

DNA *barcoding* de *Oncideres saga* (Coleoptera: Cerambycidae) do Brasil

DNA barcoding of *Oncideres saga* (Coleoptera: Cerambycidae) from Brazil

Dayanna do Nascimento Machado^I, Ervandil Corrêa Costa^{II},
Acacio Geraldo de Carvalho^{III}, Letícia Puntel^{IV},
Henrique Pozebon^V, Jonas André Arnemann^{VI}

Resumo

Utilizar ferramentas moleculares aliadas a técnicas tradicionais de identificação para determinar corretamente as espécies, a diversidade genética e o fluxo gênico de insetos-praga florestais é um dos maiores avanços dos últimos anos. Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi realizar o DNA *barcoding* da espécie *Oncideres saga* (Dalman, 1823), utilizando o primeiro fragmento do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI). Em Seropédica, Rio de Janeiro, galhos de *Albizia lebbbeck* (L.) Benth., anelados por uma espécie de Cerambycidae, foram coletados e armazenados em laboratório sob condições controladas até a emergência dos insetos adultos. Um total de 13 insetos emergiram e, a partir das características morfológicas, foram identificados como *Oncideres saga*. Oito espécimes adultos foram utilizados para a caracterização molecular a partir do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI). Após a obtenção do DNA genômico e amplificação do gene COI via PCR, os produtos foram sequenciados gerando um fragmento com 639 pb. Este é o primeiro estudo molecular que caracteriza o DNA *barcoding* de *Oncideres saga*, que é uma espécie geneticamente distinta das demais do gênero *Oncideres*. Esta pesquisa traz informações básicas que poderão ser utilizadas para explorar novas populações desse inseto-praga em futuros estudos moleculares e aplicados.

Palavras-chave: Caracterização molecular; MtDNA; Entomologia Florestal

Abstract

Combining molecular tools with traditional identification techniques to correctly determine species, genetic diversity and gene flow of forest pest insects is one of the greatest advances in entomology in recent years. The aim of this work was to identify the species *Oncideres saga* (Dalman, 1823) using the first fragment of the cytochrome oxidase I (COI) gene, from the mitochondrial genome. In Seropédica, Rio de Janeiro state, branches of *Albizia lebbbeck* (L.) Benth. ringed by a species of Cerambycidae were collected and stored under laboratory conditions until the emergence of adult insects. Thirteen insects emerged and were identified as *Oncideres saga*, based on morphological traits. Eight adult specimens were used for molecular characterization of the COI gene. After obtaining the genomic DNA and amplifying the COI fragment via PCR, the products were sequenced, resulting in a fragment of 639 bp length. This is the first molecular study characterizing the DNA barcode of *Oncideres. saga*, which is a species genetically distinct from the others of the genus *Oncideres*. This research provides basic information that can be used to explore new populations of this pest insect in future molecular and applied studies.

Keywords: Molecular characterization; MtDNA; Forest entomology

^I Engenheira Florestal, Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Departamento de Defesa Fitossanitária, Universidade Federal de Santa Maria. Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria (RS), Brasil. dayanasmac@gmail.com (ORCID: 0000-0001-9837-5369)

^{II} Engenheiro Agrônomo, Dr., Professor permanente no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Departamento de Defesa Fitossanitária, Universidade Federal de Santa Maria. Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria (RS), Brasil. ervandilc@gmail.com (ORCID: 0000-0001-7348-8826)

^{III} Engenheiro Florestal, Dr., Departamento de Produtos Florestais, Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Br 465, Km 7, CEP 23900-00, Seropédica (RJ), Brasil. acacio@ufrj.br (ORCID: 0000-0002-0935-7773)

^{IV} Engenheira Agrônoma. Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (LabMIP), prédio 44G, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria (RS), Brasil. leticia_puntel@hotmail.com (ORCID: 0000-0002-2562-7737)

^V Engenheiro Agrônomo, Departamento de Defesa Fitossanitária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFMS), Av. Roraima 1000, CEP 97105-900, Santa Maria (RS), Brasil. henriquepozebon@gmail.com (ORCID: 0000-0001-9354-5998)

^{VI} Engenheiro Agrônomo, PhD., Professor adjunto no Departamento de Defesa Fitossanitária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima 1000, CEP 97105-900, Santa Maria (RS), Brasil. jonasarnemann@gmail.com (ORCID: 0000-0002-6100-4369)



Introdução

Algumas espécies de besouros da Ordem Coleoptera, Família Cerambycidae, são conhecidas por danificarem árvores vivas em habitats florestados e não cultivados, uma vez que podem afetar seriamente pomares, árvores ornamentais, plantações florestais (MONNÉ; BEZARK, 2009) e árvores utilizadas na arborização urbana (COUTINHO; CARVALHO; VEIGA, 1998). Dentre essas espécies, destaca-se *Oncideres saga* (Dalman, 1823) (Coleoptera: Cerambycidae: Lamiinae), popularmente conhecido como serra-pau, serrador, anelador, o qual possui ampla distribuição geográfica na América do Sul, estando presente na Argentina, Bolívia, Brasil e Paraguai (MONNÉ, 2018).

A espécie *Oncideres saga* é mencionada causando injúrias ou danos em mais de 35 espécies arbóreas florestais (MONNÉ, 2018), entre elas: *Albizia lebbbeck*, (L.) Benth., *Bauhinia variegata* L., *Delonix regia* (Hook.) Raf., *Apuleia moralis* Spruce ex Benth, *Cassia plumosa* (E. Mey.) (PERES-FILHO; DORVAL; BERTI, 1992), *Parapiptadenia rígida* (Benth.) Brenan (LINK, 1994), *Prosopis juliflora* (Sw.) DC (AZEVEDO *et al.*, 1997), *Acacia mearnsii* De Wild (MAGISTRALI *et al.*, 2008), *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert (SOUZA *et al.*, 2012).

As fêmeas de *Oncideres saga* anelam os galhos das árvores hospedeiras para efetuar a oviposição, dessa forma, elas modificam a arquitetura da copa reduzindo a área fotossintética da planta, a produção de sementes e, por consequência, a produtividade das árvores atacadas (COUTINHO, 1997). Como efeito secundário, o local onde foi realizado o anelamento pode se tornar uma via de introdução de fitopatógenos na planta (EDWARDS; LINIT, 1991; COUTINHO, 1997).

Em um estudo realizado por Cordeiro *et al.* (2019b), foi avaliado o efeito simulado do corte do ponteiro principal em árvores de *Acacia mangium* Willd., semelhante ao anelamento realizado por *Oncideres saga*. Os autores concluíram que o corte do ponteiro principal afeta o crescimento em altura das árvores de *Acacia mangium*. Em árvores da arborização urbana de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro, *Oncideres saga* foi identificado ocasionando injúrias (COUTINHO; CARVALHO; VEIGA, 1998) e, tendo em vista a altura das árvores que compõem a arborização urbana, as dimensões dos galhos anelados e a queda dos mesmos em estacionamentos, os riscos de causar ferimentos nas pessoas e danos materiais (carros, motos e bicicletas) são maiores. Nesse contexto, o desenvolvimento de muitas espécies florestais arbóreas pode ser comprometido pelas injúrias ocasionadas por *Oncideres saga*.

Estratégias de manejo para o controle de insetos-praga da família Cerambycidae são incipientes, principalmente para o gênero *Oncideres*. Aliado a isso, há dificuldade em encontrar taxonomistas que possam realizar a identificação morfológica desse gênero a partir da forma imatura, uma vez que é normalmente realizada após a emergência dos espécimes adultos. Dessa forma, a rápida e precisa identificação da espécie que está ocasionando injúrias e danos é fundamental, pois se trata da primeira premissa para definir a estratégia de manejo integrado a ser implementada.

Nesse sentido, a caracterização molecular é uma ferramenta que complementa a caracterização morfológica de insetos e polinizadores, a qual proporciona segurança e precisão na identificação da espécie (SOSA-GÓMEZ *et al.*, 2012). A caracterização molecular está sendo muito utilizada em estudos com insetos-praga florestais para verificar a assinatura genética de cada espécie, a diversidade genética dentro e entre populações, entre outros. Para os principais gêneros florestais, podem ser mencionados alguns trabalhos com insetos-praga: gênero *Eucalyptus* – *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae) (NADEL *et al.*, 2010; MACHADO *et al.*, 2020); *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) (DITTRICH-SCHRÖDER *et al.*, 2018); gênero *Pinus* – *Sirex noctilio* Fabricius (Hymenoptera: Siricidae) (SUN *et al.*, 2016); *Pissodes castaneus* (De Geer) (Coleoptera: Curculionidae) (ZALESKI *et al.*, 2013).

Para *Oncideres saga*, até o momento, além do uso da taxonomia morfológica tradicional fundamentada na morfometria, foi empregada a técnica de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (CORDEIRO *et al.*, 2019a). No entanto, não há informações referentes ao DNA *barcode* de *Oncideres saga* no National Center for Biotechnology Information (NCBI - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) e no Barcode of Life Data System (BoldSystems - <http://www.boldsystems.org/>) (bancos de

dados online contendo informações genéticas). O código de barras de DNA é utilizado como uma ferramenta para estudos de filogenética e catalogação da biodiversidade a partir da obtenção de sequências, principalmente do gene mitocondrial Citocromo Oxidase, subunidade I (COI) (ROSA; PAIVA, 2009). A caracterização do gene mtDNA COI de *Oncideres saga* possibilitará a comparação futura com outras populações dessa espécie e com outras espécies-praga da Ordem Coleoptera. Assim, este trabalho objetivou caracterizar o DNA *barcoding* de *Oncideres saga*.

Material e métodos

Coleta dos galhos de *Albizia lebbek*

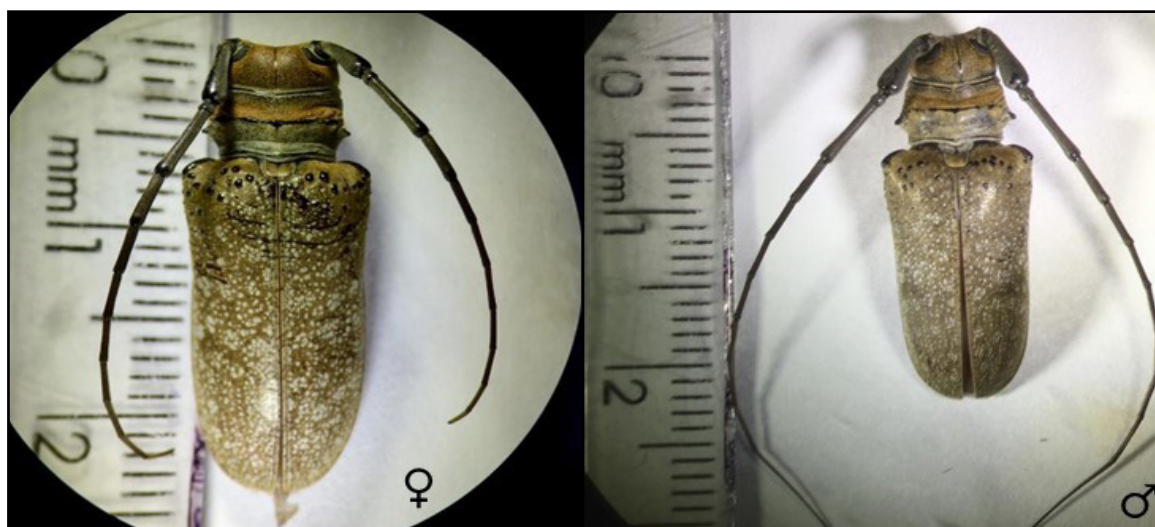
No mês de outubro de 2018, em Seropédica, Rio de Janeiro (22°42'30,81"S - 43°44'7,38"O) foram coletados, aleatoriamente, 10 galhos pertencentes a espécie *Albizia lebbek*, anelados possivelmente por espécimes da família Cerambycidae, gênero *Oncideres*. Os galhos estavam localizados sobre o solo ou pendurados nas copas das árvores, sendo removidos e transportados para o Laboratório de Deterioração da Madeira e Entomologia Florestal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), onde foi contabilizado o número médio de incisões por galho, e permaneceram armazenados até a emergência dos espécimes adultos.

Um total de 13 espécimes adultos emergiram entre os dias 16 e 24 de outubro de 2018, sendo todos identificados como *Oncideres saga* (Dalman, 1823). A identificação da espécie ocorreu a partir da comparação com exemplares existentes na Coleção Costa-Lima e de exemplares do Laboratório de Deterioração da Madeira e Entomologia Florestal (UFRRJ), os quais foram identificados pelo Dr. Miguel Angel Monné da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Após a caracterização morfológica, oito espécimes (três machos e cinco fêmeas) (Figura 1) foram armazenados em um recipiente de vidro contendo álcool 96% até a caracterização molecular, que ocorreu no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal de Santa Maria (LabMIP-UFSM), no município de Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul.

Figura 1 – Espécimes adultos de *Oncideres saga*. Fêmea (esquerda) e macho (direita)

Figure 1 – Adult specimens of *Oncideres saga*. Female (left) and male (right)



Fonte: Autores (2019)

Extração e amplificação do DNA e sequenciamento do gene mitocondrial de *Oncideres saga*

Para a extração de DNA genômico de *Oncideres saga*, foi utilizado o Kit Qiagen DNeasy Blood Tissue (Qiagen, Hilden, Alemanha) seguindo o protocolo do fabricante. Para cada espécime, as pernas foram maceradas em tubos do tipo *Eppendorf* de 1,5 mL, contendo 180 µL de buffer ATL e 20 µL de proteinase K. As amostras foram incubadas, durante 24 h, na temperatura de 56°C e, ao término do processo de extração, o DNA genômico foi eluído em 35 µL de tampão AE. A atividade para análise do DNA de espécimes de *Oncideres saga* foi registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob o código A90AB15.

Um fragmento do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI) foi amplificado para cada espécime (amostra), a partir de reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando os primers LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') e HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTG ACCAAAAATCA-3') (FOLMER *et al.*, 1994). Cada produto de PCR foi composto por: 16 µL de H₂O ultra-pura; 1,25 µL da mistura de dNTP; 2,5 µL de Buffer 10X de JumpStart™ (10 mM de cada base nitrogenada A, T, C, G); 2 µL de cada primer (LCO - HCO (10 pM)); 0,25 µL de JumpStart™ Taq DNA Polymerase com MgCl₂ (5U/µL), 1 µL de DNA molde (70-120 ng/mL) com um volume final de 24 µL.

O ciclo utilizado para a amplificação por PCR compreendeu as seguintes etapas: desnaturação inicial a 95°C durante 5 min; 35 ciclos a 94°C por 30 s, 48°C por 30 s, 72°C por 1,5 min e uma extensão final a 72°C por 5 min. A qualidade dos produtos amplificados foi avaliada a partir de eletroforese (2% agarose, 1% com 22,2 ng µl⁻¹ de marcador molecular Nancy-520 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA)) e visualizado em foto-documentador. As amostras amplificadas foram sequenciadas usando um AB 3500 GeneticAnalyzer.

Análise dos dados

Para a análise e edição das sequências de mtDNA de *Oncideres saga*, foram utilizados os *softwares* Pregap e Gap4 inseridos no pacote Staden (STADEN; BONFIELD, 2000), e o alinhamento foi realizado no *software* CLC Sequence Viewer versão 7. Como não havia sequências de mtDNA COI de espécies de *Oncideres* depositadas no NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), as sequências de *Oncideres saga* foram comparadas com as disponíveis no BoldSystems (<http://www.boldsystems.org>).

Treze sequências de mtDNA COI foram utilizadas para a análise de máxima verossimilhança (PhyML-Phylogenetic inferences using Maximum Likelihood) com 1000 amostras de *bootstrap* (<http://www.atgc-montpellier.fr/phyml/>) (GUINDON *et al.*, 2010). O *out-group* utilizado para análise filogenética do gene mtCOI foi *Rosalia alpina* (Coleoptera: Cerambycidae) (PSFOR086-13). A árvore foi visualizada e editada no programa FigTree, versão 1.4.3.

Resultados e discussão

A análise dos resultados do sequenciamento gerou um fragmento de 639 pb do gene mitocondrial Citocromo Oxidase subunidade I (COI) para a espécie *Oncideres saga*. Todos os espécimes emergidos dos galhos de *Albizia lebeck* correspondem ao mesmo haplótipo, denominado O_saga_COI_01, sendo a sequência depositada no NCBI, código de acesso: MT108452. A presença de apenas um haplótipo da espécie *Oncideres saga*, nessa amostragem, pode estar relacionada à bioecologia do inseto, ao número de galhos coletados de *Albizia lebeck*, aos fatores climáticos e ao número de espécimes emergidos.

Foram encontradas em média 71 incisões por galho, sendo a maior parte das posturas/incisões realizadas na parte dos ramos com menor incidência de raios solares. Cabe lembrar que Coutinho (1997)

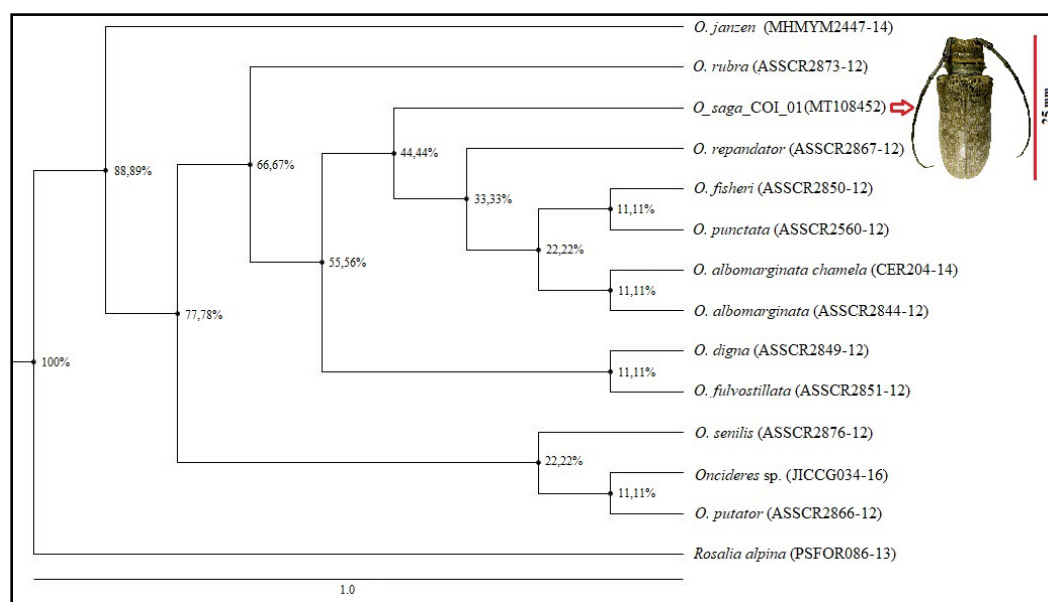
encontrou para a mesma espécie de hospedeiro 96 incisões por galho. Fêmeas do gênero *Oncideres* geralmente ovipositam um ovo por incisão, mas há casos de múltiplos ovos por galho (ROGERS, 1977; SOLOMON, 1995; PAULINO-NETO, 2016); no entanto, a taxa de desenvolvimento até a emergência de adultos é baixa em plantas já infestadas ou com alto nível de predação larval (COULSON, 1979; PAULINO-NETO, 2016). Portanto, é possível que mais de um espécime tenha emergido do mesmo galho ou de outros galhos da mesma árvore, sendo todos aparentados em nível materno.

Em *Albizia lebbek*, Coutinho (1997) observou que a espécie *Oncideres saga* é univoltina, pois passando o maior período do ciclo biológico na fase de larva (141 dias). Porém, o processo de desenvolvimento desse inseto, até a emergência do adulto, pode ser influenciado por alguns fatores ambientais, entre eles, temperatura e umidade dos galhos. A umidade excessiva é um dos fatores mais importantes, porque reduz a viabilidade dos ovos e afeta o desenvolvimento das larvas (COULSON, 1979; PAULINO-NETO, 2016). Temperaturas baixas aumentam a taxa de mortalidade, reduzem a emergência e o peso corporal dos adultos de Cerambycidae (CANNON; ROBINSON, 1982; HANKS; MILLAR; PAINE, 1992; PAULINO-NETO, 2016).

Com relação à análise de verossimilhança por PhyML para a filogenia parcial do mtCOI (Figura 2), foi observada uma posição basal para *Oncideres saga* (O_saga_COI_01), isso evidencia que se trata de uma espécie distinta das demais analisadas para o gênero *Oncideres*. Nesse sentido, para novos estudos com essa espécie, o sequenciamento completo da mitocôndria de *Oncideres saga* poderá permitir o desenvolvimento de primers específicos e a exploração de novos genes/regiões com maior diversidade genética. O emprego de distintas ferramentas morfológicas e moleculares proporciona maior precisão na identificação, pois amplia as possibilidades de realizar o manejo de insetos-praga.

Figura 2 – Análise filogenética de máxima verossimilhança utilizando PhyML para espécies de *Oncideres*

Figure 2 – Maximum Likelihood (ML) phylogeny analysis of *Oncideres* species, using PhyML software



Fonte: Autores (2019)

Em que: Modelo de substituição: GTR+G+I; 7189,80138 (AIC); proporção de sítios invariáveis: 0.529, baseado em 639 pb (pares de bases) do gene parcial mtDNA COI de *Oncideres saga*. O out-group utilizado foi *Rosalia alpina*. Valores de Bootstraps > 50%. Todas as sequências utilizadas para a construção da árvore filogenética, bem como seu número de acesso estão disponíveis no BoldSystems (http://www.boldsystems.org/index.php/Public_SearchTerms). A sequência do haplótipo O_saga_COI_01 foi depositada no NCBI (National Center for Biotechnology Information Search database - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Conclusão

Este é o primeiro estudo de caracterização molecular, via DNA *barcoding*, para *Oncideres saga*, enriquecendo as informações genéticas dos insetos-praga da área florestal no Brasil. São informações básicas para futuros estudos de diversidade genética e fluxo gênico entre e dentro de populações da espécie *Oncideres saga*, a qual é muito próxima morfologicamente das demais espécies do gênero *Oncideres*, porém geneticamente distinta.

Referências

- AZEVEDO, A. W. N. *et al.* Ocorrência de *Oncideres saga* Dalman, 1823 (Coleoptera, Cerambycidae) em *Prosopis juliflora* (SW) D.C. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 4, p. 9-12, 1997.
- BOLDSYSTEMS. **Barcode of Life Data System**. Ontario, [2019]. Disponível em: <http://www.boldsystems.org>. Acesso em: 10 out. 2019.
- CANNON, K. F.; ROBINSON, W. H. An artificial diet for laboratory rearing of the old house borer, *Hylotrupes bajulus* (Coleoptera: Cerambycidae). **The Canadian Entomologist**, [s. l.], v. 114, n. 8, p. 739-742, 1982.
- CORDEIRO, G. *et al.* Molecular identification of three species of *Oncideres* (Coleoptera: Cerambycidae) using RAPD markers. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 3, p. e20180209, 2019a.
- CORDEIRO, G. *et al.* Simulation of *Oncideres saga* (Dalman) girdling over *Acacia mangium* Willd. development. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 47, n. 124, p. 604-612, 2019b.
- COULSON, R. N. Population dynamics of bark beetles. **Annual Review of Entomology**, [s. l.], v. 24, p. 417-447, 1979.
- COUTINHO, C. L.; CARVALHO, A. G.; VEIGA, B. G. A. *Oncideres saga* (Dalman, 1823) (Coleoptera, Cerambycidae) e a arborização urbana em Seropédica, RJ. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 5, n. 1, p. 50-54, 1998.
- COUTINHO, C. L. *Oncideres saga* (Dalman, 1823) (Coleoptera, Cerambycidae) em arborização com *Albizia lebbbeck* Benth. 1997. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais) - Universidade Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1997.
- DITTRICH-SCHRÖDER, G. *et al.* Population genetic analyses of complex global insect invasions in managed landscapes: a *Leptocybe invasa* (Hymenoptera) case study. **Biological Invasion**, [s. l.], v. 20, n. 9, p. 2395-2420, 2018.
- EDWARDS, O. R.; LINIT, M. J. Oviposition behavior of *Monochamus carolinensis* (Coleoptera: Cerambycidae) infested with the pinewood nematode. **Annals of the Entomological Society of America**, [s. l.], v. 84, n. 3, p. 319-323, 1991.
- FOLMER, O. *et al.* DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, [s. l.], v.3, n. 5, p. 294-299, 1994.
- GUINDON, S. *et al.* New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. **Systematic Biology**, [s. l.], v. 59, n. 3, p. 307-21, 2010.
- HANKS, L. M.; MILLAR, J. G.; PAINE, T. D. Evaluation of cold temperatures and density as mortality factors of the eucalyptus longhorned borer (Coleoptera: Cerambycidae) in California. **Environmental Entomology**, [s. l.], v. 20, n. 6, p. 1653-1658, 1991.

- LINK, D. Bionomia comparada DPS serradores, *Oncideres saga* (Dalman, 1823) e *Oncideres dejeani* (Thomson, 1868) (Coleoptera: Cerambycidae) em *Parapiptadenia rigida*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 4, n. 1, p. 137-144, 1994.
- MACHADO, D. do N. *et al.* one maternal lineage leads the expansion of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) in the new and old Worlds. **Scientific Report**, [s. l.], v. 10, n. 3487, 2020.
- MAGISTRALI, I. C. *et al.* Parâmetros biológicos de *Oncideres saga* (Dalman, 1823) (Coleoptera: Cerambycidae) em *Acacia mearnsii*. **Revista Trópica**, Chapadinha, v. 1, n. 2, p. 3-10, 2008.
- MONNÉ, M. A. **Catalogue of the Cerambycidae (Coleoptera) of the Neotropical Region. Part II. Subfamily Lamiinae.** [s. l.: s. n.], 2018. Disponível em: [cerambyxcat@com/Part 2 _Lamiinae.pdf](mailto:cerambyxcat@com/Part%20_Lamiinae.pdf). Acesso em: 10. out. 2019.
- MONNÉ, M. A.; BEZARK, L. G. **Checklist of the Cerambycidae, or longhorned beetles (Coleoptera) of the Western Hemisphere.** [s. l.: s. n.], 2009. Disponível em: <https://www.cerambycoidea.com/titles/monnebezark2009.pdf>. Acesso em: 15 out. 2019.
- NADEL, R. L. *et al.* DNA bar-coding reveals source and patterns of *Thaumastocoris peregrinus* invasions in South Africa and South America. **Biological Invasions**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 1067-1077, 2010.
- NCBI. **National Center for Biotechnology Information.** Bethesda, [2019]. Disponível: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 10 out. 2019.
- PAULINO-NETO, H. F. A review of the biology and ecological interactions of *Oncideres* (Cerambycidae): Brazilian wood borers species. **Journal of Ecosystem & Ecography**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. 1000223, 2016.
- PERES-FILHO, O.; DORVAL, A.; BERTI, E. Ocorrência de *Oncideres saga* (Dalman, 1823) (Coleoptera, Cerambycidae) em espécies florestais em Cuiabá, MT. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 67, n. 1, p. 77-80, 1992.
- ROGERS, C. E. Bionomics of *Oncideres cingulata* (Coleoptera: Cerambycidae) on mesquite. **Journal of the Kansas Entomological Society**, [s. l.], v. 50, n. 2, p. 222-228, 1977.
- ROSA, A. J. M.; PAIVA, S. Z. **Marcadores moleculares e suas aplicações em estudos populacionais de espécies de interesse Zootécnico.** Planaltina: EMBRAPA, 2009. 35 p. (Documentos, 254).
- SOLOMON, J. D. **Guide to insect borers in North American broadleaf trees and shrubs.** Washington: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, 1995. 747 p.
- SOSA-GÓMEZ, D. R. *et al.* A biotecnologia, o melhoramento e o manejo de pragas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. C.; MOSCARDI, F. (ed.). **SOJA: Manejo Integrado de Insetos e Artrópodes-praga.** Brasília, DF: EMBRAPA, 2012. p. 725-772.
- SOUZA, G. K. *et al.* Registro de *Oncideres saga* (Coleoptera: Cerambycidae) em *Peltophorum dubium* (Leguminosae) no Município de Trombudo Central, Santa Catarina, Brasil. **EntomoBrasilis**, Vassouras, v. 5, n. 1, p. 75-77, 2012.
- STADEN, R. B. K. F.; BONFIELD, J. K. The Staden package, 1998. **Methods in Molecular Biology**, [s. l.], v. 132, p. 115-130, 2000.
- SUN, X. *et al.* Identificación of *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae) using a species-specific Cytochrome C Oxidase Subunit I PCR Assay. **Journal of Economic Entomology**, [s. l.], v. 109, n. 3, p. 1424-1430, 2016.
- ZALESKI, S. R. M. *et al.* Genetic structure of populations of *Pissodes castaneus* (De Geer) (Coleoptera, Curculionidae) using amplified fragment length polymorphism. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 57, n. 4, p. 405-410, 2013.