

SUELEN VIRGÍNIA EUFRÁSIO SPERIDIÃO

EFEITO DA QUALIDADE DO MACHO NA RESPOSTA AO FEROMÔNIO
SEXUAL EM *Tuta absoluta*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Eraldo Rodrigues de Lima

Coorientador: Manuel Alejandro Ix Balam

VIÇOSA - MINAS GERAIS
2020

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S749e
2020 Speridião, Suelen Virgínia Eufrásio, 1990-
Efeito da qualidade do macho na resposta ao feromônio
sexual em *Tuta absoluta* / Suelen Virgínia Eufrásio Speridião. –
Viçosa, MG, 2020.
36 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Eraldo Rodrigues de Lima.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.33-36.

1. Traça-do-tomateiro. 2. Feromônios. 3. Túneis de vento.
4. Insetos - Vôo. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Entomologia. Programa de Pós-Graduação em
Entomologia. II. Título.

CDD 22. ed. 595.78

SUELEN VIRGÍNIA EUFRÁSIO SPERIDIÃO

EFEITO DA QUALIDADE DO MACHO NA RESPOSTA AO FEROMÔNIO
SEXUAL EM *Tuta absoluta*

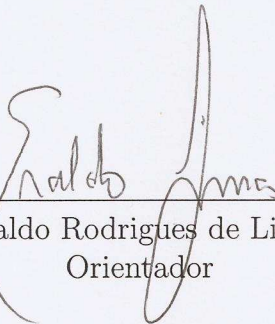
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 28 de fevereiro de 2020.

Assentimento:



Suelen Virgínia Eufrásio Speridião
Autora



Eraldo Rodrigues de Lima
Orientador

Dedico à minha mãe, por seu amor incondicional.

Agradecimentos

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Programa de Pós-graduação em Entomologia pela oportunidade de realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À minha mãe Sônia, por ser meu porto seguro, me amar e acreditar na minha capacidade sempre.

À minha irmã Sofia, que com amizade e amor me mostra como a vida pode ser leve e feliz.

Ao meu marido Márcio por vivenciar comigo todas as dificuldades, me amar, dar conselhos e me alegrar nos momentos difíceis.

À toda minha família pelos momentos de alegria e descontração.

Aos amigos que ganhei durante toda a vida por me mostrar que pessoas boas existem e também por acreditarem que sou capaz.

Ao professor Eraldo pelos ensinamentos, amizade, orientação e toda contribuição para a realização desse trabalho.

A todos os professores do departamento pela dedicação e alegria em ensinar.

Ao Manuel pelos ensinamentos, coorientação e amizade.

À Natália pela amizade, carinho, dedicação e companheirismo em todos os momentos.

Aos amigos do Laboratório de Semioquímicos e Comportamento de Insetos, Manuel, Natália, Marcondes, Sofia, Pedro, Carlos, Kárenn e Giovana pela amizade, dedicação e momentos alegres.

Aos estagiários do Laboratório de Semioquímicos e Comportamento de Insetos, Wellington e Luís, pela amizade e pelo empenho em contribuir para que esse trabalho acontecesse. Em especial ao Wellington que dedicou seu tempo para me ajudar nos experimentos e tornar este trabalho possível.

Aos funcionários do Laboratório de Semioquímicos e Comportamento de Insetos pela amizade e ajuda. Em especial à Josie, que além de amiga foi muito companheira nos experimentos.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas, Termitologia, Taxonomia, Acarologia, Interação Inseto-microrganismo e Interação Inseto-planta pela amizade e momentos de descontração.

Aos funcionários da Entomologia, pelo ótimo trabalho desempenhado e compreensão nos momentos burocráticos.

À Alexandra Elbakyan, criadora do site Sci-Hub, por quebrar barreiras e permitir a todos o acesso ao material científico tão essencial para a conclusão de nossos trabalhos.

Aos programas LATEX e R.

”If the foundation of this tower of adaptative logic is unsound, its fantastic and unwarranted elaboration is a stark comment on the present status of research in much of this area.”(Wade 1984)

Resumo

SPERIDIÃO, Suelen Virgínia Eufrásio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2020. **Efeito da qualidade do macho na resposta ao feromônio sexual em *Tuta absoluta***. Orientador: Eraldo Rodrigues de Lima. Coorientador: Manuel Alejandro Ix Balam.

A coleta massal é uma das principais técnicas utilizadas para o controle da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta*. A técnica consiste em utilizar armadilhas e atraentes sintéticos com o propósito de capturar a maior quantidade de machos possível e manter a população abaixo do nível de dano econômico. Porém, esses resultados nem sempre são satisfatórios e o sucesso desta técnica ainda não foi alcançado em campo e casas de vegetação. As prováveis falhas da coleta massal tem sido relacionadas a fatores diversos, como acasalamentos múltiplos e competição de fêmeas com as armadilhas quando em alta densidade populacional. No presente trabalho, testamos a hipótese de que machos de *T. absoluta* com idades (3 e 5 dias) e estados reprodutivos diferentes (virgem ou acasalados), apresentam uma resposta de atração diferente aos componentes sintéticos e ao feromônio sexual natural das fêmeas (extrato da glândula). As avaliações comportamentais dos machos foram realizadas em túnel de vento. Nossos resultados mostraram que a atração dos machos de *T. absoluta* não é afetada pelo estado reprodutivo do macho, independente de qual seja a natureza do atraente utilizado. Machos velhos chegam mais rápido ao extrato da glândula enquanto os machos novos tendem a pousar em maior proporção nos atraentes artificiais. Assim, prevemos que em um ambiente de campo os machos jovens seriam coletados em maior número nas armadilhas, enquanto que machos de mais idade estariam acasalando com as fêmeas. Os resultados mostram dados inéditos sobre o comportamento reprodutivo dos machos de *T. absoluta* e podem estabelecer novas estratégias para controle dessa praga.

Palavras-chave: Traça-do-tomateiro. Feromônio sintético. Túnel de vento.

Abstract

SPERIDIÃO, Suelen Virgínia Eufrásio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2020. **Effect of male quality on sexual pheromone response in *Tuta absoluta*.** Adviser: Eraldo Rodrigues de Lima. Co-adviser: Manuel Alejandro Ix Balam.

Mass trapping is one of the main techniques used to control the tomato leaf miner *Tuta absoluta*. This technique consists of using traps and synthetic attractants with the purpose of capturing as many males as possible and keeping the population below the level of economic damage. However, these results are not always satisfactory and the success of this technique has not yet been achieved in fields and greenhouses. The probable failures of mass trapping have been related to several factors, such as multiple matings and competition of females with the traps when in high population density. In the present work, we tested the hypothesis that males of *T. absoluta* with different ages (3 and 5 days) and reproductive status (virgin or mated) present a differential attraction response to the synthetic components and to the female's natural sexual pheromone (gland extract). The behavioral assessments of males were carried out in a wind tunnel. Our results show that the attraction of males of *T. absoluta* is not affected by the male's reproductive status, regardless the nature and the attractant used. Old males reach the gland extract faster than young males, while young males tend to land in greater proportion on artificial attractants. Thus, we predict that in a field environment, young males would be collected in greater numbers in traps, while older males would be mating with females. The results show unprecedented data on the reproductive behavior of males of *T. absoluta* and may establish new strategies to control this pest.

Keywords: Tomato pinworm. Synthetic pheromone. Wind tunnel.

Sumário

	Página
1 Introdução	10
2 Material e Métodos	12
2.1 Criação de <i>Tuta absoluta</i>	12
2.2 Obtenção de plantas de tomate	12
2.3 Determinação da qualidade dos indivíduos de <i>T. absoluta</i>	12
2.3.1 Padronização do peso de machos e fêmeas	12
2.3.2 Padronização do estado reprodutivo e da idade de machos e fêmeas	13
2.4 Atraentes	13
2.5 Obtenção do extrato da glândula	14
3 Teste comportamental	15
4 Análise estatística	17
5 Resultados	18
5.1 Contato dos machos a 5 cm da fonte liberadora	18
5.2 Tempo gasto pelos machos para chegar a 5 cm da fonte liberadora	21
5.3 Velocidade dos machos para chegar a 5 cm da fonte liberadora	22
5.4 Pouso dos machos na fonte liberadora	24
5.5 Tempo gasto pelos machos para pousar na fonte liberadora	27
6 Discussão	29
7 Conclusões	32
8 Referências	33

1 Introdução

Os insetos podem utilizar substâncias químicas para a comunicação interespecífica e intraespecífica. A comunicação intraespecífica acontece por meio de feromônios, os quais podem desempenhar diferentes funções (Cardé & Minks, 1997; Baker & Vickers, 1997). Em Lepidoptera, as fêmeas liberam feromônios sexuais para atrair os machos (Cardé & Mafra-Neto, 1997). O macho responde ao chamamento da fêmea assim que ocorre a percepção do feromônio (Witzgall, 1997), e segue a pluma de odor geralmente em zigue-zague contra o vento (Cardé & Mafra-Neto, 1997).

A resposta do macho ao feromônio sexual depende de uma mistura precisa dos componentes do feromônio sexual das fêmeas. Para componentes múltiplos, a proporção e a relação dos componentes é um fator muito importante, e para lepidópteros já foi estabelecido: de dois a sete compostos químicos constituem a natureza do feromônio sendo um dos constituintes o componente principal. A proporção de dois ou mais componentes é para o sinal químico uma característica essencial para o reconhecimento de indivíduos da mesma espécie (Lima & Della Lucia, 2001). Os machos procuram fêmeas receptivas em áreas onde é provável o acasalamento acontecer (Rutkowski & Schwarz, 1990). Encontrar um espaço onde o feromônio sexual esteja presente depende de como este estímulo foi disperso no ambiente e de onde se encontra o inseto receptor (Bell & Cardé, 1984).

A percepção das moléculas do feromônio sexual a longa distância origina a expressão de comportamentos característicos nos machos, como antenação, caminhar movimentando as asas, levantar vôo em zigue-zague, localização da fonte de feromônio, pouso próximo ou na fonte de feromônio, bem como caminhar afanando as asas até encontrar a fêmea (Lima & Della Lucia, 2001). À curta distância, o macho interage com a mesma levando possivelmente à cópula (Lima & Della Lucia, 2001).

A traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) é uma das principais pragas da cultura do tomate em diversas regiões do mundo (Dominguez *et al.*, 2016) e de difícil controle (Hassan & Alzaidi, 2009). Para contornar os danos e prejuízos causados por esses gelequídeos (Biondi & Desneux, 2019; Cocco *et al.*, 2012), o desenvolvimento de técnicas de armadilhamento com o uso de feromônios, em coleta massal, se mostrou uma alternativa plausível (Cocco *et al.*, 2012; Aksoy & Kovanci, 2016). A coleta massal consiste na utilização de iscas com atraentes sintéticos ou fêmeas com o propósito de capturar a maior quantidade de machos possíveis (Bento, 2001; Silva, 2008).

Os atraentes sintéticos são formulados utilizando o componente principal do feromônio sexual de *T. absoluta*, o acetato de (3E,8Z,11Z)-3,8,11-tetradecatrienila (trieno) ou uma mistura do trieno com o componente minoritário acetato de (3E,8Z)-3,8-tetradecadienila (dieno) (Attygalle *et al.*, 1995, 1996; Svatoš *et al.*, 1996). Ao longo dos últimos anos, a coleta massal com feromônio sexual sintético da fêmea de *T. absoluta* foi capaz de diminuir o número de machos em campo onde há baixas densidades da praga ou em estufas (Cocco *et al.*, 2012; Aksoy & Kovanci, 2016), porém a infestação não foi contida e seu sucesso ainda não foi alcançado em campo (Guedes & Picanço, 2012; Aksoy & Kovanci, 2016; Lôbo, 2005). As prováveis falhas do sistema de armadilhamento está relacionada aos acasalamentos múltiplos no qual tanto machos quanto fêmeas acasalam com mais de um parceiro, migração de fêmeas acasaladas e a competição de fêmeas com as armadilhas quando em alta densidade populacional (Lôbo, 2005).

No presente trabalho testamos a hipótese de que machos de *T. absoluta* com diferentes idades (3 e 5 dias) e estados reprodutivos (virgem ou acasalados) apresentam uma resposta diferencial de atração aos componentes sintéticos (trieno e trieno + dieno) e ao feromônio sexual natural (extrato da glândula). Previmos que machos de 5 dias de idade e acasalados terão uma maior atração para compostos sintéticos, enquanto os machos de 3 dias de idade e virgens, terão uma maior atração pelo composto natural. As avaliações comportamentais dos machos foram realizadas em túnel de vento e analisamos a importância dos atraentes antes e durante o vôo à fonte de odor. Os resultados deste trabalho ajudam a explicar as possíveis falhas da coleta massal, além de orientar novas possíveis estratégias de uso e liberação de feromônios.

2 Material e Métodos

2.1 Criação de *Tuta absoluta*

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Semioquímicos e Comportamento de Insetos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brasil. Ovos de *T. absoluta* depositados em folhas de tomate *Solanum lycopersicum* L. foram obtidos de criação massal do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da UFV. As folhas de tomate com os ovos foram colocadas em gaiolas de madeira cobertas com tela organza (30x20x30 cm). As lagartas eclodidas foram alimentadas com folhas de tomate, previamente colocadas em um pote de vidro com água para manter a turgidez, e sempre que necessário novas folhas foram inseridas na gaiola. Após a fase larval, as pupas foram retiradas das folhas de tomate, colocadas em placas de Petri (90x15 mm) e inseridas dentro de novas gaiolas. Os adultos emergidos foram alimentados com solução de água e açúcar a 10%. A população de *T. absoluta* foi mantida em uma sala de criação com temperatura de 25 ± 2 °C, fotofase de 12 h e umidade relativa de $70 \pm 5\%$.

2.2 Obtenção de plantas de tomate

As lagartas de *T. absoluta* foram alimentadas com plantas de tomate da variedade Santa Clara. As plantas foram obtidas a partir de sementeira em bandejas plásticas contendo substrato para o cultivo de hortaliças. As plântulas, com duas folhas definitivas, foram transplantadas para vasos de 3L contendo condicionador de solo MecPlant[®]. Macronutrientes foram fornecidos a cada 7 dias pelo uso de NPK (10:10:10), conforme especificações dos fabricantes. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação com temperatura de 25 ± 2 °C e umidade relativa de $70 \pm 5\%$.

2.3 Determinação da qualidade dos indivíduos de *T. absoluta*

2.3.1 Padronização do peso de machos e fêmeas

O peso de machos e fêmeas de *T. absoluta* foi padronizado conforme a massa pupal, segundo (Muller *et al.*, 2016) para que não houvesse influência do peso dos insetos nos testes comportamentais. As pupas foram retiradas das folhas de tomate e sexadas conforme a localização do poro genital como proposto por (Coelho & França, 1987) e pesadas em uma

balança analítica SHIMADZU AUW220D. A massa pupal de machos e fêmeas utilizados nos experimentos foi de $1,83 \pm 0,38$ mg e $2,2 \pm 0,51$ mg, respectivamente. Cada intervalo de peso correspondeu ao valor da média \pm desvio padrão, estimado a partir do peso de 200 pupas de cada sexo. As pupas dos machos e das fêmeas foram mantidas em salas separadas para que não ocorresse habituação do sistema olfativo dos machos após a emergência dos adultos.

2.3.2 Padronização do estado reprodutivo e da idade de machos e fêmeas

Pupas de machos e fêmeas foram colocadas individualmente em gaiolas plásticas de 70 mL. Uma das extremidades da gaiola estava coberta com tela organza para permitir a circulação de ar. Machos emergidos das pupas foram separados em dois grupos. Um grupo de machos mantidos virgens e outro grupo de machos que foram acasalados. Cada grupo foi subdividido em machos com três e cinco dias de idade. Machos e fêmeas de *T. absoluta* alcançam a maturidade sexual com 24 h de idade, assim os machos acasalados foram obtidos acasalando um macho virgem de 24 h de idade com uma fêmea virgem da mesma idade. As fêmeas foram utilizadas apenas para modificar o estado reprodutivo dos machos de virgens para acasalados e, após a cópula, foram devolvidas para as gaiolas de criação. Desta forma, foram estabelecidos quatro grupos de machos: (I) machos virgens com três dias de idade, (II) machos virgens com cinco dias de idade, (III) machos acasalados com três dias de idade e (IV) machos acasalados com cinco dias de idade. Machos e fêmeas foram alimentados com solução de água e açúcar a 10% e cada sexo foi mantido em salas separadas da criação com fotoperíodo, temperatura e umidade relativa como descritos anteriormente.

2.4 Atraentes

Os atraentes trieno e dieno constituem os componentes maioritário e minoritário, respectivamente, do feromônio sexual de *T. absoluta* (Attygalle *et al.*, 1995, 1996; Svatoš *et al.*, 1996). Os atraentes sintéticos trieno e dieno foram adquiridos por intermédio da empresa Shin-Etsu. Uma solução estoque 1000 ng/ μ L foi obtida a partir dos compostos puros e posteriormente diluída em hexano (grau HPLC, $\geq 97.0\%$, Sigma-Aldrich) a uma concentração de 10 ng/ μ L. Para chegar à concentração de 100 ng/ μ L para os testes comportamentais (Ferrara *et al.*, 2001), aplicamos 10 μ L com uma micropipeta. A mistura dos atraentes trieno + dieno foi utilizada em uma proporção 9:1, respectivamente. Cada grupo de machos de *T. absoluta* foi submetido a três tipos de atraentes: (I) extrato da glândula, (II) atraente sintético acetato de (3E,8Z,11Z)-3,8,11-tetradecatrienila (trieno) e (III) mistura de trieno com o atraente acetato de (3E,8Z-3,8)-tetradecadienila dieno.

2.5 Obtenção do extrato da glândula

O extrato da glândula foi obtido removendo a glândula produtora de feromônio sexual de fêmeas virgens de um dia de idade sob um microscópio estereoscópico Leica EZ4, utilizando pinças e tesouras cirúrgicas. A glândula, localizada no último segmento abdominal, foi extraída entre a última hora da escotofase e a primeira hora da fotofase, período de máxima produção do feromônio sexual (Domínguez *et al.*, 2019). Cinco glândulas de feromônio sexual foram extraídas e colocadas em um vial com 20 μL de hexano (grau HPLC, $\geq 97.0\%$, Sigma-Aldrich) por um período de 10 min. Posteriormente, as glândulas foram retiradas e o extrato mantido em freezer a $-18\text{ }^\circ\text{C}$ até o uso nos experimentos. Em cada avaliação comportamental dos machos de *T. absoluta* sempre foram extraídas novas glândulas e um equivalente fêmea foi utilizado ao se retirar do extrato uma alíquota de 4 μL .

3 Teste comportamental

As avaliações comportamentais dos machos de *T. absoluta* foram realizadas em um túnel de vento (3×1×1 m) (Fig. 1). Em cada avaliação os machos foram colocados individualmente em um tubo de vidro (15×3 cm) com as extremidades cobertas com tela organza, para permitir o fluxo de ar. O tubo de vidro foi colocado em uma haste fixa localizada a 2 m de distância de outra haste com um papel filtro (1,5×1,0 cm) onde foi colocado o atraente. Próximo ao papel filtro foi estabelecido um raio de 5 cm de forma que machos que chegaram a esta distância foram contabilizados como machos que chegaram próximos (5 cm) à fonte liberadora. No papel filtro foi colocado 10 μL do atraente sintético (trieno ou trieno + dieno) ou 1 equivalente-fêmea (4 μL) do extrato da glândula, utilizando uma micropipeta. O papel filtro estava localizado em frente ao ventilador do túnel de vento, permitindo o deslocamento do feromônio em direção ao macho na extremidade oposta (Fig. 1). Um minuto após a aplicação da fonte de odor, o tubo de vidro contendo o macho foi colocado na haste fixa e o macho foi liberado na câmara do túnel de vento, sendo avaliado sua chegada e toque a 5 cm da fonte e toque e pouso na fonte. O tempo gasto por cada indivíduo em um espaço de 2 metros foram contabilizados para cálculo da velocidade média dos machos em cada tratamento.

As avaliações comportamentais dos machos foram realizadas durante as duas primeiras horas da fotofase, correspondendo ao pico de comportamento de chamamento das fêmeas de *T. absoluta* (Silva, 2008). Em um mesmo dia de avaliação, todos os atraentes foram testados aleatoriamente para evitar possíveis erros experimentais em decorrência da possível variação diária de temperatura e umidade relativa e pressão atmosférica (Pellegrino *et al.*, 2013). Antes da realização dos experimentos, machos e fêmeas foram colocados na sala do túnel de vento por uma hora para aclimatação dos indivíduos. Uma fumaça produzida pela reação de ácido clorídrico e amônia permitiu a observação e o ajuste da pluma de odor (velocidade e turbulência). A temperatura, umidade relativa e a velocidade do vento foram ajustadas a 25 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ e 0,35 m/s, respectivamente. Os atraentes sintéticos e machos virgens foram utilizados para o ajuste do túnel de vento antes do início dos experimentos.

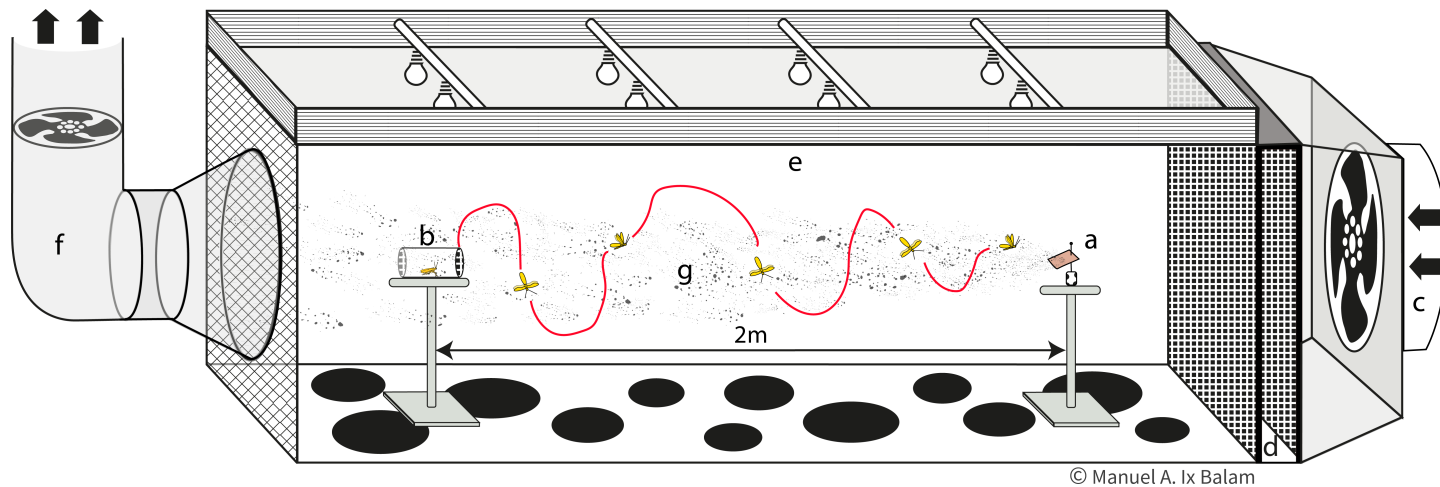


Figura 1: Diagrama do túnel de vento utilizado na avaliação comportamental dos machos de *Tuta absoluta*. Nos bioensaios sem chance de escolha o atraente **a** foi colocado a favor do vento no túnel. Os machos **b** foram liberados contra o vento a partir de um tubo de vidro. ventilador **c**, câmara de laminarização do vento **d**, câmara de vôo do túnel de vento **e**, exaustor **f**. As linhas pontilhadas **g** representam a pluma de odor percorrida pelos machos. As linhas vermelhas representam a trajetória percorrida pelos machos até chegar ao atraente. Os círculos negros no chão do túnel são um padrão visual para auxiliar a resposta optomotora. As setas indicam a direção do vento dentro do túnel.

4 Análise estatística

Um modelo linear generalizado (GLM) sob distribuição de erros Binomial (*model.glm1 <- glm(yn status + idade + fonte, weights = n, family = quasibinomial(), data = dados)*) foi construído para testar se a proporção de machos de *T. absoluta* que chegaram a 5 cm da fonte liberadora e se a proporção dos machos que pousaram na fonte liberadora foram afetadas pelo estado reprodutivo do macho (virgem ou acasalado), idade dos machos (3 dias ou 5 dias) e pela natureza do atraente utilizado (trieno, trieno+dieno ou extrato da glândula).

Um modelo linear generalizado (GLM) sob distribuição de erros Gaussiana (*mod1 <- glm(velocidade status + idade + fonte, data = dados)*) foi construído para testar se a velocidade (cm/s) para chegar a 5 cm da fonte liberadora foi afetada pelo estado reprodutivo do macho (virgem ou acasalado), idade dos machos (3 dias ou 5 dias) e pela natureza do atraente utilizado (trieno, trieno+dieno ou extrato da glândula).

Uma análise de sobrevivência (*fit1<-survreg(Surv(tempopou, censor1) status + idade + fonte)*) seguida de um teste de comparação de pares Log-Rank utilizando a correção de (Benjamini & Hochberg, 1995) foi realizado para testar se a proporção de machos que chegaram a 5 cm da fonte liberadora no tempo de 0 a 120 segundos e se a proporção de machos que pousaram na fonte liberadora no tempo de 0 a 120 segundos foram afetados pelo estado reprodutivo do macho (virgem ou acasalado), idade dos machos (3 dias ou 5 dias) e pela natureza do atraente utilizado (trieno, trieno+dieno ou extrato da glândula).

As análises foram realizadas e seguidas de análises residuais para confirmar a distribuição de erros e a adequação do modelo, utilizando o programa estatístico R (R Development Core Team, 2014). Os modelos foram reduzidos à medida que as variáveis não eram significativas e para comparar entre um tratamento e outro foi feito uma ANOVA com os modelos reduzidos.

5 Resultados

5.1 Contato dos machos a 5 cm da fonte liberadora

A proporção de machos de *T. absoluta* que voaram e chegaram a 5 cm da fonte liberadora não foi afetada pelo estado reprodutivo (virgem ou acasalado) ($F_{1;594} = 0,0168$; $p = 0,897$) e pela idade (3 dias ou 5 dias) ($F_{1;594} = 3,4695$; $p = 0,063$). Porém, a proporção de machos que chegaram a 5 cm da fonte liberadora foi afetada pela natureza do atraente utilizado (trieno, trieno + dieno ou extrato da glândula) ($F_{1;593} = 11,9133$; $p < 0,001$). Uma menor proporção de machos chegou a 5 cm da fonte liberadora utilizando o extrato da glândula comparado com o composto trieno ($F_{1;397} = 12,097$; $p = 0,00056$). Não houve uma diferença na proporção de machos que chegaram a 5 cm da fonte liberadora utilizando o extrato da glândula comparado com o trieno + dieno ($F_{1;392} = 12,027$; $p = 0,00058$) e utilizando o trieno + dieno comparado com o trieno ($F_{1;397} = 0,0002$; $p = 0,9896$) (Figura 2).

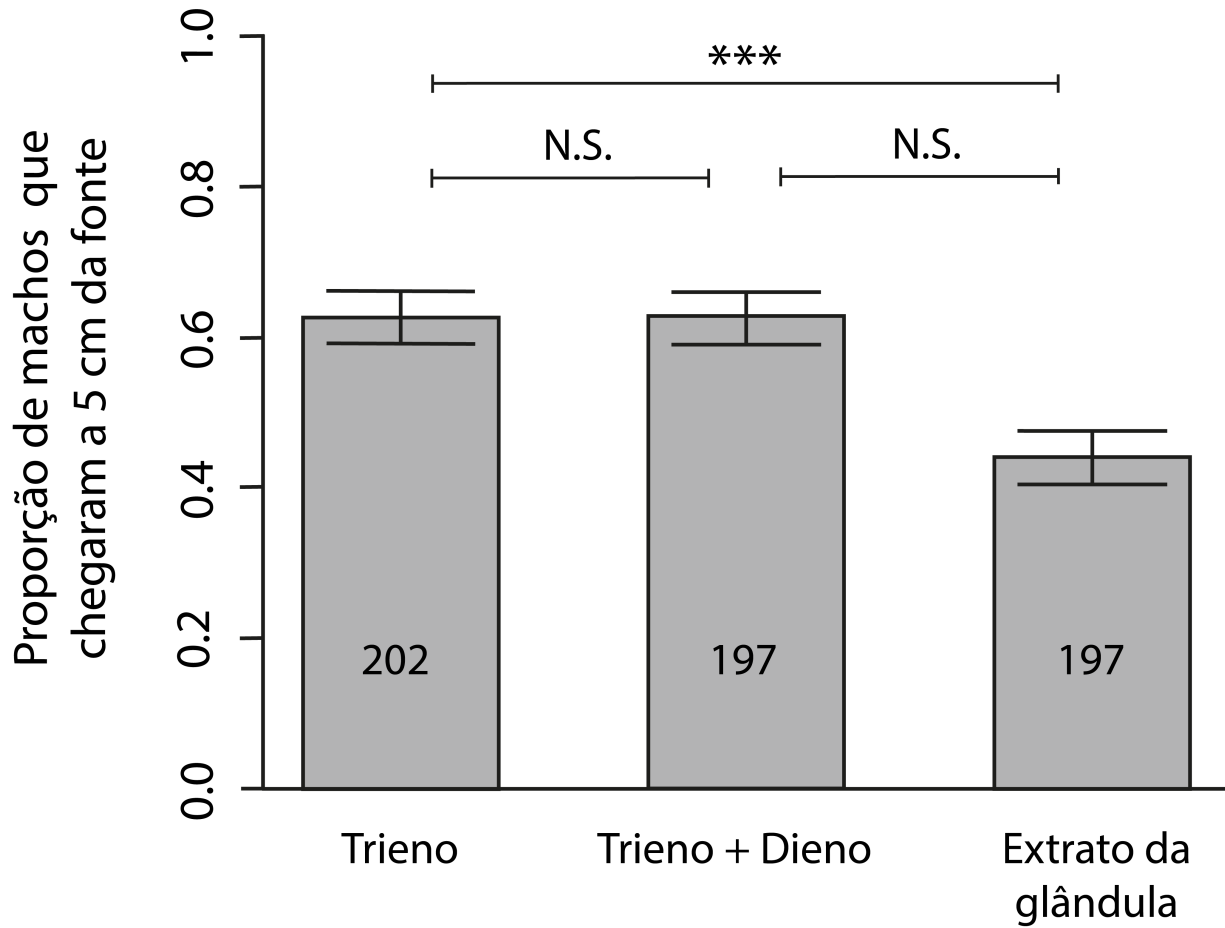


Figura 2: Proporção de machos de *T. absoluta* que chegaram a 5 cm da fonte liberadora. Trieno= componente maioritário acetato de (3E,8Z,11Z)-3,8,11- tetradecatrienila; Dieno= componente minoritário acetato de (3E,8Z)-3,8- tetradecadienila. A dose utilizada foi 1 equivalente-fêmea em cada aplicação do extrato da glândula. Os números dentro das barras representam o número de repetições por tratamento. *** indica diferença entre os tratamentos ($p < 0,001$); N.S. = não significativo (ANOVA).

Tabela 1. Valores de p obtidos ao comparar a proporção de machos de *T. absoluta* que chegam a 5 cm da fonte liberadora em um tempo de 0 a 120 segundos. M3 = machos de 3 dias de idade; M5 = machos de 5 dias de idade; Trieno= componente maioritário acetato de (3E,8Z,11Z)-3,8,11-tetradecatrienila; Dieno= componente minoritário acetato de (3E,8Z)-3,8-tetradecadienila. * indica valores significativamente diferentes utilizando a correção de Benjamini & Hochberg (1995).

	M3 - Trieno	M5 - Trieno	M3 - Trieno + Dieno	M5 - Trieno + Dieno	M3 - Extrato da glândula
M5 - Trieno	0,649	-	-	-	-
M3 - Trieno + Dieno	0,741	0,741	-	-	-
M5 - Trieno + Dieno	0,649	0,921	0,741	-	-
M3 - Extrato da glândula	0,274	0,714	0,598	0,678	-
M5 - Extrato da glândula	0,0001 *	0,0001 *	0,0057 *	0,009 *	0,0551

5.2 Tempo gasto pelos machos para chegar a 5 cm da fonte liberadora

A proporção de machos que chegaram a 5 cm da fonte liberadora no tempo de 0 a 120 segundos não foi afetada pelo estado reprodutivo do macho (virgem ou acasalado) ($\chi^2_{1;594} = 3935,58$; $p = 0,888$). Porém, a proporção de machos que chegaram a 5 cm da fonte liberadora no tempo de 0 a 120 segundos foi afetada pela idade do macho (3 dias ou 5 dias) ($\chi^2_{1;593} = 3930,14$; $p = 0,019$) e pela natureza do atraente (trieno, trieno + dieno ou extrato da glândula) ($\chi^2_{1;592} = 3916,75$; $p = 0,00025$) (Figura 3). Quando a fonte liberadora estava carregada com extrato de glândula os machos mais velhos chegaram a 5 cm da fonte em maior número que os machos jovens em um tempo determinado. Por volta de 90 s todos os machos atraídos por fonte natural já haviam chegado a 5 cm da fonte, enquanto que para os atraentes artificiais somente após 110 s.

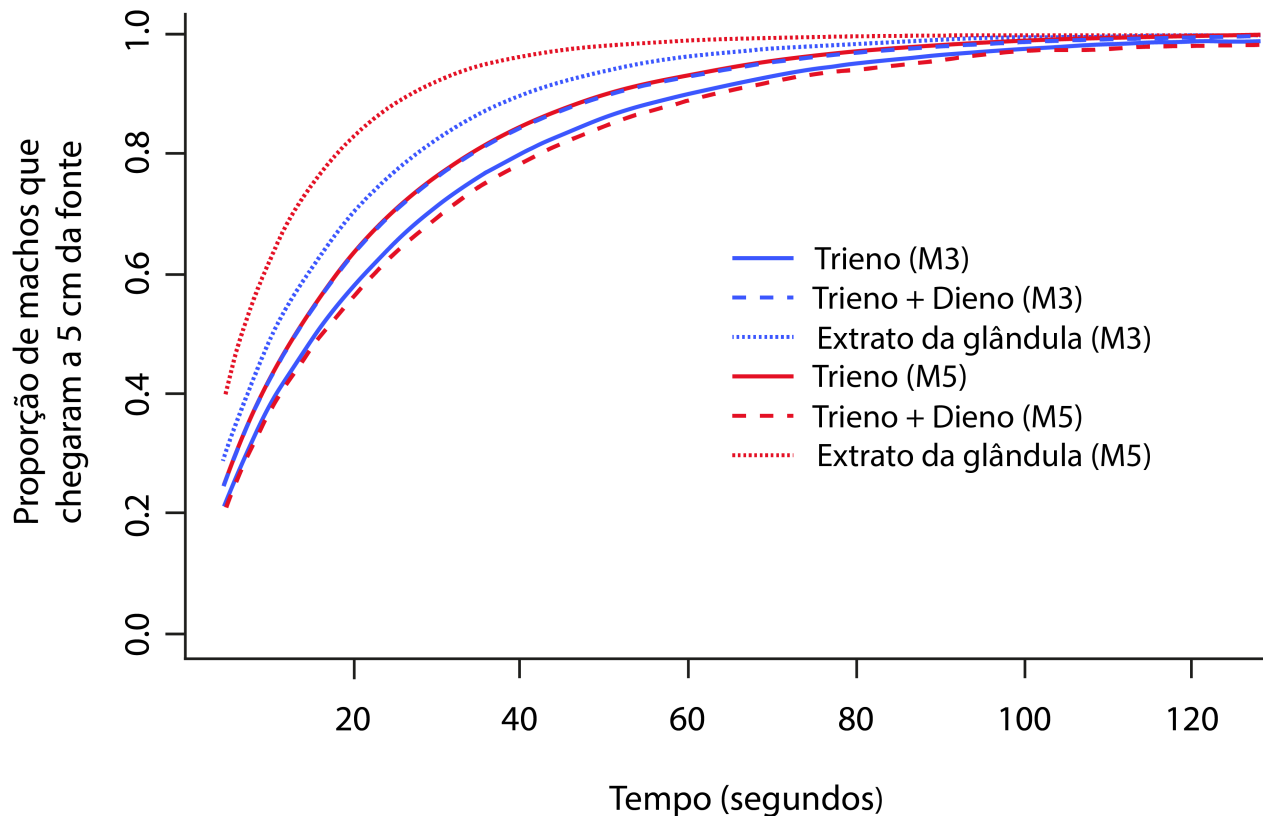


Figura 3: Proporção de machos de *T. absoluta* que chegaram a 5 cm da fonte liberadora em um tempo de 0 a 120 segundos. M3= machos de 3 dias de idade; M5= machos de 5 dias de idade. Trieno= componente maioritário acetato de (3E,8Z,11Z)-3,8,11-tetradecatrienila; Dieno= componente minoritário acetato de (3E,8Z)-3,8-tetradecadienila.

5.3 Velocidade dos machos para chegar a 5 cm da fonte liberadora

A velocidade (cm/s) para chegar a 5 cm da fonte não foi afetada pelo estado reprodutivo do macho (virgem ou acasalado) ($F_{1,336} = 3,0193$; $p = 0,08320$) ou pela idade (3 dias ou 5 dias) ($F_{1,334} = 1,6222$; $p = 0,20367$). Porém, a velocidade (cm/s) dos machos para chegarem a 5 cm da fonte foi afetada pela natureza do atraente (trieno, trieno + dieno e extrato da glândula) ($F_{1,335} = 3,989$; $p = 0,047$) (Figura 4).

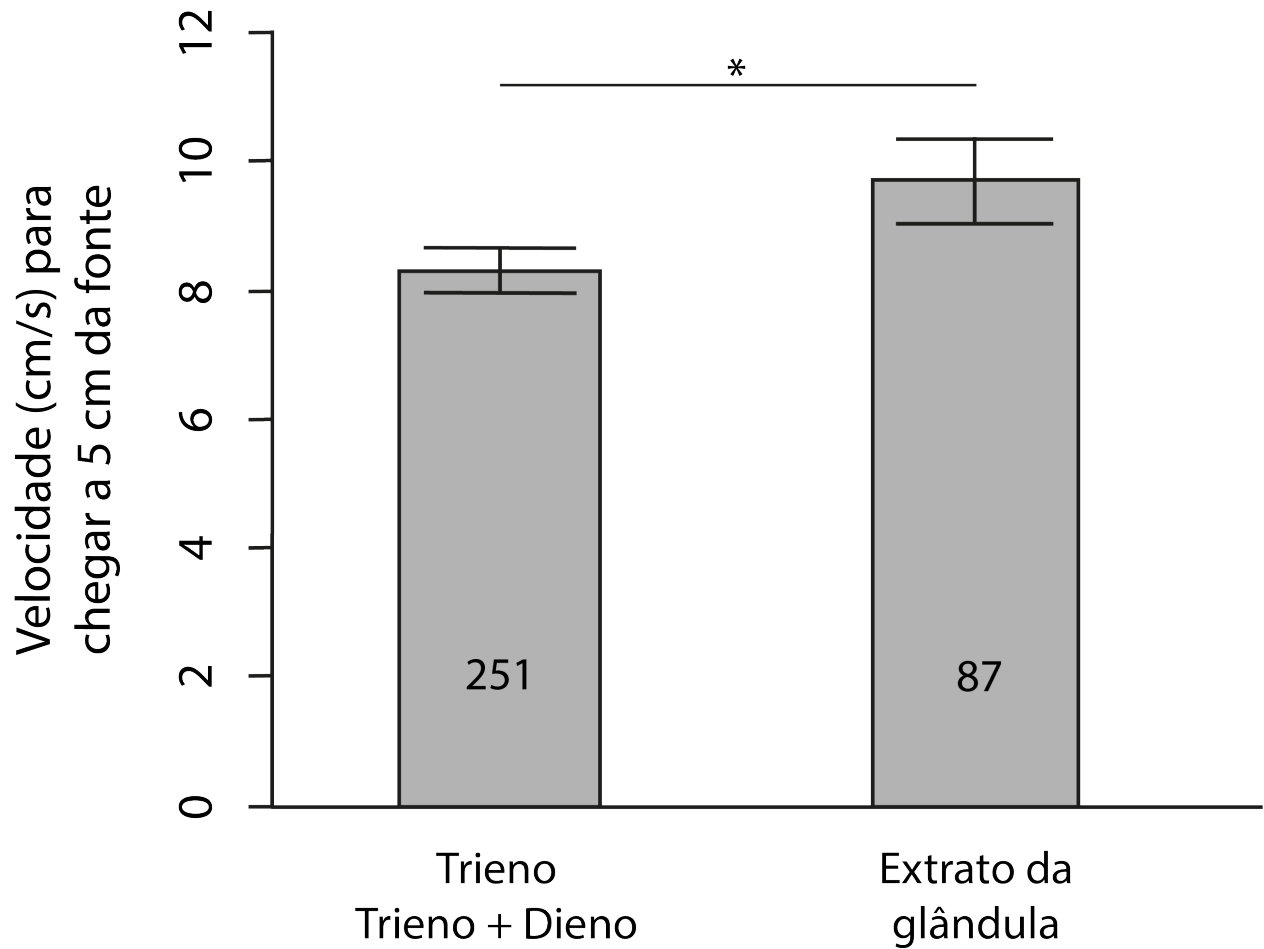


Figura 4: Velocidade (cm/s) dos machos de *T. absoluta* para chegar a 5 cm da fonte liberadora. Trieno = componente maioritário acetato de (3E,8Z,11Z)-3,8,11-tetradecatrienila; Dieno = componente minoritário acetato de (3E,8Z)-3,8-tetradecadienila. Os números dentro das barras representam o número de repetições por tratamento. * indica diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$) (ANOVA).

5.4 Pousos dos machos na fonte liberadora

A proporção de machos de *T. absoluta* que pousaram na fonte liberadora não foi afetada pelo estado reprodutivo do macho (virgem ou acasalado) ($F_{1;594} = 0,0009$; $p = 0,97609$). Porém, a proporção de machos que pousaram na fonte liberadora foi afetada pela idade dos machos (3 dias ou 5 dias) ($F_{1;594} = 5,3781$; $p = 0,020$) (Figura 5) e pela natureza do atraente utilizado (trieno, trieno + dieno ou extrato da glândula) ($F_{1;593} = 6,4212$; $p = 0,011$) (Figura 6). Uma menor proporção de machos pousaram na fonte liberadora utilizando o extrato da glândula comparado com o composto trieno ($F_{1;397} = 5,5852$; $p = 0,018$) e com o trieno + dieno ($F_{1;392} = 4,3132$; $p = 0,038$) (Figura 6). Não houve uma diferença na proporção de machos que pousaram na fonte liberadora utilizando o trieno + dieno comparado com o trieno ($F_{1;397} = 0,0757$; $p = 0,783$) (Figura 6). Os machos mais jovens chegam mais diretamente na fonte com o componente principal (trieno) em relação aos machos com mais idade (Figura 5).

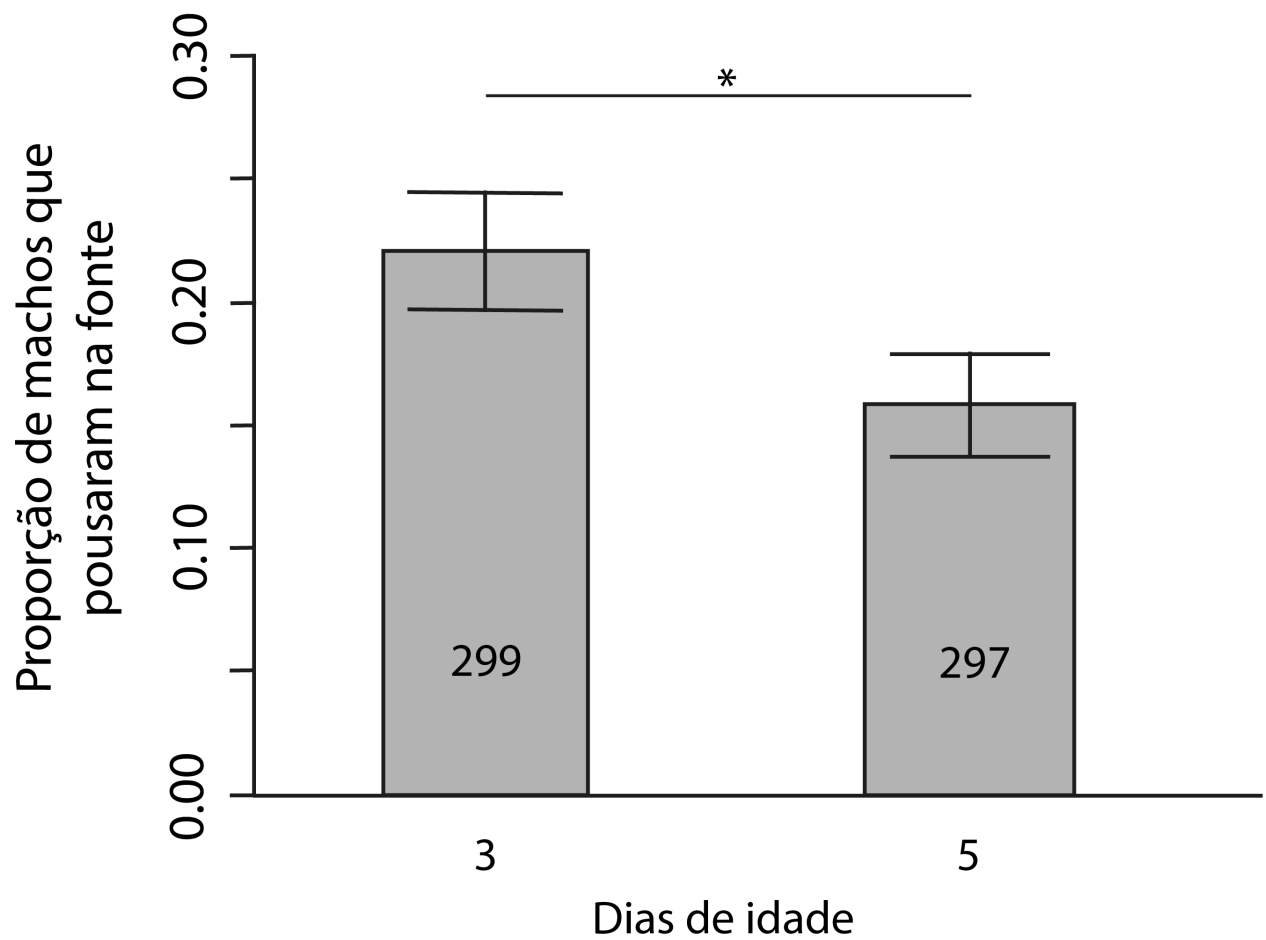


Figura 5: Proporção de machos de *T. absoluta* de 3 e 5 dias de idade que pousaram na fonte liberadora. Os números dentro das barras representam o número de repetições por tratamento. * indica diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$) (ANOVA).

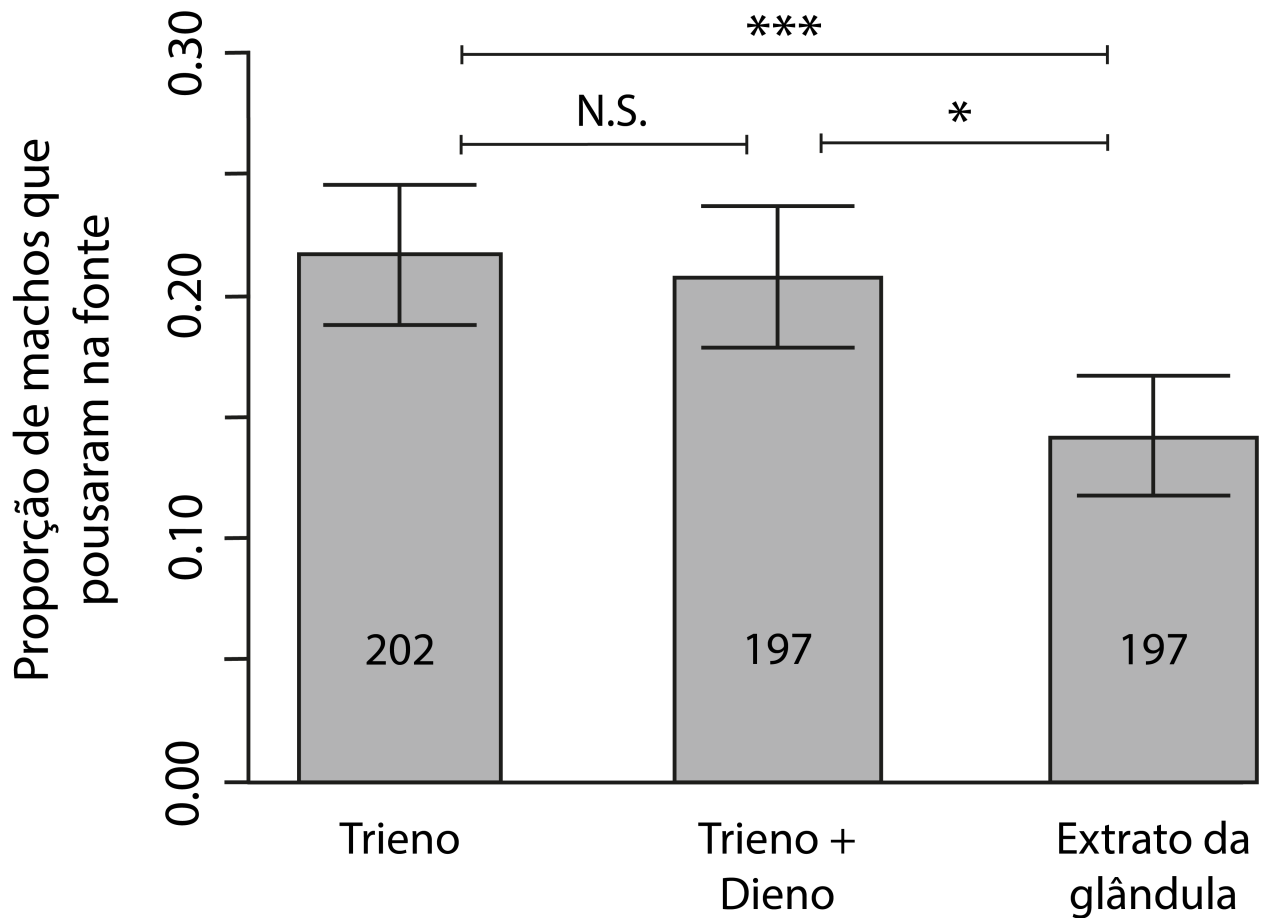


Figura 6: Proporção de machos de *T. absoluta* que pousaram na fonte liberadora. Trieno = componente maioritário acetato de (3E,8Z,11Z)-3,8,11- tetradecatrienila; Dieno = componente minoritário acetato de (3E,8Z)-3,8- tetradecadienila. Foi utilizado 1 equivalente-fêmea em cada aplicação do extrato da glândula. Os números dentro das barras representam o número de repetições por tratamento. Os * indicam diferenças significativas entre tratamentos (*= $p < 0,05$; ***= $p < 0,001$); N.S. = não significativo (ANOVA).

5.5 Tempo gasto pelos machos para pousar na fonte liberadora

A proporção de machos que pousaram na fonte liberadora no tempo de 0 a 120 segundos não foi afetada pelo estado reprodutivo (virgem ou acasalado) ($\chi^2_{1,593} = 1642,359$; $p = 0,9967$) e pela idade dos machos (3 dias ou 5 dias) ($\chi^2_{1,592} = 1639,080$; $p = 0,07017$). Porém, a proporção de machos que pousaram na fonte liberadora no tempo de 0 a 120 segundos foi afetada pelas fontes artificiais (trieno, trieno + dieno) e extrato da glândula ($\chi^2_{1,593} = 1638,358$; $p = 0,0455$) (Figura 7). Nos primeiros 10 s cerca de 75% dos machos testados contra o extrato de glândulas já haviam pousado na fonte, enquanto que somente 50% quando testados com o trieno ou o trieno+dieno. Em 30 s todos os machos do experimento com extrato de glândulas já haviam chegado a fonte, enquanto que para os compostos sintéticos só o fizeram após 50 s.

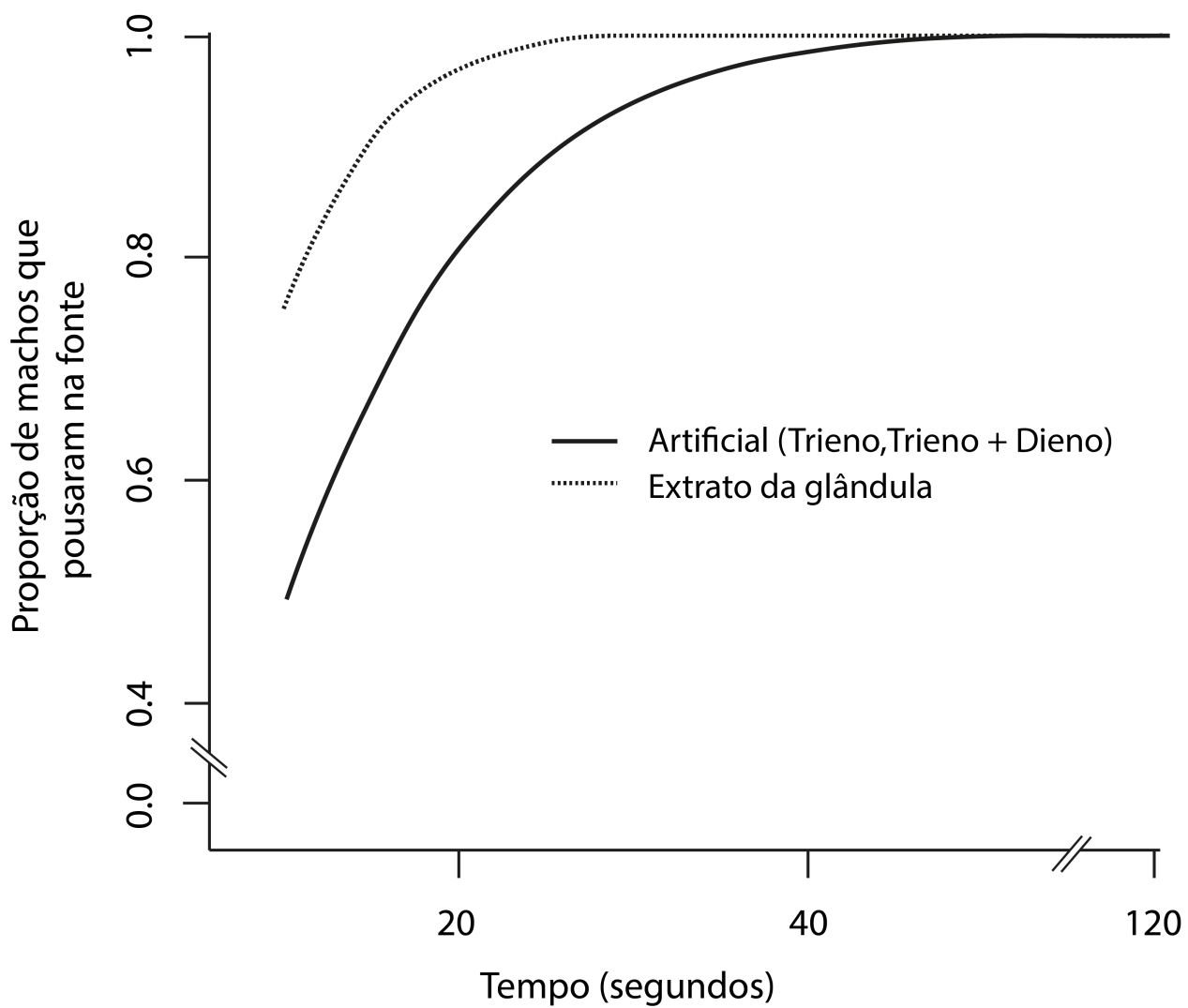


Figura 7: Proporção de machos de *T. absoluta* que pousaram na fonte liberadora em um tempo de 0 a 120 segundos. Trieno = componente maioritário acetato de (3E,8Z,11Z)-3,8,11-tetradecatrienila; Dieno = componente minoritário acetato de (3E,8Z)-3,8-tetradecadienila.

6 Discussão

A natureza do atraente utilizado afeta a proporção de machos de *T. absoluta* que chegam a 5 cm da fonte liberadora, sem importar o estado reprodutivo e idade dos machos. Isto sugere que a resposta dos machos para chegar na fonte liberadora é dependente da detecção dos componentes utilizados (Lima & Della Lucia, 2001). O componente maioritário do feromônio sexual de *T. absoluta* é capaz de induzir os comportamentos de pré-cópula e atrair os machos na fonte liberadora, sendo comumente utilizado como única fonte atraente na coleta massal (Lima & Della Lucia, 2001; Attygalle *et al.*, 1996; Ferrara *et al.*, 2001). (Svatoš *et al.*, 1996) encontraram em experimentos em túnel de vento que o componente maioritário com acréscimo do componente minoritário é mais atrativo aos machos do que apenas o componente maioritário ou fêmeas virgens. Porém estudos em campo sugerem que a adição do componente minoritário não favorece o aumento de capturas de machos de *T. absoluta* (Michereff Filho *et al.*, 2000). Este resultado reforça que a adição do componente secundário não afeta a proporção dos machos que chegaram próximos (5 cm) da fonte liberadora.

(Lôbo, 2005) observou que fêmeas são capazes de realizar acasalamentos próximos às armadilhas, colocando em questionamento o poder das formulações que utilizam apenas o componente maioritário. Esse fato sugere que o feromônio sexual liberado pelas fêmeas de *T. absoluta* pode ser mais atrativo para os machos do que os atraentes sintéticos. Porém, nossos resultados mostram que os atraentes artificiais com 1 ou 2 componentes atraem uma maior proporção de machos para a fonte liberadora em comparação com o extrato da glândula, evidenciando que machos de *T. absoluta* conseguem distinguir e escolher por fontes de feromônio sexual. Há várias explicações alternativas possíveis para a diferença entre os experimentos usando atraentes sintéticos e extratos das glândulas. Primeiro, a concentração do atraente natural utilizando-se apenas um equivalente fêmea pode não ser suficiente para atrair os machos à fonte liberadora (Ferrara *et al.*, 2001). Segundo, os extratos das glândulas foram obtidos extraíndo a glândula produtora de feromônio da fêmea de *T. absoluta*, portanto, o extrato da glândula poderia degradar com o passar das horas perdendo suas propriedades atrativas, embora esta segunda alternativa seja a menos provável, pois o cuidado ao se extrair as glândulas no mesmo dia em que seriam usadas garantia a qualidade do conteúdo glandular.

A orientação do macho em direção à fonte começa com a percepção do odor por receptores localizados nas antenas (Schneider, 1964). Nas antenas são encontradas sensilas que são áreas com células nervosas sensoriais (Schneider, 1964) responsáveis por captar o estímulo e

direcioná-los ao cérebro (Hildebrand & Rügsegger, 1997). No cérebro, neurônios específicos codificam informações sobre a qualidade e quantidade do estímulo. Alguns desses neurônios, respondem de forma igual a vários componentes do feromônio e não discriminam um componente do outro. Já outros neurônios considerados especialistas em feromônios discriminam facilmente os componentes (Hildebrand & Rügsegger, 1997). Machos de *T. absoluta* possuem o dobro de sensilas trichodea que as fêmeas (Bawin *et al.*, 2017). Tais sensilas trichodea estão associadas à percepção de feromônios sexuais e são importantes para a localização de parceiros para o acasalamento (Schneider, 1964).

A percepção da fonte de odor pode variar com a idade (Lima & Della Lucia, 2001). Por exemplo, machos de *Trichoplusia ni* diminuem a resposta antenal a fontes de feromônio sexual com o avançar da idade (Seabrook *et al.*, 1987). Apesar de se esperar que a resposta antenal diminua com a idade, o macho de 5 dias foi capaz de perceber e ser mais criterioso escolhendo a fonte natural. A fonte natural por ser proveniente de uma extração onde não apenas a glândula é retirada mas também partes do abdômen da fêmea e escamas, fazendo do extrato semelhante às fêmeas (Hickel *et al.*, 1991), pode ter sido favorecida em detrimento às outras fontes liberadoras. Além disso, machos com 5 dias de idade podem não ser tão velhos a ponto de apresentarem perdas sensoriais dado que machos de *T. absoluta* sobrevivem cerca de $7,5 \pm 3,2$ dias quando alimentados (Coelho & França, 1987). Porém, em experimentos pré-testes observamos que machos de *T. absoluta* não conseguiam voar no túnel de vento quando tinham idade superior a 5 dias.

A velocidade dos machos de *T. absoluta* para chegar aos atraentes foi calculada a partir da variação do espaço ($\Delta S = S - S_0$) e do tempo ($\Delta t = t - t_0$) gasto no percurso, considerando que os machos partiram do repouso ($S_0 = 0$ cm/s e $t_0 = 0$ s) e o espaço final igual a 200 cm ($S = 200$ cm - espaço entre o liberador e a fonte atraente). A velocidade dos machos foi afetada pela natureza do atraente em um cenário onde os machos foram mais velozes quando expostos ao extrato da glândula comparado ao trieno e trieno+dieno. A velocidade com que chegaram próximos (5 cm) da fonte é inversamente proporcional ao tempo gasto para tal tarefa e assim quanto maior o tempo, menor é a velocidade ($v = \Delta S / \Delta t$).

O tempo que os machos levam para chegar à fonte pode variar desde a trajetória retilínea até em zigue-zague (reversões sucessivas laterais da trajetória) contra a pluma de odor. O zigue-zague pode se alargar (aumentando assim o ΔS e conseqüentemente gastando mais tempo para atingir a fonte) quando um componente do feromônio é apresentado mais baixo que a taxa natural (Hagaman & Cardé, 1984). Provavelmente, machos de *T. absoluta* tiveram uma menor velocidade quando se dirigiram às fontes artificiais porque demoraram mais tempo na pluma de odor formada pelos atraentes sintéticos e provavelmente por aumento

nas manobras em zigue-zague. Desta forma, na presença do extrato da glândula os machos podem seguir uma trajetória mais próxima da linear.

(Lôbo, 2005) observou que uma maior proporção de machos virgens foi capturada em armadilhas com apenas o componente principal (trieno) enquanto que armadilhas com dois componentes (trieno+dieno) e extrato da glândula capturaram valores próximos. Nossos resultados demonstram que o estado reprodutivo não influencia a proporção de machos de *T. absoluta* que pousam na fonte liberadora. Porém a idade é um fator importante, uma vez que machos jovens (M3) preferem pousar na fonte artificial (trieno) enquanto que machos mais velhos (M5) preferiram pousar na fonte com extrato da glândula. Em campo, é mais provável encontrar machos virgens jovens que machos virgens velhos, visto que o período refratário (intervalo entre cópulas) dos machos é curto (Lee *et al.*, 2014; Silva, 2008) e ficam disponíveis mais cedo para acasalar que as fêmeas. A maturação sexual em *T. absoluta* se inicia 24h após a emergência tanto para machos quanto para fêmeas (Silva, 2008), o que indica que os machos estão aptos a acasalar após a emergência. Como a fase adulta é muito curta, os machos utilizam a maior parte do tempo na procura de fêmeas para acasalar (Ringo, 1996).

Machos de *T. absoluta* pousam mais rápido no extrato da glândula que nos atraentes trieno e trieno+dieno. Isso sugere que as fêmeas terão a vantagem na competição porque independente do estado reprodutivo (virgem ou acasalado) e idade (3 dias ou 5 dias), os machos chegarão primeiro nas fêmeas do que nas armadilhas. Além disso, os machos são aptos ao reacasalamento com maior frequência que as fêmeas (Silva, 2008) e a probabilidade de troca de fêmeas a cada acasalamento é alta devido à preferência por fêmeas com bons atributos (Johnson & Hubbell, 1984; Wedell *et al.*, 2002; Bonduriansky, 2001). Portanto, é provável que um macho capturado nas armadilhas já tenha acasalado previamente. Neste cenário, nossos resultados mostram que possivelmente a técnica de coleta massal não terá a afetividade desejada pois os machos retirados da população não serão contabilizados como redutores parciais da redução de oviposição pelas fêmeas.

7 Conclusões

Nossos resultados mostram que a atração do macho de *T. absoluta* não é afetado pelo estado reprodutivo do macho, independente de qual seja a natureza do atraente utilizado. Machos velhos chegam mais rápido ao extrato da glândula enquanto os machos novos tendem a pousar em maior proporção nos atraentes artificiais. Assim, prevemos que em um ambiente de campo os machos jovens seriam coletados em maior número nas armadilhas, enquanto que machos de mais idade estariam acasalando com as fêmeas. Os resultados mostram dados inéditos sobre o comportamento reprodutor dos machos de *T. absoluta* bem como suas escolhas em relação às fêmeas e desta forma, novas estratégias de controle dessa praga podem ser estabelecidas.

8 Referências

- Aksoy, E. & Kovanci, O. B. (2016). Mass trapping low-density populations of *Tuta absoluta* with various types of traps in field-grown tomatoes. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 123, 51–57.
- Attygalle, A. B.; Jham, G. N.; Svatoš, A.; Frighetto, R. T.; Ferrara, F. A.; Vilela, E. F.; Uchôa-Fernandes, M. A. & Meinwald, J. (1996). (3E, 8Z, 11Z)-3, 8, 11-Tetradecatrienyl acetate, major sex pheromone component of the tomato pest *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 4, 305–314.
- Attygalle, A. B.; Jham, G. N.; Svatoš, A.; Frighetto, R. T.; Meinwald, J.; Vilela, E. F.; Ferrara, F. A. & Uchôa-Fernandes, M. A. (1995). Microscale, random reduction: application to the characterization of (3e, 8z, 11z)-3, 8, 11-tetradecatrienyl acetate, a new lepidopteran sex pheromone. *Tetrahedron Letters*, 36, 5471–5474.
- Baker, T. C. & Vickers, N. J. (1997). Pheromone-mediated flight in moths. In: *Insect Pheromone Research*, Springer. pp. 248–264.
- Bawin, T.; Collard, F.; De Backer, L.; Yarou, B. B.; Compère, P.; Francis, F. & Verheggen, F. J. (2017). Structure and distribution of the sensilla on the antennae of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Micron*, 96, 16–28.
- Bell, W. J. & Cardé, R. T. (1984). *Chemical Ecology of Insects*. SPRINGER-SCIENCE+BUSINESS MEDIA, B.V.
- Benjamini, Y. & Hochberg, Y. (1995). Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society*, 57, 289–300.
- Bento, J. (2001). *Fundamentos do monitoramento, da coleta massal e do confundimento de insetos-praga*, Holos Editora, Ribeirão Preto-SP, 13-29., chap. 16. 2nd ed., pp. 135–144.
- Biondi, A. & Desneux, N. (2019). Special issue on *Tuta absoluta*: recent advances in management methods against the background of an ongoing worldwide invasion.
- Bonduriansky, R. (2001). The evolution of male mate choice in insects: a synthesis of ideas and evidence. *Biological Reviews*, 76, 305–339.

- Cardé, R. T. & Mafra-Neto, A. (1997). *Mechanisms of flight of male moths to pheromone*, Springer Science & Business Media, chap. 25. pp. 275–290.
- Cardé, R. T. & Minks, A. K. (1997). *Insect pheromone research: new directions*. Springer Science & Business Media.
- Cocco, A.; Deliperi, S.; Delrio, G. *et al.* (2012). Potential of mass trapping for *Tuta absoluta* management in greenhouse tomato crops using light and pheromone traps. *Integrated Control in Protected Crops, Mediterranean Climate IOBC-WPRS Bulletin*, 80, 319–324.
- Coelho, M. d. C. & França, F. H. (1987). Biologia, quetotaxia da larva e descrição da pupa e adulto da traça-do-tomateiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 22, 129–135.
- Domínguez, A.; López, S.; Bernabé, A.; Guerrero, Á. & Quero, C. (2019). Influence of age, host plant and mating status in pheromone production and new insights on perception plasticity in *Tuta Absoluta*. *Insects*, 10, 256.
- Dominguez, A.; Puigmartí, M.; Bosch, M. P.; Rosell, G.; Crehuet, R.; Ortiz, A.; Quero, C. & Guerrero, A. (2016). Synthesis, functional assays, electrophysiological activity, and field tests of pheromone antagonists of the tomato leafminer, *Tuta absoluta*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 3523–3532.
- Ferrara, F. A.; Vilela, E. F.; Jham, G. N.; Eiras, Á. E.; Picanço, M. C.; Attygalle, A. B.; Svatos, A.; Frighetto, R. T. & Meinwald, J. (2001). Evaluation of the synthetic major component of the sex pheromone of *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Chemical Ecology*, 27, 907–917.
- Guedes, R. & Picanço, M. (2012). The tomato borer *Tuta absoluta* in south america: pest status, management and insecticide resistance. *EPPO Bulletin*, 42, 211–216.
- Hagaman, T. & Cardé, R. (1984). Effect of pheromone concentration on organization of preflight behaviors of the male gypsy moth, *Lymantria dispar* (L.). *Journal of Chemical Ecology*, 10, 17–23.
- Hassan, M. & Alzaidi, S. (2009). *Tuta absoluta* - serious pest advancing in the mediterranean region. roll of pheromones in management strategies. *International Pest Control*, 51, 85–87.
- Hickel, E. R.; Vilela, E. F.; de Lima, J. O. G. & Della Lucia, T. M. C. (1991). Comportamento de acasalamento de *Scrobipalpula absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 26, 827–835.

- Hildebrand, T. & Rügsegger, P. (1997). Quantification of bone microarchitecture with the structure model index. *Computer Methods in Biomechanics and Bio Medical Engineering*, 1, 15–23.
- Johnson, L. K. & Hubbell, S. P. (1984). Male choice. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 15, 183–188.
- Lee, M. S.; Albajes, R. & Eizaguirre, M. (2014). Mating behaviour of female *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae): polyandry increases reproductive output. *Journal of Pest Science*, 87, 429–439.
- Lima, E. & Della Lucia, T. (2001). *Biodinâmica dos feromônios*, Holos Editora, Ribeirão Preto-SP, 13-29., chap. 2. 2nd ed., pp. 13–29.
- Lôbo, A. P. (2005). *Interfêrencia de componentes do feromônio sexual, densidades de armadilhas e do estado reprodutivo de machos de Tuta absoluta (Meyrick, 1917) na coleta massal*. Ph.D. thesis, Universidade Federal de Lavras (Brasil).
- Michereff Filho, M.; Vilela, E. F.; Attygalle, A. B.; Meinwald, J.; Svatoš, A. & Jham, G. N. (2000). Field trapping of tomato moth, *Tuta absoluta* with pheromone traps. *Journal of Chemical Ecology*, 26, 875–881.
- Muller, K.; Thiéry, D.; Motreuil, S. & Moreau, J. (2016). What makes a good mate? factors influencing male and female reproductive success in a polyphagous moth. *Animal Behaviour*, 120, 31–39.
- Pellegrino, A. C.; Peñaflo, M. F. G. V.; Nardi, C.; Bezner-Kerr, W.; Guglielmo, C. G.; Bento, J. M. S. & McNeil, J. N. (2013). Weather forecasting by insects: modified sexual behaviour in response to atmospheric pressure changes. *PloS one*, 8.
- Ringo, J. (1996). Sexual receptivity in insects. *Annual Review of Entomology*, 41, 473–494.
- Rutkowski, A. & Schwarz, W. (1990). Relativistic perturbation theory of chemical properties. *Theoretica Chimica Acta*, 76, 391–410.
- Schneider, D. (1964). Insect antennae. *Annual Review of Entomology*, 9, 103–122.
- Seabrook, W.; Linn, C.; Dyer, L. & Shorey, H. (1987). Comparison of electroantennograms from female and male cabbage looper moths (*Trichoplusia ni*) of different ages and for various pheromone concentrations. *Journal of Chemical Ecology*, 13, 1443–1453.

Silva, S. S. (2008). *Fatores da biologia reprodutiva que influenciam o manejo comportamental de Tuta absoluta (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae)*. Master's thesis, Universidade Federal Rural de Pernambuco (Brasil).

Svatoš, A.; Attygalle, A. B.; Jham, G. N.; Frighetto, R. T.; Vilela, E. F.; Šaman, D. & Meinwald, J. (1996). Sex pheromone of tomato pest *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Chemical Ecology*, 22, 787–800.

Wedell, N.; Gage, M. J. & Parker, G. A. (2002). Sperm competition, male prudence and sperm-limited females. *Trends in Ecology & Evolution*, 17, 313–320.

Witzgall, P. (1997). *Modulation of pheromone-mediated flight in male moths*, Springer Science & Business Media, chap. 24. pp. 265–274.