

Avaliação de produção feromonal de populações de *Anthonomus grandis grandis* (Coleoptera:curculionidae) exposto a sub dosagens de organofosforados e piretróides

Sharrine O. D. O. Marra¹, Antônio T. Souza Neto^{2†}, Cristina S. Bastos³, Raul N. C. Guedes⁴, Lucia M. Vivan⁵, Pedro Henrique A. Marra⁶, Renata Fernandes⁷

¹Parte da tese de doutorado do primeiro autor, financiada pela FUNARBE. E-mail: sharrine.oliveira@hotmail.com.

²Estudante de graduação na Universidade de Cuiabá, Campus Ary Coelho – Rondonópolis-MT.

³Professora adjunta do Departamento de Agronomia da Universidade de Brasília – UnB.

E-mail: cschetino@gmail.com.

⁴Professor do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa – UFV. E-mail: guedes@ufv.br.

⁵Doutora em Entomologia – Fundação Mato Grosso, FMT. E-mail: luciavivan@fundacaomt.com.br.

⁶Engenheiro agrônomo - AgroMarra – Rondonópolis-MT E-mail: pedro.agromarra@gmail.com.

⁷Mestre em entomologia- Universidade Federal de Viçosa-UFV. E-mail: renata.defernandes@gmail.com.

Resumo: Devido ao seu alto poder de destruição o bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis grandis* (Coleoptera: Curculionidae)) é considerado uma das principais pragas na cotonicultura brasileira. O principal método de controle contra o bicudo é o uso de inseticidas convencionais. O objetivo deste trabalho foi avaliar os possíveis efeitos da exposição subletal aos inseticidas malatiom e beta-ciflutrina na liberação do feromônio sexual de bicudo-do-algodoeiro. Após bioensaios de mortalidade para determinar a concentração e o tempo de exposição subletais, machos e fêmeas expostos ao malatiom a 10% da concentração de campo por 1 min, e ao beta-ciflutrina em concentração de campo e 20% desta também por 1 min. Machos expostos aos inseticidas testados permaneceram por quatro dias consecutivos em um sistema de aeração para coleta dos voláteis liberados pelo inseto. Os insetos expostos a ambos inseticidas apresentaram capacidade de liberação de feromônio sexual, não diferindo significativamente entre os tratamentos ($\chi^2=0.00$, $P=1$) e nem entre os períodos de liberação ($\chi^2=1.82$, $P=0.18$).

Palavras-chave: Concentração subletal; Feromônio; Inseticida.

Abstract: Due to its high destructive power the cotton boll weevil (*Anthonomus grandis grandis* (Coleoptera: Curculionidae)) is considered one of the main pests in the Brazilian cottoniculture. The main method of control against boll weevil is the use of conventional insecticides. The objective of this work was to evaluate the possible effects of the sublethal exposure to insecticides malathion and beta-cyfluthrin on the release of the cotton boll weevil pheromone. After bioassays of mortality to determine the concentration and time of exposure sublethal, males and females exposed to malathion at 10% of field concentration per 1 min, and to beta-cyfluthrin at field concentration and 20% of this also for 1 min. Males exposed to the tested insecticides remained for four consecutive days in an aeration system to collect the volatiles released by the insect. The insecticides exposed to both insecticides presented a sexual pheromone release capacity, not significantly different between the treatments ($\chi^2 = 0.00$, $P = 1$) and neither between the release periods ($\chi^2 = 1.82$, $P = 0.18$).

Keywords: Sublethal concentration; Pheromone; Insecticide.

†Autor correspondente: netootavares@icloud.com.

Introdução

Um fator limitante para a expansão da cotonicultura no Brasil é o ataque de pragas, principalmente as do bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) (SILVA, 2012). Devido ao seu alto poder de destruição o bicudo-do-algodoeiro é considerado praga-chave na cotonicultura brasileira. Onde seu período crítico de ataque ocorre entre 50 aos 90 dias após a emergência. O ataque inicia-se pelas margens da cultura, os danos são causados tanto pela larva quanto pelo adulto (SILVIE et al., 2007). Provocando intensa queda dos botões florais devido a alimentação (PAPA, 2006; SHWOLER, 2008; SILVA, 2012). O principal método de controle contra o bicudo é o uso de inseticidas convencionais, principalmente compostos do grupo organofosforado e piretróides (SHOWLER, 2007). Contudo, o objetivo deste trabalho foi avaliar os possíveis efeitos da exposição subletal aos inseticidas malatim e beta-ciflutrina na liberação do feromônio sexual de bicudo do algodoeiro.

Materiais e métodos

Insetos

Foi utilizada uma população de insetos proveniente de colônia pertencente à EMBRAPA Cenargen (Brasília-DF). Os insetos foram mantidos no Laboratório de Semioquímicos, pertencente à Embrapa Recursos Genético e Biotecnologia, em Brasília - DF, Brasil. Os insetos foram criados em placas de Petri de plástico contendo dieta artificial [mistura de ágar, levedura de cerveja, germe de trigo, proteína de soja, glicose, ácido ascórbico e ácido sórbico, Nipagina, farinha de embrião de semente de algodão (Pharmamedia®, Traders Protein, USA), mistura de sais de Wesson, vitamina de Vanderzant e água (SCHMIDT et al., 2001). Os adultos recém emergidos foram separados por sexo (SAPPINGTON; SPURGGON, 2000) e transferidos para placas de petri (20 insetos/placa). A alimentação foi feita com dieta artificial.

Cultivo de plantas

As sementes de algodão do genótipo Delta Opal foram obtidas da MDM-Maeda DeltaPine Monsanto, sediada em Uberlândia – MG. A semeadura foi feita em vasos de plástico (15 cm de altura, com diâmetro externo de 20 cm na parte superior e 13 cm na parte inferior) preenchidos com uma mistura de solo e substrato orgânico (Bioplant® Condicionador de Solo Classe F, Nova Ponte - MG) na proporção de 1:1, sendo estes mantidos em casa de vegetação sob condições ambientais naturais. A irrigação das plantas foi realizada três vezes por semana, durante o período matutino. Em todos os experimentos foram utilizadas plantas no estágio reprodutivo, com idade de 12 semanas, marcadas pela presença de botões florais.

Bioensaio tempo-mortalidade

Inicialmente foram realizados bioensaios preliminares para definir a maior concentração cuja mortalidade não diferisse do tratamento controle (BLISS, 1934). As concentrações utilizadas basearam-se na máxima recomendada para aplicação em campo (100%, 50%, 40%, 30%, 20% e 10%). Ou seja, para o malatim, as concentrações avaliadas foram: 1000, 500, 400, 300, 200 e 100 g i.a./L. Para o inseticida beta-ciflutrina, foram avaliadas as concentrações: 125, 62,5, 50, 37,5, 25 e 12,5 g i.a./L. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado. Para cada tratamento, foram utilizadas 2 repetições com 30 insetos, totalizando 60 insetos por repetição, não sexados. Cada repetição foi constituída por uma placa de Petri de vidro transparente (90x15 mm). Utilizou-se a

Sigmae, Alfenas, v.8, n.2, p. 393-404, 2019.

64ª Reunião da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria (RBRAS).

18º Simpósio de Estatística Aplicada à Experimentação Agrônômica (SEAGRO).

metodologia de resíduo seco de inseticida impregnado em vidro (i.e., bioensaio de contato) (YUAN; CHAMBERS, 1998). O tratamento controle foi realizado sem uso de inseticidas (apenas água destilada), utilizado para a avaliação da mortalidade natural. A parte superior da placa de Petri foi pincelada com vaselina para impedir o escape dos insetos. Cada recipiente de vidro recebeu 1 mL de suspensão inseticida na concentração desejada (YUAN; CHAMBERS, 1998). Um tratamento controle, sem uso de inseticidas (apenas água destilada), foi utilizado para determinação da mortalidade natural. Após a aplicação, foi permitido que a água evaporasse mantendo as placas a temperatura ambiente. Em seguida, 30 insetos adultos não sexados foram liberados em cada recipiente. As avaliações foram realizadas por até 120 horas. As condições de cada bicudo-do-algodoeiro foram determinadas imediatamente à exposição ao inseticida, seguindo os seguintes critérios: 1) Indivíduo vivo: adulto capaz de se movimentar sem sinais movimentos descoordenados; 2) Indivíduo Morto: adulto completamente incapaz de se movimentar de forma coordenada, mesmo com estímulos. Para determinação do tempo subletal, utilizou-se a concentração de 0,2 L de produto comercial (p.c./ha (100 g i.a./L, concentrado emulsionável, FMC, Uberaba, MG, Brazil), por 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 minutos de exposição para o malatiom. Para o inseticida beta-ciflutrina, utilizou-se a concentração de 20 mL de p.c./ha (25 g i.a./L, suspensão concentrada, Bayer CropScience, Belford Roxo, RJ, Brazil), por 1,0, 2,5, 5,0 e 10,0 minutos de exposição. Os tempos foram definidos de acordo com os resultados observados em estudos preliminares (OLIVEIRA-MARRA et al., 2019). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado. Os experimentos foram replicados duas vezes com 30 insetos não sexados, totalizando 60 insetos por repetição. Cada repetição foi constituída por uma placa de Petri de vidro transparente (90x15 mm). A metodologia utilizada seguiu os padrões anteriormente citados (YUAN; CHAMBERS, 1998) e a mortalidade dos insetos foi avaliada periodicamente até que todos os insetos estivessem mortos, seguindo os padrões descritos anteriormente. Os resultados foram submetidos a análise de sobrevivência usando estimadores *Kaplan-Meier*, obtendo-se os respectivos tempos medianos de sobrevivência para cada bioensaio tempo-mortalida. As curvas de sobrevivência foram comparadas usando-se o teste de Holm-Sidak ($P < 0.05$) (SIGMA PLOT 12.5, SYSTAT, SAN JOSE, CA, EUA).

Coleta de voláteis

Os machos do bicudo-do-algodoeiro, provenientes da criação mantida pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e com nove dias de idade, foram expostos ao malatiom (N=6 indivíduos) a 10% da concentração de campo, 0,2 L p.c./ha (100 g i.a./L), por 1 minuto, e ao beta-ciflutrina (N=9 indivíduos) a 20% da concentração de campo (20 mL p.c./ha), por 1,0 min, seguindo a metodologia descrita anteriormente (YUAN; CHAMBERS, 1998). Estas concentrações e tempos de exposição foram pré-determinados de acordo com as curvas tempo-mortalidade descritos anteriormente. A testemunha foi exposta a superfície contendo água destilada (N=9 indivíduos). Após a exposição, os insetos permaneceram por 24 horas sem alimentação e, em seguida, foram colocados aos pares em contato com plantas de algodoeiro em estágio reprodutivo, sem ataque prévio, acondicionadas em cilindro de vidro (10 L de volume interno). Nesse sistema a aeração é feita através da entrada doar nas câmaras por meio de um compressor com corrente de ar de 1 L.min⁻¹, conectado a um filtro de carvão ativado. A saída do ar foi realizada através de uma bomba de vácuo com vazão de 0,6 L.min⁻¹, conectada a um tubo de vidro contendo um polímero adsorvente, via conexões de politetrafluoretileno (PTFE), criando um sistema de pressão positiva. Os voláteis foram coletados a cada 24 h, durante quatro dias consecutivos, em tubos de vidro contendo 60 mg de Porapak Q (50-80 mesh, Bellefonte, PA, EUA). Esses foram eluídos dos tubos adsorventes usando 500 µL do solvente orgânico n-hexano e concentrados para 50 µL sob fluxo de N₂. Após o processo de eluição, os tubos

Sigmae, Alfenas, v.8, n.2, p. 393-404, 2019.

64ª Reunião da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria (RBRAS).

18º Simpósio de Estatística Aplicada à Experimentação Agrônômica (SEAGRO).

foram limpos usando 2 mL de n-hexano e aquecidos à 190°C, sob fluxo constante de nitrogênio, por 30 min antes de serem colocados novamente nas câmaras de aeração. As amostras obtidas foram armazenadas a -20°C até sua utilização em cromatógrafo gasoso acoplado ao detector de ionização de chamas (CG-DIC) e CG acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM).

Análises químicas

Para as análises da composição feromonal, 1 µL de cada solução foi injetado no CG (Agilent 7890-A, coluna apolar DB-5MS, 0,32 mm de diâmetro x 60 m de comprimento e filme de 0,25 µm, Supelco, Bellefonte, PA, EUA), com detector de ionização de chama (DIC), usando o modo splitless e tendo o hélio como gás de arraste. A temperatura inicial da rampa foi de 50°C por 2 min, aumentando gradualmente 5°C.min⁻¹ até atingir 180°C, onde foi mantida por 0,1 min, seguida de um segundo aumento gradual de 10°C.min⁻¹ até atingir 250°C, permanecendo nessa temperatura por 20 min. A temperatura do detector foi de 270°C e a do injetor, de 250°C. Para análise qualitativa, amostras selecionadas foram injetadas no CGEM (Agilent 5975-MSD) equipado com analisador quadrupolar, em coluna apolar DB-5MS (0,25 mm de diâmetro x 30 m de comprimento, com filme de 0,25 µm, Supelco, Bellefonte, PA, EUA), com ionização de impacto de elétrons (70 -eV, temperatura de 200°C) e injetor no modo splitless. Hélio foi usado para arraste. Os dados foram coletados e analisados com o software ChemStation. A identificação dos compostos voláteis foi realizada por comparação do padrão de fragmentação dos componentes da amostra com o de dados catalogados em bibliotecas espectrais (NIST, 2008). Para análise quantitativa, a determinação das proporções dos componentes do feromônio do bicudo-do-algodoeiro foi realizada a cada 24 h por meio de comparação das áreas das curvas de cada composto. As proporções entre os componentes do feromônio obtidas foram contrastadas com as reportadas na literatura. A presença ou ausência dos quatro componentes principais do feromônio dentro da câmara foi observada durante os períodos de avaliação (24, 48, 72 e 96 h). Durante todo o tempo, foram utilizados as mesmas plantas e os mesmos insetos. As respostas foram testadas estatisticamente através do modelo linear generalizado de medidas repetidas (GLM) com distribuição de erros binomial. Nos tratamentos que mostraram efeitos significativos, as médias foram comparadas através de análises de contraste. A determinação da proporção de indivíduos capazes de liberar feromônio por tratamento, assim como o intervalo de confiança, foi realizada através do modelo linear generalizado (GLM) com distribuição de erros binomial. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa estatístico R 3.4.3 (R Statistical Software).

Resultados e discussões

A partir das curvas de sobrevivência, foi possível determinar o tempo letal mediano (horas), as quais foram significativamente expressadas na Tabela 1. Todas as concentrações, de ambos inseticidas, apresentaram letalidade. Dessa forma, selecionou-se a máxima concentração cujo tempo letal foi o mais próximo possível do tempo apresentado pelos indivíduos mortos no tratamento controle. Para o malatium, foi selecionada a concentração 100 g i.a./L., e para a beta-ciflutrina, foi selecionada a máxima concentração, 25 g i.a./L.

Tabela 1. Estimativa de tempo letal para cada concentração dos inseticidas testados.

Concentração (g i.a./L)	TL50 (Horas)	Intervalo fiducial	df	χ^2	P
1000	0,133 a	0,112 - 0,154	6	271,88	<0,001

Sigmae, Alfenas, v.8, n.2, p. 393-404, 2019.

64^a Reunião da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria (RBRAS).

18^o Simpósio de Estatística Aplicada à Experimentação Agrônômica (SEAGRO).

500	1,000 b	0,925 - 1,067
400	1,000 c	0,933 - 1,075
300	1,167 d	1,145 - 1,188
200	1,333 e	1,289 - 1,377
100	1, 678 f	1,485 - 1,781
Controle	96,0 g	94,221 - 97,778

Curva tempo-mortalidade do *A. grandis grandis* expostos ao malatiom 1000, 500, 400, 300, 200 e 100 g i.a./L ($\chi^2 = 271,88$, $df = 6$, $P < 0.001$). As letras diferentes indicam diferença significativa entre as curvas de acordo com o teste de Holm-Sidak ($P < 0,05$).

Beta-ciflutrina

Concentração (g i.a./L)	TL50 (Horas)	Intervalo fiducial	df	x^2	P
125	0,31 a	0,294-0,326			<0,001
62,5	1,000 b	0,904 - 1,096			
50	1,000 b	0,925 - 1,075			
37,5	1,167 c	1,145 - 1,188	6	537,97	
25	1,333 d	1,288 - 1,379			
12,5	1,333 d	1,282 - 1,385			
Controle	96,0 e	94,221 - 97,778			

Curva tempo-mortalidade do *A. grandis grandis* expostos ao beta-ciflutrina nas concentrações 125, 62,5, 50, 37,5, 25 e 12,5 g i.a./L ($\chi^2 = 537,97$, $df = 6$, $P < 0.001$). As letras diferentes indicam diferença significativa entre as curvas de acordo com o teste de Holm-Sidak ($P < 0,05$).

Em todos os tratamentos, os machos apresentaram capacidade de liberação de feromônio de agregação, não diferindo significativamente entre os tratamentos ($\chi^2_2=0.00$, $P=1$) ou entre os períodos de liberação ($\chi^2_1=1.824$, $P=0.177$). Apesar de haver efeito significativo na interação entre tratamentos e período ($\chi^2_1=123.9$, $P < 0,001$), o contraste não apresentou diferença ($P > 0,05$), assim como é expresso na (Figura 1).

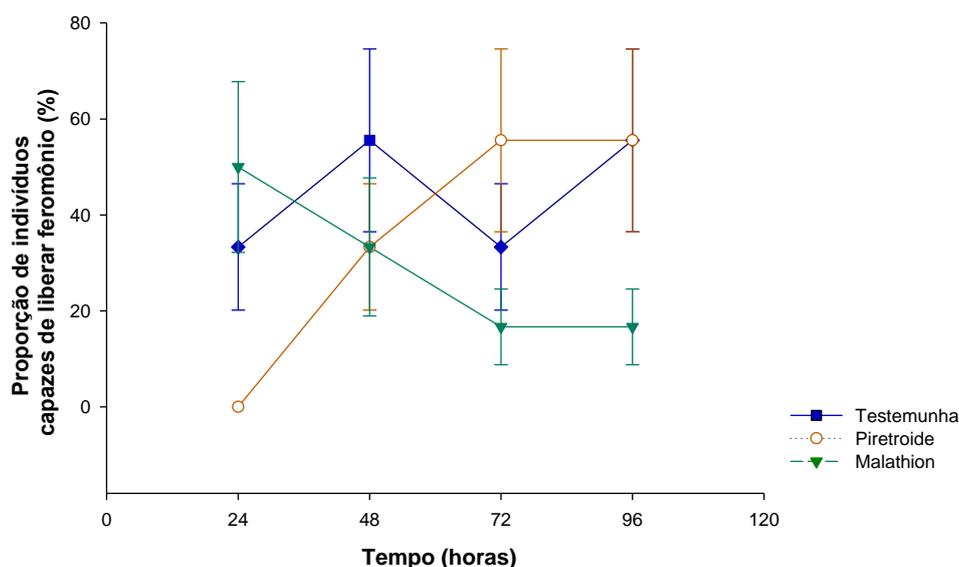


Figura 1: Proporção de machos de *A. grandis grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) que liberaram feromônio de agregação quando expostos a subconcentrações dos inseticidas malathion, beta-ciflutrina ou testemunha (média \pm erro padrão).

Para confirmar a liberação do feromônio, foi realizado o perfil cromatográfico (pA) das amostras de coleta de voláteis de machos de *A. grandis grandis* após a exposição aos inseticidas testados. Onde tanto para o controle, quanto para o malathion e o beta-ciflutrina foram utilizados quatro componentes do feromônio de agregação: I. (+)-cis-2-isopropenil-1-metilciclobutano-etanol; II. cis-2-(3,3-dimetil)-ciclohexilideno-etanol; III. cis-3,3-dimetilciclohexilideno-acetaldeído; IV. trans-3,3-dimetilciclohexilidenoacetaldeído, conforme é possível verificar no ANEXO A, B e C. A proporção final entre os componentes do feromônio liberados nos tratamentos controle, malathion e beta-ciflutrina foram, respectivamente: 42:35:11:12; 55:36:5:4; 38:31:14:17, assim como mostra a (Figura 2).

Em determinados casos, a exposição a inseticidas neurotóxicos podem interferir nas proporções entre os componentes do feromônio liberado (MOORE; MARLER, 1987). Em fêmeas de *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae) tratadas subletalmente com deltametrina foi observado que este inseticida afetou a capacidade atrativa do feromônio liberado⁵¹, assim como afetou a capacidade de atração do feromônio liberado por fêmeas de *Heliothis virescens* (F.) (Lepdoptera: Noctuidae). Dessa forma, observar as proporções dos componentes do feromônio presentes na amostra é essencial para compreender a resposta do receptor. Neste estudo, a proporção entre os componentes do feromônio liberados pelos machos do bicudo-do-algodoeiro expostos aos inseticidas testados neste trabalho manteve-se próximo ao encontrado na literatura. Estudos preliminares onde (TUMLINSON et al., 1969; HEDIN et al., 1974) encontraram proporções de (52:39:4:4) e (6:6:2:1), respectivamente. Estudos mais recentes observaram proporções de (42:42:5:10) e (42,5:42,5:5:10) (SPURGEON, 2003), (45:42:3:10) (SPURGEON; SUH, 2007), (44:43:3:10) (SPURGEON; SUH, 2009), e (32:38:15:15) (SUH et al., 2013), todos se mostrando igualmente atrativos. Esta variabilidade se deve, muitas vezes, aos diferentes métodos de coleta dos voláteis e à idade do inseto (SPURGEON, 2003).

Sigmae, Alfenas, v.8, n.2, p. 393-404, 2019.

64ª Reunião da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria (RBRAS).

18º Simpósio de Estatística Aplicada à Experimentação Agrônômica (SEAGRO).

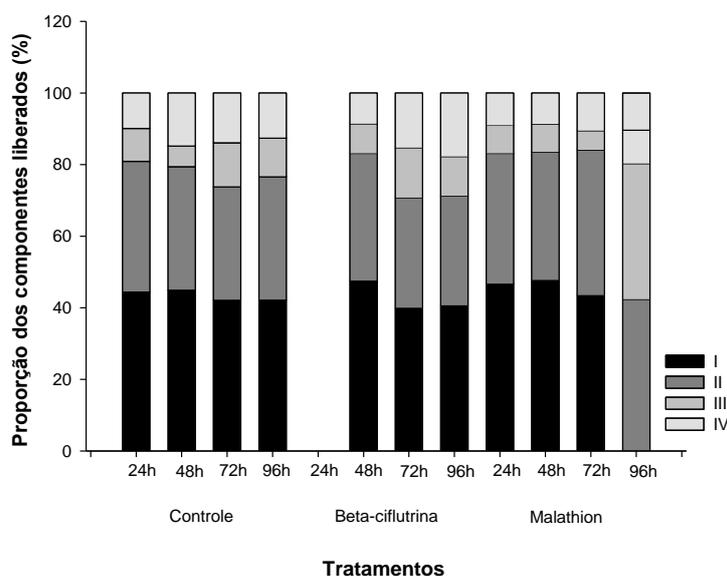


Figura 2. Proporção (média) de cada componente do feromônio de agregação de machos de *A. grandis grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) expostos a subconcentrações dos inseticidas malatiom e beta-ciflutrina, e testemunha. Componente I. (+)-cis-2-isopropenil-1-metilciclobutano-etanol; Componente II. cis-2-(3,3-dimetil)-ciclohexilidenoetanol; Componente III. cis-3,3-dimetilciclohexilideno-acetaldeído; Componente IV. trans-3,3- dimetilciclohexilidenoacetaldeído).

Conclusão

Apesar da variabilidade das proporções nos componentes feromonais demonstrada na literatura, as proporções encontradas neste trabalho são consistentes com as predições de que os componentes I e II (álcoois) são produzidos em maiores quantidades do que os componentes III e IV (aldeídos) e que as proporções entre I e II são mais constantes que as proporções entre III e IV (MITLIN; HEDIN, 1974). A variabilidade encontrada entre os componentes III e IV pode estar relacionada à baixa estabilidade desses compostos, já que aldeídos são mais instáveis que os álcoois na presença de oxigênio (GUIMARÃE et al., 2008).

Agradecimentos

FUNARB - Fundação Arthur Bernardes.

Referências

BLISS, C. I. The method of probits. *Sci.* 79: p. 38-39, (1934).

DELPUECH, J. M.; LEGALLET, B.; TERRIER, O.; FOUILLET, P. Modifications of the sex pheromonal communication of *Trichogramma brassicae* by a sublethal dose of deltamethrin. *Chemo. Sp.* 38: p. 729-39, 1999.

Sigmae, Alfenas, v.8, n.2, p. 393-404, 2019.

64ª Reunião da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria (RBRAS).
18º Simpósio de Estatística Aplicada à Experimentação Agronômica (SEAGRO).

GUIMARÃES, L. G. D. L.; CARDOSO, M. D. G.; ZACARONI, L. M.; LIMA, R. K.; PIMENTEL, F. A.; MORAIS, A. R. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). *Quim Nova* 31: p. 1476-1480, (2008).

HEDIN, P. A.; HARDEE, D. D.; THOMPSON, A. C.; GUELDNER, R. C. An assessment of the life time biosynthesis potential of the male boll weevil. *J. insect physiol.* 20: p. 1707-1712, (1974).

MITLIN, N.; HEDIN, P. A. Biosynthesis of grandlure, the pheromone of the boll weevil, *Anthonomus grandis*, from acetate, mevalonate, and glucose. *J. insect physiol.* 20: p. 1825-1831, (1974).

MOORE, M. C.; MARLER, C. A. Effects of testosterone manipulations on nonbreeding season territorial aggression in free-living male lizards, *Sceloporus jarrovi*. *Gen. comp. endocrinol.* 65: p. 225-232, (1987).

NIST. Software NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (2008).

OLIVEIRA-MARRA, S. O. D.; GUEDES, R. N. C.; BASTOS, C. S.; MARRA, P. H. A.; VIVAN, L. M.; ZANINE, A. M. Insecticide resistance and control failure likelihood among populations of the boll weevil (*Anthonomus grandis*) from Mato Grosso (Brazil). *Acta scient. Agron. In press.* (2019).

PAPA, G. Algodão pesquisas e resultados para o campo. **Pragas e seu controle.** Facial. Coan editora, Cuiabá, p. 207-237, 2006.

SAPPINGTON, T. W.; SPURGEON, D. W. Preferred technique for adult sex determination of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Ann Entomol. Soc. Am.* 93: p. 610-615, (2000).

SCHMIDT, F. G. V.; MONNERAT, R.; BORGES, M.; CARVALHO, R. Criação de insetos para avaliação de agentes entomopatogênicos e semioquímicos. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. **Circular técnica**, n. 11), 2001.
SILVA, C. A. Supressão do bicudo do algodoeiro. **Cultivar Grandes Culturas.** Pelotas-RS, v. 154, p. 8-9, 2012.

SILVEI, P.; BÉLOT, J. L.; MICHEL, B. Manual de identificação das pragas do algodão. **COODETEC. Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola.** v. 2, p. 74-89, 2007.

SHOWLER, A. T. Relationships of abscised cotton fruit to boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) feeding, oviposition, and development. *Journal of Economic Entomology*, v. 101, n° 1, p. 68-73, 2008.

SHOWLER, A. T. Subtropical boll weevil ecology. *Am Entomology Journal.* v. 53, p. 240-249, 2007.

SPURGEON, D. W. Age dependence of pheromone production by the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Entomol.* 32: p. 31-38, (2003).

Sigmae, Alfenas, v.8, n.2, p. 393-404, 2019.

64ª Reunião da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria (RBRAS).
18º Simpósio de Estatística Aplicada à Experimentação Agronômica (SEAGRO).

SIGMAPLOT VERSÃO 12.5. SYSTAT SOFTWARE. Inc. San Jose California USA. Disponível em: <www.systatsoftware.com>. Acesso: 23 mar 2019.

SPURGEON, D. W.; SUH, C. C. Diel patterns of pheromone production in the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). *J. Entomol. Sci.* 42: p. 250-260, (2007).

SPURGEON, D. W. SUH, C. C. Pheromone production by the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) fed cotton squares and bolls. *J. Entomol. Sci.* 44: p. 209-221, (2009).

SUH, C. P. C.; WESTBROOK, J. K.; BORATYNSKI, T. N.; RIOS, P. C.; ARMSTRONG, J. S.; ESCARCEGA, J. A.; RUELAS, C. C. Evaluation of a New Formulation of Grandlure for the Boll Weevil (Coleoptera: Curculionidae). *J. Entomol. Sci.* 48: p. 75-78, (2013).

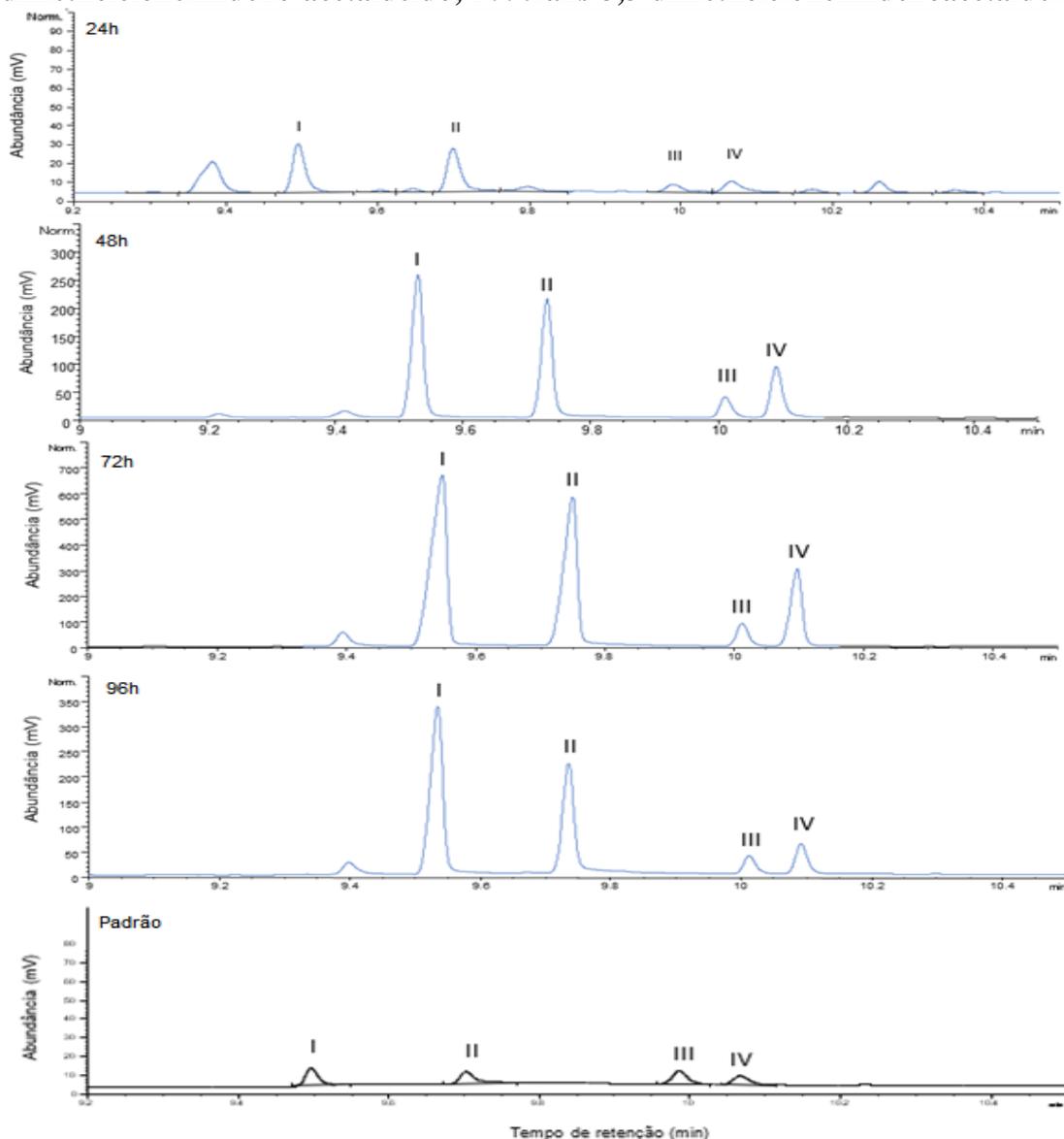
TUMLINSON, J. H.; HARDEE, D. D.; GUELDNER, R. C.; THOMPSON, A. C.; HEDIN P. A.; MINYARD, J. P. Sex pheromone produced by the male boll weevil: isolation, identification, and synthesis. *Sci.* 166: p. 1010–1012, (1969).

YUAN, J.; CHAMBERS, H. W. Evaluation of the role of boll weevil aliesterases in noncatalytic detoxication of four organophosphorus insecticides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 61: p. 135-143, (1998).

Sigmae, Alfenas, v.8, n.2, p. 393-404, 2019.

64ª Reunião da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria (RBRAS).
18º Simpósio de Estatística Aplicada à Experimentação Agronômica (SEAGRO).

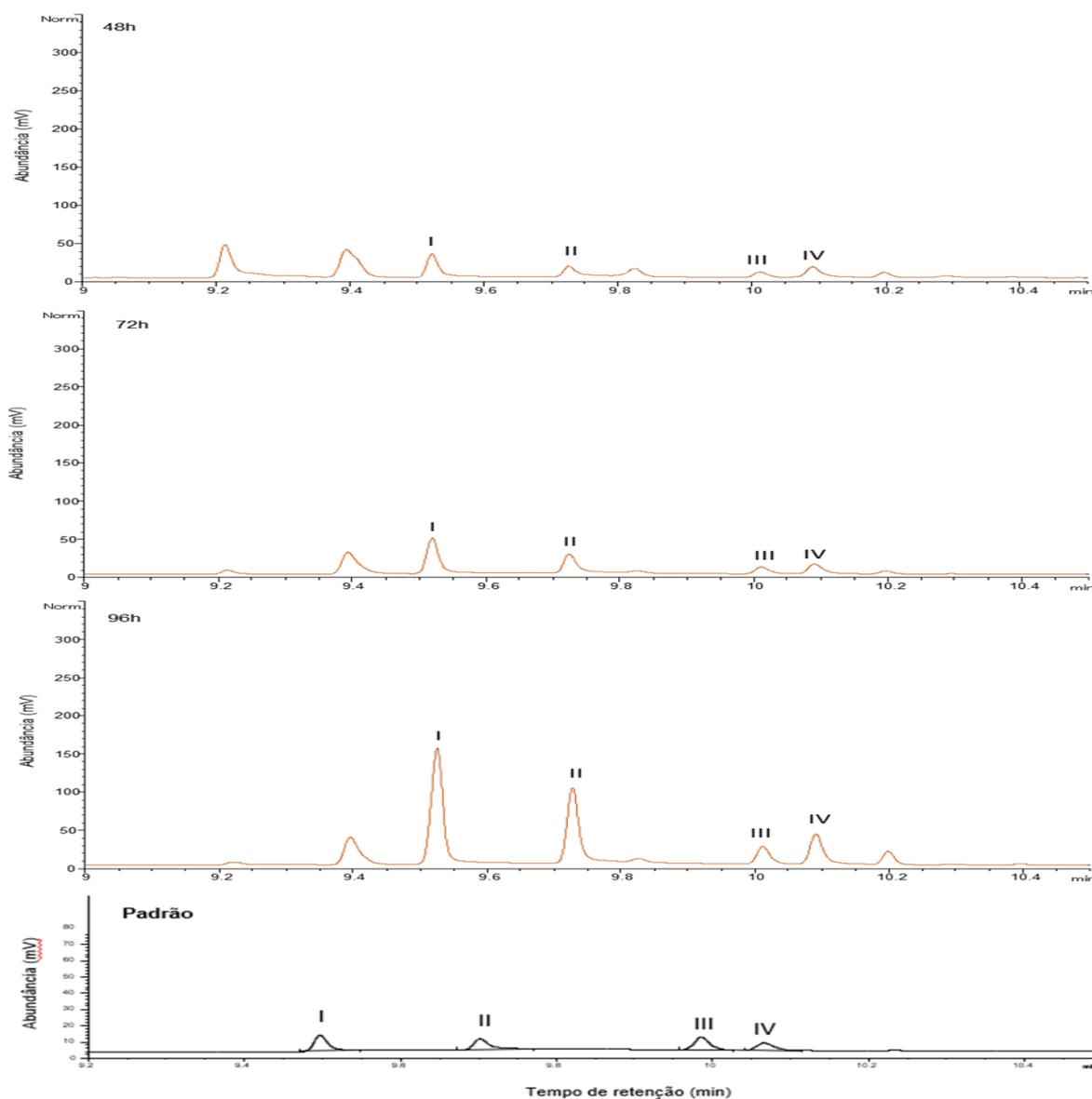
ANEXO A - Perfil cromatográfico (pA) das amostras de coleta de voláteis de machos de *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) pertencentes ao tratamento controle, evidenciando os quatro componentes do feromônio de agregação: I. (+)-cis-2-isopropenil-1-metilciclobutano-etanol; II. cis-2-(3,3-dimetil)-ciclohexilideno-etanol; III. cis-3,3-dimetilciclohexilideno-acetaldeído; IV. trans-3,3-dimetilciclohexilidenoacetaldeído.



Sigmae, Alfenas, v.8, n.2, p. 393-404, 2019.

64^a Reunião da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria (RBRAS).
18^o Simpósio de Estatística Aplicada à Experimentação Agrônoma (SEAGRO).

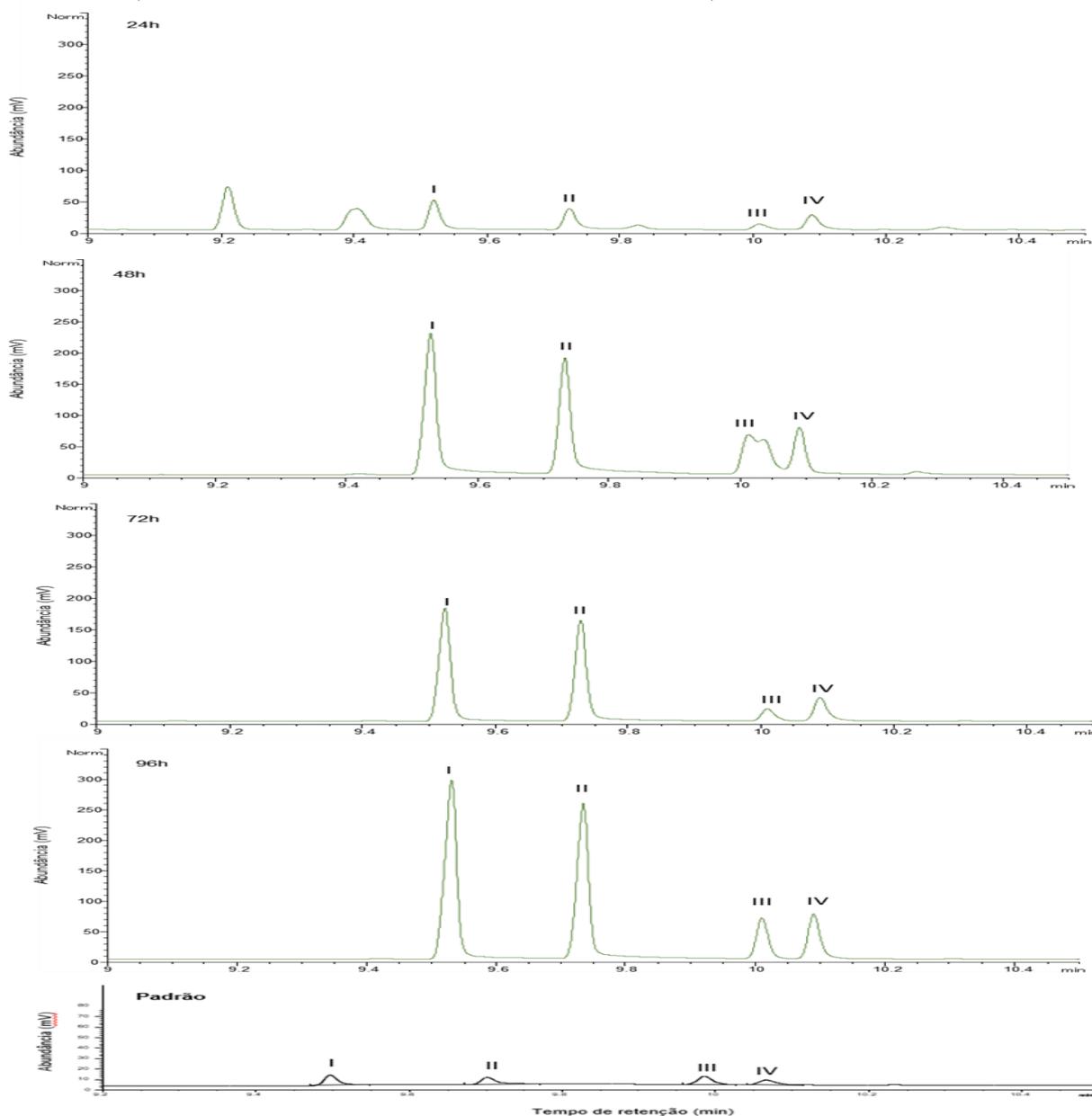
Anexo B - Perfil cromatográfico (pA) das amostras de coleta de voláteis de machos de *A. grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) expostos ao inseticida beta-ciflutrina, evidenciando os quatro componentes do feromônio de agregação: I. (+)-cis-2-isopropenil-1-metilciclobutano-etanol; II. cis-2-(3,3-dimetil)-ciclohexilideno-etanol; III. cis-3,3-dimetilciclohexilideno-acetaldeído; IV. trans-3,3-dimetilciclohexilidenoacetaldeído.



Sigmae, Alfenas, v.8, n.2, p. 393-404, 2019.

64^a Reunião da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria (RBRAS).
18^o Simpósio de Estatística Aplicada à Experimentação Agrônoma (SEAGRO).

**ANEXO C - Perfil cromatográfico (pA) das amostras de coleta de voláteis de achos de *A. grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) expostos ao inseticida malatiom, evidenciando os quatro componentes do feromônio de agregação: I. (+)-cis-2-isopropenil-1-metilciclobutano-
etanol; II. cis-2-(3,3-dimetil)-ciclohexilideno-etanol; III. cis-3,3-dimetilciclohexilideno-
acetaldeído; IV. trans-3,3-dimetilciclohexilidenoacetaldeído.**



Sigmae, Alfenas, v.8, n.2, p. 393-404, 2019.

64^a Reunião da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria (RBRAS).

18^o Simpósio de Estatística Aplicada à Experimentação Agrônoma (SEAGRO).