

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CASSILÂNDIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**DESCRIÇÃO DO APARELHO REPRODUTOR FEMININO DE
Cyclocephala melanocephala (COLEOPTERA: SCARABAEIDAE) E
IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS**

GABRIELLE KALINI DOS SANTOS BORGES

CASSILÂNDIA – MS
JUNHO/2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CASSILÂNDIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**DESCRIÇÃO DO APARELHO REPRODUTOR FEMININO DE
Cyclocephala melanocephala (COLEOPTERA: SCARABAEIDAE) E
IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS**

GABRILLE KALINI DOS SANTOS BORGES

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Roberto Rodrigues

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia, com área de concentração em Sustentabilidade na Agricultura.

CASSILÂNDIA – MS
JUNHO/2026

B731d Borges, Gabrielle Kalini dos Santos

Descrição do aparelho reprodutor feminino de *Cyclocephala melanocephala* (Coleoptera: Scarabaeidae) e identificação de bactérias associadas / Gabrielle Kalini dos Santos Borges. – Cassilândia, MS: UEMS, 2026.

29 p.

Dissertação (Mestrado) – Agronomia– Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2026.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Roberto Rodrigues.

1. *Bacillus* 2. Comunicação química 3. Scarabaeoidea I. Rodrigues, Sérgio Roberto
II. Título

CDD 23. ed. - 595.764

Ficha Catalográfica elaborada pela bibliotecária da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS)

Susy dos Santos Pereira CRB1°1783

Governo do Estado de Mato Grosso do Sul
Fundação Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
PROPP - Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
UEMS - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul - Sede Dourados
UUCass - Unidade Universitária de Cassilândia
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
PGAC - Área de Concentração em Sustentabilidade na Agricultura

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: DESCRIÇÃO DO APARELHO REPRODUTOR FEMININO DE *Cyclocephala melanocephala* (COLEOPTERA: SCARABAEIDAE) E IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS

AUTOR: GABRIELLE KALINI DOS SANTOS BORGES

ORIENTADOR: PROF. DR. SÉRGIO ROBERTO RODRIGUES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de concentração: "Sustentabilidade na Agricultura", pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **SERGIO ROBERTO RODRIGUES**
Data: 22/06/2026 10:48:29-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Sérgio Roberto Rodrigues – UEMS
Orientador

Documento assinado digitalmente
 **CRISTIANO MOREIRA**
Data: 23/06/2026 18:42:47-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Cristiano Moreira – UEMS

Documento assinado digitalmente
 **FLAVIO LEMES FERNANDES**
Data: 22/06/2026 20:10:34-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Flávio Lemes Fernandes – UFV

Data da realização: 22 de junho de 2026.

“Se você não tivesse capacidade, Deus não te daria oportunidade. Seus medos você já conhece experimente suas coragens.”

Santa Terezina do Menino Jesus.

DEDICATÓRIA

Às mulheres que transformam e iluminam a minha vida com sua força, coragem e fé: Nossa Senhora, minha inspiração maior; minha avó Maria, que partiu, deixando um legado eterno de resistência, amor e fé; minha mãe Eliana, que, com sua perseverança e amor incondicional, sempre me incentivou e apoiou; e minha madrinha Elizete, fonte de orientação, acolhimento e força.

Vocês são exemplos de mulheres guerreiras e potentes, cuja presença, amor e ensinamentos me ensinaram que, sem Deus, nada sou, mas, com Ele, tudo posso. Sou imensamente grata por nunca terem soltado a minha mão, por acreditarem em mim e por me inspirarem a seguir em frente com fé, coragem e determinação. Esta conquista também é de vocês, que fazem parte da minha essência, da minha história e do meu caminho.

À minha pequena Catarina, que, embora ainda cresça dentro de mim, já transforma a minha vida e me impulsiona a ser uma mulher e uma profissional melhor. Sua chegada ressignifica esta conquista e amplia o sentido de tudo o que percorri até aqui. Que você encontre em mim a mesma luz, força e inspiração que encontro, todos os dias, nas mulheres fortes que nos antecederam. Que eu possa transmitir a você o amor, a fé e a coragem que recebi delas.

Esta dissertação é dedicada a todas vocês, mulheres da minha vida, que me ensinaram a lutar, acreditar e seguir sempre em frente.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ser a base das minhas conquistas, meu refúgio e minha fortaleza em todos os momentos da minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sérgio Roberto Rodrigues, agradeço pela paciência, orientação e incentivo constante. Sua dedicação é, para mim, um verdadeiro exemplo de profissionalismo e ética.

Ao meu companheiro, Jean, agradeço pelo amor, pela compreensão e apoio firme em cada decisão tomada. Sua presença foi fundamental para que eu chegasse até aqui.

Às minhas amigas: Carla, por estar sempre ao meu lado me oferecendo suporte e encorajamento; e Gabriela, por ter sido a voz que me incentivou a ingressar nesta jornada.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS	11
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
2.1 Localização da área experimental e estudos do aparelho reprodutor feminino....	13
2.2 Extração e identificação bacteriana	16
2.3 Bioensaios em campo	17
3. RESULTADOS	18
3.1 Aparelho Reprodutor Feminino.....	18
3.2 Bactérias presentes no aparelho reprodutor e bioensaios em campo	21
4. DISCUSSÃO.....	24
5. CONCLUSÃO.....	26
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultado da identificação de bactérias presentes em câmara genital e glândulas acessórias de <i>cyclocephala melanocephala</i>	20
--	-----------

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Armadilha luminosa modelo Luiz de Queiroz utilizada para atratividade de adultos de *Cyclocephala melanocephala*..... **14**
- Figura 2.** Armadilha com painel de interceptação preta utilizada para os testes de atratividade de câmara genital e glândulas acessórias de *Cyclocephala melanocephala*..... **16**
- Figura 3.** Peças constituintes do aparelho reprodutor feminino de *Cyclocephala melanocephala*. CG) Câmara genital; BC) Bolsa copuladora; OV) Ovários e seus ovariolos; GA) Glândula acessória; E) Espermateca; GE) Glândula espermática, OV) Oviduto comum, OL) Oviduto lateral. Escala 1mm.. **17**
- Figura 4.** Aparelho reprodutor feminino de *Cyclocephala melanocephala*. CG) Câmara genital; BC) Bolsa copuladora; OV) Ovários e seus ovariolos; GA) Glândula acessória; E) Espermateca; GE) Glândula espermática; OL) Oviduto lateral; OV) Oviduto comum.. **18**
- Figura 5.** Aparelho reprodutor feminino de *Cyclocephala melanocephala*. A) E - Espermateca e GE - glândula espermática; B) GL I e II - Glândulas acessórias I e II; C) PV I e II - Placas ventrais I e II sobrepostas sobre glândulas acessórias; D) PD - Placas dorsais sobrepostas sobre glândulas acessórias. Escala 1 mm. **19**

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

B.O.D	Incubadora BOD
BC	Bolsa copuladora
BDA	Batata-dextrose-ágar
BLAST	Ferramenta Básica de Busca por Alinhamento Local
CG	Câmara genital
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
E	Espermateca
GA	Glândula acessória
GE	Glândula espermática
GL I e II	Glândulas acessórias I e II
OL	Oviduto lateral
OV	Oviduto comum
OV	Ovários e seus ovariolos
OV	Oviduto comum
PD	Placas dorsais sobrepostas sobre glândulas acessórias.
PV I e II	Placas ventrais I e II sobrepostas sobre glândulas acessórias
RNA	Ácido Ribonucleico

RESUMO: Adultos e larvas de *Cyclocephala melanocephala* podem causar prejuízos às plantas cultivadas. A reprodução da espécie ocorre por meio da comunicação química entre machos e fêmeas, mediada pela liberação de feromônios. Nesse contexto, considera-se que o aparelho reprodutor feminino de espécies da família Scarabaeidae possa estar envolvido na produção e liberação desses compostos, desempenhando papel essencial no processo reprodutivo desses insetos. Deste modo, o presente trabalho possui como objetivo desenvolver estudos para descrição do aparelho reprodutor feminino de *C. melanocephala*. O estudo foi conduzido na área experimental da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, em Cassilândia, MS de setembro a dezembro de 2025. Adultos de *C. melanocephala* foram coletados com armadilha luminosa, e em laboratório houve a sexagem dos insetos. As fêmeas foram congeladas em freezer a -1°C, e seu aparelho reprodutor foi analisado e descrito. As bactérias presentes no aparelho reprodutor feminino foram isoladas, analisadas e identificadas. A câmara genital e glândulas acessórias de fêmeas foram extraídas e acondicionadas em porções de algodão, e posteriormente inseridas em armadilhas em campo, para verificação da atratividade por adultos. Ao caracterizar o aparelho reprodutor feminino de *C. melanocephala* observou-se a presença de câmara genital, glândulas acessórias, bolsa copuladora, espermateca e glândula espermática, um par de ovários com seis ovários, dois pares de placas genitais ventrais e um par de placas dorsais. Foram identificadas bactérias do gênero *Bacillus* sp e *Brevundimonas* sp., porém acredita-se que possam estar associadas ao trato digestivo das fêmeas. As armadilhas instaladas em campo com câmara genital e glândulas acessórias não atraíram adultos de *C. melanocephala*, porém, atraíram machos de *L. suturalis*. Descreve-se pela primeira vez o aparelho reprodutor feminino de *C. melanocephala*.

PALAVRAS-CHAVE: *Bacillus*, comunicação química, Scarabaeoidea.

ABSTRACT: Adults and larvae of *Cyclocephala melanocephala* can cause damage to cultivated plants. Reproduction in this species occurs through chemical communication between males and females, mediated by the release of pheromones. In this context, the female reproductive system of species in the family Scarabaeidae is thought to be involved in the production and release of these compounds, playing an essential role in the reproductive process of these insects. Thus, the present work aims to develop studies to describe the female reproductive system of *C. melanocephala*. The study was conducted in the experimental area of the State University of Mato Grosso do Sul, in Cassilândia, MS, from September to December 2025. Adults of *C. melanocephala* were collected using a light trap, and the insects were sexed in the laboratory. The females were frozen in a freezer at -1°C, and their reproductive system was analyzed and described. The bacteria present in the female reproductive system were isolated, analyzed, and identified. The genital chamber and accessory glands of females were extracted and placed in portions of cotton, and subsequently inserted into traps in the field to verify their attractiveness to adults. Characterization of the female reproductive system of *C. melanocephala* revealed the presence of a genital chamber, accessory glands, copulatory bursa, spermatheca, and spermatid gland, a pair of ovaries with six ovarioles, two pairs of ventral genital plates, and a pair of dorsal plates. Bacteria of the genera *Bacillus* sp. and *Brevundimonas* sp. were identified, but it is believed that they may be associated with the digestive tract of the females. The traps installed in the field containing the genital chamber and accessory glands did not attract adult *C. melanocephala*, but they did attract male *L. suturalis*. The female reproductive system of *C. melanocephala* is described for the first time.

KEY WORDS: *Bacillus*, chemical communication, Scarabaeoidea.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Cyclocephala* Dejean, 1821 (Dynastinae: Cyclocephalini) compreende um grande grupo de 123 espécies ocorrendo no Brasil (Grossi & Vaz-de-Mello, 2019). A reprodução desses insetos ocorre a partir de revoadas em diferentes períodos do ano, para *C. verticalis* os adultos foram coletados em maiores quantidades de setembro e dezembro, caracterizando como o principal período reprodutivo (Rodrigues et al. 2010). Para *C. tucumana* o período de ocorrência dos adultos foi registrado de setembro a novembro (Nogueira et al., 2013), e para os adultos de *C. putrida* foram observados voando por curto período de janeiro a fevereiro (Saldanha et al., 2020).

Durante os períodos de revoada, os adultos de *Cyclocephala* são observados se nutrindo de flores de várias espécies vegetais (Maia & Schlindwein, 2006; Oliveira & Ávila, 2011; Moore & Jameson, 2013; Maia et al., 2013), e neste momento realizam várias etapas relacionadas ao comportamento de cópula (Maia et al., 2013). Os processos que antecedem a cópula podem ser intermediados por liberação de feromônio sexual, identificada em diversas espécies de Scarabaeidae como *Phyllophaga cuyabana* (Moser, 1918) (Zarbin et al., 2007), *Oryctes elegans* Prell, 1914 (Rochat et al., 2004), *Holotrichia reynaudi* Blanchard, 1850 (Ward et al., 2002) e *Phyllophaga georgiana* (Horn, 1885) (Robbins et al., 2009).

O aparelho reprodutor feminino possui importância para a reprodução de Scarabaeidae, estruturas como a espermateca (órgão ectodérmico) são fundamentais para assegurar a viabilidade dos espermatozoides, e desta forma garantir o sucesso reprodutivo dos insetos (Pascini & Martins, 2017). De acordo com Pascini e Martins (2017) a quantidade e a morfologia da espermateca variam em função da espécie. De modo geral, o aparelho reprodutor feminino é responsável tanto pelo armazenamento de espermatozoides, mas também pelo transporte, nutrição dos gametas, produção de ovos e oviposição, processos essenciais para o sucesso reprodutivo (Carrillo-Ruiz et al., 2008; Vomano et al., 2022).

O aparelho reprodutor feminino de Scarabaeidae pode abrigar espécies de bactérias como observado em fêmeas de *Cyclocephala lunulata* e *Cyclocephala barrerae* (Sanchez-Cruz et al., 2020) e de *Phyllophaga obsoleta* (Rosete-Enríquez & Romero-López, 2017). As bactérias presentes no aparelho reprodutor feminino podem influenciar na produção de compostos capazes de exercer atração entre os sexos, além de outras funções ainda não descritas (Sanchez-Cruz et al. 2020).

Estudos a respeito da descrição do aparelho reprodutor feminino em espécies de *Cyclocephala* que ocorrem nas regiões de agrícolas do Brasil, são limitados. No centro-oeste

brasileiro *Cyclocephala melanocephala* é descrita como praga agrícola na cultura do girassol (Camargo & Amabile 2001) e como praga desfolhadora na seringueira (Taira et al. 2014). Diante do exposto o presente estudo teve como objetivo descrever e ilustrar o aparelho reprodutor interno de *C. melanocephala*, bem como identificar as bactérias associadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização da área experimental e estudos do aparelho reprodutor feminino

Os estudos foram conduzidos na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), na unidade universitária de Cassilândia, MS. Adultos de *Cyclocephala melanocephala* foram coletados de 19 setembro a 19 de dezembro de 2025, para estudo do aparelho reprodutor feminino. Foi instalada uma armadilha luminosa modelo Luiz de Queiroz ao lado em área de pastagem com a gramínea *Urochloa decumbens* (Stapf) R.D. Webster na fazenda experimental da UEMS (Figura 1). A armadilha foi acionada das 18:00h às 6:00h do dia seguinte. Os insetos coletados foram conduzidos ao laboratório de entomologia da UEMS, posteriormente foram separados em machos e fêmeas a partir de características morfológicas do pró-tarsomero que é dilatado nos machos como descrito por Rodrigues et al. (2018).



Figura 1. Armadilha luminosa Luiz de Queiroz utilizada para os testes de atratividade para adultos de *Cyclocephala melanocephala*.

Após a separação as fêmeas foram acondicionadas em freezer a -1°C para a preservação de suas estruturas. Inicialmente, com uso de estereoscópio realizou-se a extração da porção final

do abdome de 20 fêmeas. Em seguida as estruturas que compõem o aparelho reprodutor foram observadas, desenhadas e fotografadas em estereoscópio com câmara clara e em microscópio com câmara clara. A nomenclatura das partes constituintes do aparelho reprodutor feminino foi realizada com base na metodologia de Sanchez-Cruz et al. (2022). Para a visualização das partes que compõem o aparelho reprodutor feminino foi utilizado o corante azul de tripan para colorir os tecidos e permitir melhor visualização (Fernández-Bautista et al., 2016).

2.2 Extração e identificação bacteriana

Para a obtenção das bactérias presentes no aparelho reprodutor de *C. melanocephala*, foram preparados dois lotes de amostras, obtidos e processados por procedimentos distintos.

No primeiro procedimento, foram utilizadas dez fêmeas coletadas com armadilha luminosa. Com o auxílio de um estereoscópio, realizou-se a retirada do aparelho reprodutor feminino. Em seguida, a câmara genital e as glândulas acessórias foram separadas com o auxílio de pinças e bisturi. Para a higienização do material, a câmara genital e as glândulas acessórias foram imersas em solução de etanol 70% durante um minuto e, posteriormente submetidas a três lavagens em água destilada esterilizada, durante um minuto. Após a higienização, as estruturas foram acondicionadas em placas de Petri de forma equidistantes, contendo meio Batata-Dextrose -Ágar (BDA).

O meio BDA foi preparado utilizando-se a infusão de 200 g de batatas descascadas, acrescida de 20 g de dextrose e 20 g de ágar, com volume aferido para 1000 ml em água destilada. As placas de Petri foram mantidas em câmara climatizada com temperatura de 25 °C e sem fotoperíodo. Após 48 horas as placas foram avaliadas quanto à formação de colônias. As porções das colônias em crescimento foram transferidas para novas placas de Petri contendo meio BDA, com o objetivo de promover a multiplicação e o isolamento do material microbiano (metodologia adaptada de Hoyt; Osborne; Mulcock, 1971). Posteriormente as bactérias foram transferidas, utilizando condições assépticas, para o interior de tubos Falcon contendo 10mL de água destilada esterilizada. A suspensão bacteriana foi enviada ao laboratório para a extração e análise do DNA microbiano (metodologia adaptada de Hoyt; Osborne; Mulcock, 1971).

No segundo procedimento, foram utilizadas cinco fêmeas de *C. melanocephala*. Após a retirada da câmara genital e das glândulas acessórias, o material foi higienizado por imersão em solução de etanol 70% durante um minuto, seguida de três lavagens em água destilada esterilizada, durante um minuto cada. Em seguida, as estruturas foram maceradas e transferidas, sob condições assépticas, para tubos Falcon contendo 10 ml de água destilada esterilizada. As

amostras foram encaminhadas ao laboratório para a extração e análise do DNA microbiano (metodologia adaptada de Hoyt; Osborne; Mulcock, 1971).

Para identificação das bactérias foram realizadas a extração de DNA, preparo de biblioteca de amplicons para bactéria (região V3V4 do gene 16S rRNA, ~ 470 pb, primers 341F [5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3'] e 806R [5'-GGACTACNNGGGTATCTAAT-3']), sequenciamento em plataforma Illumina (PE 250, 50 a 100 mil reads de dados brutos por amostra) pela empresa Bymycell. Foram utilizadas para identificação a ferramenta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), pela empresa Bymycell (Klindworth et al., 2013).

2.3 Bioensaios em campo de atratividade de adultos de *C. melanocephala*

Para os bioensaios instalados em campo, para verificação da atratividade de bactérias presentes no aparelho reprodutor feminino ou bactérias multiplicadas em meio enriquecido, sobre adultos de *C. melanocephala*, foram instalados dois experimentos em campo.

Para condução do primeiro experimento fêmeas de *C. melanocephala* foram coletadas com armadilha luminosa modelo Luiz de Queiroz, posteriormente foram congeladas em freezer a -1°C por 10 minutos. A câmara genital com glândulas acessórias, foram extraídas observando-se em estereoscópio, em seguida foram acondicionadas em algodão dental mantido túrgido com água (Coltene Whaledent Inc., Langenau, Alemanha). O algodão contendo a câmara genital com glândulas acessórias de três fêmeas adultas, foi inserido em sachês de polietileno (5 cm de largura × 7 cm de altura, espessura de parede de 0,08 mm; Bompac®, Itajaí, SC, Brasil) em seguida acondicionado nas armadilhas. Os tratamentos consistiram de armadilhas contendo como atrativo a câmara genital com glândulas acessórias e armadilhas sem atrativo. Foram utilizadas oito armadilhas, instaladas de 29 de setembro a 03 de outubro de 2025, as quais permaneceram das 18:00h até as 6:00h do dia seguinte instaladas no campo, quando as mesmas, foram avaliadas e os insetos recolhidos. Foram utilizadas 20 repetições para cada tratamento. Foram utilizadas armadilhas de painel de interceptação preta (metodologia adaptada de Favaris et al., 2020) (Figura 2).

O segundo experimento foi iniciado a partir de bactérias multiplicadas em laboratório, as quais foram acondicionadas em algodão dental mantido túrgido com água (Coltene Whaledent Inc., Langenau, Alemanha). O algodão contendo as bactérias foi inserido em sachês de polietileno (5 cm de largura × 7 cm de altura, espessura de parede de 0,08 mm; Bompac®, Itajaí, SC, Brasil) em seguida acondicionado nas armadilhas. Os tratamentos consistiram de armadilhas contendo como atrativo a colônia bacteriana e armadilhas sem atrativo. Foram

utilizadas oito armadilhas, instaladas de 13 a 17 de outubro, das 18:00h até as 6:00h do dia seguinte instaladas no campo, quando as mesmas, foram avaliadas e os insetos recolhidos. Foram utilizadas 20 repetições para cada tratamento. Foram utilizadas armadilhas de painel de interceptação preta (metodologia adaptada de Favaris et al., 2020) (Figura 2). Nos dois experimentos foram utilizados o delineamento em blocos casualizados. Os dados foram analisados como teste de Wilcoxon utilizando o software RStudio e pacotes ggpubr (Kassambara, 2026), ggplot2 (Wickham, 2016) e effectsze (Ben-Shachar et al., 2020).



Figura 2. Armadilha com painel de interceptação preta utilizada para os testes de atratividade de câmara genital e glândulas acessórias de *Cyclocephala melanocephala*.

3. RESULTADOS

3.1 Aparelho Reprodutor Feminino

As análises conduzidas no aparelho reprodutor feminino evidenciaram a presença de câmara genital, de dois pares de glândulas acessórias, espermateca com glândula espermática, bolsa copuladora e ovários, placas genitais dorsais e ventrais (Figuras 3, 4 e 5).

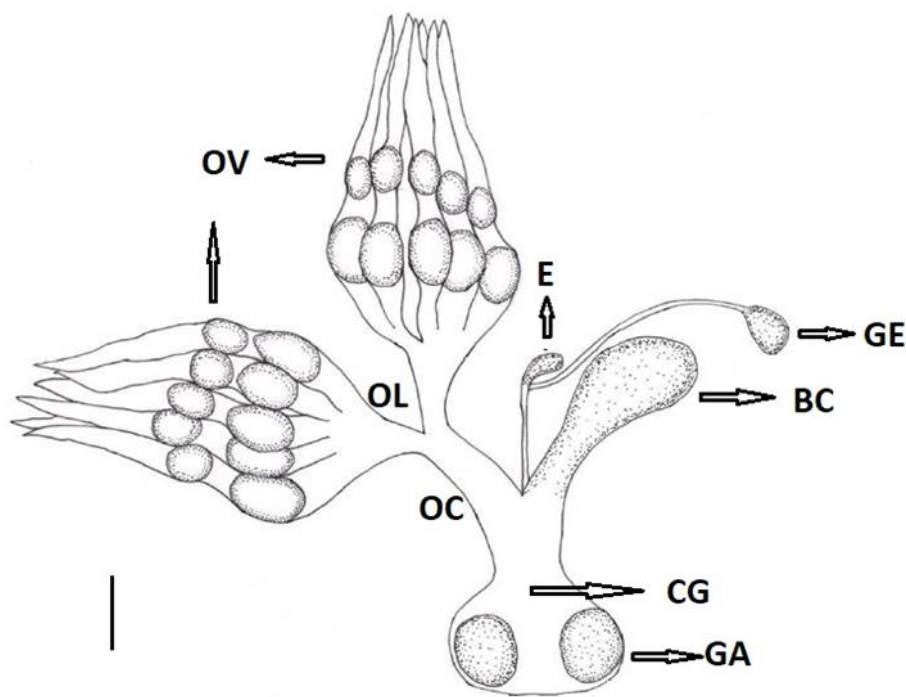


Figura 3. Aparelho reprodutor feminino de *Cyclocephala melanocephala*. Câmara genital (CG); Bolsa copuladora (BC); Ovários e seus ováriosolos (OV); Glândula acessória (GA); Espermateca (E); Glândula espermática (GE); Oviduto lateral (OL); Oviduto comum (OV). Escala 1mm.

A câmara genital é circular e apresenta quatro glândulas acessórias, e nela estão conectados o oviduto comum, a bolsa copuladora e o duto da espermateca (Figuras 3 e 4). A primeira glândula é maior com formato oval com 2 mm de comprimento e 1,75 mm de largura, possui estrutura de coloração marrom clara, imediatamente ao seu lado é observado a segunda glândula que possui formato oval com 1,33 mm de comprimento e 0,83 mm de largura e aspecto transparente sendo possível sua visualização após coloração (Figura 4).

As fêmeas possuem dois ovários, e cada ovário possui seis ováriosolos. Cada ovário possui oviduto lateral, os quais se unem e formam o oviduto comum e se conecta a câmara genital. Cada ováriosolo é formado por um filamento terminal, germário, vitelário e pedicelo. No vitelário são observados oócitos em desenvolvimento (Figura 3 e 4).

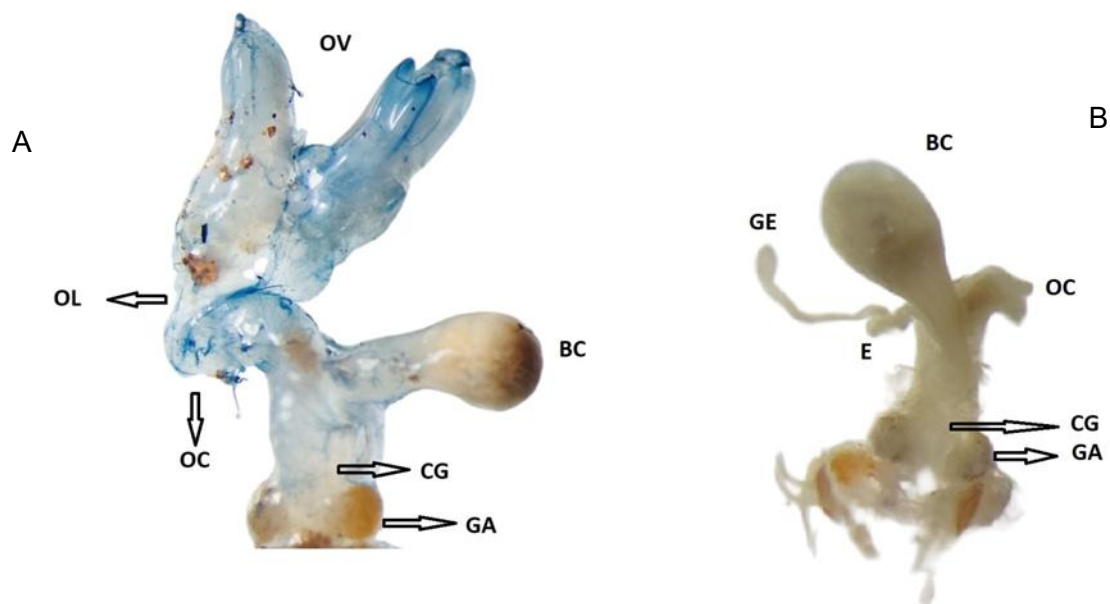


Figura 4. A) aparelho reprodutor feminino; B) Porção final do aparelho reprodutor de *Cyclocephala melanocephala*. Câmara genital (CG); Bolsa copuladora (BC); Ovários e seus ovários (OV); Glândula acessória (GA); Espermateca (E); Glândula espermática (GE); Oviduto lateral (OL); Oviduto comum (OV).

A bolsa copuladora possui 3mm de comprimento com base estreita e extremidade dilatada. A espermateca e a glândula espermática possuem 8,3 mm de comprimento da base de conexão na câmara genital até o ápice da glândula espermática. A espermateca é tubular e recurvada, e na sua extremidade abriga a glândula espermática a qual possui canal longo e no ápice é dilatada com formato oval (Figuras 3, 4 e 5).

Externamente a câmara genital são observados dois pares de placas genitais ventrais, o primeiro par é semicircular com pilosidade distribuída em sua superfície, e está posicionado sobre as glândulas acessórias, o segundo par possui formato de cone com pilosidade apical e está posicionado na região abaixo das glândulas acessórias (Figura 5). Na face dorsal observa-se um par de placas genital com formato irregular e com pontuações distribuídas na superfície, está posicionado imediatamente sobre as glândulas acessórias (Figura 5).

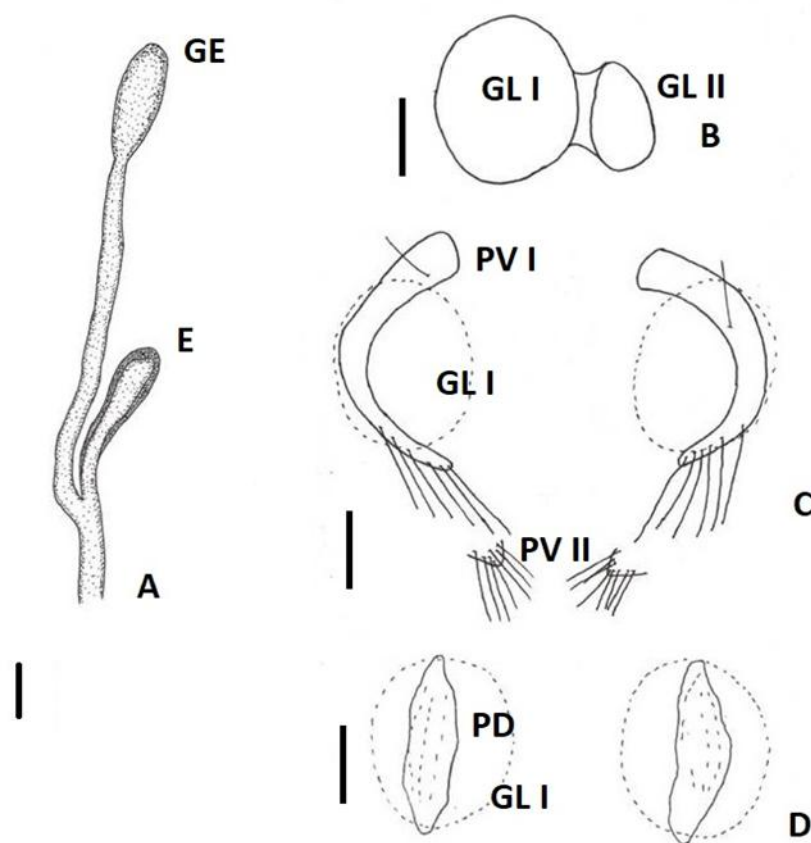


Figura 5. Aparelho reprodutor feminino de *Cyclocephala melanocephala*. A) E - Espermateca e GE - glândula espermática; B) GL I e II - Glândulas acessórias I e II; C) PV I e II - Placas ventrais I e II sobrepostas sobre glândulas acessórias; D) PD - Placas dorsais sobrepostas sobre glândulas acessórias. Escala 1 mm.

3.2 Bactérias presentes no aparelho reprodutor e bioensaios em campo

As análises realizadas na câmara genital e nas glândulas acessórias de fêmeas de *C. melanocephala* permitiram identificação de bactérias do gênero *Bacillus* sp. e *Brevundimonas* sp. (Tabela 1). A partir das informações a respeito da composição dos nucleotídeos das bactérias identificadas, e da comparação com o banco de comparação de informações, realizou-se a classificação das bactérias, como *Bacillus* sp. FSL L8-0661, *Bacillus aerophilus* e *Bacillus* sp. MX 47 (Tabela 1), e *Brevundimonas huaxiensis*, *B. vesicularis*, *B. diminuta* e *Brevundimonas* sp. (Tabela 1). Um valor de identidade alto (> 90%) indica uma correspondência próxima ou exata entre as sequências.

Tabela 1. Resultado da identificação de bactérias presentes nas glândulas acessórias de *Cyclocephala melanocephala*, utilizando a ferramenta Blast.

Espécie	Comprimento (pb)	Cobertura (%)	Identidade (%)
<i>Bacillus</i> sp.			
<i>Bacillus</i> sp. FSL L8-0661	1497	97	97,13
<i>Bacillus aerophilus</i>	1496	97	97,13
<i>Bacillus</i> sp. MX47	1420	92	98,03
<i>Brevundimonas</i> sp.			
<i>Brevundimonas huaxiensis</i>	1180	92	99,58
<i>Brevundimonas vesicularis</i>	1180	92	99,58
<i>Brevundimonas diminuta</i>	1180	92	99,58
<i>Brevundimonas</i> sp.	1180	92	99,58

As armadilhas instaladas contendo atrativo câmara genital com glândulas acessórias, ou com bactérias obtidas a partir do aparelho reprodutor feminino de *C. melanocephala*, não atraíram machos ou fêmeas dessa espécie, indicando que apenas partes do aparelho reprodutor feminino ou bactérias, não foram suficientes para exercer alguma atratividade para os adultos, ou ainda, as câmaras genitais com glândulas acessórias, não estariam produzindo compostos químicos relacionados à atratividade dos adultos.

As armadilhas contendo câmara genital com glândula acessória, atraíram pequena quantidade de machos de *Liogenys suturalis*, demonstrando alguma relação entre componentes químicos produzidos no aparelho reprodutor feminino de *C. melanocephala* que pode ser utilizado por adultos de *L. suturalis*, havendo diferença entre os tratamentos (Figura 6).

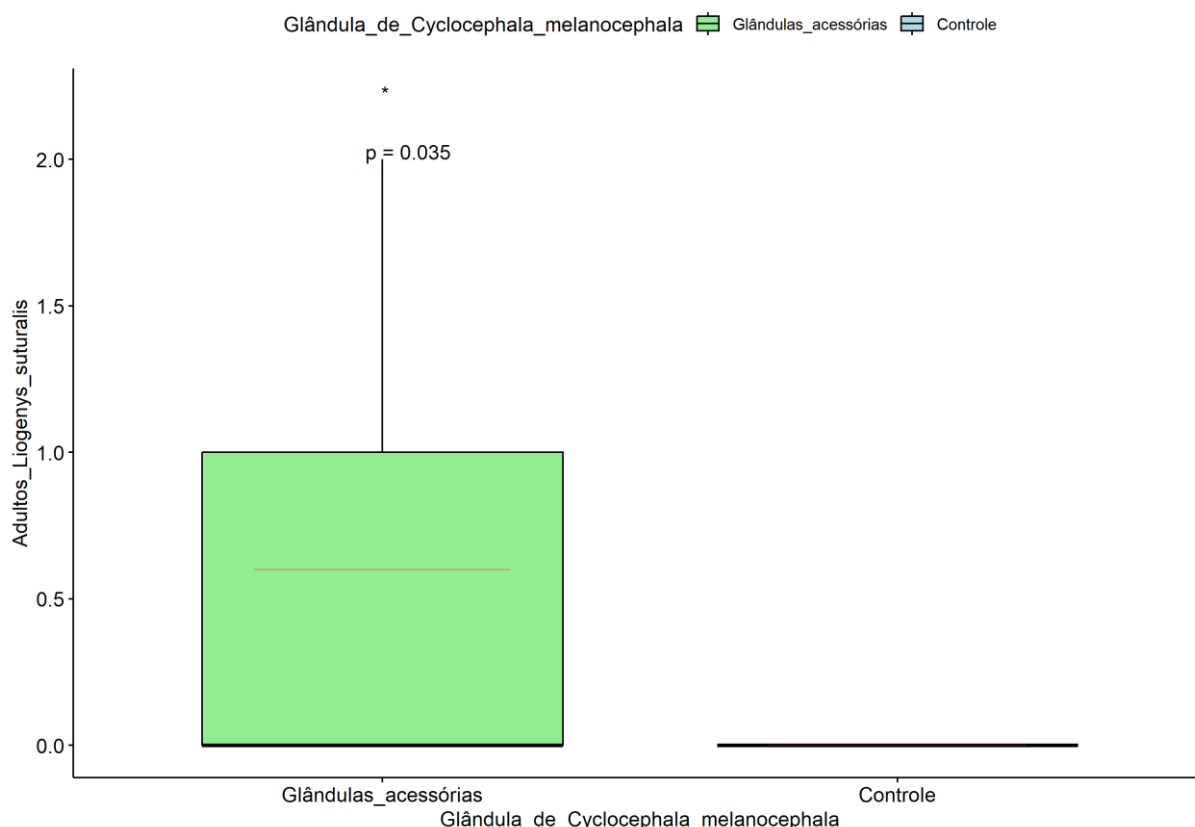


Figura 6. Efeito do tratamento com glândulas acessórias de *Cyclocephala melanocephala* na abundância de adultos de *Liogenys suturalis* (n = 10 por grupo).

A coleta de adultos de *Liogenys suturalis* apresentou diferenças entre os tratamentos, como observado na Figura 6. O grupo submetido ao tratamento com glândulas acessórias de *Cyclocephala melanocephala* exibiu distribuição distinta em relação ao controle.

A suposição de normalidade foi rejeitada pelo teste de Lilliefors ($p < 0,001$), justificando a utilização do teste não paramétrico de Wilcoxon para comparação entre os grupos. O teste indicou diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$), com tamanho de efeito moderado ($r = 0,48$), sugerindo que o tratamento exerceu influência consistente sobre a coleta de machos de *L. suturalis*.

Os resultados indicam que compostos presentes nas glândulas acessórias podem exercer influência sobre a abundância de *Liogenys suturalis*, possivelmente atuando como sinais químicos mediadores de interação entre espécies. Esse efeito pode estar associado à atração ou alteração comportamental da espécie-alvo, refletindo a importância de semioquímicos na dinâmica ecológica desses insetos

4. DISCUSSÃO

O aparelho reprodutor feminino de *C. melanocephala* possui as mesmas partes constituintes de outras espécies de *Cyclocephala*, como descrito para *C. barrerae* (Sanchez-Cruz et al. 2022) e *Cyclocephala jalapensis* (Martínez-Morales e Morón 2015).

Os ovários e ovariolos, câmara genital e bolsa copuladora são semelhantes entre as espécies do gênero *Cyclocephala*. Nos ovariolos de *C. melanocephala* foi possível observar vários óvulos em desenvolvimento da mesma forma como descrito em várias espécies de *Cyclocephala*. Esses resultados comprovam que durante as revoadas os insetos encontram-se em seu período reprodutivo.

As placas genitais de *C. melanocephala* apresentam formatos e pilosidade distintos de *C. barrerae* (Sanchez-Cruz et al. 2022) e *Cyclocephala jalapensis* (Martínez-Morales e Morón 2015). Essas placas genitais são compostas por estruturas esclerotizadas e endurecidas, constituídas de quitina (Cocks & Eady, 2018) sendo importantes para a taxonomia, isto por que sua morfologia é variada entre espécies de *Cyclocephala*.

A espermateca apresenta formato semelhante entre as espécies, porém a glândula espermática de *C. melanocephala* apresenta pequenas modificações em seu comprimento e dilatação da porção apical quando comparado com *C. barrerae* e *C. jalapensis* (Sanchez-Cruz et al. 2022; Martínez-Morales e Morón 2015). O formato das glândulas acessórias de *C. melanocephala* difere das glândulas acessórias descritas para *C. jalapensis*, *C. barrerae* e *C. lunulata* (Sanchez-Cruz et al. 2020 e 2022).

As evidências obtidas no presente estudo apontam que as partes constituintes do aparelho reprodutor de fêmeas de *C. melanocephala* são similares a de outras espécies do gênero, contudo, são observadas algumas variações morfológicas. Essas variações podem ser utilizadas para facilitar a identificação das espécies do gênero *Cyclocephala*, auxiliando assim no processo de taxonomia.

Na câmara genital e glândulas acessórias de *C. melanocephala*, foram identificadas bactérias *Bacillus* sp e *Brevundimonas* sp. Bactérias do gênero *Bacillus* foram registradas em outros insetos, Ren et al. (2020) identificaram em *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae), no final do trato digestivo de machos. Os autores associaram essas bactérias a produção de feromônios sexuais, como 3,5-trimetilpirazina (TMP) e 2,3,5,6-tetrametilpirazina (TTMP), exercendo atração sobre fêmeas (Ren, et al. 2020). Bactérias do gênero *Brevundimonas* foram verificadas no trato digestivo de *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae) como descrito por (Huang et al. 2025).

Para coleópteros da família Scarabaeidae a associação de bactérias com o aparelho reprodutor feminino foi descrita em *Costelytra zealandica* (Stringer, (1988). Em *C. lunulata* foram identificadas bactérias *Klebsiella* sp. e *Morganella morganii*, enquanto que em *C. barrerae* foram identificadas *Klebsiella oxytoca* e *Citrobacter freundii* (Sanchez-Cruz et al. 2020). Em *Phyllophaga obsoleta* (Rosete-Enríquez e Romero-López, 2017), identificaram bactérias *Klebsiella oxytoca* e *Klebsiella michiganensis*.

Os resultados descritos no presente estudo comprovam a existência de bactérias de diferentes gêneros e espécies no aparelho reprodutor feminino de Scarabaeidae. Desta forma, torna-se possível afirmar que fêmeas da espécie *Cyclocephala melanocephala* assim como outras espécies da família Scarabaeidae, possui bactéria em seu aparelho reprodutor.

Em espécies de *Cyclocephala*, já foram relatadas a comunicação química entre adultos, pois evidências de presença de feromônio sexual são conhecidas para *Cyclocephala lurida* como descrito nos experimentos conduzidos por Bauernfeind et al. (1999), evidenciando a importância dos compostos químicos para a comunicação entre os adultos. Em fêmeas de *C. lunulata* estudos histológicos permitiram demonstrar a presença de dutos no VI tergito presente nas fêmeas, o qual pode ser para liberação de compostos químicos como feromônios, e tais dutos não estão presentes em machos (Benítez-Herrera et al. 2024).

Existem outras formas de comunicação entre os adultos de *C. melanocephala*, pois estudos conduzidos por Rodrigues et al. (2018) sobre o comportamento de cópula dessa espécie, demonstram que o macho ao encontrar a fêmea, toca a mesma com os pré-tarsômeros e as antenas, possivelmente nesse momento ocorre o reconhecimento e identificação química entre ambos. Além disso, as fêmeas não aceitaram machos para cópula, indicando reconhecimento químico, no entanto, não foi observada evidência de liberação de feromônio sexual. Os mesmos autores ainda descreveram várias etapas do comportamento de cópula de *C. melanocephala*, ocorrem entre as 18:00h as 00:00h.

As glândulas acessórias com câmara genital utilizadas nas armadilhas, não atraíram adultos de *C. melanocephala*, demonstrando que apenas parte do aparelho reprodutor feminino não exerceram atratividade para os adultos. Porém, nas armadilhas foram encontrados machos de *Liogenys suturalis*, o que pode indicar que os compostos produzidos no aparelho reprodutor feminino de fêmeas de *C. melanocephala*, pode ter alguma semelhança com os compostos produzidos por fêmeas de *L. suturalis*. Além de que, estes compostos podem estar associados ao feromônio sexual de *L. suturalis*. Contudo, recomenda-se a condução de novos estudos para a validação dessas associações.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo avança o conhecimento taxonômico e biológico ao apresentar a descrição detalhada da morfologia do aparelho reprodutor feminino de *C. melanocephala*, permitindo o avanço nos estudos também de comunicação química. Apesar de se identificar *Bacillus* sp e *Brevundimonas* sp. há necessidade de detalhamento desses estudos para identificar com precisão as bactérias associadas ao sistema reprodutor feminino.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAUERNFEIND, R. J.; HAYNES, K. F.; POTTER, D. A. BAUERNFEIND, R. J.; HAYNES, K. F.; POTTER, D. A. Responses of three *Cyclocephala* (Coleoptera: Scarabaeidae) species to hexane extracts of *Cyclocephala lurida* sex pheromone. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.72, n.2, p.246-247, 1999.

BENÍTEZ-HERRERA, L.N.; CIBRIÁN-TOVAR, J.; ROMERO-LÓPEZ, A.A. Behavioral and histological evidence of participation by pheromones in precopulatory behavior of *Cyclocephala lunulata*. **Southwestern Entomologist**, v. 49, n. 1, p. 173-184, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3958/059.049.0114>

BEN-SHACHAR, M. S.; LÜDECKE, D.; MAKOWSKI, D. effectsize: estimation of effect size indices and standardized parameters. **Journal of Open Source Software**, v. 5, n. 56, p. 2815, 2020. <https://doi.org/10.21105/joss.02815>

CARRILLO-RUIZ, H.; MARTÍNEZ, M. I.; MORÓN, M. A. Comparative Study of the Reproductive System of Two Species of *Hoplia* (Coleoptera: Scarabaeidae: Hopliinae). **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v. 110, n. 3, p. 778-788, 2008. DOI: <https://doi.org/10.4289/07-052.1>

COCKS, O. T. M.; EADHY, P. E. Microsurgical manipulation reveals pre-copulatory function of key genital sclerites. **The Journal of experimental biology**, v. 221, n. 8, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1242/jeb.173427>

DE CAMARGO, A. J. P.; AMABILE, R. F. **Identificação das principais pragas do girassol na região centro-oeste**. Brasília, DF: Embrapa Cerrados, 2001. (Comunicado Técnico, 50). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/554106>. Acesso em: 1 out. 2025.

FAVARIS, A. P.; TÚLER, A. C.; SILVA, W. D.; RODRIGUES, S. R.; LEAL, W. S.; BENTO, J. M. S. (3S,6E) - nerolidol-mediated rendezvous of *Cyclocephala paraguayensis* beetles in bottle gourd Flower. **PLoS ONE**, v. 15, n. 12, p.e0235028, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235028>

FERNÁNDEZ-BAUTISTA, N.; DOMÍNGUEZ- NÚÑEZ, J. A.; MORENO, M.M. C.; BERROCAL-LOBO, M. Plant tissue trypan blue staining during phytopathogen infection. **Bio-protocol**, v. 6, n. 24, p. e2078, 2016. DOI: [10.21769/BioProtoc.2078](https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2078)

GROSSI, P. C.; VAZ-DE-MELLO, F. Z. *Melolonthidae*. In: CATÁLOGO TAXONÔMICO DA FAUNA DO BRASIL. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <https://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/123452>. Acesso em: 20 out. 2025.

HOYT, C.P.; OSBORNE, G. O.; MULCOC, A. P. Production of an insect sex attractant by symbiotic bacteria. **Nature**, v. 230, p. 472-473, 1971. DOI: <https://doi.org/10.1038/230472a0>

HUANG, Z.; Zhang, L.; TIAN, Y.; GAO, J.; LIU, F.; LI, Y. Composition of the gut microbiome and its response to rice stripe virus infection in *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae). **Insects**, v. 16, n. 11, p.1135, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects16111135>

KASSAMBARA, A. ggpubr: ‘ggplot2’ based publication ready plots. R package version 0.6.3, 2026. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>

KLINDWORTH, A.; PRUESSE, E.; SCHWEER, T.; PEPLIES, J.; QUAST, W.; HORN, M., GLÖCKNER, F. O. Evaluation of general 16S rRNA gene PCR primers for quantitative amplicon sequencing studies. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. 1, p. e1-e1, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>

MAIA, A. C. D.; GIBERNAU, M.; CARVALHO, A. T.; GONÇALVES, E. G.; SCHLINDWEIN, C. The cowl does not make the monk: scarab beetle pollination of the Neotropical aroid *Taccarum ulei* (Araceae: Spathicarpeae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 108, n. 1, p. 22-34, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2012.01985.x>

MAIA, A. C. D.; SCHLINDWEIN, C. *Caladium bicolor* (Araceae) and *Cyclocephala celata* (Coleoptera, Dynastinae): a well-established pollination system in the northern Atlantic rainforest of Pernambuco, Brazil. **Plant Biology**, v. 8, n. 04, p. 529-534, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2006-924045>

MARTÍNEZ-MORALES, I.; MORÓN, M. A. Los Sistemas Reproductivos en Hembras de Melolonthinae, Rutelinae, y Dynastinae (Coleoptera: Scarabaeoidea, Melolonthidae). **Southwestern Entomologist**, v.40, n. 2, p. 369-385, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3958/059.040.0211>

MOORE, M. R.; JAMESON, M. L. Floral associations of cyclocephaline scarab beetles. **Journal of Insect Science**, v. 13, n. 100, 2013. DOI: [<https://doi.org/10.1673/031.013.10001>](https://doi.org/10.1673/031.013.10001)

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). BLAST: Basic Local Alignment Search Tool. Disponível em: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Acesso em: 20 out. 2025.

NOGUEIRA, G. A. L.; RODRIGUES, S. R.; TIAGO, E. F. Biological aspects of *Cyclocephala tucumana* Brethes, 1904 and *Cyclocephala melanocephala* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Scarabaeidae). **Biota Neotropica**, v. 13, n. 1, p. 86-90, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1676-06032013000100009>

OLIVEIRA, H. N.; ÁVILA, C. J. Ocorrência de *Cyclocephala forsteri* em *Acrocomia aculeata*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 2, p. 293–295, 2011. DOI: [<<https://revistas.ufg.br/pat/article/view/8769>>](https://revistas.ufg.br/pat/article/view/8769)

PASCINI, T. V.; MARTINS, G. F. The insects spermatheca: an overview. **Zoology**, v. 121, p. 56-71, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.zool.2016.12.001>

REN, L.; MA, Y.; XIE, M.; LU, Y.; CHENG, D. Rectal bacteria produce sex pheromones in the male oriental fruit fly. **Current Biology**, 31, 2020. 2220-2226.e4. < <https://doi.org/10.1101/2020.12.17.423356>

ROBBINS, P. S.; NOJIMA, S.; POLAVARAPU, S.; KOPPENHÖFER, A. M.; RODRIGUZ-SAONA, C.; HOLDCRAFT, R. J. CONSOLIE, N. H.; PECK, D. C.; ROELOFS, W. L. Sex pheromone of the scarab beetle *Phyllophaga (Phytalus) georgiana* (Horn). **Journal of chemical ecology**, v. 35, p. 336-341, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10886-009-9593-9>

ROCHAT, D.; MOHAMMADPOOR, K.; MALOSSE, C.; AVAND-FAGHIH, A.; LETTERE, M.; BEAUHAIRE, J.; MORIN, J. P.; PEZIER, A.; RENOU, M.; ABDOLLAHI, G. A. Male aggregation pheromone of date palm fruit stalk borer *Oryctes elegans*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, p. 387-407, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000017984.26917.52>

RODRIGUES, S. R.; BARBOSA, C. A. F.; FUHRMANN, J.; AMARO, R. A. Mating behavior and description of immature stages of *Cyclocephala melanocephala* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae), identification key and remarks on known immatures of Cyclocephalini species. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, n. 3, p. 205-219, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2018.07.001>

RODRIGUES, S. R.; NOGUEIRA, G. A. L.; ECHEVERRIA, R. R.; OLIVEIRA, V. S. Aspectos biológicos de *Cyclocephala verticalis* Burmeister (Coleoptera: Scarabaeidae). **NEOTROPICAL ENTOMOLOGY**, v. 39, n. 1, p. 15-18, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2010000100003>

ROSETE-ENRÍQUEZ, M.; ROMERO-LÓPEZ, A. A. *Klebsiella* bacteria isolated from the genital chamber of *Phyllophaga obsoleta*. Southwestern Entomologist. **Southwestern Entomologist**, v. 42, n. 4, p. 1003-1014, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3958/059.042.0419>

SALDANHA, F. G.; RODRIGUES, S. R.; AMARO, R.A.; FUHRMANN, J. Description of mating behavior, life cycle, and antennal sensilla of *Cyclocephala putrida* Burmeister, 1847 (Coleoptera, Scarabaeidae, Dynastinae). **Biota Neotropica**, v. 20, n.3, p.e20200973, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2020-0973>

SANCHEZ-CRUZ, A.; ROBLEDO, N.; ROSETE-ENRÍQUEZ, M.; ROMERO-LÓPEZ, A. A. Attraction of adults of *Cyclocephala lunulata* and *Cyclocephala barrerae* (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae) towards bacteria volatiles isolated from their genital chambers. **Molecules**, v. 25, n. 19, p. 4430, 2020. DOI: [10.3390/molecules25194430](https://doi.org/10.3390/molecules25194430)

SANCHEZ-CRUZ, A.; TAPIA-MARURI, D.; JIMÉNEZ-PÉREZ, A. Reproductive apparatus, gonadic maturation, and allometry of *Cyclocephala barrerae* Martínez (Coleoptera: Melolonthidae: Dynastinae). **Insects**, v. 13, n. 7, p. 638, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects13070638>

STRINGER, I. A. N. The female reproductive system of *Costelytra zealandica* (White)(Coleoptera: Scarabaeidae: Melolonthinae). **New Zealand Journal of Zoology**, v. 15, n. 4, p. 513-533, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1080/03014223.1988.10422632>

TADA, S.; LEAL, W. S. Localization and morphology of sex pheromone glands in scarab beetles. **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, n. 4, p. 903-915, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000006379.01010.da>

TAIRA, T. L.; ASSUNÇÃO, P. C. G.; SILVA, G. M.; RODRIGUES, S. R. Ocorrência de *Cyclocephala melanocephala* (Coleoptera: Scarabaeidae) em seringueira. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 1, n. 2, p. 80-82, 2014. DOI: <https://doi.org/10.32404/rean.v1i2.231>

VOMMARO, M. L.; DONATO, S.; GIGLIO, A. Virtual sections and 3D reconstructions of female reproductive system in a carabid beetle using synchrotron X-ray phase-contrast microtomography. **Zoologischer Anzeiger**, v. 298, p. 123-130, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2022.04.001>

WARD, A.; MOORE, C.; ANITHA, V.; WIGHTMAN, J.; ROGERS, D. J. Identification of the sex pheromone of *Holotrichia reynaudi*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, p. 515-522, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1014535910946>

WICKHAM, H. ggplot2: elegant graphics for data analysis. New York: Springer-Verlag, 2016. ISBN 978-3-319-24277-4. Disponível em: <https://ggplot2.tidyverse.org>

ZARBIN, P. H.G.; LEAL, W. S.; ÁVILA, C. J.; OLIVEIRA, L. J. Identification of the sex pheromone of *Phyllophaga cuyabana* (Coleoptera: Melolonthidae). **Tetrahedron Letters**, v. 48, n. 11, pág. 1991-1992, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2007.01.075>