

REGIANE CORREA ARAUJO

**COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO DE *Tuta absoluta* (MEYRICK)
(LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE): INFLUÊNCIA QUÍMICA OU VISUAL?**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal), para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Maria Elisa de Sena Fernandes

Coorientador: Flávio Lemes Fernandes

**RIO PARANAÍBA - MINAS GERAIS
2023**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba

T

A663c
2023 Araujo, Regiane Correa, 1995-
Comportamento de oviposição de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae): influência química ou visual? / Regiane Correa Araujo. – Rio Paranaíba, MG, 2023.
23 f.: il.

Orientador: Maria Elisa de Sena Fernandes.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Mestrado Agronomia (Produção Vegetal), 2023.
Inclui bibliografia.
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvcrp.2023.008>

1. Pragas. 2. Tomate. 3. Traça do tomateiro. I. Fernandes, Maria Elisa de Sena, 1983-. II. Universidade Federal de Viçosa. Mestrado Agronomia (Produção Vegetal). Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal). III. Título.

595.75

Ativar o Win

Bibliotecário(a) responsável: Ana Paula de Souza CRB-6/2922


REGIANE CORREA ARAUJO

**COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO DE *Tuta absoluta* (MEYRICK)
(LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE): INFLUÊNCIA QUÍMICA OU VISUAL?**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal), para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 16 de junho de 2023.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 REGIANE CORREA ARAUJO
Data: 17/12/2023 21:02:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Regiane Correa Araujo
Autor

Documento assinado digitalmente
 MARIA ELISA DE SENA FERNANDES
Data: 14/12/2023 17:50:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Maria Elisa de Sena Fernandes
Orientadora

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

ARAUJO, Regiane Correa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2023. **Comportamento de oviposição de *Tuta absoluta* (MEYRICK) (Lepidoptera: Gelechiidae): influência química ou visual?** Orientadora: Maria Elisa de Sena Fernandes. Coorientador: Flávio Lemes Fernandes.

A traça do tomateiro da América do Sul, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), invadiu a maioria dos países afro-eurasianos e está ameaçando a produção mundial de tomate. Várias estratégias têm sido desenvolvidas e implementadas para o manejo dessa praga. Aqui, apresentamos uma pesquisa sobre a influência de fatores químicos e/ou visuais e a dependência da densidade de ovos e/ou minas na oviposição de *T. absoluta* nas folhas de *Solanum lycopersicum*. Além disso, observamos se inseticidas reduzem a emergência de neonata ou matam os ovos de *T. absoluta*. Mudanças de tomateiro da variedade Santa Clara, foram obtidas em bandejas de isopor com substrato de vermiculita, com 30 dias. Não foi verificada relação entre a ocorrência de galerias e a taxa de oviposição, já que o número de ovos postos na folha do tomateiro foi semelhante ao posto em folhas previamente infestadas por ovos. O aumento da pré-infestação do folíolo de *S. lycopersicum* reduziu o número de ovos por folíolo, reforçando a preferência da fêmea por folhas não ovipositadas. Foram observadas diferenças significativas na oviposição da traça do tomateiro em relação aos tratamentos para avaliar o efeito químico e/ou visual. Os ovos artificiais não levaram a planta a emitir pistas químicas de oviposição, sendo interpretados pela fêmea como uma planta não ovipositada e, portanto, leva à observação de que não houve efeito visual para a seleção do tratamento, apenas químico. *T. absoluta* não sofreu qualquer influência visual na escolha do local de oviposição. A presença de galerias não impede a oviposição, mas reduz o número de ovos por postura. As pistas químicas, emitidas pela planta com galerias e/ou pelo extrato das lagartas, fêmeas adultas ou ovos esmagados, reduzem amplamente o número de ovos por postura e alteram, de maneira negativa, o índice de preferência de oviposição. A preferência por folhas livres de ovos ou galerias mostra que a fêmea detecta os estímulos químicos emitidos pela planta e evita a oviposição na planta quando esses compostos são liberados, revelando que a oviposição é determinada por fatores químicos e não por fatores visuais.

Palavras-chave: Praga. Tomate. Traça-do-tomateiro.

ABSTRACT

ARAUJO, Regiane Correa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa (UFV), June 2023. **Oviposition behavior of *Tuta absoluta* (MEYRICK) (Lepidoptera: Gelechiidae): chemical or visual influence?** Advisor: Maria Elisa de Sena Fernandes. Co-advisor: Flávio Lemes Fernandes.

The South American tomato *Tuta Absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), has invaded most Afro-Eurasian countries and is threatening global tomato production. Several strategies have been developed and implemented to manage this pest. Here, we present research on the influence of chemical and/or visual factors and the dependence of egg and/or mine density on oviposition of *T. absoluta* on the leaves of *Solanum lycopersicum*. Furthermore, we observed whether insecticides reduce neonate emergence or kill neonate eggs *T. Absoluta*. Tomato seedlings of the Santa Clara variety were obtained in Styrofoam trays with vermiculite substrate, aged 30 days. No relationship was found between the occurrence of galleries and the oviposition rate, as the number of eggs laid on tomato leaves was similar to those laid on leaves previously infested with eggs. The increase in pre-infestation of the leaflet of *S. Lycopersicum* reduced the number of eggs per leaflet, reinforcing the female's preference for non-oviposited leaves. Significant differences in tomato moth oviposition were observed in relation to treatments to evaluate the chemical and/or visual effect. The artificial eggs did not cause the plant to emit chemical oviposition cues, being interpreted by the female as a non-ovipositing plant and, therefore, leading to the observation that there was no visual effect for the treatment selection, only chemical. *T. absoluta* did not suffer any visual influence on the choice of oviposition site. The presence of galleries does not prevent oviposition, but reduces the number of eggs per clutch. Chemical cues, emitted by the galleried plant and/or extract from caterpillars, adult females or crushed eggs, largely reduce the number of eggs per clutch and negatively alter the oviposition preference index. The preference for leaves free of eggs or galleries shows that the female detects the chemical stimuli emitted by the plant and avoids oviposition on the plant when these compounds are released, revealing that oviposition is determined by chemical factors and not by visual factors.

Keywords: Pest. Tomato. Tomato moth.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1 Características gerais	9
2.2 Insetos	9
2.3 Bioensaio 1: Comportamento de oviposição	10
2.4 Atração química	11
2.5 Bioensaio 2: avaliação do efeito químico e/ou visual	11
2.7 Análise estatística	13
4. DISCUSSÃO	17
5. CONCLUSÕES	20
6. REFERÊNCIAS	21

1. INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cultivado em clima tropical, enfrenta diversos desafios relacionados as pragas e doenças. A traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) é considerada a principal praga do tomateiro *S. lycopersicum* nas Américas do Sul, Central e na Europa (Biondi et al. 2018; Gontijo et al. 2019). Esta praga foi detectada inicialmente na Turquia em 2009, seguindo para o leste e invadindo a maioria dos países asiáticos e com disseminação constante pelo supercontinente afro-eurasiano (Biondi et al. 2018). Esta praga é considerada invasora e destrutiva causando grandes danos à produção de tomate, representando uma ameaça potencial a outras regiões de produção no mundo (Han et al. 2019),

Compreender a seleção de planta hospedeira pelo inseto fitófago é importante, uma vez que esse processo é um dos eventos mais importantes no ciclo de vida desse inseto. As espécies solanáceas são as principais plantas hospedeiras de *T. absoluta*, sendo o tomate (*Solanum lycopersicum*), a batata (*Solanum tuberosum*) e a beladona (*Solanum nigrum*) as mais adequadas (Abbes et al. 2016 Desneux 2010). No entanto, a *T. absoluta* pode ovipositar e se desenvolver em várias plantas pertencentes às Amaranthaceae, Convolvulaceae, Fabaceae e Malvaceae (Bawin et al. 2015). As fêmeas usam compostos voláteis de plantas para orientação em direção às plantas hospedeiras, e o contato foliar é componente chave para induzir a oviposição (Proffit et al. 2011).

Para ter sucesso e garantir o desenvolvimento de sua prole, o inseto tem que ser capaz de perceber as pistas químicas da planta atacada e, ao encontra-lo, avaliar as condições fisiológicas deste e caso o selecione, manipular o número de ovos a serem depositados (Alves et al. 2015). As plantas produzem compostos químicos voláteis que podem afetar negativamente a preferência (antixenose) ou o desempenho (antibiose) de oviposição de insetos herbívoros. Acredita-se que esses compostos voláteis sejam usados como pistas por insetos herbívoros para determinar a adequação da planta para a deposição de ovos e, portanto, o desempenho da prole (Ataide et al. 2017).

As plantas modificam seus compostos químicos voláteis sob infestação de pragas, o que pode direta ou indiretamente melhorar sua defesa contra ameaças. Esses sinais químicos têm potencial em estratégias de manejo integrado de pragas. A sensibilidade dos insetos a esses sinais químicos voláteis apresentados em pequenas concentrações, sugere a importância dessas moléculas para orientação de longa distância, enquanto moléculas reconhecidas em doses mais altas podem ser importantes apenas para orientação de curta distância (De Backer et al. 2016).

Os compostos voláteis emitidos pelas plantas de tomate afetam o comportamento de oviposição de *T. absoluta*. As antenas de *T. absoluta* possuem várias sensilas que desempenham papéis significativos na quimiorrecepção de feromônios e de voláteis de plantas (Bawin et al. 2017). A seleção hospedeira é indispensável para a sobrevivência, o crescimento, o desenvolvimento e a reprodução dos insetos. Eles selecionam o alimento com auxílio do sistema sensorial, que pode reconhecer e interpretar informações relevantes do ambiente (Grunseich et al. 2020).

O sistema sensorial dos insetos como audição, visão, tátil pode proporcionar atração a alimentos que estimulam ou inibem a alimentação, acasalamento e, ou oviposição (Kumrungsee et al. 2014 Yasui e Fujiwara-Tsujii, 2016). Este sistema sensorial permite que as fêmeas discriminem pequenas diferenças nos sinais voláteis entre plantas adequadas e inadequadas, o que demonstra a importância dos compostos voláteis das plantas de tomate no comportamento da *T. absoluta* na busca de hospedeiros. Ademais, na localização das plantas, sobretudo à curta distância, além do olfato, estão envolvidas a visão e a quimiorrecepção dos insetos (Abbes et al. 2016).

Além disso, sabe-se que este inseto por muitas vezes possui o controle impossibilitado devido a sua resistência a alguns produtos, e já existem alguns casos no Brasil, como por exemplo a resistência de traça-do-tomateiro a cartap (Siqueira et al., 2000). O efeito ovo larvicida têm a capacidade de afetar as neonatas no momento em que as mesmas estão á eclodir de seu estágio embrionário que é o ovo. Ao iniciar esse processo de saída, ela pode se infectar pelo consumo ou pelo contato da mandíbula com a membrana extra-embrionária do próprio ovo. De acordo com Pessini (2014), inseticidas pertencentes ao grupo das diamidas antranílicas são particularmente potentes contra insetos recém-nascidos, quando eles saem dos ovos, representando atividade ovo-larvicida. Além disso, a significativa ação ovicida, isto é, a capacidade dos inseticidas de tornar os ovos inviáveis antes de eclodirem, é observada em diferentes níveis, dependendo da espécie da praga, sendo que o maior percentual de controle é visualizado quando os ovos são depositados em superfícies tratadas (Pessini et al. 2014). A eficiência de controle sobre lagartas também é satisfatória graças às características do produto em possuir ação translaminar, quando pulverizado sobre as folhas e frutos da planta, e ação sistêmica, se aplicado em drench no solo na projeção da copa (Pessini et al.; 2014). O controle por meio do efeito de inseticidas na emergência de neonatas, pode funcionar como uma nova estratégia que possui grande potencial para aumentar a produção de tomates em todo o mundo.

Várias estratégias têm sido desenvolvidas e implementadas para esse manejo. Embora a resistência a inseticidas seja uma preocupação crescente, o uso correto dos inseticidas, o

controle biológico por meio da liberação ou conservação de inimigos naturais artrópodes e o controle baseado em feromônios sexuais são as práticas de manejo dessa praga mais bem-sucedidas (Desneux et al. 2021).

Embora existam estudos sobre o comportamento de oviposição de lepidópteros, poucos abordam os fatores que influenciam a oviposição de *T. absoluta* em tomateiro. Este conhecimento será importante para aplicar em programas de manejo integrado de pragas. Assim, o objetivo foi verificar a influência de fatores químicos e/ou visuais e a dependência da densidade de ovos e/ou minas na oviposição de *T. absoluta* nas folhas de *S. lycopersicum* e avaliar a emergência de neonatas após a aplicação de diversos inseticidas relacionados ao manejo da cultura do tomateiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Características gerais

Este estudo foi conduzido no Laboratório de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, *Campus* Rio Paranaíba (UFV-CRP). Mudanças de tomateiro da variedade Santa Clara, foram obtidas em bandejas de isopor com substrato de vermiculita, com 30 dias (3 folíolos expandidos). Em seguida foram plantadas em vasos de 3 L, contendo o substrato, a base de terra do subsolo, matéria orgânica e superfosfato simples. As plantas foram conduzidas até 45 dias, nesta idade, as plantas possuíam 6 folhas totalmente expandidas, com 80 cm de altura.

2.2 Insetos

Folhas de tomate contendo lagartas de *T. absoluta* foram coletadas em lavouras comerciais de tomate nos híbridos Débora e Santini e transportados para o Laboratório de Entomologia da UFV-CRP. Em seguida, as folhas contendo as lagartas desse inseto foram acondicionadas em gaiolas (50 x 50 x 50 cm) modelo Biocreation®. As lagartas foram transferidas para folhas de tomate isentas de pragas e doenças e, posteriormente, acondicionadas no interior das “gaiolas de lagartas”. Para a manutenção da turgescência das folhas os pecíolos foram imersos em recipientes de 100 mL de água. As aberturas dos recipientes foram vedadas com algodão hidrofóbico para evitar a morte das larvas por afogamento. Novas folhas foram acondicionadas diariamente às gaiolas para o desenvolvimento das larvas até a formação das pupas.

Assim que as larvas passaram para fase de pupa, as folhas foram retiradas da água e transferidas para as “gaiolas de pupação”. Os adultos emergidos nestas gaiolas foram coletados com um aspirador elétrico e transferidos para as “gaiolas de oviposição”. Foi adicionado

algodão umedecido em solução de mel a 10% no interior destas gaiolas para alimentação dos adultos (Xu et al. 2004). Foram mantidas duas folhas de tomateiro isentas de pragas e doenças para a oviposição dos adultos. As folhas com ovos foram retiradas a cada dois dias e transferidas para as “gaiolas de larvas”. Novas folhas foram acondicionadas às “gaiolas de oviposição” até a morte dos adultos.

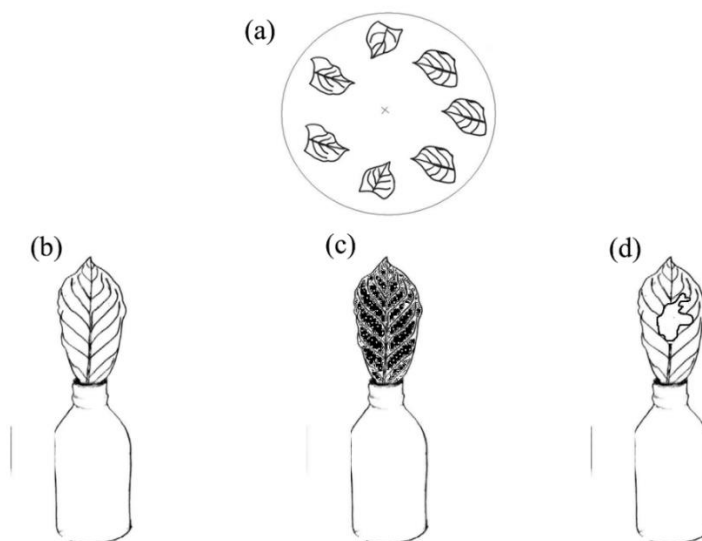
Para a disponibilização permanente de folhas de tomate sadias foi estabelecido um cultivo de plantas da cultivar ‘Santa Clara’ em vasos de 5 litros dentro de duas casas de vegetação (5 x 7 m) teladas para evitar a entrada de insetos. As mudas foram semeadas e conduzidas em vasos com 3 partes de terra e uma de esterco curtido. Tratos culturais como tutoramento, adubação e irrigação foram realizados periodicamente. As plantas foram inspecionadas semanalmente para verificar e eliminar folhas com pragas e sintomas de doenças. À medida que as plantas foram utilizadas na criação de *T. absoluta*, novas mudas foram semeadas e adicionadas às casas de vegetação.

2.3 Bioensaio 1: Comportamento de oviposição

Para verificar se *T. absoluta* oviposita com maior frequência em folhas não infestadas com ovos e minas, foi realizado um experimento com 3 tratamentos e 11 repetições (Figura 1). Numa gaiola com dimensões de 60 cm de largura, 60 cm de comprimento e 50 cm de altura, foram introduzidos um folíolo com o seu pecíolo imerso em um vidro com água (100mL), contendo ovos de traça previamente contados (Tratamento 1), folíolos minados (Tratamento 2) e folíolos sem qualquer tipo de injúria (Tratamento 3). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os folíolos dispostos em formato circular com 30 cm de raio, distanciados a 10 cm um do outro.

No centro da gaiola foram introduzidas 20 pupas com 3 dias de idade (10 machos e 10 fêmeas) sexados segundo metodologia descrita por Coelho e França 1987. O número de ovos em cada tratamento foi contado 48 horas após a eclosão dos adultos.

Figura 1. Detalhe genérico da arena com folíolos imersos em água (a) no frasco com 100 mL os tratamentos: folhas sem ovos (b), com ovos artificiais (c) e galerias (d).



2.4 Atração química

Para confirmar se a oviposição de adultos de *T. absoluta* é devido a fatores químicos, foram realizados testes utilizando extratos aquosos com os insetos (adultos e lagartas) e maceração de ovos nas folhas.

Extratos de 50 adultos e 60 lagartas de 3^o instar foram preparados separadamente em recipientes de vidro âmbar (8 cm de diâmetro; 100 mL). Após a maceração dos insetos adicionou 100 mL de água de destilada e filtrou-se em papel filtro por 40 minutos. No líquido filtrado adicionou 0,013 g/L do surfactante não iônico polietileno alquil éter fenílico. Os folíolos foram imersos na solução por 2 segundos. Posteriormente os folíolos foram secos à sombra por duas horas e imersas na água dos frascos descritos no início desta metodologia.

Antes de preparar os folíolos para a atividade química com ovos, realizou-se o mesmo procedimento de imersão das folhas em espalhante adesivo. Após a imersão e secagem, os folíolos foram pré-infestados com ovos de *T. absoluta* e estes ovos esmagados com auxílio de um pincel, de forma que se espalhasse pelo folíolo.

2.5 Bioensaio 2: avaliação do efeito químico e/ou visual

Para verificar se os adultos da traça do tomateiro reconhecem visualmente ou quimicamente o local de oviposição realizou-se outro teste com chance de escolha. Este experimento foi constituído por 6 tratamentos e 5 repetições. Folíolos com ovos artificiais (Tratamento 1), folíolos com mina artificial (Tratamento 2), folíolos com extratos de lagartas de 3^o instar (Tratamento 3), folíolos com extratos de fêmeas adultas (Tratamento 4), folíolos com ovos esmagados (Tratamento 5) e folíolos sem qualquer tipo de injúria (Tratamento 6).

Para verificar se a traça do tomateiro reconhece visualmente as folhas com ovos, foi confeccionado pequenas esferas de isopor de coloração amarelo pálido e com 0,38 mm de comprimento e 0,22 mm de largura (mesma cor dos ovos). Já para se verificar o efeito visual referente às minas realizou-se cortes de 3-4 cm², de forma irregular e alargados, de modo a apresentar a mesma área foliar lesionada do experimento 1.

No centro dessa gaiola foram introduzidas 40 pupas com 3 dias de idade (20 machos e 20 fêmeas). A sexagem das pupas e a contagem dos ovos em cada tratamento foram feitos da mesma forma como no bioensaio 1.

2.6 Bioensaio 3: Efeito de inseticidas na emergência de neonatas de *T. absoluta*

Os inseticidas utilizados foram abamectina 18 CE, ciantraniliprole 100 OD, cloridrato de cartap 500 SP, milbemectina 50 CE, clorfenapir 240 SC, metaflumizone 240 SC, espinosade 480 SC, piriproxifem 100 CE e fenpropratrina 300 CE, submetidos à ação de um surfactante não iônico (Tabela 1).

Tabela 1: Nome técnico, grupo químico, formulação, ingrediente ativo, dose comercial, classe ambiental e toxicológica dos inseticidas utilizados no experimento.

Nome comercial	Princípio ativo	Formu- lação	Qtd. de ingrediente ativo (g/L ou g/kg)	Dose comercial (g/ha ou mL/ha ou ml/ 100L água)	Classes	
					Ambi- ental ¹	Toxicolo- gica ²
abamectina	Avermectinas	CE	18 g/L	100	II	III
ciantraniliprole	Diamida antranflica ou antranilamida	OD	100 g/L	500	III	Não classi- ficado
cloridrato de car- tape	Bis(tiocarbamato)	SP	500 g/Kg	250	III	IV
milbemectina	Milbemicinas	CE	50 g/L	40	II	V
clorfenapir	Análogo de Pirazol	SC	240 g/L	50	II	IV
metaflumizone	Semicarbazone	SC	240 g/L	1000	III	V
espinosade	Espinosinas	SC	480 g/L	170	III	III
piriproxifem	Éter piridiloxipróp- lico	CE	100 g/L	100	II	V
fenpropratrina	Piretroide	CE	300	150	II	III
surfactante não iô- nico	Organossiliconado (po- lidimetilsiloxano)	-	-	40	-	-

EC = concentrado emulsionável; OD = dispersão de óleo; SP = pó solúvel em água; WP = pó molhável; SC = suspensão concentrada. ¹Classificação ambiental: I – produto altamente perigoso ao meio ambiente; II – produto muito perigoso ao meio ambiente; III – produto perigoso ao meio ambiente; IV – produto pouco tóxico. ²Classificação toxicológica: III – produto moderadamente tóxico; IV – produto pouco tóxico; V – produto improvável de causar dano agudo. (*) Óleo mineral utilizado nos tratamentos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com 20 tratamentos em esquema fatorial 10 x 2 e 4 repetições. Os tratamentos são: T1 = espinosade 480 SC; T2 = clorfenapir 240 SC; T3 = piriproxifem 100 EC; T4 = ciantraniliprole 100 OD; T5 =

metaflumizone 240 SC; T6 = abamectina 18 CE; T7 = cloridrato de cartap 500 SP; T8 = fenproprina 300 CE; T9 = milbemectina 50 CE e T10 = Controle. A unidade experimental foi composta por 10 ovos de *T. Absoluta* com aproximadamente 24 horas de idade, considerando que foram avaliados 20 ovos por folha, ou seja, foram necessários assim 40 parcelas experimentais para concluir o experimento.

Foi realizada a diluição dos inseticidas, considerando suas doses comerciais mais altas de acordo com a bula de cada um. Logo após foi aplicado por meio de um aerógrafo tipo caneta 1/6 HP Bivolt Wimpel® COMP-1 com pressão de 50 psi e pulverizados 1,3 mL de cada inseticida com e sem a presença do óleo mineral em questão (Disperse Ultra).

Após a pulverização dos inseticidas sobre as folhas infestadas com os ovos de *T. absoluta* foram feitas duas avaliações. As primeiras 48 horas após a aplicação e a segunda 72 horas após a mesma. Essas avaliações tiveram o intuito de constatar se houve ou não o efeito ovicida, isto é, os ovos que tiveram uma redução na sua viabilidade. Assim apresentaram um aspecto mais escuro que o normal ou até mesmo mais avermelhado, conseqüentemente não conseguindo chegar na fase larval. Também foram avaliados os ovos que eclodiram e conseguiram se transformar em neonatas em cada repetição com a contagem de minas formadas. Essa avaliação foi feita no mesmo período de tempo da avaliação referente aos efeitos ovicidas.

2.7 Análise estatística

Os dados obtidos do número de ovos foram submetidos à análise de variância e a comparação das médias realizadas pelo teste Tukey a $p < 0,05$.

Foi também calculado o índice de preferência para oviposição: $IPO = [(T-P)/(T+P)] \times 100$, onde T= número de ovos contados no tratamento avaliado e P= número de ovos contados no controle, o índice varia de + 100 (muito estimulante) até -100 (total deterrência), sendo o valor zero indicativo de neutralidade.

Os dados das pré-infestações de ovos (variável independente) com a taxa de oviposição (variável dependente) foram submetidos a análise de regressão a $p < 0,05$.

Os dados de percentual de emergência de neonatas foram submetidos ao teste de homogeneidade e homocedasticidade por Bartlett e posteriormente submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de médias de Tukey a $p < 0,05$ no software SPEED STAT 3.0. Os dados de efeito da ação do inseticida nos ovos foram submetidos a análise não-paramétrica Kruskal-Wallis no software R Studio.

3. RESULTADOS

A oviposição de *T. absoluta* apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ($F_{(2,30)}=41,23$, $p<0,001$, $CV=38,12\%$), os folíolos sem ovos apresentaram resultados superiores aos com ovos e galerias, com médias de ovos por folíolo de 28,11, 16,54 e 15,74, respectivamente (Tabela 2). O aumento no número de ovos em pré-infestação nos folíolos de *S. lycopersicum* coincidiu com a redução na taxa de oviposição de *T. absoluta*.

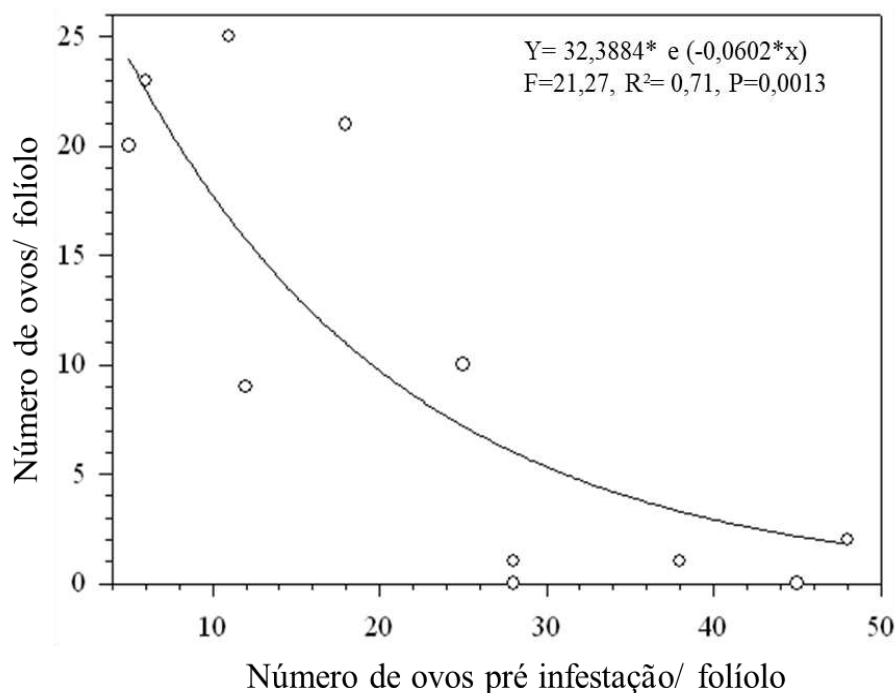
Tabela 2. Média \pm erro padrão das pré-infestações e do número de ovos de *T. absoluta* em folíolos com galerias, com ovos previamente infestados e sem ovos ($T= 26 \pm 2^\circ\text{C}$, $UR= 60 \pm 2\%$ e fotofase de 12 h).

Tratamento	Pré-infestação	Número de ovos ³
Folíolos com ovos previamente infestados	12,04 \pm 1,05 ¹	16,54 \pm 1,28 A
Folíolos com galeria	5,13 \pm 0,85 ²	15,74 \pm 3,54 A
Folíolos sem ovos	-	28,11 \pm 2,07 B

¹número de ovos; ²área foliar danificada; ³As médias seguidas da mesma letra em uma coluna não se diferem pelo teste Tukey a $p<0,05$.

Não foi verificada qualquer relação entre a ocorrência de galerias e a taxa de oviposição, já que o número de ovos postos na folha do tomateiro foi semelhante ao posto em folhas previamente infestadas por ovos, mostrando que as pistas químicas da planta podem estar indicando os danos, o que diminuiria a oferta de alimento para as larvas que ali surgissem e a infestação por ovos (Tabela 1). O aumento da pré-infestação do folíolo de *S. lycopersicum* reduziu o número de ovos por folíolo (Figura 2), reforçando a preferência da fêmea por folhas não ovipositadas.

Figura 2. Taxa de oviposição de *Tuta absoluta*, de acordo com o número de ovos pré-infestados por folíolo de *Solanum lycopersicum* ($T= 26 \pm 2^\circ\text{C}$, $UR= 60 \pm 2\%$ e fotofase de 12 h).



Foram observadas diferenças significativas na oviposição da traça do tomateiro em relação aos tratamentos para avaliar o efeito químico e/ou visual ($F_{(5,24)}=12,91$, $p<0,001$, $CV=38,18\%$). A maior taxa de oviposição de traças ocorreu nos folíolos com ovos artificiais, seguida pelo controle e galeria artificial, e as menores preferências foram por folíolos com extratos de lagartas (11,60), fêmeas adultas (10,40) e ovos esmagados (10,01) (Tabela 1). Os ovos artificiais não levaram a planta a emitir pistas químicas de oviposição, sendo interpretados pela fêmea como uma planta não ovipositada e, portanto, elegível para oviposição (Tabela 3), o que é corroborado pelo número de ovos postos e pelo índice de preferência de oviposição (IPO), o que leva à observação de que não houve efeito visual para a seleção do tratamento, apenas químico.

Tabela 3. Média \pm erro padrão do número de ovos de *Tuta absoluta* em folíolos de *Solanum lycopersicum* ($T= 26 \pm 2^\circ\text{C}$, $UR= 60 \pm 2\%$ e fotofase de 12 h).

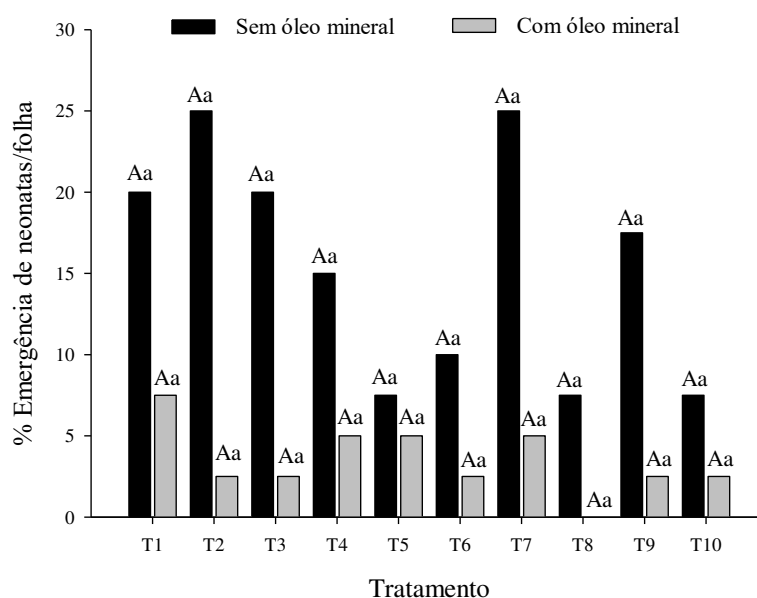
Tratamento	Número de ovos ¹	IPO ²
Folíolos com ovos artificiais	37,20 \pm 2,99 A	26,10 \pm 2,12
Folíolos sem ovos (Controle)	21,80 \pm 2,09 B	0,00 \pm 0,00
Folíolos com galerias artificiais	24,40 \pm 2,34 B	5,63 \pm 0,09

Folículos com extrato de lagartas	11,60 ± 1,55 C	-30,54 ± 1,35
Folículos com extrato de fêmeas adultas	10,40 ± 1,96 C	-35,40 ± 3,19
Folículos com ovos macerados	7,00 ± 2,23 C	-51,39 ± 1,01

¹As médias seguidas de mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste Tukey $p < 0,05$; ²IPO= Índice de preferência de oviposição.

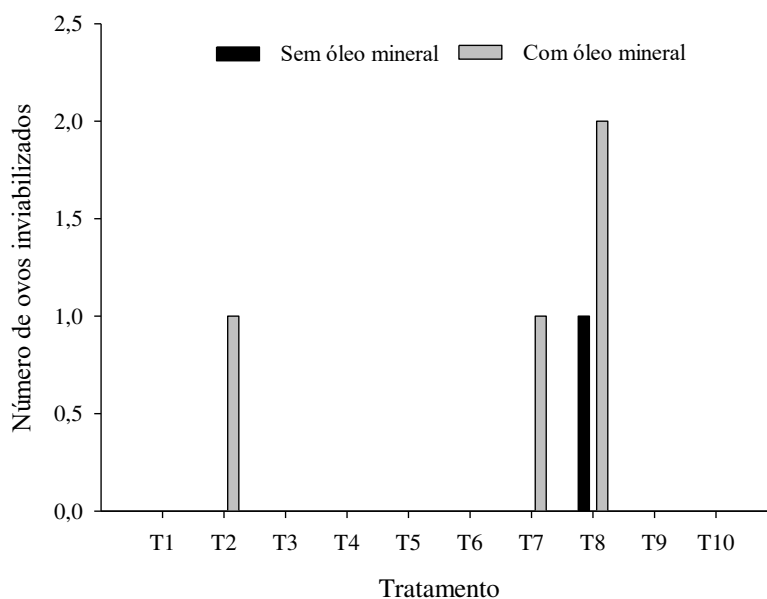
Para a avaliação de neonatas emergentes os tratamentos foram aprovados pelos preceitos de normalidade, homocedasticidade e aditividade. Após 72 h da aplicação dos inseticidas não diferiu significativamente entre os tratamentos ($P > 0,05$) (Figura 3) e já que possuímos 10 tratamentos, a análise possuiu 9 graus de liberdade, que é o número de observações independentes que temos a partir de nossos dados. Entretanto, numericamente os tratamentos T1 e T6 sem óleo mineral apresentaram maior número de minas.

Figura 3. Número de minas ativas após 72 horas da aplicação dos inseticidas. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey $P < 0,05$. T1 = espinosade 480 SC; T2 = clorfenapir 240 SC; T3 = piriproxifem 100 EC; T4 = ciantraniliprole 100 OD; T5 = metaflumizone 240 SC; T6 = abamectina 18 CE; T7 = cloridrato de cartap 500 SP; T8 = fenproprina 300 CE; T9 = milbemectina 50 CE e T10 = ControleControle.



O número de ovos inviabilizados 72 h após a aplicação dos inseticidas não diferiu significativamente entre os tratamentos ($P > 0,05$). Os tratamentos T2, T7 e T8 apresentaram inviabilidade dos ovos com a adição de óleo mineral. Sem a adição de óleo mineral, apenas o tratamento T8 apresentou inviabilidade dos ovos.

Figura 4. Número de ovos inviáveis após 72 horas da aplicação dos inseticidas. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey $P < 0,05$. T1 = espinosade 480 SC; T2 = clorfenapir 240 SC; T3 = piriproxifem 100 EC; T4 = ciantraniliprole 100 OD; T5 = metaflumizone 240 SC; T6 = abamectina 18 CE; T7 = cloridrato de cartap 500 SP; T8 = fenpropatrina 300 CE; T9 = milbemectina 50 CE e T10 = Controle.



4. DISCUSSÃO

O aumento do número de ovos em pré-infestação e a redução na taxa de oviposição de *T. absoluta* pode ser devido ao reconhecimento de marcadores químicos, uma vez que não houve efeito visual para a seleção do tratamento. Tal comportamento evita a competição intraespecífica das larvas, aumentando a probabilidade de sucesso da postura de ovos, como mostrou Goulart et al. (2015) ao descrever os feromônios de oviposição sendo demarcadores de local onde os ovos foram depositados, também sendo utilizados pelas fêmeas para impedir a postura de outras, diminuindo a competição entre larvas por um recurso limitado.

A maior taxa de oviposição nos folíolos livres de ovos pode ser em função da ausência de pistas químicas emitidas pela planta, uma vez que o número de ovos diminui quando os folíolos são previamente infestados por ovos ou quando apresentam galerias. Esse fato está de acordo com o que foi observado em *Ascia monuste orseis* que preferem ovipositar em plantas livres de postura de ovos, a fim de evitar competição intraespecífica e tem preferência por folhas mais novas com tecidos tenros, onde as fases iniciais se alimentam para depois migrarem para outras folhas da planta (Dervisoglou et al. 2022).

A escolha dos folíolos com galeria artificial para oviposição, com número de ovos semelhante ao do controle e menor do que aqueles com ovos artificiais e sem galeria sugerem que a fêmea não detectou pistas químicas de oviposição prévia. No entanto, o menor número de ovos sugere que as pistas químicas das plantas sinalizando a presença de galerias indicavam à fêmea a redução da área foliar e dos recursos, o que prejudicaria o sucesso da postura de maior número de ovos (Bottega et al. 2019).

O índice de preferência de oviposição (IPO), cerca de cinco vezes menor que o do folíolo com ovos artificiais, sugere a percepção química da presença de galerias nas folhas. Os índices de preferência de oviposição classificam os tratamentos como estimulantes ou inibidores. O mais estimulante foi aquele com ovos artificiais e os mais inibidores foram aqueles com ovos esmagados, extrato de fêmeas adultas e extrato de lagartas.

As plantas sintetizam e emitem compostos orgânicos voláteis em resposta a herbivoria, e conjuntos desses compostos também se modificam após o dano mecânico. Por exemplo, Hegde et al. (2011) detectaram um aumento quantitativo nos compostos emitidos por plantas de algodão infestadas com *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae), quando comparados com plantas controle. Assim como no exemplo acima, no presente estudo, as pistas químicas emitidas por plantas do tomateiro em resposta à herbivoria foram diferentes qualitativamente e quantitativamente das pistas emitidas por plantas controle.

Os compostos orgânicos voláteis são emitidos de diferentes órgãos acima (caules, folhas, flores e frutos) e abaixo do solo (raízes) na atmosfera e no solo, respectivamente. Esses compostos têm papéis importantes na mediação de interações complexas entre as plantas e os insetos, repelindo o inseto e atraindo inimigos naturais que atacam ou parasitam insetos herbívoros. Os insetos costumam usar esses voláteis como pistas na orientação de longo alcance para localizar plantas para se alimentar ou locais para deposição de ovos.

Como para *T. absoluta* alterações nos COV influenciam na sua escolha pela planta hospedeira, uma vez que pistas químicas são essenciais para localização (Proffit et al. 2011), a menor proporção de ovos em plantas que receberam o tratamento com ovos esmagados, extrato de fêmeas adultas e extrato de lagartas, quando se comparada com plantas controle, pode ser justificada por esse fator. Sendo assim, durante a fase de localização planta-hospedeiro, as fêmeas de *T. absoluta* detectam pequenas diferenças na mistura de odor de cultivares de tomate e adaptam seu comportamento de oviposição de acordo com sinais voláteis da planta (Caparros Megido et al. 2014).

Este estudo inicial da atração e resposta de oviposição da traça-do-tomateiro *T. absoluta* em resposta ao seu hospedeiro primário, o tomate, apoiará a identificação do padrão

de odor que codifica o reconhecimento do hospedeiro e o desenvolvimento de novos métodos para controlar esta importante praga do tomate em todo o mundo. Os voláteis do tomateiro podem ser usados diretamente para capturar fêmeas acasaladas, e a resposta comportamental diferencial às cultivares de tomate indica o potencial do melhoramento de plantas para melhorar a resistência (Profitt et al. 2011).

Em relação ao efeito dos inseticidas nos ovos após 72 h da aplicação e numericamente os tratamentos T1 e T6 sem óleo mineral apresentaram maior número de minas, isso pode ser comparado á alguns trabalhos que constataram uma leve resistência de *T. absoluta* a abamectina correlacionando os calculos de sua DL50, para que seja possível comparar a capacidade de resistência do inseto ao mesmo (Lietti et al., 2005). Outro trabalho também aponta que os níveis de resistência apresentados por *T. absoluta* ao espinosade ainda são inferiores à dose recomendada pelo fabricante. Entretanto, é sugerido que já é necessário elaborar estratégias para regular a resistência de *T. absoluta* às espinosinas antes que ocorram deslizes de controle no campo (Campos et al., 2015).

Com relação a avaliação do efeito ovicida, alguns tratamentos tinham expectativas positivas, mas não apresentaram os efeitos esperados. Pois houve trabalhos testando o efeito ovicida de alguns dos inseticidas que foram utilizados, porém sobre outro inseto, a mosca branca *Bemisia tabaci* biótipo B, descrita como *B. argentifolii* Bellows & Perring (Bellows et al., 1994), e alguns resultados foram bem interessantes, como o piriproxifem (75 mg L⁻¹), que atuou como excelente ovicida, sendo altamente eficiente, 3 dias de idade e o Cartape (500 mg L⁻¹) que não teve efeito satisfatório, mas a 1000 mg L⁻¹ foi eficiente em ovos com até 5 dias de idade (Valle et al., 2002). Existem poucos estudos sobre o efeito ovicida sobre a praga *T. absoluta*, porém com a continuidade desses estudos pode-se dizer que é uma característica bem interessante e que se conseguir ser usado com uma alta eficácia tem alto potencial para controlar populações de insetos pragas.

Em relação ao estudo do efeito de uso ou não do óleo mineral, apenas o tratamento T8 apresentou inviabilidade dos ovos. De acordo com Goel & Kumar (1991), a fenproprina já foi testada, porém contra outros insetos, o arctido *Spilosoma obliqua* e o esfingídeo *Acherontia styx* em gergelim no campo Uttar Pradesh, na Índia. Porém esse inseticida possuiu uma ação fraca contra ovos, mas foram eficazes contra larvas recém-eclodidas.

5. CONCLUSÕES

Não houve influência visual na escolha do local de oviposição por *Tuta absoluta*. A presença de galerias não impede a oviposição, mas reduz o número de ovos por postura. As pistas químicas, emitidas pela planta com galerias e/ou pelo extrato das lagartas, fêmeas adultas ou ovos esmagados, reduzem amplamente o número de ovos por postura e alteram, de maneira negativa e notória, o índice de preferência de oviposição.

A preferência por folhas livres de ovos ou galerias mostra que a fêmea detecta os estímulos químicos emitidos pela planta ou pelos extratos e evita a oviposição na planta quando esses compostos são liberados, revelando que a oviposição é determinada por fatores químicos e não por fatores visuais. Estudos futuros devem ser desenvolvidos para sustentar essa teoria, identificando os compostos químicos envolvidos na interação tomateiro x traça do tomateiro.

Nenhum tratamento apresentou alta toxicidade, portanto os inseticidas testados não apresentaram efeito ovicida considerável. Já com relação á emergência de neonatas também não houve diferença entre os tratamentos e controle considerável.

6. REFERÊNCIAS

- Abbes K, Harbi A, Elimem M, Hafsi A, Chermiti B (2016) Bioassay of three solanaceous weeds as alternative hosts for the invasive tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) and insights on their carryover potential. *Afr Entomol* 24: 334-342. <https://doi.org/10.4001/003.024.0334>.
- Alves TJS, Silva-Torres CSA, Wanderley-Teixeira V, Teixeira AAC, Torres JB, Lima TA, Ramalho (2015) Behavioral Studies of the parasitoid *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: braconidae). *J. Insect Behav* 28: 604-617. <http://dx.doi.org/10.1007/s10905-015-9529-x>.
- Ataide LMS, Arce CCM, Curtinhas JN, Silva DJH, Desouza O, Lima E (2017) Flight behavior and oviposition of *Tuta absoluta* on susceptible and resistant genotypes of *Solanum lycopersicum*. *Arth-Plant Interact* 11: 567-575. <http://dx.doi.org/10.1007/s11829-017-9500-1>.
- Bawin T, Collard F, De Backer L, Yarou BB, Compere P, Francis F, Verheggen FJ (2017) Structure and distribution of the sensilla on the antennae of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Mícron* 96:16-28. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2017.01.008>.
- Bawin T, Dujeu D, De Backer L, Francis F, Verheggen FJ (2015) Ability of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) to develop into alternative host plant species. *Canadian Entomol* 148: 434-442. <http://dx.doi.org/10.4039/tce.2015.59>.
- Bellows Junior TS, Perring TM, Gill RJ, Headrick, DH (1994) Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae) infesting North American agriculture. *Annals Entomological Society of America*, Palo Alto, v. 87, n. 2, p. 195-206.
- Biondi A, Guedes RNC, Wan FH, Desneux N (2018) Ecology, worldwide spread, and management of the invasive south American tomato pinworm, *Tuta absoluta*: past, present, and future. *Annu. Rev. Entomol* 63:239-258. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-034933>.
- Bottega DB, Boiça Júnior AL, Rodrigues NEL, Souza BHS, Forim MR, Santos TF (2019) Atratividade, consumo e mortalidade de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: gelechiidae) em tomateiro tratado com óleo de melia azedarach. *Rev de Ciências Agrárias* 41:454-463. <http://dx.doi.org/10.19084/RCA17038>.
- Campos MR, Silva WM, Silva JE (2015) Spinosyn resistance in the tomato borer *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of pest science*, 88: 405-412.
- Caparros Megido R, De Backer L, Ettaïb R, Brostaux Y, Fauconnier ML, Delaplace P, Verheggen FJ (2014) Role of larval host plant experience and solanaceous plant volatile emissions in *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) host finding behavior. *Arth-Plant Interact*. <http://dx.doi.org/10.1007/s11829-014-9315-2>.
- Cocco A, Deliperi S, Lentini A, Mannu R, Delrio G (2015) Seasonal phenology of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in protected and open-field crops under Mediterranean climatic conditions. *Phytoparasitica* 43:713-24. <https://doi.org/10.1007/s12600-015-0486-x>.

Coelho MCF, França FH (1987) Biologia, quetotaxia da larva e descrição da pupa e adultos da traça do tomateiro. *Pesq Agrop Brasileira*, v.22, n.2, p.129-135.

De Backer L, Bawin T, Schott M, Gillard L, Markó IE, Francis F, Verheggen F (2016) Betraying its presence: identification of the chemical signal released by *Tuta absoluta*-infested tomato plants that guide generalist predators toward their prey. *Arth-Plant Interact* 11:111–120. <http://dx.doi.org/10.1007/s11829-016-9471-7>.

Desneux N, Han P, Mansour R, Arnó J, Brévault T, Campos MR, Chailleux A, Guedes RNC, Karmi J, Konan KAJ (2021) Integrated pest management of *Tuta absoluta*: practical implementations across different world regions. *J Pest Science* 95:17-39. <http://dx.doi.org/10.1007/s10340-021-01442-8>.

Desneux N, Wajnberg E, Wyckhuys KAG, Burgio G, Arpaia S, Narváez-Vasquez CA, González-Cabrera J, Ruescas DC, Tabone E, Frandon J (2010) Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *J Pest Science* 83:197-215. <http://dx.doi.org/10.1007/s10340-010-0321-6>.

Dervisoglou SA, Perdakis DC, Papanikolaou NE, Fantinou AA (2022) Is the control efficacy of two interacting predator species affected by the distribution and density of *Tuta absoluta* eggs on tomato plants? *J Pest Science* 95:1631-1643 <http://dx.doi.org/10.1007/s10340-022-01556-7>.

Goel SC, Kumar, S (1991) "Ovicidal action of synthetic pyrethroids on the eggs of Bihar hairy caterpillar, *Spilosoma obliqua* (Walker) and sesamum sphinx, *Acherontia styx* (Westwood)." *Entomon*, 16: 237-239.

Gontijo L, Cascone P, Giorgini M, Michelozzi M, Rodrigues HS, Spiezia G, Iodice L, Guerrieri E (2019) Relative importance of host and plant semiochemicals in the foraging behavior of *Trichogramma achaeae*, an egg parasitoid of *Tuta absoluta*. *J Pest Science* 92:1479-1488. <http://dx.doi.org/10.1007/s10340-019-01091-y>.

Goulart HF, Lima MRF, Morais RKS, Bernardo VB (2015) Pheromones: a green alternative for the integrated pest management. *Rev Virtual de Química* 7:1205-1224. <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20150068>.

Grunseich JM, Thompson MN, Hay AA, Zachar I, Kolomiets MV, Eubanks MD, Helms AM (2020) Risky roots and careful herbivores: Sustained herbivory by a root-feeding herbivore attenuates indirect plant defences. *Funct. Ecol* 34:1779-1789. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13627>.

Han P, Bayram Y, Shaltiel-harpaz L, Sohrabi F, Saji A, Tair esenali U, Jalilov A, Ali A, Shashank PR, Ismoilov K, Lu ZZ, Wang S, Zhang GF, Wan FH, Biondi A, Desneux N (2019) *Tuta absoluta* continues to disperse in Asia: damage, ongoing management and future challenges. *J Pest Science* 92:1317-1327. <http://dx.doi.org/10.1007/s10340-018-1062-1>.

Hegde M, Oliveira JN, Da Costa JG, Bleicher E, Santana AEG, Bruce TJA, Caulfield J, Dewhurst SY, Woodcock CM, Pickett JA, Birkett MA (2011) Identification of Semiochemicals Released by Cotton, *Gossypium hirsutum*, Upon Infestation by the Cotton Aphid, *Aphis gossypii*. *J Chem Ecol* 37:741-750. <https://doi.org/10.1007/s10886-011-9980-x>.

Kumrungsee N, Pluempanupat W, Kqu O, Bullangpoti V (2014) Toxicity of essential oil compounds against diamondback moth, *Plutella xylostella*, and their impact on detoxification enzyme activities. *J Pest Science* 87:721-729. <http://dx.doi.org/10.1007/s10340-014-0602-6>.

Lietti M, Botto E, Alzogaray RA (2005). Insecticide resistance in argentine populations of *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology* 34:113-119.

Martins JC, Picanço MC, Bacci L, Guedes RNC, Santana PA, Ferreira DO, Chediak M (2016) Life table determination of thermal requirements of the tomato borer *Tuta absoluta*. *J Pest Science* 89:897-908. <http://dx.doi.org/10.1007/s10340-016-0729-8>.

Pessini, GM.; Descrição da sintomatologia e análise da proteína kin17 em lagartas de *Bombyx mori* submetidas à intoxicação pelo inseticida chlorantraniliprole. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Maringá, 2014.

Proffit M, Birgersson G, Bengtsson M, Reis R, Witzgall P, Lima E (2011) Attraction and oviposition of *Tuta absoluta* females in response to tomato leaf volatiles. *J. Chem. Ecol Journal* 37:565-574. <http://dx.doi.org/10.1007/s10886-011-9961-0>.

Siqueira, HAA; Guedes, RNC, Picanco, MC (2000) Cartap resistance and synergism in populations of *Tuta absoluta* (Lep., Gelechiidae). *Journal of applied entomology*, 124: 233-238.

Tasin M, Backman AC, Anfora G, Carlin S, Ioriatti C, Witzgall P (2010) Attraction of female grapevine moth to common and specific olfactory cues from two host plants. *Chem. senses* 35:57-64. <http://dx.doi.org/10.1093/chemse/bjp082>.

Valle GT, Lourenção AL (2002) Resistência de Genótipos de Soja a *Bemisia tabaci* (Genn.) Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Neotrop. entomol.* 31 (2).

Xu YY, Liu TX, Leibe GL, Jones WA (2004) Effects of selected insecticides on *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) a parasitoid of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) *Biocontrol Sci Technol* 14: 713-723. <http://dx.doi.org/10.1080/09583150410001682395>.

Yasui H, Fujiwara-Tsujii N (2016) Host plant affects the sexual attractiveness of the female white-spotted longicorn beetle, *Anoplophora malasiaca*. *Sci. Rep* 6:1-9. <http://dx.doi.org/10.1038/srep29526>.