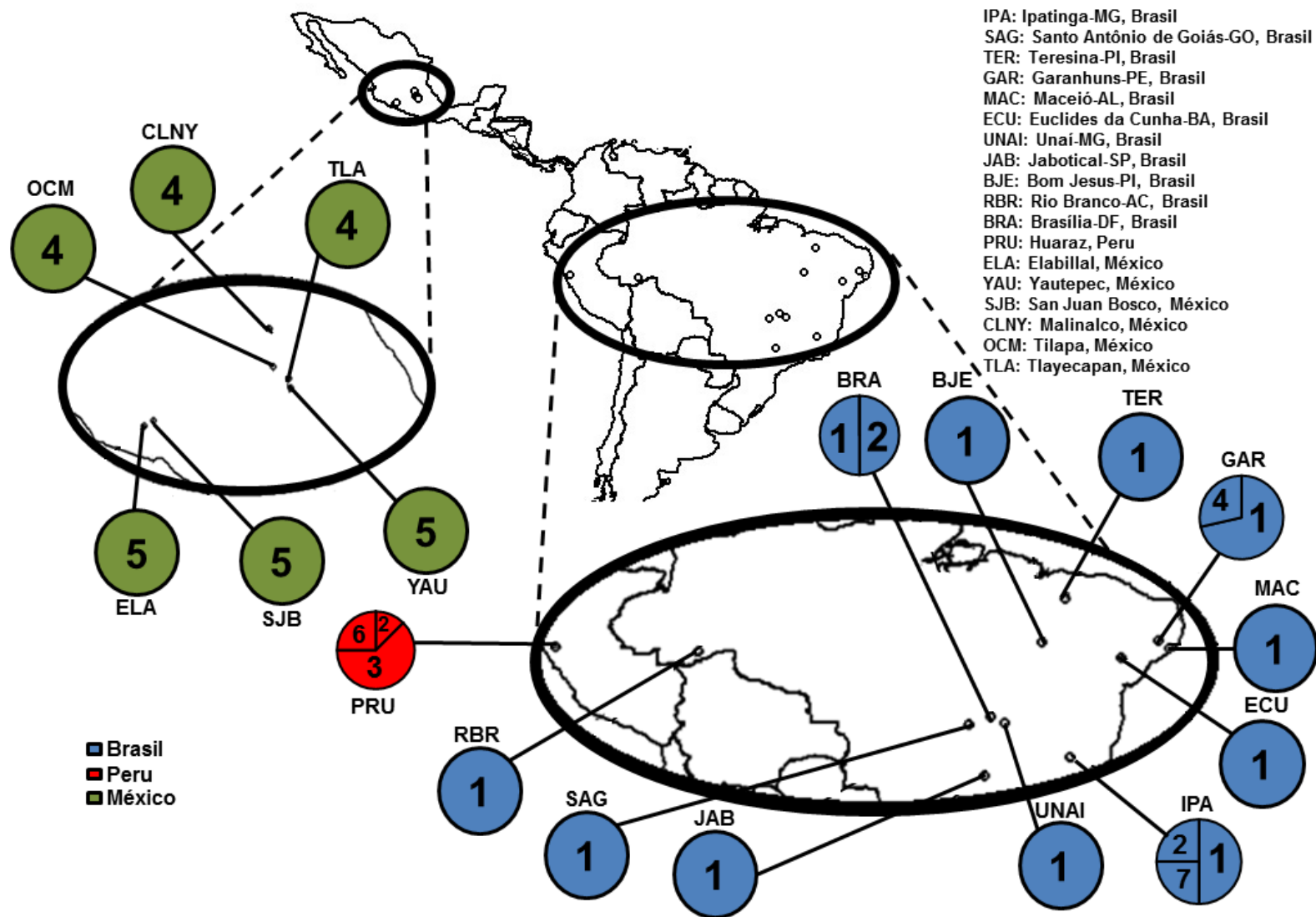
**Figura 24.** Rede de haplótipos do gene mitocondrial COI em *Z. subfasciatus* gerado pelo programa Network. Na rede, os círculos representam os haplótipos de COI (identificado com número); o tamanho dos círculos é proporcional a frequência relativa de cada haplótipo. Cada uma das letras (A, B, C) representa um haplogrupo. Os números de substituições estão indicados com barras e números sobre as linhas. Cada cor na figura representa o país de origem.

#### **3.2.1.4. Distribuição geográfica dos haplótipos de COI.**

A distribuição dos haplótipos foi dividida entre Brasil, Peru e México (Figura 23).

Percebe-se que em termos de América do Sul (mais especificamente Brasil) o haplótipo 1 é o mais bem distribuído e predominante em todas as populações brasileiras analisadas. O haplótipo 2 é compartilhado com as populações de Brasília-DF, Ipatinga-MG no Brasil e de Huaraz no Peru. O haplótipo 4 é compartilhado pelas populações de Garanhuns-PE no Brasil e as populações de Tlayecapan, Manilalco e Tilapa no México (Figura 23).

O haplótipos 3 e 6 são exclusivos da população de Huaraz no Peru e os haplótipo 5 é exclusivo das populações de Elalillal, Youtepec e San Juan Bosco no México (Figura 23).



**Figura 25.** Distribuição geográfica dos haplótipos do gene mitocondrial COI de *Z. subfasciatus*. Os números no mapa são referências ao haplótipo de cada população. As cores dos círculos correspondem aos respectivos países dos haplótipos: azul, Brasil; laranja, México; vermelho, Peru.

### 3.2.1.5. Análise de neutralidade e expansão demográfica para COI

Em relação ao total das sequências das populações analisadas, COI apresentou a diversidade haplotípica de 0,56, diversidade nucleotídica de 0,037, o número médio de diferenças nucleotídicas foi de 26,88 e o número de sítios polimórficos foi de 92. Já em relação apenas as amostras do Brasil, a diversidade haplotípica foi de 0,28, a diversidade nucleotídica de 0,01 e o número médio de diferenças nucleotídicas de 6,55 e o número de sítios polimórficos foi de 63 (Tabela 9).

Em relação à análise de Fs, percebeu-se que tanto as análises de todas as populações, quanto as do Brasil revelaram valores positivos e significativos, como provável resultado da deficiência de alelos (Tabela 9). A análise do teste de Tajima em nível de Brasil acusou valor negativo e significativo o que indica um excesso de polimorfismo de baixa frequência em relação ao esperado (Tabela 9). O valor de R2 foi significativo em nível de Brasil (Tabela 3). Os valores destes três parâmetros, no que diz respeito às populações do Brasil, são um indício da ocorrência de efeito gargalo.

**Tabela 9.** Medidas de diversidade nucleotídica, testes estatísticos de neutralidade e mudança no tamanho populacional para a subunidade I do citocromo c (COI) de *Z. subfasciatus*.

Análises <sup>1</sup>	COI	
	Total	Brasil
H	60 (7)	46 (4)
Hd	$5,6 \times 10^{-1}$	$2,8 \times 10^{-1}$
Pi	$3,7 \times 10^{-2}$	$1,0 \times 10^{-2}$
K	$2,69 \times 10^1$	$6,55 \times 10^0$
S	92	63
Tajima's D	$1,2 \times 10^0$ ( $9,2 \times 10^{-1}$ )	$-1,92 \times 10^0$ ( $8,0 \times 10^{-3}$ )**
Fu's Fs	$3,25 \times 10^1$ ( $1,0 \times 10^0$ )****	$1,18 \times 10^1$ ( $1,0 \times 10^0$ )***
Ramos Onsins and Rosas's R2	$1,5 \times 10^{-1}$ ( $9,4 \times 10^{-1}$ )	$5,0 \times 10^{-2}$ ( $1,2 \times 10^{-2}$ )**

<sup>1</sup>H, tamanho amostral (número de haplótipos); Hd, diversidade haplotípica; Pi; diversidade nucleotídica; K, número médio de diferenças nucleotídicas; S, número de sítios polimórficos.

\*\*P<0,05

\*\*\*P<0,01

\*\*\*\*P<0,001

### 3.2.2. Região ITS2

#### 3.2.2.1. Alinhamento

Após alinhar as sequências, o banco de dados ficou constituído por 39 acessos, com 504 pb cada uma. Entre essas 39, 34 foram obtidas do Brasil, 5 do Peru. Foram encontrados sete haplótipos entre as sequências analisadas para a ITS2. As sequências diferem entre si por cinco sítios polimórficos que na Figura 24 estão dispostos em relação ao haplótipo 1, utilizado como referência. O haplótipo 1 possui a maior frequência ao passo que o 7 a menor. Os haplótipos 5 e 7 são o que apresentam mais sítios em comum com o haplótipo 1 (Figura 24).

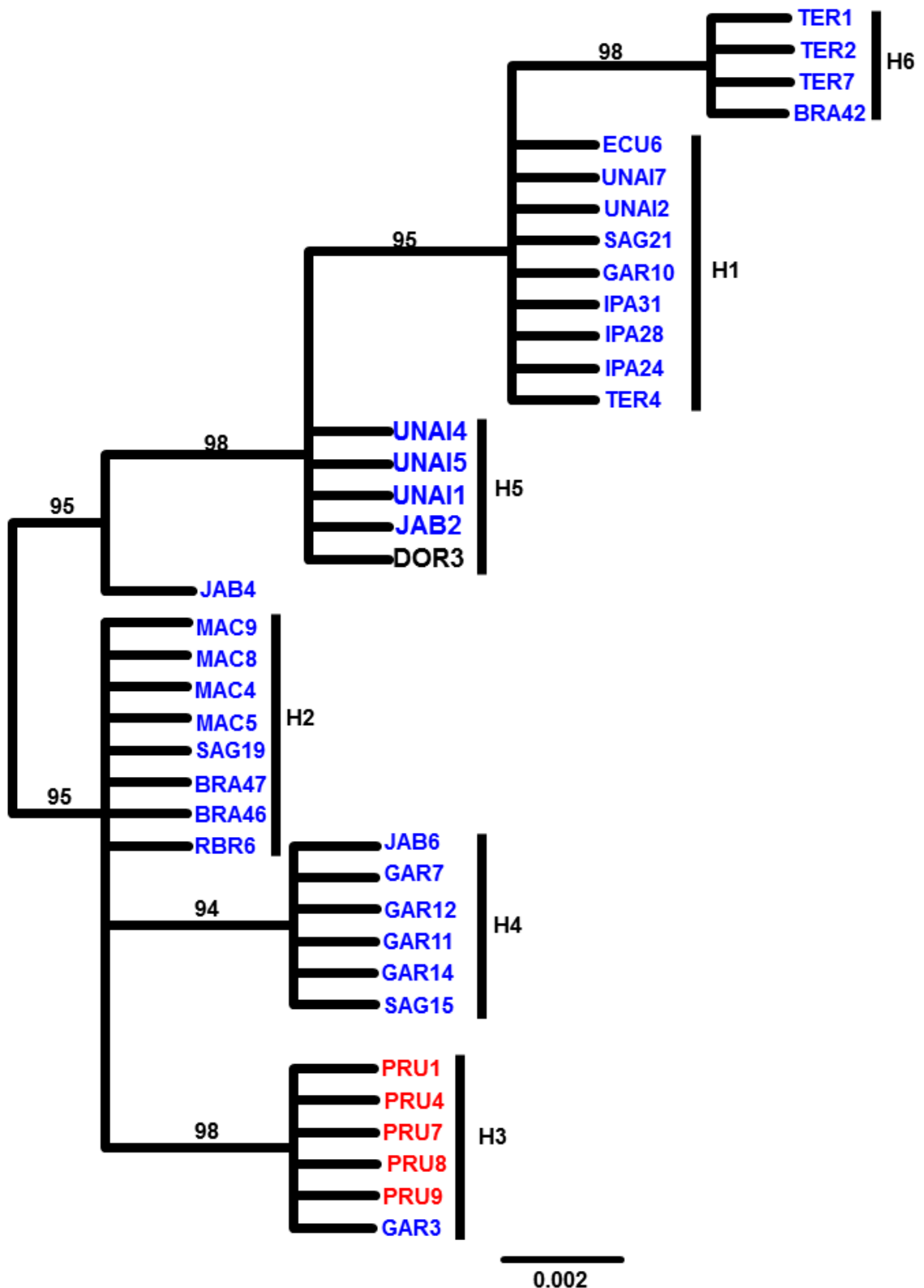
		33444
		13129
		12874
H	#	
1	9	TATAC
2	8	G.CC.
3	6	G.CCT
4	6	. .CC.
5	5	G. . . .
6	4	.G. . . .
7	1	G. . .C.

**Figura 26.** Alinhamento em nível de DNA de 39 sequências ITS2 de *Z. subfasciatus*, apresentando apenas os cinco sítios polimórficos e definindo sete haplótipos. Cada fragmento tem 504 pb. Os pontos indicam similaridade com o haplótipo 1. Os números indicam a posição do sítio nucleotídico, considerando o haplótipo 1 como referência. H indica o haplótipo e # o número de indivíduos que apresenta cada haplótipo.

#### 3.2.2.2. Análise Filogenética Bayesiana de ITS2

A árvore apresentou probabilidade a posteriori acima de 90% para todos os nós o que lhe dá um bom suporte. Percebeu-se que os indivíduos não se agrupam respeitando as suas respectivas localizações geográficas (Figura 25).

O fato do indivíduo DOR3 da Colombia no agrupamento H5 e os indivíduos PRU1, PRU4, PRU7, PRU8 e PRU9 do Peru no agrupamento H3 se agruparam com indivíduos de populações brasileiras (Figura 25).

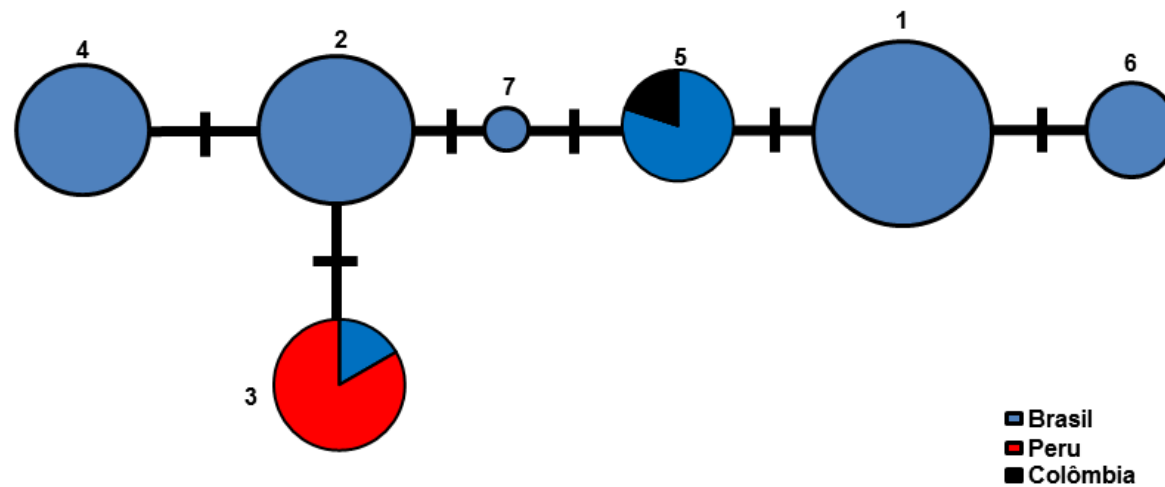


**Figura 27.** Filogenia Bayesiana sem raiz, resultante do alinhamento de 39 acessos de 504 pb da região ITS2 do gene nuclear 5,8S de *Z. subfasciatus*. . O comprimento dos ramos foi desenhado em escala e a confiabilidade dos nós é expressa em probabilidade posterior (%), quando maior que 90%. A barra de escala corresponde ao número esperado de substituição por sítio. Os códigos presentes nas pontas de cada ramo correspondem aos acessos presentes na tabela 1. As cores de cada código correspondem aos respectivos países de origem dos acessos: azul, Brasil; verde, Colombia; vermelho, Peru.

### **3.2.2.3. Análise da Rede de Haplótipos de ITS2**

Nessa rede não foi formado haplogrupos distintos entre os haplótipos, de modo que eles se separam apenas por poucos passos mutacionais. Os haplótipos 1, 2, 4, 6 e 7 são exclusivos de populações brasileiras. As populações do Brasil e Peru compartilham o haplótipo 3 ao passo que Colômbia e Brasil compartilham o haplótipo 5 (Figura 26).

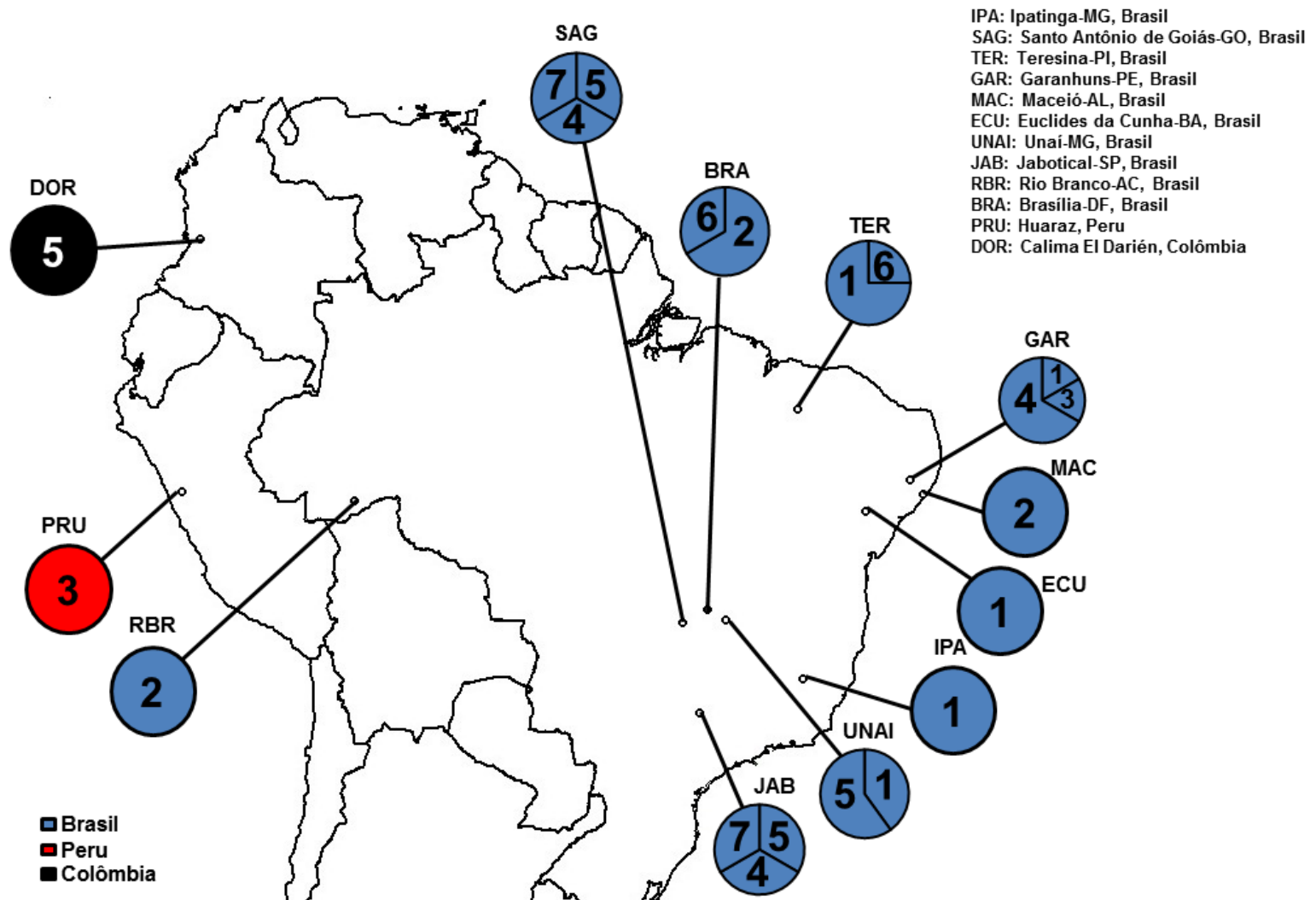
É importante destacar que os membros de cada agrupamento na árvore bayesiana de ITS2 anterior (Figura 25) possuem o mesmo haplótipo (Figura 26). Assim, o haplótipo 1, haplótipo 2, haplótipo 3, haplótipo 4, haplótipo 5, haplótipo 6 está presente em todos indivíduos que formam, respectivamente, os grupos H1, H2, H3, H4, H5 E H6. Já o haplótipo 7 é exclusivo do indivíduo JAB4.



**Figura 28.** Rede de haplótipos da região de ITS2 do gene nuclear 5,8 S em *Z. subfasciatus* gerado pelo programa Network. Na rede, os círculos representam os haplótipos de ITS2 (identificado com número); o tamanho dos círculos é proporcional a frequência relativa de cada haplótipo. Os números de substituições estão indicados com barras e números sobre as linhas. Cada cor na figura representa um país.

#### **3.2.2.4. Distribuição geográfica dos haplótipos de ITS2.**

A análise da distribuição geográfica de ITS2 ficou restrita a América do Sul. Percebe-se um grande compartilhamento de haplótipos entre as populações no geral, o que é um indício de um considerável fluxo gênico entre elas. O haplótipo 1 é compartilhado pelas populações de Santo Antônio de Goiás-GO, Teresina-PI, Garanhuns-PE, Euclides da Cunha-BA, Ipatinga-MG e Unaí-MG. O haplótipo 2 é compartilhado pelas populações de Santo Antônio de Goiás-GO Brasília-DF, Maceió-AL e Rio Branco-AC. O haplótipo 3 é compartilhado entre as populações de Huaraz no Peru e a de Garanhuns no Brasil. O haplótipo 4 é compartilhado pelas populações de Santo Antônio de Goiás-GO, Garanhuns-PE e Jaboticabal-SP. O haplótipo 5 é compartilhado pelas populações de Jaboticabal-SP e Unaí-MG do Brasil e a população de Calima El Dárien da Colômbia. O haplótipo 6 é compartilhado pelas populações de Brasília-DF e Teresina-PI. O haplótipo 7 é exclusivo da população de Jaboticabal-SP (Figura 21).



**Figura 29.** Distribuição geográfica da região ITS2 do gene nuclear 5,8S de *Z. subfasciatus*. Os números no mapa são referências ao haplótipo de cada população. As cores dos círculos correspondem aos respectivos países dos haplótipos: azul, Brasil; verde, Colômbia; vermelho, Peru.

### 3.2.2.5. Análise de neutralidade e expansão demográfica para ITS2

Em relação ao total das sequências das populações analisadas, ITS2 apresentou a diversidade haplotípica de  $8,5 \times 10^{-1}$ , diversidade nucleotídica  $3,95 \times 10^{-3}$  e o número médio de diferenças nucleotídicas foi de  $1,99 \times 10^0$ . Já em relação apenas as amostras do Brasil, a diversidade haplotípica foi de  $8,4 \times 10^{-1}$ , a diversidade nucleotídica  $3,58 \times 10^{-3}$  e o número médio de diferenças nucleotídicas de  $1,8 \times 10^0$  (Tabela 10).

A análise de Tajima, no que diz respeito a todas as populações amostradas gerou um valor positivo e significativo, o que significa baixos níveis de polimorfismo de alta e baixa frequência o que pode indicar seleção balanceadora ou decréscimo no tamanho populacional. Os demais valores para a amostragem total foram não significativos (Tabela 10).

No que diz respeito ao Brasil, foram gerados valores não significativos para todos os parâmetros (Tajima,  $F_s$  e  $R_2$ ), o que evidencia que as sequências estão evoluindo em neutralidade e sem mudanças no tamanho populacional (Tabela 10).

**Tabela 10.** Medidas de diversidade nucleotídica, testes estatísticos de neutralidade e mudança no tamanho populacional para a região ITS2 do gene 5,8S de *Z. subfasciatus*.

Análises <sup>1</sup>	ITS2	
	Total	Brasil
H	39 (7)	34 (7)
Hd	$8,5 \times 10^{-1}$	$8,4 \times 10^{-1}$
Pi	$3,95 \times 10^{-3}$	$3,58 \times 10^{-3}$
K	$1,99 \times 10^0$	$1,8 \times 10^0$
S	5	5
Tajima's D	1,75 ( $9,6 \times 10^{-1}$ )*	1,25 ( $8,8 \times 10^{-1}$ )
Fu's $F_s$	$-5,0 \times 10^{-2}$ ( $5,1 \times 10^{-1}$ )	$-5,8 \times 10^{-1}$ ( $3,6 \times 10^{-1}$ )
Ramos Onsins and Rosas's $R_2$	$2,0 \times 10^{-1}$ ( $9,4 \times 10^{-1}$ )	$1,8 \times 10^{-1}$ ( $8,6 \times 10^{-1}$ )

<sup>1</sup>H, tamanho amostral (número de haplótipos); Hd, diversidade haplotípica; Pi, diversidade nucleotídica; K, número médio de diferenças nucleotídicas; S, número de sítios polimórficos.

\* $P < 0,01$

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Dispersão da cepa Zsub de Wolbachia por meio de *Z. subfasciatus*.

As análises realizadas quanto a presença e ausência de Wolbachia mostraram que esta bactéria está amplamente distribuída em populações de *Z. subfasciatus* em relação a América do Sul. Já as análises das sequências dos seis genes de Wolbachia (*gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ*, *fbpA* e *wsp*) presentes em indivíduos de *Z. subfasciatus* oriundos de Ipatinga-MG e Teresina-PI no Brasil, Huaraz (Peru) e Calima El Darién (Colômbia) constataram que se trata de uma mesma cepa do qual pode ser denominada de Zsub. Devido ao fato desta cepa estar localizada em regiões geográficas muito distantes pode ser um indício de que ela seja majoritária em populações de *Z. subfasciatus* em relação à América do Sul. Não se sabe se a distribuição atual dessa cepa se deve unicamente a dispersão de *Z. subfasciatus* no Brasil e América do Sul ou se ela foi introduzida mais recentemente por meio de uma nova chegada de *Z. subfasciatus* infectados por esta cepa de Wolbachia.

A princípio poderia se atribuir a baixa diversidade de haplótipos do Brasil a incompatibilidade ciplasmática (YA et al., 2011) e a hipótese de Shoemaker et al. (2004) de que Wolbachia pode fazer com que o DNA mitocondrial sofra diferentes efeitos relacionados a infecção que acabariam por mascarar sua capacidade de informação. Entre esses efeitos estaria: a diminuição da variabilidade intraespecífica: quando um indivíduo infectado migra para uma população não infectada, a linhagem de Wolbachia se espalha e acaba homogeneizando os haplótipos mitocondriais entre as duas populações devido a hitchhiking; aumento nos níveis de estruturação populacional: quando a seleção natural mantém diferentes simbiontes em diferentes populações, apesar da migração entre elas. Entretanto, essa hipótese apresenta pouca sustentação pelo fato de indivíduos analisados da população de Huaraz no Peru estarem provavelmente infectados pela mesma linhagem de Wolbachia e apresentarem um haplogrupo completamente diferente em relação ao que predomina no Brasil, tendo um certo compartilhamento de haplótipos entre algumas populações do Brasil com a peruana. Müller et al. (2012), por exemplo, mostraram que não há sinais claros de que a infecção recente por Wolbachia em *D. willistoni* tenha diminuído os níveis de diversidade no DNA mitocondrial. É muito mais provável que essa diferença dos haplogrupos mitocondriais entre a população de peruana de Huaraz e as do Brasil se deva a outros fatores como eventos

demográficos de efeito gargalo e expansões populacionais do que algum efeito provocado por *Wolbachia*.

#### **4.2. Relação filogenética das cepas de *Wolbachia* sp.**

Tanto a análise bayesiana particionada realizadas no banco de dados W7, quanto as análises individuais realizadas no banco de dados W1, W2, W3 e W5 constataram que a cepa Lory\_B presente em *L. oryzophilus* é a mais próxima em termos filogenéticos em relação a cepa Zsub presente em *Z. subfasciatus*, sendo que a espécie hospedeira de ambas pertencem a ordem Coleoptera. A espécie *L. oryzophilus* que ataca plantações de arroz. Gorgulhos adultos dessa praga mastigam a epiderme da folha, deixando marcas longitudinais sobre a superfície. Um grande dano econômico ocorre através da larva, quando esta organismo se alimenta da raiz, levando a queda da absorção de nutrientes, perfilhamento, número de grãos e peso. As plantas infestadas apresentam nanismo amarelado e retardo no amadurecimento da planta o que reduz a produtividade. A espécie é nativa da parte norte dos EUA e se dispersou e se estabeleceu na região sul deste país desde 1959. Depois migrou para vários países da Ásia (Japão, China, Índia, Coreia do Norte e Coreia do Sul) desde 1976 e na Europa (Itália) desde 2004 (SHANG-WEI et al., 2017). Apesar dessa espécie não atacar grãos armazenados como *Z. subfasciatus*, em certas situações, após a colheita, adultos já foram identificados no meio dos grãos, antes da moagem ou próximo de locais de armazenamento (LUPI et al., 2015). Isso talvez explicaria o compartilhamento de alelos entre as cepas Zsub e Lory\_B.

Além desta cepa, Zsub compartilha alelos com as cepas Calt\_B, SP2 e Tcon\_B\_BhAvill\_AK, presentes, respectivamente em *C. alternans*, *C. serratus* e *T. confusum*. As espécies *C. serratus* e *T. confusum* também são espécies pragas de grãos armazenados e de distribuição cosmopolita como *Z. subfasciatus* (ALABI et al., 2008; NDONG et al., 2011). Já *C. alternans* é uma espécie que habita regiões de lacuna entre florestas como beira de estradas, áreas de pasto e zonas transicionais áreas degradadas em floresta secundária, onde a iluminação é abundante. Sua larva nos estágios iniciais se alimenta da face ventral da folha durante todo o tempo. Nos estágios posteriores, se alimenta da face dorsal, permanecendo o tempo todo na planta hospedeira. Os indivíduos são encontrados com abundancia, onde as plantas hospedeiras persistem por muitos anos. Sua ocorrência é apontada em Costa Rica, Panamá, República Dominicana, Colombia, Venezuela e norte do Brasil. (MORRISON e WINDSOR, 2017).

As análises bayesianas realizadas nas 62 cepas constataram que muitas delas não se agruparam respeitando a relação filogenética de seus respectivos hospedeiros. Até mesmo outras cepas presentes na ordem coleóptera acabaram se agrupando com cepas presentes em grupos taxonômicos distintos. Este foi o caso das cepas presentes em *E. furuhashii*, *T. urticae*, *M. fascifrons*, *I. persulcatus*, *H. horticola* e as cepas *wWaspb* (cujo hospedeiro é um *hymenoptera*) e *B\_NY\_Chloro150737B* (cujo hospedeiro é um *díptera*). A principal causa para isso estaria ligada provavelmente à transmissão horizontal.

No caso de *E. furuhashii* é preciso dizer que esta espécie é um dos principais parasitoides de ninfas no sul da China (QIU et al., 2005) (LI et al., 2011). Ahmed et al. (2015) comprovou por meio de análise de FISH (Hibridização de Fluorescência In Situ) e de análise de MLST a transferência horizontal da cepa *AsiaII7* presente na ninfa de *B. tabaci* para as larvas de *E. furuhashii*, quando esta última infesta as ninfas e se alimenta delas.

*Hyposoter horticola* é também uma espécie parasitoide, que no caso parasita especificamente a borboleta *Melitaea cinxia*. A presença de *Wolbachia* foi detectada pela primeira vez em *H. horticola* por Duploux et al. (2015) que analisou amostras das ilhas Aland na Finlândia e Ahmed et al. (2016) constatou por meio da análise de MLST a transferência horizontal de *Wolbachia* entre espécies de *Lepidoptera* (entre elas *M. cinxia*).

A cepa *wWaspb* foi detectada em uma espécie não identificada de vespa da família *Dryinidae* (ZHANG et al., 2013). Esta família é também constituída por espécies parasitoides (GODFRAY, 2016). Noda et al. (2001), ao analisar as sequências de alguns genes de *Wolbachia* presentes em espécies de gafanhoto e em seus respectivos parasitoides da família *Dryinidae*, concluiu ser possível a transferência horizontal de *Wolbachia* entre espécies por meio do parasitismo destas vespas.

No caso da cepa *B\_NY\_Chloro150737B* pertencente a família dos *Chloropidae* foi detectada por Stahlhut et al. (2010). Segundo Gillung e Borkent (2017), as larvas dessa espécie têm um hábito parasitoide ou até mesmo predatório de ovos de aranha e algumas espécies são aparentemente oportunistas, parasitando uma variedade de hospedeiros de diferentes espécies ou até mesmo ordens, incluindo casulos de *lepidóptera* ou ootecas de *louva-a-deus*. É possível que esta cepa de *Wolbachia* tenha sido transferida para algum indivíduo desta espécie desconhecida por meio deste mesmo processo de parasitismo.

Segundo Li et al. (2017), uma outra forma de transmissão horizontal de bactérias endossimbiontes seria por meio do intermédio de uma planta que sofra herbivoria. No caso

seria a transmissão de *Wolbachia* de uma *B. tabaci* contaminada com *Wolbachia* para uma *B. tabaci* não contaminada, via planta atacada como intermediária. Após a herbivoria, as cepas de *Wolbachia* foram visualizadas tanto no vaso de floema e nos tecidos de reserva por hibridização fluorescente *in situ* usando sondas específicas de *Wolbachia* do gene 16S. Foi relatado que as cepas permaneceram na planta infectada por no mínimo 50 dias. Quando os indivíduos de *B. tabaci* não contaminados se alimentaram da planta infectada, a maioria delas adquiriu a cepa (LI et al., 2017). Com este trabalho de pode-se especular que esse tenha sido o caminho hipotético pelo qual *Wolbachia* chegou até espécies hospedeiras (Li et al. 2017), entre elas: *T. urticae*, um ácaro rajado que é praga de diversas culturas, incluindo algodoeiro, morangueiro, roseira, tomateiro, soja, pessegueiro, feijoeiro, etc. (POTENZA et al., 2006); e *M. fascifrons*, uma espécie de gafanhoto que costuma atacar arrozais (ORAZE e GRICARICK, 1989)

Já o carrapato *I. persulcatus*, vetor da bactéria *Borrelia burgdorferi* que causa a doença de Lyme vive (quando não está parasitando e se alimentando de sangue) aderido às folhas de taigas (vegetação da zona da Euro-Ásia) (NEFEDOVA et al., 2004). Não há nada até o momento na literatura que comprova ou especula como *Wolbachia* chegou até essa espécie. Entretanto, exista a possibilidade da causa estar relacionado com o fato do indivíduo da espécie hospedeira conviver na mesma localidade com várias espécies de lepidóptera portadoras de *Wolbachia* tais como *C. palaemon*, *P. stubbendorffii*, *A. punctidactyla*, *A. paphia*, *P. icarus*, *C. silvicola* *C. oedippus* e *C. glycerion* (ILINSKIN e KOSTERIN, 2017).

Carvalho et al. (2014c), por meio de fragmentos de PCR do gene 16S de *Wolbachia* obtiveram evidências moleculares de transferência o horizontal de cepas de *Wolbachia* presentes em *S. zeamais* e *S. oryzae*. Além disso, foi observado uma porcentagem de identidade de 100% das sequências de 16S de *Wolbachia* presentes em *S. zeamais* e no seu parasitoide *Theocolax elegans* (Hymenoptera: Pteromalidae) o que é uma evidência de transferência horizontal entre ambas as espécies (CARVALHO et al., 2014c). Interessante notar que no caso das cepas SONDYA e BOTRY presentes, respectivamente, em *S. oryzae* e *Sitophilus* sp. a diferença entre as duas é apenas ao alelo para *fbpA*. Para os outros genes, as sequências das duas cepas são idênticas, o que provavelmente foi uma combinação oriunda de transporte horizontal de cepas.

Nota-se também que cepas presentes em espécies praga de grãos armazenados compartilham em certo grau alguns alelos entre si, além do que já foi discutido acima para SONDYA e BOTRY ou para *Zsub SP2* e *Tcon\_B\_BhAvill\_AK*. O processo de transporte

horizontal e consequente compartilhamento de alelos dessas cepas deve ser facilitado pelo fato de suas respectivas espécies hospedeiras terem uma distribuição cosmopolita (DASS et al., 1984; FAVA e BURLANDO, 1995; ATHANASSIOU et al., 2003; ALABI et al., 2008; NDONG et al., 2011; GHRIBI et al., 2012; COSTA et al., 2014).

Uma outra evidência forte de transporte horizontal entre grupos taxonômicos diferentes é a cepa Ccep\_B\_BJ presente em *C. cephalonica* cujo mesmo genótipo MLST e WSP foi encontrado em pelo menos em 14 espécies da ordem Lepidoptera: *Nacadura angusta*, *Azanus mirza*, *Celastrina argiolus*, *Eurema mandarina*, *Delias eucharis*, *Eurema hecabe*, *Ixias pyrene*, *Zizeeria knysna*, *Pseudozizeeria maha*, *Clossiana oscarus*, *Polyommatus amandus*, *Thecla betulae*, *Leptidea juvernica*, *Leptidea amurensis* (PubMLST-Universidade de Oxford). Recentemente, Carvalho et al. (2018) também detectaram a presença de uma cepa com o mesmo genótipo de Ccep\_B\_BJ em *Tuta absoluta*.

O mesmo indício pode ser constatado em relação ao genótipo MLST e WSP da cepa Ekue\_A presente em *E. kuehniella* e que foi detectado também nas cepas existentes em *Technomymex albipes* (Hymenoptera), *Ornipholidotos peucetia* (Lepidoptera), *Pheidole plagiara* (Hymenoptera), *Pheidole sauberi* (Hymenoptera), *Aricia artaxerxes* (Lepidoptera), *Paratrechina longicornis* (Hymenoptera), *Leptomymex* sp. (Hymenoptera), *Leptogenys* sp. (Hymenoptera) (PubMLST-Universidade de Oxford).

Em relação a semelhança dos genótipos MLST e WSP das cepas Ekue\_A presente em *E. kuehniella* e da cepa Ach\_A\_wCh3 presente em *A. chilonis*, foi detectado em *A. chilonis* uma outra cepa de *Wolbachia* denominada Ach\_A\_wCh4 com o genótipo MLST totalmente idêntico ao de Ekue\_A pelo que foi verificada no banco de dados do PubMLST (PubMLST-Universidade de Oxford). Como *A. chilonis* é um parasitoide (Kiritani, 2018), e levando em conta que já há registros do gênero *Apanteles* ser um parasitoide, incluindo de *E. kuehniella* (RICHARDS e THOMSON, 1932; ABDEL-RAHMAN et al., 1977; GORDH e HARTMAN, 1991), é possível que uma transferência horizontal de uma cepa de *E. kuehniella* para *A. chilonis*, via parasitismo, seja o elo que ligue as cepas Ekue\_A e Ach\_A\_wCh3.

Montagna et al. (2014), usando de genotipagem de MLST e do gene *wsp* constataram que a cepa presente em *Oreina cacaliae* Ocac\_A\_wVdO estaria presente também em outras espécies do gênero *Oreina*, sendo elas *O. elongata*, *O. bidentata*, *O. speciosa* e *O. liturata*, o que é mais uma evidência de transporte horizontal.

Em relação as cepas Cobs\_A\_Switz, Cobs\_A\_USA e Cobs\_A\_Ger presentes em *C. obstrictus* (Marsham) o genótipo MLST é praticamente o mesmo, só se diferenciando em relação ao genótipo WSP, o que pode ser reforçado pelas análises das árvores de cada um dos seis genes, o que é um indício que provavelmente tenham vindo de alguma cepa ancestral. Isso já foi descrito anteriormente por Floate et al. (2011) e de acordo com eles estas três cepas ocorreriam em todas as populações e potencialmente em todos os indivíduos. Além disso, essas três cepas compartilham alelos do genótipo MLST e WSP com cepas presentes em *F. occulta*, *A. emertoni*, *O. cacaliae* e *P. coloradensis*. Resultado semelhante ao agrupamento dessas mesmas cepas foi observado por Russell et al. (2009), se baseando apenas no genótipo MLST.

No que diz respeito as análises Bayesianas individuais de cada gene de *Wolbachia*, foram geradas árvores, cujas cepas se agrupam de forma bem diferente, dependendo do gene em questão, de tal forma que a árvore formada divergiu completamente da árvore paricionada (consenso). Pode-se observar isso pelas análises realizadas nos bancos de dados W4 e W6, em que a cepa presente em *Z. subfasciatus* apresentou uma maior proximidade filogenética com a cepa presente em *C. palaemon* do que com a existente em *L. oryzophilus*. Deve-se primeiro levar em conta que cada gene segue uma dinâmica evolutiva diferente. E em segundo é muito provável que tanto a divergências entre as árvores de cada gene, quanto o compartilhamento de alelos entre as cepas sejam evidências de recombinação gênica cepas de *Wolbachia*. Baldo et al. (2006) relataram a recombinação entre 4 genes basais de *Wolbachia*, via transferência horizontal entre e dentro grupo de cepas completamente divergentes, como é o caso dos supergrupos A e B. A recombinação entre genes também é relatada por Ilinski e Korterin (2017) ao fazer análise ao nível de MLST de cepas de *Wolbachia*.

A literatura também cita a ocorrência de recombinação intragênica no que diz respeito ao gene *wsp* (WERREN e BARTOS 2001). Baldo et al. (2005) relataram a recombinação a nível intragênico das regiões HVR de *wsp* entre cepas de *Wolbachia*. Estes mesmos autores sugerem uma origem quimérica para o gene *wsp*. Isto talvez explique o fato de algumas HVRs das cepas analisadas no presente trabalho serem tão semelhantes ou até idênticas em nível de sequência de aminoácidos (compartilhamento de alelos do genótipo WSP) ao passo que outras são completamente diferentes.

É provável que um grande número de elementos móveis em *Wolbachia* spp. facilite a recombinação homóloga ou rearranjo do genoma (CORDAUX, 2008; CERVEAU et al., 2011; LECLERCQ et al., 2011). Um exemplo de elementos móveis são os transposons

(presentes em inúmeros tipos de organismos) são conhecidos como “genes saltadores” ou elementos transponíveis, estes são sequências de DNA que se movem pelo genoma, e são encontrados em diferentes posições de uma única célula, o que é denominado transposição. McClintock (1950) foi a pioneira na observação da presença de transposons no genoma de milho, atualmente já se sabe que 50 % do genoma deste cereal é constituído por elementos transponíveis (MARCON, 2009).

É sabido que bacteriófagos (vírus que infectam células bacterianas) como o fago WO está amplamente espalhado no gênero *Wolbachia*. Amplificações de PCR do gene *orf7* que codifica proteínas do capsídeo do WO, mostraram que esse fago infecta 89% dos supergrupos A e B de *Wolbachia*, mas estão ausentes nos grupos C e D presente em nematoides (BORDENSTEIN e WERNEGREN 2004; GAVOTTE et al. 2007). Entretanto, vestígios de DNA do fago já foram encontrados no grupo C e D, sugerindo que em algum um ponto na evolução, eles foram hospedeiros para WO também. O fago WO é um elemento dinâmico que tem um significativo impacto na diversidade genética de *Wolbachia* (KENT & BORDENSTEIN, 2010). Sequências completas de profagos são conhecidas nas linhagens *wKue* (MASUI et al., 2000), *wMel* (WU et al., 2004), *wPip* (KLASSON et al., 2008), *wRi* (KLASSON et al., 2009) e *wCauB* (FUJII et al., 2004; TANAKA et al., 2009). Análises mostram que a evolução molecular de WO é um processo complexo que envolve transmissão vertical e horizontal, recombinação entre fagos e carregamento de outros elementos móveis. Apesar dos detalhes da transferência de WO não ter sido completamente esclarecido, evidências suportam o movimento potencial de partículas WO ativas entre cepas de *Wolbachia* relacionadas ou divergentes (KENT & BORDENSTEIN, 2010).

Como outros genomas de sequenciados de *Wolbachia* do supergrupo A e B, tanto tanto as cepas *wVitA* e *wUni*, por exemplo, contem grandes elementos profago WO. No total, 151 genes são preditos de serem elementos móveis em *wUni* (13% do genoma, com 68 transposons, 9 cópias de elementos palindromicos de *Wolbachia* e 74 genes de fagos) ao passo que *wVitA* contém 137 elementos gênicos móveis (10% do genoma, com 18 transposons, 9 cópias para elemento palindromico de *Wolbachia* e 74 genes de fagos) (NEWTON et al., 2016). É possível que o profago, nesse carregamento carregue uma sequência completa de um dos genes de *Wolbachia* ou mesmo um dos segmentos que codificam para HVRs para outras cepas e uma vez nesta célula ocorra a recombinação por intermédio de sequências análogas, aumentando assim a variabilidade graças a troca de alelos.

### 4.3. Filogeografia continental de *Z. subfasciatus*

No presente trabalho o caruncho *Z. subfasciatus* apresentou a predominância de uma única linhagem mitocondrial distinta ao longo do território nacional no que diz respeito ao gene de COI. Um padrão semelhante foi encontrado por Oliveira et al. (2013), que ao analisar populações brasileiras de *A. obtecus* detectou o predomínio de uma linhagem de COI na maioria das populações, com exceção de algumas populações existentes no sul do país. A presença de uma única linhagem de *Z. subfasciatus*, explica o fato dos valores de Tajima,  $F_s$  e  $R_2$  serem significativos, o que sugere a hipótese da ocorrência no passado de efeito gargalo. Tanto Sakai et al. (2001) quanto Tsutsui et al. (2000) atribuem a baixa diversidade a dispersão recente de espécies invasivas, como é o caso de *Z. subfasciatus*. O mesmo foi constatado por Bonizzoni et al. (2004), que ao analisarem uma espécie mediterrânea da mosca da fruta concluíram que houve uma redução significativa da diversidade genética, tendo menor variabilidade quando comparada à população original. Grapputo et al. (2005) ao estudarem uma espécie invasiva do besouro da batata concluíram também que esta possui menor diversidade genética nas populações europeias, sugerindo que um único efeito fundador, resultante de uma introdução recente estaria ocorrendo neste continente. Da mesma forma, nas populações de *Z. subfasciatus* este efeito gargalo foi provavelmente devido a um evento recente de migração, fruto da introdução de semente de feijão no Brasil. Deve ser lembrado que o caruncho se desloca geograficamente junto com grão (ALVAREZ et al., 2005).

Em nível de DNA nuclear, via região ITS2 do gene 5,8S, é possível notar um considerável compartilhamento de haplótipos entre populações, o que é um indício de fluxo gênico. Souza et al. (2008) realizaram análises em populações de *Z. subfasciatus* com marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) em regiões de microssatélite do genoma e detectaram que as populações brasileiras apresentam baixa diferenciação genética e baixa estruturação geográfica, o que corrobora os resultados do presente trabalho.

A princípio, a baixa diversidade das populações de *Z. subfasciatus* no Brasil pode facilitar o manejo, seja por pesticidas, ou por cultivares adaptados a praga. Entretanto, a introdução de novos genótipos, a exemplo do gorgulho do milho *S. zeamais* pode aumentar o fitness da população local, pelo fato dos indivíduos oriundos de populações estrangeiras carregarem uma vasta gama de alelos favoráveis. Após o cruzamento e recombinação dos novos alelos, com o dos alelos locais podem resultar em novas combinações genômicas que de outra forma não ocorreriam a nível local ou regional (CORRÊA et al., 2017).

Seguindo esse raciocínio, deve-se levar em conta que a análise de ambos os genes detectaram também um compartilhamento de haplótipos entre países. Segundo dados da página do Ministério da agricultura (2018), do período de 1997 à Abril de 2018 houve uma considerável importação de grãos de feijão, vindos do Peru (Ver Figura Complementar 1). No caso, do México, apenas dois momentos de importação considerável no ano de 2005 e 2014 (Ver Figura Complementar 1) e de exportação no ano de 2012 e 2017 (Ver Figura Complementar 2) (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2018). Pode ser possível que tenha havido movimentação de indivíduos de *Z. subfasciatus*, carregando estes haplótipos, de um país para outro durante o momento dessas trocas comerciais.

Em relação à Colômbia, não há dados oficiais de troca comercial de grãos de feijão com este país (Ver Figuras Complementares 1 e 2) (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2018). Entretanto nada impede que grãos infestados com ovos de *Z. subfasciatus* tenham ido do Brasil para Colômbia ou vice-versa, de forma indireta (por intermédio do comércio de outros países que comercializam grãos de feijão com o Brasil), ou por meio de vias não oficiais. Segundo Costa (2016) há uma baixa presença do Estado brasileiro nas regiões de fronteira no que diz respeito à segurança pública, fiscalização e defesa dessas localidades. Isto talvez explique o compartilhamento do haplótipo de ITS2 da população de Calima El Darién na Colômbia com populações que estão há milhares de quilômetros de distância como Jaboticabal-SP e Unaí-MG no Brasil.

O controle de *Z. subfasciatus* proporcionado pelo uso de inseticidas é satisfatório. Entretanto, sua adoção é limitada pelo elevado custo dos produtos e por problemas decorrentes da toxicidade a mamíferos (GUTIERREZ E SCHOONHOVEN, 1981). Além disso, nada se impede que surja no futuro indivíduos resistentes a exemplo do que já é relatada em outras espécies pragas de grãos armazenados como *S. zeamais* (GUEDES et al., 2006, 2010; CORRÊA et al., 2011).

Por isso, é necessário que as autoridades fitossanitárias redobrem a atenção em prevenir o máximo possível a introdução de novas variações genéticas, em especial variações oriundas de populações que podem já ter experimentado altas pressões seletivas em direção a seleção de traços adaptativos favoráveis. O transporte não intencional desses indivíduos pode levar a dispersão de características adaptativas favoráveis, levando eventualmente ao estabelecimento de genótipos de resistência (CORRÊA et al., 2017).

## 5. CONCLUSÕES

- 1) A cepa Zsub de *Wolbachia* está presente em todas as populações de *Z. subfasciatus* amostradas na América do Sul. Além disso, as sequências dos indivíduos de Ipatinga-MG, Teresina-PE no Brasil, Huaraz no Peru e de Calima El Darién na Colombia para os seis genes não apresentaram qualquer polimorfismo para os seis genes analisados, se tratando, portanto, da mesma cepa.
- 2) As análises realizadas nas cepas de *Wolbachia* mostraram que a cepa Lory\_B presentes em *L. oryophilus* é a mais próxima da que está presente em *Z. subfasciatus*, tanto em termo de identidade de sequência, quanto de filogenia bayesiana para a maioria dos genes.
- 3) Pode-se perceber que determinadas cepas de *Wolbachia* presentes em espécies de grupos distantes filogeneticamente como *T. urticae* (um aracnídeo) e *Z. subfasciatus* (um inseto) conseguem ter uma maior proximidade filogenética do que outras cepas, presentes em espécies do mesmo grupo filogenético, o que é um indício da presença de transferência horizontal dessas cepas entre espécies ou até mesmo grupos maiores como classe.
- 4) A cepa Zsub compartilha alelos com cepas presentes nas espécies praga de grãos armazenados *T. confusum* e *C. serratus*, assim como na espécie neotropical *C. alternans*, sendo que ambas as três pertencem a ordem Coleoptera.
- 5) A formação de diversos tipos de árvores diferentes das cepas de *Wolbachia* analisadas para seus diferentes genes, além do que foi apresentado no perfil MLST e WSP é um indicio de que as cepas recombinaem seus genes, seja, a em termos inter ou intra-gene.
- 6) A análise do gene mitocondrial COI, tanto a nível de rede de haplótipos, quanto de árvore bayesiana demonstrou que há um linhagem materna predominante no território nacional. Se acrescentar a isso, os valores significativos dos testes de neutralidade (Teste D e Fs ) e de mudança no tamanho populacional (R2), pode-se inferir que essa linhagem materna tenha sido fruto de um efeito gargalo oriundo provavelmente da migração recente de alguns poucos indivíduos de *Z. subfasciatus* que vieram com a introdução recente do feijão no território nacional.
- 7) Tanto as análises de COI e de ITS2 a nível de rede de haplótipos e da filogenia bayesiana mostraram o agrupamento de alguns indivíduos pertencentes a regiões geográficas distintas, o que pode ser um indício de fluxo gênico entre as populações de *Z. subfasciatus*, tanto em termos de território nacional, quanto de continente.

## 6. REFERÊNCIAS

- ABATE, T., AMPOFO, J. K. O. 1996. Insect pests of beans in Africa: their ecology and management. **Annual Review of Entomology**. v. 4, p. 45-73, 1996.
- ABDEL-RAHMAN, H. A., SHAUMAR, N. F., SOLIMAN, Z. A., & AGOZE, M. M. Survey and taxonomy of parasites and predators of stored grain and grain products insects. **Bulletin de la Societe Entomologique d' Egypte**. v. 61, p. 53-74, 1977.
- AEBI, A., SHANI, T., BUTCHER, R. D. J., ALVAREZ, N., RISTERUCCI, A. M., & BENREY, B. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in *Zabrotes subfasciatus* Boheman (Coleoptera: Bruchidae). **Molecular Ecology Notes**. v 4, n. 4, p. 752-754, 2004.
- AHMED, M. Z., LI, S. J., XUE, X, YIN, X. J., REN, S. X., JIGGINS, F. M., GREEFF, J. M., & QIU, B. L. The Intracellular Bacterium *Wolbachia* Uses Parasitoid Wasps as Phoretic Vectors for Efficient Horizontal Transmission. **Plos Pathogens**. v. 10, n. 2, p. 1-19, 2015.
- AHMED, M. Z., BREINHOLT, J. W., & KAWAHARA, A. Y. Evidence for common horizontal transmission of *Wolbachia* among butterflies and moths **BMC Evolutionary Biology** v. 16, n. 118, p. 1-16, 2016.
- AKAIKE, H. 1973. Information theory and an extension of maximum likelihood principle. In: PETROV, B. N. & CSAKI, F.: **Second International Symposium on Information Theory**. Budapest: Ed. Akademiai Kiado, 1973, p. 267-281.
- ALABI, T., MICHAUD, J. P., ARNAUD, L. & HAUBRUG E, E. A comparative study of cannibalism and predation in seven species of flour beetle. **Ecological Entomology**. v. 33, p. 716-726, 2008.
- ALTSCHUL, S. F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E.W. & LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**. v 215:403-410, 1990.
- ALVAREZ, N., MCKEY, D., HOSSAERT-MCKEY, M., BORN, C., MERCIER, L., & BENREY, B. Ancient and recent evolutionary history of the bruchid beetle, *Acanthoscelides Obtectus* Say, a cosmopolitan pest of beans. **Molecular Ecology**. v. 14, p. 1015-1024, 2005.
- ALVAREZ, N.; BENREY, B.; HOSSAERT-MCKEY, M.; GRILL, A.; MCKEY, D.; NICOLAS GALTIER, N. Phylogeographic support for horizontal gene transfer involving sympatric bruchid species. **Biology Direct**. v. 1, n. 21, p. 1-11, 2006.
- AMBROZIO, V. C., BARELLI, M. A. C., SANTOS, A. A. B., SILVA, C. R., GALBIATI, C., 5; PARISOTTO, J. P., NEVES, L. G. Common bean resistance to *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833). **Revista Espacios**. v. 38, n. 9, p. 14-25, 2017.

ATHANASSIOU, C. G., KAVALLIERATOS, N. G., TSAGANOU, F. C., VAYIASA, B. J., DIMIZAS, C. B., BUCHELOS, C. TH. Effect of grain type on the insecticidal efficacy of SilicoSec against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**. v. 22, 1141-1147, 2003.

BALDO, L., LO, N., & WERREN, J. H. Mosaic Nature of the Wolbachia Surface Protein. **Journal of Bacteriology**. v. 187, n.15, p. 5406-5418, 2005.

BALDO, L., HOTOPP, J. C. D., JOLLEY, K. A., BORDENSTEIN, S. R., BIBER, S. A., CHOUDHURY, R. R., HAYASHI, C., MAIDEN, M. C. J., TETTELIN, H., & WERREN, J. H. Multilocus Sequence Typing System for the Endosymbiont Wolbachia pipientis **Applied and Environmental Microbiology**. v. 72, n. 11, p. 7098-7110, 2006a.

BALDO, L., BORDENSTEIN, S. , WERNEGREEN, J. J., & WERREN, J. H. A Widespread Recombination Throughout Wolbachia Genomes. **Molecular Biology and Evolution**. v. 23, n. 2, p. 437-449, 2006b.

BANDEL, H. J., FORSTER, P., & ROHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**. v. 16, p. 37-48, 1999.

BITOCCHIA, E., NANNIA, L., BELLUCCIA, E., ROSSIA, M., GIARDINIA, A., ZEULIB, P. S., LOGOZZO, G., STOUGAARD, J., MCCLEAND, P., ATTENEE, G., PAPAA, R. Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 109, n. 14, p. 788-796, 2012.

BONIZZONI, M., GUGLIELMINO, C. R., SMALLRIDGE, C. J., GOMULSKI, M., MALACRIDA, A. R., & GASPERI, G. On the origins of medfly invasion and expansion in Australia. **Molecular Ecology**. v. 13, p. 3845-3855, 2004.

BORDENSTEIN, S.R., & WERNEGREEN, J. J. Bacteriophage flux in endosymbionts (Wolbachia): infection frequency, lateral transfer, and recombination rates. **Molecular Biology and Evolution**. v. 21, p. 1981-1991, 2004.

CARVALHO, G. S., SILVA, L. S., SILVA, L. B., ALMEIDA, M. L. S., PAVAM, B. E., & PERES, M. T. L. P. Mortalidade e comprometimento do desenvolvimento de *Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera: Chrysomelidae), induzido pelo extrato de sangra d'água *Croton urucurana* Baill (Euphorbiaceae). **Comunicata Scientiae**. v. 5, n. 3, p. 331-338, 2014a.

CARVALHO, G. A., VIEIRA, J. L., HARO, M. M., CORRÊA, A. S., RIBON, A. O. B., OLIVEIRA, L. O., & GUEDES, R. N. C. Pleiotropic Impact of Endosymbiont Load and Co-Occurrence in the Maize Weevil *Sitophilus zeamais* **PLOS ONE**. v. 9, n. 10, p. 1-15, 2014b.

CARVALHO, G. A., CORRÊA, A. S., OLIVEIRA, L. O., & GUEDES, R. N. C. Evidence of horizontal transmission of primary and secondary endosymbionts between maize and rice weevils (*Sitophilus zeamais* and *Sitophilus oryzae*) and the parasitoid *Theocolax elegans* **Journal of Stored Products Research**. v. 59, p. 61-65, 2014c.

- CARVALHO, G. A., CORRÊA, A. S., OLIVERIA, L. O. CHEDIAK, M., SIQUEIRA, H. Á. A., GUEDES, R. N. C. Wolbachia strains, and lack of genetic diversity and parthenogenesis in Brazilian populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) **Journal of Applied Entomology**. v. 142, p. 1-7, 2018.
- CASIRAGHI, M., BORDENSTEIN, S. R., BALDO, L. LO, N., BENINATI, T., WERNEGREN, J. J., WERREN, J. H., & BANDI, C. Phylogeny of *Wolbachia pipientis* based on *gltA*, *groEL* and *ftsZ* gene sequences: clustering of arthropod and nematode symbionts in the F supergroup, and evidence for further diversity in the *Wolbachia* tree. **Microbiology**. v. 151, 4015-4022, 2005.
- CERVEAU, N., LECLERCQ, S., LEROY, E., BOUCHON, D., & CORDAUX, R. Shortand long-term evolutionary dynamics of bacterial insertion sequences: insights from *Wolbachia* endosymbionts. **Genome Biology and Evolution**. v. 3, p. 1175-1186, 2011.
- CHAUDHURI, N., & SENAPATI, S. K. Development and reproductive performance of rice moth *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae) in different rearing media. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**. v. 16, p. 337-343, 2017.
- CHOUDHURY, S. D., & CHAKRABORTY, K. Study on both the life cycle and morphometrics of *Sitophilus oryzae* on rice cultivar Sampa mashuri in laboratory condition **Journal of Applied Science And Research**, v. 2, n. 6, p. 22-28, 2014.
- CORDAUX, R. 2008. ISWpi1 from *Wolbachia pipientis* defines a novel group of insertion sequences within the IS5 family. **Gene**. v. 409, p. 20-27.
- COSTA, J. T., FORIM, M. R., COSTA, E. S., SOUZA, J. R., MONDEGO, J. M., & BOIÇA JUNIOR, A. L. Effects of different formulations of neem oil-based products on control *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) on beans **Journal of Stored Products Research**. v. 56, p. 49-53, 2014.
- CLARK, T.; MEINKE, L. E FOSTER, J. Molecular phylogeny of *Diabrotica* beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) inferred from analysis of combined mitochondrial and nuclear DNA sequences. **Insect Molecular Biology**. v.10, p. 303-314, 2001.
- COSTA, M. K. B. **Políticas de Segurança e Defesa da Fronteira Brasileira no Contexto de Integração Regional: os casos das fronteiras Brasil-Uruguai e Brasil-Paraguai**. 2016. 134f. Dissertação (Mestrado em Relações internacionais) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2016.
- CORRÊA, A. S., PEREIRA, E. J. G., CORDEIRO, E. M. G., BRAGA, L. S. & GUEDES, R. N. C. Insecticide resistance, mixture potentiation and fitness in populations of the maize weevil (*Sitophilus zeamais*). **Crop Protection**. v. 30, p. 1655-1666, 2011.
- CORRÊA, A. S., VINSON, C. C., BRAGA, L. S., GUEDES, R. N. C., & OLIVEIRA, L. O. Ancient origin and recent range expansion of the maize weevil *Sitophilus zeamais*, and its genealogical relationship to the rice weevil *S. oryzae*. **Bulletin of Entomological Research** v. 107, p. 9-20, 2017.

CREDLAND, P. F. & DENDY, J. Intraespecific variation in bionomic characteres of the Mexican bean weevil, *Zabrotes subfasciatus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** v. 65, p. 39-47, 1992.

DASS, R., PAUL, A. V. N., AGARWAL, R. A. Feeding potential and biology of lesser meal worm, *Alphitobius diaperinus* (Panz.) (Col., Tenebrionidae), preying on *Corcyra cephalonica* St. (Lep., Pyralidae). **Journal of Applied Entomology**. v. 98, n. 1-5, p. 444-447, 1984.

DIAZ, I. L., PARTIDA, A. M. G., OCAMPO, J. A. H., WINZERLING, J., MORENO, L. V. Identification of membrane proteins of the midgut of *Zabrotes subfasciatus* larvae associated with the insecticidal mechanism of PF2 lectin. **Journal of Asia-Pacific Entomology**. v. 19, 677-682, 2016.

DUPOLOY, A., COUCHOUX, C., HANSKI, I., NOUHUY, S. V. Infection in a Natural Parasitoid Wasp Population. **PLOS ONE**. v. 10, n. 8, p.1-15, 2015.

EL ATTA, H. A. The effect of *Caryedon serratus* Oliver (Col., Bruchidae) on viability and germination of seeds of *Acacia nilotica* (L. Willd. ex Del.) in the Sudan. **Forest Ecology and Management**. v. 57, p. 169-177, 1993.

FAVA, A., & BURLANDO, B. Influence of female age age and grain availability on the ovopositional pattern of the wheat weevil *Sitophilus granaries* (Coleoptera: Curculionidae) **European Journal of Entomology**. v. 92, p. 421-426, 1995.

FLOATE, K. D., COGHLIN, P. C., DOSDALL; L. A Test Using *Wolbachia* Bacteria to Identify Eurasian Source Populations of Cabbage Seedpod Weevil, *Ceutorhynchus obstrictus* (Marsham), in North America, **Environmental Entomology**, v. 40, n. 4, p. 818-823, 2011.

FUJII, Y., KUBO, T., ISHIKAWA, H., & SASAKIA, T. Isolation and characterization of the bacteriophage WO from *Wolbachia*, an arthropod endosymbiont. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 317, p. 1183-1188, 2004.

FU, Y. X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics**. v. 147, p. 915-925, 1997.

GAVOTTE, L., HENRI, H., STOUTHAMER, R., DELPHINE CHARIF, D., CHARLAT, S., BOULÉTREAU, M., & VAVRE, F. A survey of the bacteriophage WO in the endosymbiotic bacteria *Wolbachia*. **Molecular Biology and Evolution**. v. 24, p. 427-435, 2007.

GENES CODES CORPORATION. **Sequencher versão 4.0.1.**: DNA sequences analysis software. Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI, EUA. Disponível em: <<https://www.genecodes.com/>>.

GHRIBI, D., ELLEUCH, M., ABDELKEFI, L., ELLOUZE-CHAABOUNI, S. Evaluation of larvicidal potency of *Bacillus subtilis* SPB1 biosurfactant against *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae and influence of abiotic factors on its insecticidal activity **Journal of Stored Products Research**. v. 48, p. 68-72, 2012.

GILLUNG, J. P. & BORKENT, C. J. Death comes on two wings: a review of dipteran natural enemies of arachnids. **Journal of Arachnology**. v. 45, n. 1 p. 1-19, 2017.

GIRÃO FILHO, J.E., ALCÂNTARA NETO, F., PÁDUA, L. E. M., PESSOA, E. F. Repelência e atividade inseticida de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Boheman em feijão-fava armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 16, n. 3, p.499-504, 2014.

GODFRAY, H. C. J. Four decades of parasitoid science **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v. 159, p. 135–146, 2016.

GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, A., BENREY, B., CALLEJAS, A., OYAMA, K. Inter and intraspecific genetic variation and differentiation in the sibling bean weevils *Zabrotes subfasciatus* and *Z. sylvestris* (Coleoptera: Bruchidae) from Mexico. **Bulletin of Entomological Research**. v. 92, p. 185-189, 2002.

GORDH, G., HARTMAN, H. Hymenopterous parasites of stored-food insect pests. In: Gordham, J. R. (Ed). **Ecology and management of food-industry pest**. Arlington: Association Analytical Chemists, 1991, p. 217-227.

GRAPPUTO, A., BOMAM, S., LINDSTROM, L., LYYTINEN, A., MAPPE, J. The voyage of an invasive species across continents: genetic diversity of North American and European Colorado potato beetle populations. **Molecular Ecology**. v. 14, p. 4207-4219, 2005.

GRAZZIOTIN, M. A. G D. (2016) **Introdução e expressão do gene da arcelina do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) walp.] para resistência aos carunchos *Zabrotes subfasciatus* e *Callosobruchus maculatus***. 2016. 75 f. 75. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2016.

GUEDES, R. N. C., OLIVEIRA, E. E., GUEDES, N. M. P., RIBEIRO, B. & SERRÃO, J. E. Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Physiological Entomology**. v. 31, p. 30-38, 2006.

GUEDES, N. M. P., TOLLEDO, J., CORRÊA, A. S. & GUEDES, R. N. C. Insecticide-induced hormesis in an insecticide-resistant strain of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Journal of Applied Entomology**. v. 134, p. 142-148, 2010.

GUTIERREZ, B. A.; SCHOONHOVEN, A. V. **Proteja su cosecha de frijol contra el ataque de los gorgojos**. Palmira: Instituto Colombiano Agropecuario. 1981. 12p. (Boletín Divulgativo, 66).

HERTIG, M. & WOLBACH, S. B. Studies on Rickettsia-like microorganisms in insects. **Journal of Medicina Research**. v. 44, p. 329–374, 1924.

HILL, D. S. **Pests of stored products and their control**. New York: CRC Press, 1990. 274 p.

HOFFMANN, A. A., MONTGOMERY, B. L., POPOVICI, J., ITURBE-ORMAETXE, I., P. JOHNSON, H., MUZZI, F., GREENFIELD, M., DURKAN, M., LEONG, Y. S., DONG, Y., COOK, H., AXFORD, J., CALLAHAN, A. G., KENNY, N., OMODEI, C., MCGRAW, E. A., RYAN, P. A., RITCHIE, S. A., TURELLI, M., & O'NEILL, S. L. Successful establishment of *Wolbachia* in *Aedes* populations to suppress dengue transmission. **Nature**. v. 476, p. 454-457, 2011.

- ILINSKY, Y. & KOSTERIN, O. E. Molecular diversity of Wolbachia in Lepidoptera: Prevalent allelic content and high recombination of MLST genes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. v. 109, p. 164–179, 2017.
- KENT, B. N. & BORDENSTEIN, S. R. Phage WO of Wolbachia: lambda of the endosymbiont world **Trends Microbiology**. v. 18, n. 4, p. 173-181, 2010.
- KERGOAT, G. J., RU, B. P. L., SADEGHI, S. E., TUDA, M., REID, C. A. M., GYORGY, Z., GENSON, G., RIBEIRO-COSTA, C. S., & DELOBEL, A. Evolution of Spermophagus seed beetles (Coleoptera, Bruchinae, Amblycerini) indicates both synchronous and delayed colonizations of host plants. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. v. 89, p. 91-103, 2015.
- KIM, K.S. & SAPPINGTON, T.W. Boll Weevil (*Anthonomus grandis* Boheman) (Coleoptera: Curculionidae) dispersal in the Southern United States: Evidence from mitochondrial DNA variation. **Molecular Ecology and Evolution**. v.33, n. 2, p. 457-469, 2004.
- KIRITANI, K. **Implications of an unintended area-wide IPM for *Chilo suppressalis* in Japan**. Food and Fertilizer Technology Center. Taipei, p. 1-9, 2018. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/242262046\\_IMPLICATIONS\\_OF\\_AN\\_UNINTENDED\\_AREA-WIDE\\_IPM\\_FOR\\_CHILO\\_SUPPRESSALIS\\_IN\\_JAPAN](https://www.researchgate.net/publication/242262046_IMPLICATIONS_OF_AN_UNINTENDED_AREA-WIDE_IPM_FOR_CHILO_SUPPRESSALIS_IN_JAPAN)> Acesso em 22 de maio de 2018.
- KLASSON, L., WALKER, T., SEBAIHIA, M., SANDERS, M. J., QUAIL, M. A., LORD, A., SANDERS, S., EARL, J., O'NEILL, S. L., THOMSON, N., SINKINS, S. P. & PARKHILL, J. Genome evolution of Wolbachia strain wPip from the *Culex pipiens* group. **Molecular Biology and Evolution**. v. 25, p. 1877-1887, 2008.
- KLASSON, L., WESTBERG, L. J., SAPOUNTZIS, P., NÄSLUND, P., LUTNAES, Y., DARBY, C. A., VENETI, Z., CHEN, L., BRAIG, H. R., GARRETT, R., BOURTZIS, K., & ANDERSSON, S. G. E. The mosaic genome structure of the Wolbachia wRi strain infecting *Drosophila simulans*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 106, p. 5725-5730, 2009.
- KUMAR, S., STECHER, G., & TAMURA, K. 2015 MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. for Bigger Datasets. **Molecular Biology and Evolution**. v. 33, n. 7, p. 1870-1874, 2016.
- KUMAR, L. S., SAWANT, A. S., GUPTA, V. S., RANJEKAR, P. K. Comparative Analysis of Genetic Diversity Among Indian Populations of *Scirpophaga incertulas* by ISSR-PCR and RAPD-PCR. **Biochemical Genetics**. v. 39, n. 9-10, p. 297-309, 2001.
- LAZZARI, F. N. **Controle de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae) e qualidade do feijão (*Phaseolus vulgaris* Linnaeus, 1753) tratado com terra de diatomácea. 2005. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Entomologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2005.**

LECLERCQ, S., GIRAUD, I., & CORDAUX, R. 2011. Remarkable abundance and evolution of mobile group II introns in Wolbachia bacterial endosymbionts. **Molecular Biology and Evolution**. 28(1):685–697.

LI, Y. Y., FIELDS, P. G., PANG, B. P., COGHLIN, P. C., & FLOATE, K. D. Prevalence and diversity of Wolbachia bacteria infecting insect pests of stored products. **Journal of Stored Products Research**. v. 62, p. 93-100, 2015.

LI, S. J., XUE, X., AHMED, Z., REN, S. X., DU, Y. Z., WU, J. H., CUTHBERTSON, A. G. S., & QIU, B. L. Host plants and natural enemies of Bemisia tabaci (Homoptera: Aleyrodidae) in China. **Insect Science**. v 18 p. 101–120, 2011.

LI, S. J., AHMED, M. Z., NING, L. V., SHI, P. Q., WANG, X. M., HUANG, J. L., & QIU, B. L. Plant-mediated horizontal transmission of Wolbachia between whiteflies. **The ISME Journal**. v. 11, p. 1019–1028, 2017.

LUPI, D., JUCKER, C., ROCCO, A., GIUDICI, M. L., BOATTIN, S. & COLOMBO, M. Current status of the rice water weevil Lissorhoptrus oryzophilus in Italy: eleven-year invasion **Bulletin**. v. 45, p. 123–127, 2015.

MAGALHÃES, B.P., & CARVALHO, S.M. Insetos associados à cultura. In: ZIMMERMAN, M.J., YAMADA, M.R.T (ed). **Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1988, p. 573-589.

MARCON, H. S. **Identificação da bactéria endossimbionte Wolbachia em populações de moscas-das-frutas do complexo Anastrepha fraterculus (Diptera: Tephritidae) 2009**. 110f Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas-Genética) – Universidade Estadual Paulista “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”, Botucatu, SP, 2009.

MASUI, S., KAMODA, S., SASAKI, T., & ISHIKAWA, H. Distribution and evolution of bacteriophage WO in Wolbachia, the endosymbiont causing sexual alterations in arthropods. *Journal of Molecular Evolution*. v 51, p. 491–497, 2000.

MAZZONETTO, F. **Efeito de genótipos de feijoeiro e de pós de origem vegetal sobre Zabrotes subfasciatus (BOH.) e Acanthoscelides obtectus (SAY) (COL.: BRUCHIDAE)**. 2002 133f. Tese (Doutorado em Ciências/Entomologia) – Universidade de São Paulo/Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba-SP, 2002.

MCCLINTOCK, B. The Origin and Behavior of Mutable Loci in Maize. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 36, p. 344-355, 1950.

MILLER, M. A., PFEIFFER, W., & SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: PROCEEDINGS OF THE GATEWAY COMPUTING ENVIRONMENTS WORKSHOP (GCE), 2010, Nova Orleans. **Anais do Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE) Nova Orleans 2010**, p. 1-8. Disponível em: < <https://www.phylo.org/portal2/login!input.action>>. Acesso em 20 de maio de 2018.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **AGROSTAT**: Estatísticas de Comércio Exterior do Agronegócio Brasileiro. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/pages/AGROSTAT.html>>. Acesso em 20 de maio de 2018.

MATTEO MONTAGNA, M., CHOUAIA, B., SACCHI, L., PORRETTA, D., MARTIN, E., GIORGI, A., LOZZIA, G. C., & SARA EPIS, S. A New Strain of *Wolbachia* in an Alpine Population of the Viviparous *Oreina cacaliae* (Coleoptera: Chrysomelidae) **Environmental Entomology**. v. 43, n. 4, p. 913-922, 2014.

MORRISON, C. R., & WINDSOR, D. M. The Life History of *Chelymorpha alternans* (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) in Panamá **Annals of the Entomological Society of America**. v. 111, n. 1-5, p. 31-41, 2017.

MÜLLER, M. J., MÜHLEN, C., VALIATI, V. H., & VALENTE, V. L. S. *Wolbachia pipientis* is associated with different mitochondrial haplotypes in natural populations of *Drosophila willistoni*. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 109, p. 152-155, 2012.

NDONG, A., DIOME, T., THIAW, C., NDIAYE, A., KÉBÉ, K., DOUMA, A., KETOH, G., SANON, A. & SEMBÈNE, M. Several haplotypes of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) seed-beetle, *Caryedon serratus* Ol. (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae), in West Africa: Genetic identification using 28S sequences. **African Journal of Biotechnology**. v. 10, n. 55, p. 11409-11420, 2011.

NEFEDOVA, V.V., KORENBERG, E. I., GORELOVA, N. B., & KOVALEVSKII, Y. V. Studies on the transovarial transmission of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in the taiga tick *Ixodes persulcatus*. **Folia Parasitologica**. v. 51, p. 67–71, 2004.

NEWTON, I. L. G., CLARK, M. E., KENT, B. N., BORDENSTEIN, S. R., QU, J., RICHARDS, S., KELKAR, Y. D., & WERREN, J. H. Comparative Genomics of Two Closely Related *Wolbachia* with Different Reproductive Effects on Hosts. **Genome Biology and Evolution**. v. 8, n. 5, p. 1526-1542, 2016.

NYLANDER, J. A. A. 2004. **MrModeltest 2.2**. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.

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**. v. 80. p 742–752, 1998.

NODA, H., MIYOSHI, T., ZHANG, Q., WATANABE, K., DENG, K., & HOSHIZAKI, S. *Wolbachia* infection shared among planthoppers (Homoptera: Delphacidae) and their endoparasite (Strepsiptera: Elenchidae): a probable case of interspecies transmission. **Molecular Ecology**. v. 10, p. 2101-2106, 2001.

NOWACZYK, K., OBREPALSKA-STEPLOWSKA, A., GAWLAK, M., THRONE, J. E., OLEJARSKI, P., & NAWROT, J. Molecular Techniques for Detection of *Tribolium confusum* Infestations in Stored Products **Journal of Economic Entomology**. v. 102, n. 4, p. 1691-1692, 2009.

- OLIVEIRA, M. R. C.; CORRÊA, A. S.; SOUZA, G. A.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, L. O. Mesoamerican Origin and Pre- and Post-Columbian Expansions of the Ranges of *Acanthoscelides obtectus* Say, a Cosmopolitan Insect Pest of the Common Bean. **PLOS ONE**. v. 8, n. 7, p. 1-12, 2013.
- ORAZE, M. J & GRIGARICK, A. A. Biological Control of Aster Leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) and Midges (Diptera: Chironomidae) by *Pardosa ramulosa* (Araneae: Lycosidae) in California Rice Field. **Entomological Society of America**. v. 82, n. 3, p. 745-749, 1989.
- ROSSETTO, C. J. O Complexo de *Sitophilus* spp. (Coleoptera Curculionidae) no estado de São Paulo. **BRAGANTIA Boletim do Instituto Agrônomo do Estado de S. Paulo**. v. 28, n. 10, p. 127-148, 1969.
- PACHECO, I. A. & CESAR DE PAULA, D. **Insetos de Grãos Armazenados-Identificação e Biologia**. Campinas: Fundação Cargill, 1995. 288p
- PIMBERT, M. & PIERRE, D. Ecophysiological aspects of bruchid reproduction. I. The influence of pod maturity and seeds of *Phaseolus vulgaris* and the influence of insemination on the reproductive activity of *Zabrotes subfasciatus*. **Ecological Entomology**. v. 8, p. 87- 94, 1983.
- POTENZA, M. R., GOMES, R. C. O., JOCYS, T., TAKEMATSU, A. P., RAMOS, A. C. O. Avaliação de produtos naturais para o controle do ácaro rajado *Tetranychus urticae* (koch, 1836) (acarí: tetranychidae) em casa de vegetação. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.73, n.4, p.455-459, 2006.
- QIU, B. L., BARRO P. J., & REN, S. X. Development, survivorship and reproduction of *Eretmocerus* sp. nr. *furushashii* (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitizing *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) on glabrous and non-glabrous host plants. **Bulletin of Entomological Research**. v. 95, p. 313-319, 2005.
- RAMOS-ONSINS, S., & ROZAS, J., 2002. Statistical properties of new neutrality test against population growth. **Molecular Biology and Evolution**. v. 19 p. 2092-2100, 2002.
- RICHARDS, O. W., THOMSON, W. S. A contribution to the study of the genera *Ephestia* GN (including *Strymax* Dyar) and *Plodia*, GN (Lepidoptera Phycitidae with notes on parasites of the larvae. **Transactions of the Royal Entomological Society**. v. 80, p. 169-250, 1932.
- ROMERO, J. & JOHNSON, C. D. 2000. Revision of the genus *Zabrotes* Horn of Mexico (Coleoptera: Bruchidae: Amblycerinae). **Transaction of American Society** v. 126: p. 221-274, 2000.
- RONQUIST, F., & HUELSENBECK, J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**. v 19 p. 1572-1574, 2003.
- ROZAS, J., FERRER-MATER, J. C., SANCHÉZ DELBAIRRO, P., LIBRADO, S., GUIRAO-RICO, S. E., RAMOS-ONSINS & GARCIA, A. S. **DNA Sequences Polimorfismo Versão 6. 11. 01**. Programa disponível em: <<http://www.ub.edu/dnasp/>>. Acesso em: 20. maio 2018, 15: 30: 30.

RUSSELL, J. A., GOLDMAN-HUERTAS, B., MOREAU, C. S., BALDO, L., STAHLHUT, J. K., WERREN, J. H. & PIERCE, N. E. Specialization and geographic isolation among Wolbachia symbionts from ants and Lycaenid Butterflies *Evolution*. v. 63, n. 3, p. 624-640, 2009.

SAKAI, A. K., ALLENDORF, F. W., & HOLT, J. S. The population biology of invasive species. **Annuals Reviews of Ecology Systematic**. v. 32, p. 305-332, 2001.

SALES, M. P., ANDRADE, L. B., ARY, M. B., MIRANDA, M. R., TEIXEIRA, F. M., OLIVEIRA, A. S., FERNANDES, K. V., XAVIER FILHO, J. Performance of bean bruchids *Callosobruchus maculatus* and *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) reared on resistant (IT81D-1045) and susceptible (Epace 10) *Vigna unguiculata* seeds: relationship with trypsin inhibitor and vicilin excretion. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 142, n.4, p.422-426, 2005.

SAMPAIO, A. A., FONTES, L. S., BARBOSA, D. R. S., LIMA, V. M. G. C. Bioatividade dos extratos aquosos de folhas de pimenta malagueta e eucalipto sobre *Zabrotes subfasciatus* em grãos de fava. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v. 12, n. 2, p. 198-203, 2017.

SARI, L. T.; RIBEIRO-COSTA, C. S.; PEREIRA, P. R. V. S. Aspectos biológicos de *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera, Bruchidae) em *Phaseolus vulgaris* L., cv. Carioca (Fabaceae), sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 47, n. 4, p. 621-624, 2003.

SEAB. Feijão - **Análise da Conjuntura Agropecuária**: Secretaria do Estado da Agricultura e do Abastecimento. Dezembro 2015. Curitiba, PR, 2015. 11p. Disponível em: <<http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/>>. Acesso em: 20. maio 2018, 15: 30: 30.

SEZONLIN, M., DUPAS, S., LE RÜ, B., LE GALL, P., MOYAL, P., CALATAYUD, P. A., GIFFARD, I., FAURE, N., & SILVAIN, J. F. Phylogeography and population genetics of the maize stalk borer *Busseola fusca* (Lepidoptera, Noctuidae) in sub-Saharan Africa. **Molecular Ecology**. v. 15, p. 407-420, 2006.

SHANG-WEI, L., FANG-CHAO, W., DUA, J., MAO-FA, Y. Genetic diversity and spread of *Lissorhoptrus oryzophilus* (Coleoptera: Curculionidae) in China, based on amplified fragment length polymorphism. **Journal of Asia-Pacific Entomology**. v. 20, p. 935-941, 2017.

SHOEMAKER, D. D., DYER, K. A., AHRENS, M., MCABEE, K., JAENIKE, J. Molecular evolutionary effects of Wolbachia infections: Decreased diversity but increased substitution rate in host mtDNA. **Genetics**. v.168, p. 2049-2058, 2004.

SOUZA, G. A., CARVALHO, M. R. O., MARTINS, E. R., GUEDES, R. N. C. & OLIVEIRA, L. O. Diversidade genética estimada com marcadores ISSR em populações brasileiras de *Zabrotes subfasciatus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 43, n. 7, p. 843-849, 2008.

STAHLHUT, J. K., DESJARDINS, C. A., CLARK, M. E., BALDO, L., RUSSELL, J. A., WERREN, J. H. & JAENIKE, J. The mushroom habitat as an ecological arena for global exchange of *Wolbachia*. **Molecular Ecology**. v. 19, 1940-1952, 2010.

TAJIMA, F. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. **Genetic**. v. 105, 437-460, 1983.

TANAKA, K., FURUKAWA, S., NIKOH, N., SASAKI, T., FUKATSU, T. Complete WO phage sequences revealed their dynamic evolutionary trajectories and putative functional elements required for integration into *Wolbachia* genome. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 75, p. 5676-5686, 2009.

TREMATERRA, P., & SPINA, G. Mating-Disruption Trials for Control of Mediterranean Flour Moth, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), in Traditional Flour Mills. **Journal of Food Protection**. v. 76, n. 3, p. 456-461, 2013.

TSUTSUI, N. D., SUAREZ, A. V., HOLWAY, D. A., & CASE, T. J. Reduced genetic variation and the success of an invasive species. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 97, p. 5948-5953, 2000.

TURELLI, M. & HOFFMANN, A. A. Cytoplasmic incompatibility in *Drosophila simulans*: dynamics and parameter estimates from natural populations. **Genetics**. v. 140, p. 1319-1338, 1995.

US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **National Center for Biotechnology Information/BLAST**. Disponível em: < <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>>. Acesso em 20 maio 2018.

UNIVERSIDADE DE OXFORD. **PubMLST**: Public databases for molecular typing and microbial genome diversity. Disponível em < <https://pubmlst.org/wolbachia/>>. Acesso em 20 maio 2018.

WERREN, J. H., & BARTOS, J. D. Recombination in *Wolbachia*. **Current Biology**. v. 11, n. 5, p. 431-435, 2001.

WERREN, J. H., BALDO, L., & CLARK, M. E. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. **Nature Reviews /Microbiology**. v. 6, p. 741-751, 2008.

WIGHTMAN, J. A. & SOUTHGATE, B. J. Egg morphology, host, and probable regions of origin of the bruchids (Coleoptera: Bruchidae) that infest stored pulses—an identification aid, **New Zealand Journal of Experimental Agriculture**. v. 10, n. 1, p. 95-99, 1982.

WU, M., SUN, L. V., VAMATHEVAN, J., RIEGLER, M., DEBOY, R., BROWNLIE, J. C., MCGRAW, E. A., MARTIN, W., ESSER, C. AHMADINEJAD, N., WIEGAND, C., MADUPU, R., BEANAN, M. J., BRINKAC, L. M., DAUGHERTY, S. C., DURKIN, A. S., KOLONAY, J. F., NELSON, W.C., MOHAMOUD. Y., LEE, P., BERRY, K., YOUNG, M. B., UTTERBACK, T., WEIDMAN, J., NIERMAN, W. C., PAULSEN, I. T., NELSON, K. E., TETTELIN, H., O'NEILL, S., & EISEN, J. A. Phylogenomics of the reproductive parasite *Wolbachia pipientis* wMel: a streamlined genome overrun by mobile genetic elements. **PLOS Biology**. v. 2, n. 3, p. 327-341, 2004.

YOKOYAMA, M. Pragas. In: **Feijão**. VIEIRA C., PAULA JUNIOR. T.J., BORÉM A. (ed). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, cap. 12, p. 341-357. 2006.

ZHANG, K. J., HAN, X. & HONG, X. Y. Various infection status and molecular evidence for horizontal transmission and recombination of Wolbachia and Cardinium among rice planthoppers and related species. **Insect Science**. v. 20, p. 329-344, 2013.

ZHANG, S.Q., CHE, L. H., LI, Y., LIANG, D., PANG, H., ŚLIPIŃSKI, A. & ZHANG, P. Evolutionary history of Coleoptera revealed by extensive sampling of genes and species. **Nature Communications**. v. 9, n 205 p. 1-11, 2018.

ZHENG, Y., REN, P. P., WANG, J. L., & WANG, Y. F. Wolbachia-Induced Cytoplasmic Incompatibility Is Associated with Decreased Hira Expression in Male *Drosophila* **PLOS ONE**. v. 6, n. 4: e19512, 2011.

## 7. MATERIAL SUPLEMENTAR

**Tabela suplementar 1.** “Primers” usados neste estudo e referências

<b>Locus</b>	<b>Primers</b>	<b>Sequência dos “Primers” (5’–3’)</b>	<b>Temperatura de Anelamento</b>	<b>Referências</b>
COI	L2-N-3014	TCCATTGCACTAATCTGCCATATTA	58°C	Alvarez et al. (2005)
	C1-J-2183	CAACATTTATTTTGATTTTTTGG		
ITS2	ITS2f	GGGTCGATGAAGAACGCAGC	65°C	Navajas et al. (1998)
	ITS2r	ATATGCTTAAATTCAGCGGG		
gatB	gatB-F	GAKTTAAAYCGYGCAGGBGTT	57°C	Baldo et al. (2006)
	gatB-R	TGGYAAYTCRGGYAAAGATGA		
coxA	coxA-F	TTGGRGCRATYAACTTTATAG	54° C	Baldo et al. (2006)
	coxA-R	CTAAAGACTTTKACRCCAGT		
hcpA	hcpA-F	GAAATARCAGTTGCTGCAAA	54° C	Baldo et al. (2006)
	hcpA-R	GAAAGTYRAGCAAGYTCTG		
ftsZ	ftsZ-F	ATYATGGARCATATAAARGATAG	54° C	Baldo et al. (2006)
	ftsZ-R	TCRAGYAATGGATTRGATAT		
fbpA	fbpA-F	GCTGCTCCRCTTGGYWTGAT	59°C	Baldo et al. (2006)
	fbpA-R	CCRCCAGARAAAAYYACTATTC		
Wsp	wsp-F	GTCCAATARSTGATGARGAAAC	59°C	Baldo et al. (2006)
	wsp-R	CYGCACCAAYAGYRCTRATAA		

**Tabela Suplementar 2.** Informação geral de todas as cepas de *Wolbachia* analisadas.

<b>Isolados</b>				
<b>Id<sup>1</sup></b>	<b>Cepas</b>	<b>Supergrupo</b>	<b>Espécie do Hospedeiro</b>	<b>Localização</b>
Em submissão	Zsub		<i>Zabrotes subfasciatus</i>	Ipatinga-Brasil
Em submissão	Zsub		<i>Zabrotes subfasciatus</i>	Terezina-Brasil
Em submissão	Zsub		<i>Zabrotes subfasciatus</i>	Huaraz-Peru
Em submissão	Zsub		<i>Zabrotes subfasciatus</i>	Calima El Dárien-Colômbia
296	Lory_B	B	<i>Lissorhoptrus oryzophilus</i>	Xifeng-China
319	wUrtCon2	B	<i>Tetranychus urticae</i>	Yuncheng-China
450	Apun_B	B	<i>Amblyptilia punctidactyla</i>	Novosibirsk-Rússia
453	Cgly_B	B	<i>Coenonympha glycerion</i>	Novosibirsk-Rússia
313	wWaspb	B	Desconhecido	Desconhecido
154	B_NY_Chloro150737b	B	Desconhecido	Monroe Co-EUA
314	wMfas1	B	<i>Macrosteles fascifrons</i>	Jinhua-China
480	Csil		<i>Carterocephalus silvicola</i>	Novosibirsk-Rússia
1684	Hhor_B_wHho	B	<i>Hyposoter horticola</i>	Aland islands-Finlândia
476	Apap		<i>Argynnis paphia</i>	Novosibirsk-Rússia
471	Pica_B	B	<i>Polyommatus icarus</i>	Novosibirsk-Rússia
502	wIxp1		<i>Ixodes persulcatus</i>	Novosibirsk-Rússia
454	Coed_B	B	<i>Coenonympha oedippus</i>	Novosibirsk-Rússia
320	wBtab	B	<i>Bemisia tabaci</i>	Desconhecido
1620	Btab_B_W5	B	<i>Bemisia tabaci</i>	Coimbatore-Índia
620	Btab_B_wAII7_26	B	<i>Bemisia tabaci</i>	Guangzhou-China

Id<sup>1</sup>: refere-se ao respectivo número de identidade (ID) para cada cepa bacteriana presente no banco de dados do site pubmlst.org. Ele faz referência a informações taxonômicas, biológicas genéticas (perfil alélico) específico de cada cepa.

**Tabela Suplementar 2.** Continuação

<b>Isolados</b>				
<b>Id<sup>1</sup></b>	<b>Cepas</b>	<b>Supergrupo</b>	<b>Gênero do Hospedeiro</b>	<b>Localização</b>
634	Btab_B_wAI_39	B	Bemisia tabaci	Honghe-China
618	W-Efur	B	Eretmocerus furuhashii	Guangzhou-China
632	Btab_B_wAII6-35	B	Bemisia tabaci	Baise-China
1604	Btab_B_W2a	B	Bemisia tabaci	Napupa-Tanzânia
468	Pstu_B	B	Parnassius stubbendorffii	Novosibirsk-Rússia
73	Lmel_B	B	Lycaeides melissa	Brandon-EUA
628	Btab_B_wAI_27	B	Bemisia tabaci	Zhaoqing-China
1615	Btab_B_W3	B	Bemisia tabaci	Namaleche-Tanzânia
621	Btab_B_wCN1_11	B	Bemisia tabaci	Hangzhou-China
625	Btab_B_wCN1_41	B	Bemisia tabaci	Zunyi-China
631	Btab_B_wAII1_28	B	Bemisia tabaci	Zhaoqing-China
622	Btab_B_wAU_54	B	Bemisia tabaci	Bundaberg-Austrália
627	Btab_B_wAII9_43	B	Bemisia tabaci	Shaoyang-China
633	Btab_B_wAII6-38	B	Bemisia tabaci	Baise-China
626	Btab_B_wCN1_42	B	Bemisia tabaci	Zunyi-China
1709	SP2	B	Caryedon serratus	Pune-India
629	Btab_B_wAII1_29	B	Bemisia tabaci	Zhaoqing-China
635	Btab_B_wAII3_49	B	Bemisia tabaci	Zhengzhou-China
1688	SONDYA	B	Sitophilus oryzae	Maharashtra-Índia

Id<sup>1</sup>: refere-se ao respectivo número de identidade (ID) para cada cepa bacteriana presente no banco de dados do site pubmlst.org. Ele faz referência a informações taxonômicas, biológicas genéticas (perfil alélico) específico de cada cepa.

**Tabela Suplementar 2.** Continuação

<b>Isolados</b>				
623	Btab_B_wAIII-30	B	<i>Bemisia tabaci</i>	Hainan-China
1598	Btab_B_W1a	B	<i>Bemisia tabaci</i>	Masaka-Uganda
1631	Ccep_B_BJ	B	<i>Corcyra cephalonica</i>	Beijing-China
20	Tcon_B_BhAvill_AK	B	<i>Tribolium confusum</i>	Desconhecido
1690	BOTRY	B	<i>Sitophilus</i> sp	Maharashtra-Índia
624	Bafe_B_wAfe_1	B	<i>Bemisia afer</i>	Linyi-China
31	Ekue_B	B	<i>Ephestia kuehniella</i>	Desconhecidos
19	Calt_B	B	<i>Chelymorpha alternans</i>	Desconhecidos
202	Oova_B	B	<i>Ostrinia ovalipennis</i>	Tochigi-Japão
479	Cpln		<i>Carterocephalus palaemon</i>	Novosibirsk-Rússia
401	Ach_A_wCh3	A	<i>Apanteles chilonis</i>	Hebei-China
12	Aalb_A	A	<i>Aedes albopictus</i>	Desconhecido
134	Oclar_A	A	<i>Odontomachus clarus</i>	Cochise County-EUA
325	wKueUSDA	A	<i>Ephestia kuehniella</i>	Florida-EUA
556	Cobs_A_Switz	A	<i>Ceutorhynchus obstrictus</i> (Marsham)	Switzerland
613	Ocac_A_wVdO	A	<i>Oreina cacaliae</i>	Veza dOglio-Itália
557	Cobs_A_USA	A	<i>Ceutorhynchus obstrictus</i> (Marsham)	Washington-EUA
77	A_CobbStaph	A	Desconhecido	Nova York-EUA
168	Aeme_A_LW5	A	<i>Agelenopsis emertoni</i>	Loudon-EUA
13	Ekue_A	A	<i>Ephestia kuehniella</i>	Desconhecido
78	A_Cobb27Hel	A	<i>Suillia</i> sp	Nova York-EUA

Id<sup>1</sup>: refere-se ao respectivo número de identidade (ID) para cada cepa bacteriana presente no banco de dados do site pubmlst.org. Ele faz referência a informações taxonômicas, biológicas genéticas (perfil alélico) específico de cada cepa.

**Tabela Suplementar 2.** Continuação

<b>Isolados</b>				
555	Cobs_A_Ger	A	<i>Ceutorhynchus obstrictus</i> (Marsham)	Schleswig-Holstein-Alemanha
3	Aspa_A	A	<i>Acromis sparsa</i>	Chirique Grande-Panamá
103	Focc_A	A	<i>Formica occulta</i>	Cochise County-EUA
41	A_PanBCI_Calyp16	A	Desconhecido	Barro Colorado Island-Panamá
137	Pcol_A	A	<i>Pheidole coloradensis</i>	Box Elder County

Id<sup>1</sup>: refere-se ao respectivo número de identidade (ID) para cada cepa bacteriana presente no banco de dados do site pubmlst.org. Ele faz referência a informações taxonômicas, biológicas genéticas (perfil alélico) específico de cada cepa.

**Tabela Suplementar 3.** Porcentagem de Identidade de 62 cepas de *Wolbachia* oriundo das sequências concatenadas de seis genes (*gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ*, *fbpA* and *wsp*).

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de <i>Wolbachia</i>)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
<b>Z. subfasciatus (Zsub)</b>	-	4726	4726	100%	0	100%
L. oryzophilus (Lory_B)	B	4486	4486	98%	0	99%
T. urticae (wUrtCon2)	B	4486	4486	98%	0	99%
A. punctidactyla (Apun_B)	B	4464	4464	98%	0	99%
C. glycerion (Cgly_B)	B	4458	4458	98%	0	99%
Hymenoptera Dryinidae (wWaspb)	B	4453	4453	98%	0	98%
Diptera Chloropidae (B_NY_Chloro150737b)	B	4453	4453	98%	0	98%
M. fascifrons (wMfas1)	B	4453	4453	98%	0	98%
C. silvicola (Csil)	-	4447	4447	98%	0	98%
H. horticola (Hhor_B_wHho)	B	4442	4442	98%	0	98%
A. paphia (Apap)	-	4425	4425	98%	0	98%
P. icarus (Pica_B)	B	4425	4425	98%	0	98%
I. persulcatus (wIxp1)	-	4361	4361	100%	0	97%
C. palaemon (Cpln)	-	4349	4349	100%	0	97%
C. oedippus (Coed_B)	B	4327	4327	100%	0	97%
B. tabaci (wBtab)	B	4325	4325	98%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_W5)	B	4320	4320	98%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII7_26)	B	4320	4320	98%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAI_39)	B	4314	4314	98%	0	98%
E. furuhashii (W-Efur)	B	4314	4314	98%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-35)	B	4314	4314	98%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_W2a)	B	4314	4314	98%	0	98%
P. stubbendorffii (Pstu_B)	B	4311	4311	100%	0	97%
L. melissa (Lmel_B)	B	4311	4311	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wAI_27)	B	4309	4309	98%	0	97%
O. ovalipennis (Oova_B)	B	4309	4309	98%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_W3)	B	4309	4309	98%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_11)	B	4309	4309	98%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_41)	B	4309	4309	98%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_28)	B	4303	4303	98%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wAU_54)	B	4303	4303	98%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wAII9_43)	B	4303	4303	98%	0	97%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de *Wolbachia* que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximun Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 3.** Continuação

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
B. tabaci (Btab_B_wAII6-38)	B	4303	4303	98%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_42)	B	4303	4303	98%	0	97%
<b>C. serratus (SP2)</b>	B	4300	4300	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_29)	B	4298	4298	98%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wAII3_49)	B	4281	4281	98%	0	97%
<b>S. oryzae (SONDYA)</b>	B	4239	4239	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wAII1-30)	B	4237	4237	98%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_W1a)	B	4231	4231	98%	0	97%
<b>C. cephalonica (Ccep_B_BJ)</b>	B	4041	4041	100%	0	95%
<b>T. confusum (Tcon_B_BhAvill_AK)</b>	B	4026	4026	98%	0	95%
<b>Sitophilus sp. (BOTRY)</b>	B	4023	4023	100%	0	95%
B. afer (Bafe_B_wAfe_1)	B	3988	3988	98%	0	95%
<b>E. kuehniella (Ekue_B)</b>	B	3945	3945	98%	0	95%
C. alternans (Calt_B)	B	3940	3940	99%	0	95%
A. chilonis (Ach_A_wCh3)	A	3007	3007	98%	0	88%
A. albopictus (Aalb_A)	A	2953	2953	98%	0	88%
O. clarus (Oclar_A)	A	2913	2913	98%	0	88%
<b>E. kuehniella (wKueUSDA)</b>	A	2911	2911	98%	0	88%
C. obstructus (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	2911	2911	98%	0	88%
O. cacaliae (Ocac_A_wVdO)	A	2907	2907	98%	0	87%
C. obstructus (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	2904	2904	98%	0	88%
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph)	A	2892	2892	98%	0	87%
A. emertoni (Aeme_A_LW5)	A	2885	2885	98%	0	87%
<b>E. kuehniella (Ekue_A)</b>	A	2885	2885	98%	0	87%
Suillia sp. (A_Cobb27Hel)	A	2883	2883	98%	0	87%
C. obstructus (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	2878	2878	98%	0	87%
A. sparsa (Aspa_A)	A	2872	2872	98%	0	87%
F. occulta (Focc_A)	A	2854	2854	98%	0	87%
Diptera (A_PanBCI_Calyp16)	A	2854	2854	98%	0	87%
P. coloradensis (Pcol_A)	A	2852	2852	98%	0	87%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximun Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 4.** Perfil MLST.

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>gatB</b>	<b>coxA</b>	<b>hcpA</b>	<b>ftsZ</b>	<b>fbpA</b>	<b>ST<sup>2</sup></b>
<b>Z. subfasciatus (Zsub)</b>	-	9	Em submissão	125	Em submissão	180	Em submissão
T. urticae (wUrtCon2)	B	126	122	144	106	237	221
L. oryzaophilus (Lory_B)	B	9	105	125	95	180	188
A. punctidactyla (Apun_B)	B	9	14	40	7	9	300
C. glycerion (Cgly_B)	B	39	14	40	7	9	301
Dryinidae (wWaspb)	B	39	14	40	7	195	215
Diptera Chloropidae (B_NY_Chloro150737b)	B	91	14	40	7	9	129
M. fascifrons (wMfas1)	B	9	119	140	107	9	216
C. silvicola (Csil)	-	39	14	197	7	9	354
H. horticola (Hhor_B_wHho)	B	235	227	259	7	9	435
A. paphia (Apap)	-	39	168	40	80	9	350
P. icarus (Pica_B)	B	39	14	119	7	9	176
I. persulcatus (wIxp1)	-	9	180	145	7	248	308
C. palaemon (Cpln)	-	9	170	159	22	9	353
C. oedippus (Coed_B)	B	9	14	143	73	4	302
B. tabaci (wBtab)	B	105	88	106	7	165	166
B. tabaci (Btab_B_W5)	B	105	88	106	7	387	378
B. tabaci (Btab_B_wAII7_26)	B	105	88	106	7	387	378
B. tabaci (Btab_B_wAI_39)	B	207	88	106	182	387	395

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; ST<sup>2</sup>, do inglês “sequence type”, trata-se do código numérico utilizado pelo site pubmlst.org para cada combinação alélica única dos cinco genes basais de Wolbachia (gatB, coxA, hcpA, ftsZ e fbpA) presentes em Wolbachia. Cada perfil alélico é por isso cada perfil é identificado pelas iniciais ST, seguido por um número. O mesmo ST pode ser compartilhado entre diferentes Cepas. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 4.** Continuação.

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>gatB</b>	<b>coxA</b>	<b>hcpA</b>	<b>ftsZ</b>	<b>fbpA</b>	<b>ST<sup>2</sup></b>
<i>E. furuhashii</i> (W-Efur)	B	105	88	106	105	387	388
<i>B. tabaci</i> (Btab_B_wAII6-35)	B	216	88	106	7	387	393
<i>B. tabaci</i> (Btab_B_W2a)	B	9	88	13	105	9	424
<i>P. stubbendorffii</i> (Pstu_B)	B	39	14	40	7	197	299
<i>L. melissa</i> (Lmel_B)	B	108	73	40	80	9	162
<i>B. tabaci</i> (Btab_B_wAI_27)	B	210	88	106	7	387	385
<i>O. ovalipennis</i> (Oova_B)	B	9	78	6	77	10	142
<i>B. tabaci</i> (Btab_B_W3)	B	9	88	13	105	404	425
<i>B. tabaci</i> (Btab_B_wCN1_11)	B	105	88	13	170	9	379
<i>B. tabaci</i> (Btab_B_wCN1_41)	B	207	88	13	170	9	377
<i>B. tabaci</i> (Btab_B_wAII1_28)	B	207	88	230	170	392	392
<i>B. tabaci</i> (Btab_B_wAU_54)	B	207	88	221	170	9	380
<i>B. tabaci</i> (Btab_B_wAII9_43)	B	207	88	13	170	386	384
<i>B. tabaci</i> (Btab_B_wAII6-38)	B	207	88	235	170	9	394
<i>B. tabaci</i> (Btab_B_wCN1_42)	B	209	88	13	170	9	383
<b><i>C. serratus</i> (SP2)</b>	B	9	14	143	94	4	453
<i>B. tabaci</i> (Btab_B_wAII1_29)	B	207	88	232	170	9	390
<i>B. tabaci</i> (Btab_B_wAII3_49)	B	207	88	228	180	386	396
<b><i>S. oryzae</i> (SONDYA)</b>	B	126	87	124	94	132	189

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; ST<sup>2</sup>, do inglês “sequence type”, trata-se do código numérico utilizado pelo site pubmlst.org para cada combinação alélica única dos cinco genes basais de Wolbachia (*gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ* e *fbpA*) presentes em Wolbachia. Cada perfil alélico é por isso cada perfil é identificado pelas iniciais ST, seguido por um número. O mesmo ST pode ser compartilhado entre diferentes Cepas. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 4.** Continuação.

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>gatB</b>	<b>coxA</b>	<b>hcpA</b>	<b>ftsZ</b>	<b>fbpA</b>	<b>ST<sup>2</sup></b>
B. tabaci (Btab_B_wAII1-30)	B	208	88	106	170	393	389
B. tabaci (Btab_B_W1a)	B	4	14	3	73	4	423
<b>C. cephalonica (Ccep_B_BJ)</b>	B	39	14	40	36	4	41
<b>T. confusum (Tcon_B_BhAvill_AK)</b>	B	6	5	6	18	7	30
<b>Sitophilus sp. (BOTRY)</b>	B	126	87	124	94	4	436
B. afer (Bafe_B_wAfe_1)	B	105	11	220	11	162	382
<b>E. kuehniella (Ekue_B)</b>	B	16	14	19	23	4	20
C. alternans (Calt_B)	B	9	14	15	12	14	7
A. chilonis (Ach_A_wCh3)	A	7	6	7	138	8	261
A. albopictus (Aalb_A)	A	3	2	2	10	3	2
O. clarus (Oclar_A)	A	23	2	75	67	74	111
<b>E. kuehniella (wKueUSDA)</b>	A	54	59	68	3	67	92
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	32	33	42	32	122	348
O. cacaliae (Ocac_A_wVdO)	A	214	33	42	32	36	375
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	32	33	42	32	122	348
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph)	A	60	62	65	54	64	94
A. emertoni (Aeme_A_LW5)	A	32	34	39	32	36	68
<b>E. kuehniella (Ekue_A)</b>	A	7	6	7	3	8	19
Suillia sp. (A_Cobb27Hel)	A	61	57	66	53	65	95

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; ST<sup>2</sup>, do inglês “sequence type”, trata-se do código numérico utilizado pelo site pubmlst.org para cada combinação alélica única dos cinco genes basais de Wolbachia (gatB, coxA, hcpA, ftsZ e fbpA) presentes em Wolbachia. Cada perfil alélico é por isso cada perfil é identificado pelas iniciais ST, seguido por um número. O mesmo ST pode ser compartilhado entre diferentes Cepas. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 4.** Continuação.

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>gatB</b>	<b>coxA</b>	<b>hcpA</b>	<b>ftsZ</b>	<b>fbpA</b>	<b>ST<sup>2</sup></b>
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	32	33	42	32	122	348
A. sparsa (Aspa_A)	A	23	2	26	21	26	5
F. occulta(Focc_A)	A	32	39	42	32	44	43
Diptera (A_PanBCI_Calyp16)	A	97	76	95	74	15	126
P. coloradensis (Pcol_A)	A	74	20	78	17	20	114

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; ST<sup>2</sup>, do inglês “sequence type”, trata-se do código numérico utilizado pelo site pubmlst.org para cada combinação alélica única dos cinco genes basais de Wolbachia (gatB, coxA, hcpA, ftsZ e fbpA) presentes em Wolbachia. Cada perfil alélico é por isso cada perfil é identificado pelas iniciais ST, seguido por um número. O mesmo ST pode ser compartilhado entre diferentes Cepas. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 5.** Porcentagem de Identidade de 62 sequências de cepas de Wolbachia oriundos do gene *gatB*.

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
<b>Z. subfasciatus (Zsub)</b>	-	682	682	100%	0	100%
L. oryzophilus (Lory_B)	B	682	682	100%	0	100%
O. ovalipennis (Oova_B)	B	682	682	100%	0	100%
C. oedippus (Coed_B)	B	682	682	100%	0	100%
I. persulcatus (wIxp1)	-	682	682	100%	0	100%
B. tabaci (Btab_B_W3)	B	682	682	100%	0	100%
B. tabaci (Btab_B_W2a)	B	682	682	100%	0	100%
C. palaemon (Cpln)	-	682	682	100%	0	100%
A. punctidactyla (Apun_B)	B	682	682	100%	0	100%
M. fascifrons (wMfas1)	B	682	682	100%	0	100%
<b>C. serratus (SP2)</b>	B	682	682	100%	0	100%
C. alternans (Calt_B)	B	682	682	100%	0	100%
P. stubbendorffii (Pstu_B)	B	676	676	100%	0	99%
B. afer (Bafe_B_wAfe_1)	B	676	676	100%	0	99%
B. tabaci (wBtab)	B	676	676	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAI_39)	B	676	676	100%	0	99%
E. furuhashii (W-Efur)	B	676	676	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_W5)	B	676	676	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII7_26)	B	676	676	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_11)	B	676	676	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_28)	B	676	676	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAU_54)	B	676	676	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII3_49)	B	676	676	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII9_43)	B	676	676	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-38)	B	676	676	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_41)	B	676	676	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_29)	B	676	676	100%	0	99%
A. paphia (Apap)	-	676	676	100%	0	99%
C. silvicola (Csil)	-	676	676	100%	0	99%
P. icarus (Pica_B)	B	676	676	100%	0	99%
C. glycerion (Cgly_B)	B	676	676	100%	0	99%
Hymenoptera Dryinidae (wWaspb)	B	676	676	100%	0	99%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximum Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

Tabela Suplementar 5. Continuação

Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)	SG <sup>1</sup>	MS <sup>2</sup>	TS <sup>3</sup>	QC <sup>4</sup> (%)	E-valor	Ident.(%)
H. hortícola (Hhor_B_wHho)	B	676	676	100%	0	99%
Diptera Chloropidae (B_NY_Chloro150737b)	B	676	676	100%	0	99%
T. urticae (wUrtCon2)	B	676	676	100%	0	99%
<b>E. kuehniella (Ekue_B)</b>	B	676	676	100%	0	99%
<b>Sitophilus sp. (BOTRY)</b>	B	676	676	100%	0	99%
<b>S. oryzae (SONDYA)</b>	B	676	676	100%	0	99%
<b>C. cephalonica (Ccep_B_BJ)</b>	B	676	676	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII1-30)	B	671	671	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-35)	B	671	671	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_42)	B	671	671	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAI_27)	B	665	665	100%	0	99%
L. melissa (Lmel_B)	B	654	654	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_W1a)	B	643	643	100%	0	98%
<b>T. confusum (Tcon_B_BhAvill_AK)</b>	B	621	621	100%	0	97%
O. clarus (Oclar_A)	A	472	472	100%	6e <sup>-136</sup>	90%
A. sparsa (Aspa_A)	A	472	472	100%	6e <sup>-136</sup>	90%
A. albopictus (Aalb_A)	A	466	466	100%	3e <sup>-134</sup>	89%
A. chilonis (Ach_A_wCh3)	A	460	460	100%	1e <sup>-132</sup>	89%
<b>E. kuehniella (Ekue_A)</b>	A	460	460	100%	1e <sup>-132</sup>	89%
O. cacaliae (Ocac_A_wVdO)	A	460	460	100%	1e <sup>-132</sup>	89%
Diptera (A_PanBCI_Calyp16)	A	449	449	100%	3e <sup>-129</sup>	89%
P. coloradensis (Pcol_A)	A	449	449	100%	3e <sup>-129</sup>	89%
<b>E. kuehniella (wKueUSDA)</b>	A	449	449	100%	3e <sup>-129</sup>	89%
A. emertoni (Aeme_A_LW5)	A	438	438	100%	6e <sup>-126</sup>	88%
F. occulta (Focc_A)	A	438	438	100%	6e <sup>-126</sup>	88%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	438	438	100%	6e <sup>-126</sup>	88%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	438	438	100%	6e <sup>-126</sup>	88%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	438	438	100%	6e <sup>-126</sup>	88%
Suillia sp. (A_Cobb27Hel)	A	436	436	98%	2e <sup>-125</sup>	88%
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph)	A	436	436	98%	2e <sup>-125</sup>	88%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximum Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 6.** Porcentagem de Identidade de 62 sequências de cepas de Wolbachia oriundos do gene *coxA*

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
<b>Z. subfasciatus (Zsub)</b>	-	743	743	100%	0	100%
L. oryzoophilus (Lory_B)	B	737	737	100%	0	99%
P. stubbendorffii (Pstu_B)	B	732	732	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_W1a)	B	732	732	100%	0	99%
C. oedippus (Coed_B)	B	732	732	100%	0	99%
C. silvicola (Csil)	-	732	732	100%	0	99%
P. icarus (Pica_B)	B	732	732	100%	0	99%
C. glycerion (Cgly_B)	B	732	732	100%	0	99%
Hymenoptera Dryinidae (wWaspb)	B	732	732	100%	0	99%
A. punctidactyla (Apun_B)	B	732	732	100%	0	99%
Diptera Chloropidae (B_NY_Chloro150737b)	B	732	732	100%	0	99%
<b>E. kuehniella (Ekue_B)</b>	B	732	732	100%	0	99%
<b>C. cephalonica (Ccep_B_BJ)</b>	B	732	732	100%	0	99%
<b>C. serratus (SP2)</b>	B	732	732	100%	0	99%
C. alternans (Calt_B)	B	732	732	100%	0	99%
A. paphia (Apap)	-	726	726	100%	0	99%
H. horticola (Hhor_B_wHho)	B	726	726	100%	0	99%
T. urticae (wUrtCon2)	B	726	726	100%	0	99%
M. fascifrons (wMfas1)	B	710	710	100%	0	99%
O. ovalipennis (Oova_B)	B	704	704	100%	0	98%
L. melissa (Lmel_B)	B	621	621	100%	0	95%
<b>Sitophilus sp. (BOTRY)</b>	B	577	577	100%	2e <sup>-167</sup>	93%
<b>S. oryzae (SONDYA)</b>	B	577	577	100%	2e <sup>-167</sup>	93%
I. persulcatus (wIxp1)	-	566	566	100%	3e <sup>-164</sup>	92%
<b>T. confusum (Tcon_B_BhAvill_AK)</b>	B	564	564	99%	1e <sup>-163</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wAII1-30)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (wBtab)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wAI_27)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wAI_39)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
E. furuhashii (W-Efur)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-35)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_W5)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximum Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 6.** Continuação

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
B. tabaci (Btab_B_wAII7_26)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_W3)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_W2a)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_11)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_28)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wAU_54)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wAII3_49)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wAII9_43)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-38)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_41)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_29)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_42)	B	558	558	99%	6e <sup>-162</sup>	92%
B. afer (Bafe_B_wAfe_1)	B	555	555	100%	7e <sup>-161</sup>	92%
C. palaemon (Cpln)	-	549	549	100%	3e <sup>-159</sup>	91%
<b>E. kuehniella (wKueUSDA)</b>	A	466	466	100%	4e <sup>-134</sup>	88%
A. chilonis (Ach_A_wCh3)	A	460	460	100%	2e <sup>-132</sup>	87%
<b>E. kuehniella (Ekue_A)</b>	A	460	460	100%	2e <sup>-132</sup>	87%
Suillia sp. (A_Cobb27Hel)	A	455	455	100%	8e <sup>-131</sup>	87%
Diptera (A_PanBCI_Calyp16)	A	449	449	100%	4e <sup>-129</sup>	87%
O. clarus (Oclar_A)	A	449	449	100%	4e <sup>-129</sup>	87%
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph)	A	449	449	100%	4e <sup>-129</sup>	87%
A. sparsa (Aspa_A)	A	449	449	100%	4e <sup>-129</sup>	87%
A. albopictus (Aalb_A)	A	449	449	100%	4e <sup>-129</sup>	87%
O. cacaliae (Ocac_A_wVdO)	A	444	444	100%	2e <sup>-127</sup>	87%
C. obstructus (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	444	444	100%	2e <sup>-127</sup>	87%
C. obstructus (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	444	444	100%	2e <sup>-127</sup>	87%
C. obstructus (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	444	444	100%	2e <sup>-127</sup>	87%
A. emertoni (Aeme_A_LW5)	A	438	438	100%	8e <sup>-126</sup>	86%
F. occulta (Focc_A)	A	438	438	100%	8e <sup>-126</sup>	86%
P. coloradensis (Pcol_A)	A	438	438	100%	8e <sup>-126</sup>	86%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximun Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 7.** Porcentagem de Identidade de 62 sequências de cepas de Wolbachia oriundos do gene *hcpA*

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
<b>Z. subfasciatus (Zsub)</b>	-	821	821	100%	0	100%
L. oryzoophilus (Lory_B)	B	821	821	100%	0	100%
O. ovalipennis (Oova_B)	B	815	815	100%	0	99%
<b>T. confusum (Tcon_B_BhAvill_AK)</b>	B	815	815	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_W3)	B	809	809	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_W2a)	B	809	809	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_11)	B	809	809	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII9_43)	B	809	809	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_41)	B	809	809	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_42)	B	809	809	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII1-30)	B	804	804	100%	0	99%
B. tabaci (wBtab)	B	804	804	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAI_27)	B	804	804	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAI_39)	B	804	804	100%	0	99%
E. furuhashii (W-Efur)	B	804	804	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-35)	B	804	804	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_W5)	B	804	804	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII7_26)	B	804	804	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAU_54)	B	804	804	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-38)	B	804	804	100%	0	99%
T. urticae (wUrtCon2)	B	804	804	100%	0	99%
C. oedippus (Coed_B)	B	798	798	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_28)	B	798	798	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_29)	B	798	798	100%	0	99%
<b>C. serratus (SP2)</b>	B	798	798	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII3_49)	B	793	793	100%	0	99%
C. palaemon (Cpln)	-	793	793	100%	0	99%
C. alternans (Calt_B)	B	793	793	100%	0	99%
M. fascifrons (wMfas1)	B	787	787	100%	0	99%
I. persulcatus (wIxp1)	-	782	782	100%	0	98%
P. stubbendorffii (Pstu_B)	B	765	765	100%	0	98%
L. melissa (Lmel_B)	B	765	765	100%	0	98%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximum Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 7.** Continuação

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
A. paphia (Apap)	-	765	765	100%	0	98%
C. glycerion (Cgly_B)	B	765	765	100%	0	98%
Hymenoptera Dryinidae (wWaspb)	B	765	765	100%	0	98%
A. punctidactyla (Apun_B)	B	765	765	100%	0	98%
Diptera Chloropidae (B_NY_Chloro150737b)	B	765	765	100%	0	98%
<b>C. cephalonica (Ccep_B_BJ)</b>	B	765	765	100%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_W1a)	B	760	760	100%	0	98%
C. silvicola (Csil)	-	760	760	100%	0	98%
P. icarus (Pica_B)	B	760	760	100%	0	98%
H. horticola (Hhor_B_wHho)	B	754	754	100%	0	97%
<b>E. kuehniella (Ekue_B)</b>	B	754	754	100%	0	97%
<b>Sitophilus sp. (BOTRY)</b>	B	710	710	100%	0	95%
<b>S. oryzae (SONDYA)</b>	B	710	710	100%	0	95%
B. afer (Bafe_B_wAfe_1)	B	708	708	99%	0	95%
A. emertoni (Aeme_A_LW5)	A	558	558	99%	7e <sup>-126</sup>	89%
F. occulta (Focc_A)	A	558	558	99%	7e <sup>-126</sup>	89%
O. cacaliae (Ocac_A_wVdO)	A	558	558	99%	7e <sup>-126</sup>	89%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	558	558	99%	7e <sup>-126</sup>	89%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	558	558	99%	7e <sup>-126</sup>	89%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	558	558	99%	7e <sup>-126</sup>	89%
Diptera (A_PanBCI_Calyp16)	A	542	542	99%	7e <sup>-157</sup>	89%
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph)	A	542	542	99%	7e <sup>-157</sup>	89%
A.albopictus_(Aalb_A)	A	542	542	99%	7e <sup>-157</sup>	89%
A. chilonis (Ach_A_wCh3)	A	536	536	99%	3e <sup>-155</sup>	89%
P. coloradensis (Pcol_A)	A	536	536	99%	3e <sup>-155</sup>	89%
<b>E. kuehniella (wKueUSDA)</b>	A	536	536	99%	3e <sup>-155</sup>	89%
<b>E. kuehniella (Ekue_A)</b>	A	536	536	99%	3e <sup>-155</sup>	89%
O. clarus (Oclar_A)	A	525	525	99%	7e <sup>-152</sup>	88%
A. sparsa (Aspa_A)	A	514	514	99%	2e <sup>-148</sup>	88%
Suillia sp. (A_Cobb27Hel)	A	508	508	99%	7e <sup>-147</sup>	87%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximun Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados

**Tabela Suplementar 8.** Porcentagem de Identidade de 62 sequências de cepas de Wolbachia oriundos do gene *ftsZ*

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
<b>Z. subfasciatus (Zsub)</b>	-	785	785	100%	0	100%
C. palaemon (Cpln)	-	767	767	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_W1a)	B	762	762	100%	0	99%
C. oedippus (Coed_B)	B	762	762	100%	0	99%
T. urticae (wUrtCon2)	B	762	762	100%	0	99%
P. stubbendorffii (Pstu_B)	B	758	758	100%	0	99%
B. tabaci (wBtab)	B	758	758	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAI_27)	B	758	758	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-35)	B	758	758	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_W5)	B	758	758	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAII7_26)	B	758	758	100%	0	99%
I. persulcatus (wIxp1)	-	758	758	100%	0	99%
L. melissa (Lmel_B)	B	758	758	100%	0	99%
A. paphia (Apap)	-	758	758	100%	0	99%
C. silvicola (Csil)	-	758	758	100%	0	99%
P. icarus (Pica_B)	B	758	758	100%	0	99%
C. glycerion (Cgly_B)	B	758	758	100%	0	99%
Hymenoptera Dryinidae (wWaspb)	B	758	758	100%	0	99%
H. horticola (Hhor_B_wHho)	B	758	758	100%	0	99%
A. punctidactyla (Apun_B)	B	758	758	100%	0	99%
Diptera Chloropidae (B_NY_Chloro150737b)	B	758	758	100%	0	99%
L. oryzophilus (Lory_B)	B	758	758	100%	0	99%
E. furuhashii (W-Efur)	B	756	756	99%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_W3)	B	756	756	99%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_W2a)	B	756	756	99%	0	99%
B. afer (Bafe_B_wAfe_1)	B	753	753	100%	0	98%
O. ovalipennis (Oova_B)	B	753	753	100%	0	98%
<b>E. kuehniella (Ekue_B)</b>	B	753	753	100%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII1-30)	B	751	751	99%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_11)	B	751	751	99%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_28)	B	751	751	99%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAU_54)	B	751	751	99%	0	98%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximum Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados

**Tabela Suplementar 8.** Continuação

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
B. tabaci (Btab_B_wAII9_43)	B	751	751	99%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-38)	B	751	751	99%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_41)	B	751	751	99%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_29)	B	751	751	99%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_42)	B	751	751	99%	0	98%
M. fascifrons (wMfas1)	B	749	749	100%	0	98%
<b>C. cephalonica (Ccep_B_BJ)</b>	B	749	749	100%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII3_49)	B	747	747	99%	0	98%
<b>T. confusum (Tcon_B_BhAvill_AK)</b>	B	744	744	100%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAI_39)	B	742	742	99%	0	98%
<b>Sitophilus sp. (BOTRY)</b>	B	740	740	100%	0	98%
<b>S. oryzae (SONDYA)</b>	B	740	740	100%	0	98%
<b>C. serratus (SP2)</b>	B	740	740	100%	0	98%
C. alternans (Calt_B)	B	722	722	100%	0	97%
A. chilonis (Ach_A_wCh3)	A	699	699	100%	0	96%
O. clarus (Oclar_A)	A	623	623	100%	0	92%
A. sparsa (Aspa_A)	A	618	618	100%	1e <sup>-179</sup>	91%
A. emertoni (Aeme_A_LW5)	A	600	626	100%	3e <sup>-174</sup>	91%
F. occulta (Focc_A)	A	600	626	100%	3e <sup>-174</sup>	91%
O. cacaliae (Ocac_A_wVdO)	A	600	626	100%	3e <sup>-174</sup>	91%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	600	626	100%	3e <sup>-174</sup>	91%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	600	626	100%	3e <sup>-174</sup>	91%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	600	626	100%	3e <sup>-174</sup>	91%
Suillia sp. (A_Cobb27Hel)	A	596	622	100%	3e <sup>-173</sup>	90%
P. coloradensis (Pcol_A)	A	596	622	100%	3e <sup>-173</sup>	90%
<b>E. kuehniella (wKueUSDA)</b>	A	596	622	100%	3e <sup>-173</sup>	90%
<b>E. kuehniella (Ekue_A)</b>	A	596	622	100%	3e <sup>-173</sup>	90%
A. albopictus (Aalb_A)	A	596	596	100%	3e <sup>-173</sup>	90%
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph)	A	590	617	100%	1e <sup>-171</sup>	90%
Diptera (A_PanBCI_Calyp16)	A	578	604	100%	9e <sup>-168</sup>	89%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximun Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados

**Tabela Suplementar 9.** Porcentagem de Identidade de 62 sequências de cepas de Wolbachia oriundos do gene *fbpA*

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
<b>Z. subfasciatus (Zsub)</b>	-	793	793	100%	0	100%
L. oryzophilus (Lory_B)	B	793	793	100%	0	100%
I. persulcatus (wIxp1)	-	787	787	100%	0	99%
<b>S.oryzae (SONDYA)</b>	B	776	776	100%	0	99%
B. tabaci (Btab_B_wAI_27)	B	754	754	100%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAI_39)	B	754	754	100%	0	98%
E. furuhashii (W-Efur)	B	754	754	100%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-35)	B	754	754	100%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_W5)	B	754	754	100%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII7_26)	B	754	754	100%	0	98%
B. tabaci (wBtab)	B	749	749	100%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_28)	B	732	732	100%	0	97%
L. melissa (Lmel_B)	B	726	726	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_W2a)	B	726	726	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_11)	B	726	726	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wAU_54)	B	726	726	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-38)	B	726	726	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_41)	B	726	726	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_29)	B	726	726	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_42)	B	726	726	100%	0	97%
C. palaemon (Cpln)	-	726	726	100%	0	97%
A. paphia (Apap)	-	726	726	100%	0	97%
C. silvicola (Csil)	-	726	726	100%	0	97%
P. icarus (Pica_B)	B	726	726	100%	0	97%
C. glycerion (Cgly_B)	B	726	726	100%	0	97%
H. horticola (Hhor_B_wHho)	B	726	726	100%	0	97%
A. punctidactyla (Apun_B)	B	726	726	100%	0	97%
Diptera Chloropidae (B_NY_Chloro150737b)	B	726	726	100%	0	97%
M. fascifrons (wMfas1)	B	726	726	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_W3)	B	721	721	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wAII3_49)	B	721	721	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wAII9_43)	B	721	721	100%	0	97%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximun Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados

**Tabela Suplementar 9.** Continuação

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
Hymenoptera Dryinidae (wWaspb)	B	721	721	100%	0	97%
T. urticae (wUrtCon2)	B	721	721	100%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_wAIII-30)	B	665	665	100%	0	95%
P. stubbendorffii (Pstu_B)	B	599	599	100%	4e <sup>-174</sup>	92%
O. ovalipennis (Oova_B)	B	584	584	98%	1e <sup>-169</sup>	92%
A. emertoni (Aeme_A_LW5)	A	577	577	100%	2e <sup>-167</sup>	91%
O. cacaliae (Ocac_A_wVdO)	A	577	577	100%	2e <sup>-167</sup>	91%
A. albopictus (Aalb_A)	B	577	577	100%	2e <sup>-167</sup>	91%
F. occulta (Focc_A)	B	571	571	100%	8e <sup>-166</sup>	91%
B. tabaci (Btab_B_W1a)	B	562	562	98%	5e <sup>-163</sup>	91%
C. oedippus (Coed_B)	B	562	562	98%	5e <sup>-163</sup>	91%
<b>E.kuehniella (Ekue_B)</b>	B	562	562	98%	5e <sup>-163</sup>	91%
<b>Sitophilus sp. (BOTRY)</b>	B	562	562	98%	5e <sup>-163</sup>	91%
<b>C. cephalonica (Ccep_B_BJ)</b>	B	562	562	98%	5e <sup>-163</sup>	91%
<b>C. serratus (SP2)</b>	B	562	562	98%	5e <sup>-163</sup>	91%
P. coloradensis (Pcol_A)	A	555	555	100%	8e <sup>-161</sup>	90%
Diptera (A_PanBCI_Calyp16)	A	549	549	100%	4e <sup>-159</sup>	90%
<b>E. kuehniella (wKueUSDA)</b>	A	549	549	100%	4e <sup>-159</sup>	90%
Suillia sp. (A_Cobb27Hel)	A	544	544	100%	2e <sup>-157</sup>	90%
O. clarus (Oclar_A)	A	544	544	100%	2e <sup>-157</sup>	90%
B. afer (Bafe_B_wAfe_1)	B	540	540	98%	2e <sup>-156</sup>	90%
A. chilonis (Ach_A_wCh3)	A	538	538	100%	8e <sup>-156</sup>	89%
<b>E. kuehniella (Ekue_A)</b>	A	538	538	100%	8e <sup>-156</sup>	89%
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph)	A	538	538	100%	8e <sup>-156</sup>	89%
A. sparsa (Aspa_A)	A	538	538	100%	8e <sup>-156</sup>	89%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	532	532	100%	4e <sup>-154</sup>	89%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	532	532	100%	4e <sup>-154</sup>	89%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	532	532	100%	4e <sup>-154</sup>	89%
C. alternans (Calt_B)	A	518	518	98%	1e <sup>-149</sup>	89%
<b>T. confusum (Tcon_B_BhAvill_AK)</b>	A	512	512	98%	5e <sup>-148</sup>	89%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximum Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados

**Tabela Suplementar 10.** Porcentagem de Identidade de 62 sequências de cepas de *Wolbachia* oriundos do gene *wsp*

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de <i>Wolbachia</i>)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
<b>Z. subfasciatus (Zsub)</b>	-	866	866	100%	0	100%
C. palaemon (Cpln) B	-	812	812	100%	0	98%
C. oedippus (Coed_B)	B	785	785	100%	0	96%
<b>C. serratus (SP2)</b>	B	785	785	100%	0	96%
I. persulcatus (wIxp1)	-	782	782	100%	0	96%
L. melissa (Lmel_B)	B	782	782	100%	0	96%
C. glycerion (Cgly_B)	B	778	778	92%	0	99%
Hymenoptera Dryinidae (wWaspb)	B	778	778	92%	0	99%
H. horticola (Hhor_B_wHho)	B	778	778	92%	0	99%
A. punctidactyla (Apun_B)	B	778	778	92%	0	99%
M. fascifrons (wMfas1)	B	778	778	92%	0	99%
P. stubbendorffii (Pstu_B)	B	776	776	100%	0	96%
B. tabaci (Btab_B_wAII1-30)	B	774	774	94%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_11)	B	774	774	94%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_28)	B	774	774	94%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-38)	B	774	774	94%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_41)	B	774	774	94%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_29)	B	774	774	94%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_42)	B	774	774	94%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAU_54)	B	773	773	92%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII3_49)	B	773	773	92%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII9_43)	B	773	773	92%	0	98%
C. silvicola (Csil)	-	773	773	92%	0	98%
Diptera Chloropidae (B_NY_Chloro150737b)	B	773	773	92%	0	98%
T. urticae (wUrtCon2)	B	773	773	92%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAI_39)	B	769	769	92%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_W3)	B	769	769	92%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_W2a)	B	769	769	92%	0	98%
B. tabaci (wBtab)	B	764	764	92%	0	98%
<b>Sitophilus sp. (BOTRY)</b>	B	764	764	100%	0	95%
<b>S. oryzae (SONDYA)</b>	B	764	764	100%	0	95%
<b>T. confusum (Tcon_B_BhAvill_AK)</b>	B	760	760	92%	0	98%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de *Wolbachia* que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximun Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados

**Tabela Suplementar 10.** Continuação

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
B. tabaci_(Btab_B_wAII7_26)	B	756	778	94%	0	97%
B. tabaci (Btab_B_W1a)	B	755	755	92%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAI_27)	B	755	776	92%	0	98%
E. furuhashii (W-Efur)	B	755	776	92%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-35)	B	755	776	92%	0	98%
B. tabaci (Btab_B_W5)	B	755	776	92%	0	98%
O. ovalipennis (Oova_B)	B	755	755	92%	0	98%
A. paphia (Apap)	-	755	755	92%	0	98%
P. icarus (Pica_B)	B	755	755	92%	0	98%
B. afer (Bafe_B_wAfe_1)	B	746	767	92%	0	97%
L. oryzophilus (Lory_B)	B	693	693	92%	0	94%
<b>C. cephalonica (Ccep_B_BJ)</b>	B	578	578	90%	1e <sup>-167</sup>	90%
C. alternans (Calt_B)	B	529	550	99%	5e <sup>-153</sup>	85%
<b>E. kuehniella (Ekue_B)</b>	B	502	502	91%	7e <sup>-145</sup>	85%
Suillia sp. (A_Cobb27Hel)	A	448	448	90%	1e <sup>-128</sup>	83%
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph)	A	439	439	93%	7e <sup>-126</sup>	82%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	430	430	93%	3e <sup>-123</sup>	82%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	421	421	91%	2e <sup>-120</sup>	81%
O. clarus (Oclar_A)	A	412	442	82%	9e <sup>-118</sup>	84%
<b>E. kuehniella (Ekue_A)</b>	A	408	438	89%	1e <sup>-116</sup>	83%
A. albopictus (Aalb_A)	A	405	405	94%	1e <sup>-115</sup>	80%
A. chilonis (Ach_A_wCh3)	A	403	433	89%	5e <sup>-115</sup>	82%
Diptera (A_PanBCI_Calyp16)	A	403	433	89%	5e <sup>-115</sup>	82%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	401	401	93%	2e <sup>-114</sup>	80%
<b>E. kuehniella (wKueUSDA)</b>	A	399	399	93%	6e <sup>-114</sup>	80%
P. coloradensis (Pcol_A)	A	398	428	82%	2e <sup>-113</sup>	84%
A. sparsa (Aspa_A)	A	398	431	82%	2e <sup>-113</sup>	83%
A. emertoni (Aeme_A_LW5)	A	394	394	78%	2e <sup>-112</sup>	83%
O. cacaliae (Ocac_A_wVdO)	A	392	422	89%	9e <sup>-112</sup>	81%
F. occulta (Focc_A)	A	361	361	80%	1e <sup>-112</sup>	82%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximun Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados

**Tabela Suplementar 11.** Perfil WSP

<b>Organismo hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>Supergrupo</b>	<b>WSP*</b>	<b>HVR1**</b>	<b>HVR2**</b>	<b>HVR3**</b>	<b>HVR4**</b>
<b>Z. subfasciatus (Zsub)</b>	-	Em submissão	2	Em submissão	3	102
T. urticae (wUrtCon2)	B	537	2	17	3	216
L. oryzoophilus (Lory_B)	B	288	121	138	129	107
A. punctidactyla (Apun_B)	B	296	2	17	3	23
C. glycerion (Cgly_B)	B	296	2	17	3	23
Dryinidae (wWaspb)	B	296	2	17	3	23
Diptera Chloropidae (B_NY_Chloro150737b)	B	153	2	17	3	23
M. fascifrons (wMfas1)	B	533	2	17	3	44
C. silvicola (Csil)	-	697	2	17	3	23
H. horticola (Hhor_B_wHho)	B	296	2	17	3	23
A. paphia (Apap)	-	116	69	17	3	23
P. icarus (Pica_B)	B	116	69	17	3	23
I. persulcatus (wIxp1)	-	294	125	141	124	102
C. palaemon (Cpln)	-	698	201	35	24	84
C. oedippus (Coed_B)	B	561	2	141	127	239
B. tabaci (wBtab)	B	535	159	17	89	23
B. tabaci (Btab_B_W5)	B	163	78	88	90	23
B. tabaci (Btab_B_wAII7_26)	B	665	78	88	90	2
B. tabaci (Btab_B_wAI_39)	B	672	2	17	261	2

\*wsp: Se refere ao respectivo número de identificação do perfil WSP, referente ao gene wsp de Wolbachia para cada cepa bacteriana presente no banco de dados do site pubmlst.org.

\*\*HVR1, HVR2, HVR3 e HVR4 refere-se ao número de identificação de cada uma das quatro regiões hipervariáveis da estrutura primária da Proteína de Parede de Wolbachia (WSP) presente no banco de dados do site pubmlst.org

Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 11.** Continuação

<b>Organismo hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>Supergrupo</b>	<b>WSP*</b>	<b>HVR1**</b>	<b>HVR2**</b>	<b>HVR3**</b>	<b>HVR4**</b>
E. furuhashii (W-Efur)	B	163	78	88	90	2
B. tabaci (Btab_B_wAII6-35)	B	163	78	88	90	23
B. tabaci (Btab_B_W2a)	B	165	2	20	3	23
P. stubbendorffii (Pstu_B)	B	369	148	141	127	102
L. melissa (Lmel_B)	B	294	125	141	127	102
B. tabaci (Btab_B_wAI_27)	B	163	78	88	90	23
O. ovalipennis (Oova_B)	B	63	19	17	24	33
B. tabaci (Btab_B_W3)	B	165	2	20	3	23
B. tabaci (Btab_B_wCN1_11)	B	669	2	17	3	2
B. tabaci (Btab_B_wCN1_41)	B	669	2	17	3	2
B. tabaci (Btab_B_wAII1_28)	B	669	2	17	3	2
B. tabaci (Btab_B_wAU_54)	B	160	2	17	3	23
B. tabaci (Btab_B_wAII9_43)	B	160	2	17	3	23
B. tabaci (Btab_B_wAII6-38)	B	669	2	17	3	2
B. tabaci (Btab_B_wCN1_42)	B	669	2	17	3	2
<b>C. serratus (SP2)</b>	B	694	2	141	127	102
B. tabaci (Btab_B_wAII1_29)	B	669	2	17	3	2
B. tabaci (Btab_B_wAII3_49)	B	160	2	17	3	23
<b>S. oryzae (SONDYA)</b>	B	678	88	151	141	300

\*wsp: Se refere ao respectivo número de identificação do perfil WSP, referente ao gene wsp de Wolbachia para cada cepa bacteriana presente no banco de dados do site pubmlst.org.

\*\*HVR1, HVR2, HVR3 e HVR4 refere-se ao número de identificação de cada uma das quatro regiões hipervariáveis da estrutura primária da Proteína de Parede de Wolbachia (WSP) presente no banco de dados do site pubmlst.org

Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 11.** Continuação

<b>Organismo hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>Supergrupo</b>	<b>WSP*</b>	<b>HVR1**</b>	<b>HVR2**</b>	<b>HVR3**</b>	<b>HVR4**</b>
B. tabaci (Btab_B_wAII1-30)	B	669	2	17	3	2
B. tabaci (Btab_B_W1a)	B	116	69	17	3	23
<b>C. cephalonica (Ccep_B_BJ)</b>	B	10	10	8	10	8
<b>T. confusum (Tcon_B_BhAvill_AK)</b>	B	29	22	17	3	22
<b>Sitophilus sp. (BOTRY)</b>	B	678	88	151	141	300
B. afer (Bafe_B_wAfe_1)	B	670	231	265	143	23
<b>E. kuehniella (Ekue_B)</b>	B	19	14	16	18	16
C. alternans (Calt_B)	B	8	7	7	8	7
A. chilonis (Ach_A_wCh3)	A	594	210	15	17	14
A. albopictus (Aalb_A)	A	1	1	1	1	1
O. clarus (Oclar_A)	A	118	66	76	78	63
<b>E. kuehniella (wKueUSDA)</b>	A	83	51	55	15	57
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	311	53	145	39	18
O. cacaliae (Ocac_A_wVdO)	A	666	229	263	260	293
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	587	52	28	110	241
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph)	A	86	52	57	59	59
A. emertoni (Aeme_A_LW5)	A	41	28	31	34	32
<b>E. kuehniella (Ekue_A)</b>	A	18	13	15	17	14
Suillia sp. (A_Cobb27Hel)	A	85	53	28	53	58

\*wsp: Se refere ao respectivo número de identificação do perfil WSP, referente ao gene wsp de Wolbachia para cada cepa bacteriana presente no banco de dados do site pubmlst.org.

\*\*HVR1, HVR2, HVR3 e HVR4 refere-se ao número de identificação de cada uma das quatro regiões hipervariáveis da estrutura primária da Proteína de Parede de Wolbachia (WSP) presente no banco de dados do site pubmlst.org

Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 11.** Continuação

<b>Organismo hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>Supergrupo</b>	<b>WSP*</b>	<b>HVR1**</b>	<b>HVR2**</b>	<b>HVR3**</b>	<b>HVR4**</b>
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	586	52	57	39	18
A. sparsa (Aspa_A)	A	5	4	4	5	4
F. occulta (Focc_A)	A	47	28	31	39	18
Diptera (A_PanBCI_Calyp16)	A	57	9	99	12	35
P. coloradensis (Pcol_A)	A	120	66	76	42	39

\*wsp: Se refere ao respectivo número de identificação do perfil WSP, referente ao gene wsp de Wolbachia para cada cepa bacteriana presente no banco de dados do site pubmlst.org.

\*\*HVR1, HVR2, HVR3 e HVR4 refere-se ao número de identificação de cada uma das quatro regiões hivervariáveis da estrutura primária da Proteína de Parede de Wolbachia (WSP) presente no banco de dados do site pubmlst.org

Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 12.** Porcentagem de identidade do alinhamento do motivo HVR2 reconstruído in silico a partir das sequências de DNA de 62 cepas de Wolbachia

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
<b>Z. subfasciatus (Zsub)</b>	-	95.1	95.1	100%	4e <sup>-32</sup>	100%
B. tabaci (Btab_B_W1a)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII1-30)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
B. tabaci (wBtab)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
B. tabaci (Btab_B_wAI_39)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
O. ovalipennis (Oova_B)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_11)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_28)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
B. tabaci (Btab_B_wAU_54)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII3_49)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII9_43)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-38)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_41)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_29)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_42)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
A. paphia (Apap)	-	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
C. silvicola (Csil)	-	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
P. icarus (Pica_B)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
C. glycerion (Cgly_B)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
Hymenoptera Dryinidae_(wWaspb)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
H. horticola (Hhor_B_wHho)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
A. punctidactyla (Apun_B)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
Diptera Chloropidae (B_NY_Chloro150737b)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
M. fascifrons (wMfas1)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
T. urticae (wUrtCon2)	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
<b>T. confusum (Tcon_B_BhAvill_AK)</b>	B	92.8	92.8	100%	3e <sup>-31</sup>	98%
B. tabaci (Btab_B_wAI_27)	B	91.7	91.7	100%	9e <sup>-31</sup>	96%
E. furuhashii (W-Efur)	B	91.7	91.7	100%	9e <sup>-31</sup>	96%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-35)	B	91.7	91.7	100%	9e <sup>-31</sup>	96%
B. tabaci (Btab_B_W5)	B	91.7	91.7	100%	9e <sup>-31</sup>	96%
B. tabaci (Btab_B_wAII7_26)	B	91.7	91.7	100%	9e <sup>-31</sup>	96%
C. palaemon (Cpln)	-	90.5	90.5	100%	2e <sup>-30</sup>	96%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximum Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados

**Tabela Suplementar 12.** Continuação

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
B. tabaci (Btab_B_W3)	B	90.5	90.5	100%	2e <sup>-30</sup>	96%
B. tabaci (Btab_B_W2a)	B	90.5	90.5	100%	2e <sup>-30</sup>	96%
B. afer (Bafe_B_wAfe_1)	B	82.4	82.4	100%	4e <sup>-27</sup>	90%
<b>Sitophilus sp. (BOTRY)</b>	B	72.8	72.8	100%	2e <sup>-23</sup>	81%
<b>S. oryzae (SONDYA)</b>	B	72.8	72.8	100%	2e <sup>-23</sup>	81%
<b>E. kuehniella (Ekue_B)</b>	B	72.4	72.4	100%	3e <sup>-23</sup>	81%
P. stubbendorffii (Pstu_B)	B	71.2	71.2	100%	1e <sup>-22</sup>	79%
C. oedippus (Coed_B)	B	71.2	71.2	100%	1e <sup>-22</sup>	79%
I. persulcatus (wIxp1)	-	71.2	71.2	100%	1e <sup>-22</sup>	79%
L. melissa (Lmel_B)	B	71.2	71.2	100%	1e <sup>-22</sup>	79%
<b>C. serratus (SP2)</b>	B	71.2	71.2	100%	1e <sup>-22</sup>	79%
A. chilonis (Ach_A_wCh3)	B	71.2	71.2	100%	1e <sup>-22</sup>	79%
Diptera (A_PanBCI_Calyp16)	B	71.2	71.2	100%	1e <sup>-22</sup>	79%
<b>E. kuehniella (Ekue_A)</b>	A	71.2	71.2	100%	1e <sup>-22</sup>	79%
P. coloradensis (Pcol_A)	A	68.9	68.9	100%	7e <sup>-22</sup>	75%
O. clarus (Oclar_A)	A	68.9	68.9	100%	7e <sup>-22</sup>	75%
L. oryzophilus_(Lory_B)	B	68.6	68.6	100%	1e <sup>-21</sup>	77%
A. sparsa (Aspa_A)	A	68.2	68.2	100%	2e <sup>-21</sup>	72%
O. cacaliae (Ocac_A_wVdO)	A	65.5	65.5	100%	2e <sup>-20</sup>	73%
A. emertoni (Aeme_A_LW5)	A	64.7	64.7	100%	4e <sup>-20</sup>	71%
F. occulta(Focc_A)	A	64.7	64.7	100%	4e <sup>-20</sup>	71%
C. alternans (Calt_B)	B	62.8	62.8	100%	2e <sup>-19</sup>	69%
<b>C. cephalonica (Ccep_B_BJ)</b>	B	62.8	62.8	100%	3e <sup>-19</sup>	69%
Suillia sp. (A_Cobb27Hel)	A	62.4	62.4	100%	3e <sup>-19</sup>	73%
C.obstrictus (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	62.4	62.4	100%	3e <sup>-19</sup>	73%
C.obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	62.4	62.4	100%	3e <sup>-19</sup>	73%
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph)	A	62	62	100%	5e <sup>-19</sup>	69%
C.obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	62	62	100%	5e <sup>-19</sup>	69%
A.albopictus (Aalb_A)	A	59.3	59.3	100%	5e <sup>-18</sup>	68%
<b>E.kuehniella (wKueUSDA)</b>	A	57	57	100%	5e <sup>-17</sup>	63%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximun Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados.

**Tabela Suplementar 13.** Porcentagem de identidade do alinhamento do polipeptídeo WSP reconstruído in silico a partir das sequências de DNA de 62 cepas de Wolbachia

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
<b>Z. subfasciatus (Zsub)</b>	-	317	317	100%	3e <sup>-116</sup>	100%
C. palaemon (Cpln)	-	306	306	100%	7e <sup>-112</sup>	96%
B. tabaci (Btab_B_wAII1-30)	B	295	295	100%	3e <sup>-107</sup>	94%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_11)	B	295	295	100%	3e <sup>-107</sup>	94%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_28)	B	295	295	100%	3e <sup>-107</sup>	94%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-38)	B	295	295	100%	3e <sup>-107</sup>	94%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_41)	B	295	295	100%	3e <sup>-107</sup>	94%
B. tabaci (Btab_B_wAII1_29)	B	295	295	100%	3e <sup>-107</sup>	94%
B. tabaci (Btab_B_wCN1_42)	B	295	295	100%	3e <sup>-107</sup>	94%
B. tabaci (Btab_B_wAU_54)	B	293	293	100%	2e <sup>-106</sup>	94%
B. tabaci (Btab_B_wAII3_49)	B	293	293	100%	2e <sup>-106</sup>	94%
B. tabaci (Btab_B_wAII9_43)	B	293	293	100%	2e <sup>-106</sup>	94%
C. silvicola (Csil)	-	293	293	100%	2e <sup>-106</sup>	94%
C. glycerion (Cgly_B)	B	293	293	100%	2e <sup>-106</sup>	94%
Hymenoptera Dryinidae (wWaspb)	B	293	293	100%	2e <sup>-106</sup>	94%
H. horticola (Hhor_B_wHho)	B	293	293	100%	2e <sup>-106</sup>	94%
A. punctidactyla (Apun_B)	B	293	293	100%	2e <sup>-106</sup>	94%
Diptera Chloropidae (B_NY_Chloro150737b)	B	293	293	100%	2e <sup>-106</sup>	94%
T. urticae (wUrtCon2)	B	292	292	93%	2e <sup>-106</sup>	99%
M. fascifrons (wMfas1)	B	292	292	93%	2e <sup>-106</sup>	99%
C. oedippus (Coed_B)	B	292	292	100%	2e <sup>-106</sup>	93%
<b>C. serratus (SP2)</b>	B	292	292	100%	2e <sup>-106</sup>	93%
B. tabaci (Btab_B_W3)	B	291	291	100%	8e <sup>-106</sup>	93%
B. tabaci (Btab_B_W2a)	B	291	291	100%	8e <sup>-106</sup>	93%
I. persulcatus (wIxp1)	-	291	291	100%	8e <sup>-106</sup>	93%
L. melissa (Lmel_B)	B	291	291	100%	8e <sup>-106</sup>	93%
B.tabaci_(Btab_B_wAI_39)	B	290	290	100%	2e <sup>-105</sup>	93%
<b>T. confusum (Tcon_B_BhAvill_AK)</b>	B	290	290	93%	2e <sup>-105</sup>	97%
P. stubbendorffii (Pstu_B)	B	289	289	100%	4e <sup>-105</sup>	92%
<b>Sitophilus sp. (BOTRY)</b>	B	289	289	100%	4e <sup>-105</sup>	92%
<b>S. oryzae (SONDYA)</b>	B	289	289	100%	4e <sup>-105</sup>	92%
B.tabaci (wBtab)	B	289	289	93%	4e <sup>-105</sup>	97%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximum Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados

**Tabela Suplementar 13.** Continuação

<b>Organismo Hospedeiro (Cepa de Wolbachia)</b>	<b>SG<sup>1</sup></b>	<b>MS<sup>2</sup></b>	<b>TS<sup>3</sup></b>	<b>QC<sup>4</sup> (%)</b>	<b>E-valor</b>	<b>Ident.(%)</b>
B. tabaci (Btab_B_W1a)	B	288	288	100%	1e <sup>-104</sup>	93%
A. paphia (Apap)	-	288	288	100%	1e <sup>-104</sup>	93%
P. icarus (Pica_B)	B	288	288	100%	1e <sup>-104</sup>	93%
O. ovalipennis (Oova_B)	B	288	288	93%	1e <sup>-104</sup>	97%
B. tabaci (Btab_B_wAII7_26)	B	287	287	100%	2e <sup>-104</sup>	92%
B. tabaci (Btab_B_wAI_27)	B	285	285	93%	1e <sup>-103</sup>	96%
E. furuhashii (W-Efur)	B	285	285	93%	1e <sup>-103</sup>	96%
B. tabaci (Btab_B_wAII6-35)	B	285	285	93%	1e <sup>-103</sup>	96%
B. tabaci (Btab_B_W5)	B	285	285	93%	1e <sup>-103</sup>	96%
B. afer (Bafe_B_wAfe_1)	B	278	278	93%	8e <sup>-101</sup>	95%
L. oryzophilus (Lory_B)	B	262	262	100%	1e <sup>-94</sup>	86%
<b>C. cephalonica (Ccep_B_BJ)</b>	B	251	251	100%	3e <sup>-90</sup>	81%
C. alternans (Calt_B)	B	229	229	100%	2e <sup>-81</sup>	73%
<b>E. kuehniella (Ekue_B)</b>	B	228	228	93%	7e <sup>-81</sup>	78%
Suillia sp. (A_Cobb27Hel)	A	216	216	93%	4e <sup>-76</sup>	74%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Switz)	A	211	211	100%	3e <sup>-74</sup>	71%
Coleoptera Staphylinidae (A_CobbStaph)	A	211	211	98%	4e <sup>-74</sup>	72%
P. coloradensis (Pcol_A)	A	209	209	94%	1e <sup>-73</sup>	71%
O. clarus (Oclar_A)	A	209	209	93%	3e <sup>-73</sup>	72%
A. chilonis (Ach_A_wCh3)	A	208	208	98%	6e <sup>-73</sup>	71%
O. cacaliae (Ocac_A_wVdO)	A	207	207	98%	9e <sup>-73</sup>	71%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_USA)	A	205	205	97%	7e <sup>-72</sup>	72%
A. albopictus (Aalb_A)	A	203	203	96%	5e <sup>-71</sup>	70%
<b>E. kuehniella (wKueUSDA)</b>	A	202	202	93%	6e <sup>-71</sup>	73%
A. sparsa (Aspa_A)	A	202	202	93%	7e <sup>-71</sup>	72%
C. obstrictus (Marsham) (Cobs_A_Ger)	A	202	202	100%	7e <sup>-71</sup>	70%
<b>E. kuehniella (Ekue_A)</b>	A	201	201	98%	4e <sup>-70</sup>	72%
Diptera (A_PanBCI_Calyp16)	A	200	200	98%	6e <sup>-70</sup>	72%
A. emertoni (Aeme_A_LW5)	A	197	197	93%	7e <sup>-69</sup>	69%
F. occulta (Focc_A)	A	196	196	100%	2e <sup>-68</sup>	67%

SG<sup>1</sup>, Supergrupos de Wolbachia que podem ser classificados em A ou B; MS<sup>2</sup>, do inglês “Maximun Score” que quer dizer Máxima Pontuação; TS<sup>3</sup>, do inglês “Total Score” que quer dizer pontuação total; QC<sup>4</sup> (%), do inglês “Query Cover Percentage” que significa o quanto em porcentagem de sequência uma sequência foi comparada com a outra; Ident(%), porcentagem de identidade. Os nomes em negrito indicam as cepas presentes em espécies hospedeiras que atacam grãos armazenados

## 8. ANEXO

**Tabela Complementar 1.** Relação de valores e pesos de grãos de feijão seco para importação

Ano	Peru		México		Colômbia	
	Valor (US\$)	Peso (Kg)	Valor (US\$)	Peso (Kg)	Valor (US\$)	Peso (Kg)
1997	618.660	787.000	0	0	0	0
1998	953.498	1.244.750	0	0	0	0
1999	575.229	771.000	0	0	0	0
2000	234.067	394.000	0	0	0	0
2001	294.095	495.656	0	0	0	0
2002	316.221	480.990	0	0	0	0
2003	153.306	230.000	0	0	0	0
2004	176.116	276.000	0	0	0	0
2005	91.379	111.020	87.350	62.680	0	0
2006	285.085	353.366	0	0	0	0
2007	351.591	356.452	0	0	0	0
2008	315.591	356.452	0	0	0	0
2009	264.757	307.246	0	0	0	0
2010	526,482	482.037	0	0	0	0
2011	1.099.013	840.192	0	0	0	0
2012	460.958	370.982	0	0	0	0
2013	507.085	465.000	0	0	0	0
2014	398.776	308.100	186.469	252.325	0	0
2015	499.214	345.000	0	0	0	0
2016	379.043	355.500	0	0	0	0
2017	238.640	232.943	0	0	0	0
2018	50.357	46.000	0	0	0	0

**Obs: Os valores foram coletados até Abril de 2018**

**Tabela Complementar 2.** Relação de valores e pesos de grãos de feijão seco para exportação

Ano	Peru		México		Colômbia	
	Valor (US\$)	Peso (Kg)	Valor (US\$)	Peso (Kg)	Valor (US\$)	Peso (Kg)
1997	0	0	0	0	0	0
1998	0	0	0	0	0	0
1999	0	0	0	0	0	0
2000	59	60	0	0	0	0
2001	0	0	0	0	0	0
2002	0	0	0	0	0	0
2003	0	0	0	0	0	0
2004	0	0	0	0	0	0
2005	0	0	0	0	0	0
2006	0	0	0	0	0	0
2007	0	0	0	0	0	0
2008	0	0	0	0	0	0
2009	0	0	0	0	0	0
2010	0	0	0	0	0	0
2011	0	0	0	0	0	0
2012	0	0	130.713	237.660	0	0
2013	0	0	0	0	0	0
2014	0	0	0	0	0	0
2015	0	0	0	0	0	0
2016	0	0	164	1	0	0
2017	0	0	26.618	45.996	0	0
2018	0	0	0	0	0	0

**Obs: Os valores foram coletados até Abril de 2018**