

# **INSTITUTO BIOLÓGICO**

## **PÓS-GRADUAÇÃO**

**Resistência de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) aos acaricidas etoxazole e spiromesifen e estratégias de manejo em morangueiro e roseira**

**Rafael Sorrentino Minazzi Stocco**

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de Concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

Orientador: Dr. Mário Eidi Sato

**São Paulo**

**2014**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo**  
**Núcleo de Informação e Documentação – IB**

---

Stocco, Rafael Sorrentino Minazzi.

Resistência de *Tetranychus urticae* Koch (Acarí: Tetranychidae) aos acaricidas etoxazole e spiromesifen e estratégias de manejo em morangueiro e roseira. / Rafael Sorrentino Minazzi Stocco. -- São Paulo, 2014.

60 p.

Dissertação (Mestrado). Instituto Biológico (São Paulo). Programa de Pós-Graduação.

Área de concentração: **Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.**

Linha de pesquisa: Manejo integrado de pragas e doenças em ambientes rurais e urbanos.

Orientador: Mario Eidi Sato.

Versão do título para o inglês: Resistance of *Tetranychus urticae* Koch (Acarí: Tetranychidae) to the acaricides etoxazole and spiromesifen and management strategies on strawberries and roses.

1. Ácaro-rajado 2. *Phytoseiidae* 3. Controle biológico 4. Controle químico 5. Ácaros predadores I. Stocco, Rafael Sorrentino Minazzi II. Sato, Mário Eidi III. Instituto Biológico (São Paulo) IV. Título.

IB/Bibl./2014/008

---



SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO  
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS  
**INSTITUTO BIOLÓGICO**

**Pós-Graduação**  
Av. Cons. Rodrigues Alves 1252  
CEP 04014-002 - São Paulo – SP  
secretariapg@biologico.sp.gov.br



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Rafael Sorrentino Minazzi Stocco**

**Título:** Resistência de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) aos acaricidas etoxazole e spiromesifen e estratégias de manejo em morangueiro e roseira

**Orientador:** Dr. Mário Eidi Sato

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de Concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema

Aprovado em:

Banca Examinadora

Assinatura:

Prof. Dr. Mário Eidi Sato  
Instituição: Instituto Biológico – IB

Assinatura:

Prof. Dr. Celso Omoto  
Instituição: ESALQ / USP

Assinatura:

Profa. Dra. Marineide Rosa Vieira  
Instituição: UNESP Ilha Solteira

*“...Observados por dragões ferozes  
Lutamos pra sobreviver  
Mas precisamos realmente saber  
O real valor que a vida tem, eu  
Caminho no meio da multidão  
Eu me sinto à vontade  
Pois partilhamos noites, ruas e sonhos  
Como se fôssemos iguais...”*  
(Alexandre Magno Abrão [1970-2013])

*Aos meus pais,  
meus avós e  
minha namorada  
dedico.*

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Mário Eidi Sato, pela paciência, ensinamentos e conselhos.

Ao Instituto Biológico, pela oportunidade de cursar o Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro e concessão da bolsa (TT3) para a condução da pesquisa (Processos 2012/17972-2 e 2012/21538-6).

Ao Prof. Dr. Celso Omoto, da ESALQ/USP, e Dra. Marineide Rosa Vieira da UNESP de Ilha Solteira, pelas sugestões para o bom desenvolvimento desse trabalho.

Aos Dr. Joaquim de Azevedo Filho e Dr. André Luiz Matioli, pelo apoio e sugestões desde o início.

Ao Sr. Roberto, por permitir a realização de experimentos em sua propriedade e pelo auxílio na execução dos trabalhos.

À Biocontrole, pelo fornecimento dos fungos entomopatogênicos utilizados em parte do trabalho.

Ao proprietário do Sítio São Isidorus, Sr. Johannes Kotstee, por permitir a realização dos experimentos em sua propriedade; e também aos funcionários que auxiliaram na execução dos trabalhos, representados pelo Carlos.

Aos meus pais, Renata Sorrentino Minazzi Stocco e Luiz Alberto Stocco por todo apoio, paciência, dedicação e conselhos.

Aos meus avós, Felice Minazzi e Cecilia Sorrentino Minazzi que sempre me apoiaram, e me deram conselhos.

À minha amada namorada Aline Baldo de Carvalho, por sempre estar ao meu lado, por todo apoio, paciência, risadas e amizade.

À minha amiga e parceira de trabalho, Taiana Lumi Santos, pela ajuda, conversas, risadas e companhia.

À minha amiga, Bióloga Carolina Suzumi Tsuboka, pela força, alegria, sugestões e companhia.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Acarologia, Anderson, Jeferson, Dalva Gabriel, Patrícia, Cristina, Marcos e Roberto, pela companhia e colaboração nos trabalhos.

Aos funcionários do Instituto Biológico, pelo apoio na realização dos experimentos.

A todos que colaboraram de alguma forma na realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

STOCCO, R. S. M. RESISTÊNCIA DE *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) AOS ACARICIDAS ETOXAZOLE E SPIROMESIFEN E ESTRATÉGIAS DE MANEJO EM MORANGUEIRO E ROSEIRA. São Paulo. 2014. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico.

Um dos fatores que dificultam a produção e a comercialização de diversas culturas agrícolas de importância econômica no Brasil é o ataque de pragas, como por exemplo, ácaros tetraniquídeos. O ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* Koch, causa sérios prejuízos em diversas culturas, incluindo as de morango, mamão, pêssego, uva, feijão, algodão, rosa, crisântemo, entre outras. Um dos problemas enfrentados pelos agricultores tem sido a dificuldade para o controle dessa praga com o uso de agroquímicos. Falhas no controle químico de *T. urticae* devido à evolução de resistência têm sido reportadas em diversos países, inclusive no Brasil. Os objetivos do presente trabalho foram: 1) estudar a resistência de *T. urticae* aos acaricidas etoxazole e spiromesifen, em populações coletadas de diversas culturas de importância econômica no Brasil; 2) avaliar estratégias de manejo de ácaro-rajado em morangueiro e roseira; com uso de ácaros predadores, fungos entomopatogênicos e acaricidas (sintéticos e naturais). O estudo da estabilidade de resistência de *T. urticae* a etoxazole indicou que a resistência é instável na ausência de pressão de seleção, em condições de laboratório. O custo adaptativo da resistência de *T. urticae* a etoxazole está provavelmente relacionado à menor taxa de reprodução da linhagem resistente em relação à linhagem suscetível ao produto. O monitoramento da resistência em diferentes populações coletadas no Brasil indicou alta variabilidade na suscetibilidade a spiromesifen e etoxazole entre as populações de ácaro-rajado avaliadas. A maioria das populações de ácaro-rajado se mostrou suscetível a etoxazole e spiromesifen, porém, foram detectadas populações com frequências de resistência acima de 70% para esses acaricidas. As maiores porcentagens de ácaros resistentes foram observadas em populações coletadas de morangueiro e ornamentais (rosa, crisântemo e gérbera) no Estado de São Paulo. Os estudos sobre manejo de ácaro-rajado em morangueiro mostraram que a utilização dos produtos a base de extratos vegetais (Rotate<sup>®</sup>), azadirachtin (Azamax<sup>®</sup>) e fungo entomopatogênico [*Hirsutella thompsonii* (Fischer)] são compatíveis com a liberação de ácaros predadores da espécie *Neoseiulus californicus* (McGregor) em morangueiro, podendo ser útil para o manejo da praga nessa cultura. Portanto, a liberação de ácaros predadores, *N. californicus* e *Phytoseiulus macropilis* (Banks), na cultura de roseira pode contribuir para uma diminuição na frequência de aplicação de acaricidas, favorecendo a reversão da resistência do ácaro-rajado a diversos compostos químicos.

**Palavras-chave:** Ácaro-rajado, Phytoseiidae, controle biológico, controle químico.

## ABSTRACT

STOCCO, R. S. M. RESISTANCE OF *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) TO THE ACARICIDES ETOXAZOLE AND SPIROMESIFEN AND MANAGEMENT STRATEGIES ON STRAWBERRIES AND ROSES. São Paulo. 2014. Dissertation (Master in Health, Food Safety and Environmental Agribusiness) – Instituto Biológico.

One of the factors that hinder the production and marketing of various agricultural crops of economic importance in Brazil is the attack of pests, such as spider mites. The spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, causes serious damage in many crops including strawberry, peach, papaya, grapes, beans, cotton, roses, and chrysanthemum, among others, in the country. One of the problems faced by farmers has been the difficulty to control this pest through the use of agrochemicals. Failures in the chemical control of *T. urticae* caused by resistance have been reported in several countries including Brazil. The objectives of this research were: 1) to study the resistance to etoxazole and spiromesifen in *T. urticae* populations collected from several crops of economic importance in Brazil, 2) evaluate management strategies for spider mites on strawberries and roses, with the use of predatory mites, entomopathogenic fungi and acaricides (synthetic and natural). The study of the stability of resistance in *T. urticae* indicated that etoxazole resistance is unstable in the absence of selection pressure in laboratory conditions. The fitness cost of etoxazole resistance in *T. urticae* is probably associated with a lower rate of reproduction in the resistant strain in comparison with the susceptible strain. Monitoring the resistance in different populations of *T. urticae* collected in Brazil indicated that the susceptibility of the spider mite to spiromesifen and etoxazole was variable, with large contrasts between populations. Most populations of spider mite was shown to be susceptible to etoxazole and spiromesifen, however, populations with resistance frequencies to these acaricides above 70 % were detected. Higher percentages of resistant mites were observed in strawberry and ornamental (rose, chrysanthemum and gerbera) plants. Studies on management of spider mite on strawberry showed that the use of plant-extract based products (Rotate<sup>®</sup>), azadirachtin (Azamax<sup>®</sup>) and entomopathogenic fungi [*Hirsutella thompsonii* (Fischer)] is compatible with the release of predatory mites of the species *Neoseiulus californicus* (McGregor) on strawberry and can be useful for pest management in this culture. The study on management of spider mite on roses indicated that the release of predatory mites, *N. californicus* and *Phytoseiulus macropilis* (Banks), in this crop may contribute to the reduction in the frequency of use of acaricides, favoring the reversal of resistance to various acaricides in *T. urticae*.

**Key-words:** Two-spotted spider mite, Phytoseiidae, biological control, chemical control.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Local de coleta, coordenadas geográficas, cultura e data de coleta de <i>Tetranychus urticae</i> para monitoramento da resistência a acaricidas .....	13
<b>Tabela 2.</b> Produtos utilizados em canteiros de morangueiro no município de Monte Alegre do Sul - SP e suas respectivas doses (mL/L), apresentando ou não liberação de ácaros predadores ( <i>N. californicus</i> ) .....	15
<b>Tabela 3.</b> Duração média $\pm$ erro padrão (em dias) dos estágios embrionário e pós-embrionário e número médio de ovos por fêmea, das linhagens de <i>Tetranychus urticae</i> suscetível e resistente a etoxazole, à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 14 horas. ....	23
<b>Tabela 4.</b> Parâmetros biológicos estimados através de tabela de vida e fertilidade para as linhagens de <i>Tetranychus urticae</i> suscetível e resistente a etoxazole (à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 14 horas): taxa líquida de reprodução ( $R_0$ ), duração média de uma geração ( $T$ ), taxa intrínseca de aumento ( $r_m$ ) e razão finita de aumento ( $\lambda$ ) .....	25
<b>Tabela 5.</b> Testes toxicológicos com azadirachtin (Azamax <sup>®</sup> ) em quatro populações de <i>Tetranychus urticae</i> : 1) de feijoeiro de Brazabrantes, GO; 2) de algodoeiro de Rio Verde, GO; 3) de algodoeiro de Rondonópolis, MT; 4) de morangueiro de Monte Alegre do Sul, SP. Número total de ácaros utilizados para a obtenção das curvas de concentração-resposta (n); estimativa da concentração letal média (CL50) e intervalo de confiança (I.C.) a 95%; coeficiente angular e erro padrão da média (EP); Qui-quadrado ( $\chi^2$ ); grau de liberdade (G.L.); razão de resistência (RR) .....	31
<b>Tabela 6.</b> Número de ácaros-praga <i>T. urticae</i> por folíolo (formas ativas) em canteiros de morangueiro com diferentes tratamentos: extrato de plantas (Rotate <sup>®</sup> ), azadirachtin (Azamax <sup>®</sup> ) e o fungo entomopatogênico ( <i>Hirsutella thompsonii</i> ). Monte Alegre do Sul, SP, julho a novembro de 2012 .....	35
<b>Tabela 7.</b> Número de ácaros predadores da espécie <i>N. californicus</i> por folíolo (formas ativas) em canteiros de morangueiro com diferentes tratamentos: extrato de plantas (Rotate <sup>®</sup> ), azadirachtin (Azamax <sup>®</sup> ) e o fungo entomopatogênico ( <i>Hirsutella thompsonii</i> ). Monte Alegre do Sul, SP, julho a novembro de 2012 .....	35
<b>Tabela 8.</b> Número de ácaros <i>T. urticae</i> (formas ativas / folíolo) presentes nas fases de enraizamento (Fase 0), crescimento das plantas (Fase 1) e de pré-venda (Fase 2), em estufas de cultivo de rosa, submetidos à liberação de ácaros predadores ( <i>N. californicus</i> e <i>P. macropilis</i> ) .....	37



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Curvas concentração-resposta para as linhagens S e R de *T. urticae*. O intervalo entre as linhas tracejadas mostra as concentrações que causam 100% de mortalidade dos ácaros da linhagem S sem afetar os da linhagem R. .... 20
- Figura 2.** Variação nas frequências de resistência (porcentagem de ácaros resistentes) de *Tetranychus urticae* a etoxazol, em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 5\%$  UR e fotofase de 14 h)..... 21
- Figura 3.** Curvas de sobrevivência (lx) para fêmeas das linhagens suscetível (S) e resistente (R) de *Tetranychus urticae* a etoxazol, em condições de laboratório..... 24
- Figura 4.** Taxas de oviposição para fêmeas das linhagens suscetível (S) e resistente (R) de *Tetranychus urticae* a etoxazol, em condições de laboratório..... 24
- Figura 5.** Sobrevivência média (%) de ácaros *Tetranychus urticae* tratados com etoxazol, em sua concentração discriminatória (5,5 mg de i.a./L). As populações foram coletadas em 2011/2012 de culturas comerciais de algodão (Primavera do Leste, MT; Rio Verde, GO Rondonópolis, MT), crisântemo (Campinas, SP; Holambra, SP; Santo Antônio de Posse, SP), feijão (Brazabranes, GO), framboesa (Campos do Jordão, SP), gérbera (Holambra, SP); mamão (Indaiatuba, SP), morango (Atibaia, SP; Monte Alegre do Sul, SP; Socorro, SP); rosa (Atibaia, SP; Holambra, SP)..... 28
- Figura 6.** Sobrevivência média (%) de ácaros *Tetranychus urticae* tratados com spiromesifen, em sua concentração discriminatória (6,96 mg de i.a./L). As populações foram coletadas em 2011/2012 de culturas comerciais de Algodão (Primavera do Leste, MT; Rio Verde, GO Rondonópolis, MT), Crisântemo (Campinas, SP; Holambra, SP; Santo Antonio de Posse, SP), Feijão (Brazabranes, GO), Framboesa (Campos do Jordão, SP), Gérbera (Holambra, SP); Mamão (Indaiatuba, SP), Morango (Atibaia, SP; Monte Alegre do Sul, SP; Socorro, SP); Rosa (Atibaia, SP; Holambra, SP) ..... 29
- Figura 7.** Sobrevivência média (%) de ácaros *Tetranychus urticae* tratados com diafenthuron, propargite, spiromesifen, abamectin, chlorfenapyr, milbemectin, fenpyroximate e etoxazole em suas concentrações discriminatórias. A população foi coletada em maio de 2011, em cultivo comercial de rosa em Holambra, SP ..... 38
- Figura 8.** Sobrevivência média (%) de ácaros *Tetranychus urticae* tratados com diafenthuron, propargite, spiromesifen, abamectin, chlorfenapyr, milbemectin, fenpyroximate e etoxazole em suas concentrações discriminatórias. A população foi coletada em novembro de 2012 de cultivo comercial de rosa em Holambra, SP ..... 38

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1 Objetivos.....	2
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
2.1. Importância sócio-econômica das culturas de morangueiro e ornamentais.....	3
2.2. Resistência de <i>Tetranychus urticae</i> Koch (Acari: Tetranychidae) a acaricidas .....	4
2.3. Acaricidas etoxazole e spiromesifen .....	5
2.4. Controle biológico de <i>T. urticae</i> com ácaros predadores da família Phytoseiidae ..	6
2.5. Controle de <i>T. urticae</i> com inseticidas botânicos e fungos entomopatogênicos .....	7
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	9
3.1. Estudo sobre resistência de <i>T. urticae</i> a etoxazole e spiromesifen .....	9
3.1.1. Coleta de ácaros no campo .....	9
3.1.2. Manutenção da colônia estoque .....	9
3.1.3. Testes toxicológicos com acaricidas .....	9
3.1.4. Seleção para resistência a etoxazole .....	10
3.1.5. Concentrações discriminatórias para etoxazole e spiromesifen .....	10
3.1.6. Estabilidade da resistência de <i>T. urticae</i> a etoxazole .....	11
3.1.7. Custo adaptativo associado à resistência de <i>T. urticae</i> a etoxazole.....	12
3.1.7.1. Biologia comparada das linhagens de <i>T. urticae</i> resistente e suscetível a etoxazole .....	12
3.1.8. Monitoramento da resistência de <i>T. urticae</i> a etoxazole e spiromesifen.....	13

3.1.9. Sensibilidade de diferentes populações de <i>T. urticae</i> a azadirachtin.....	14
3.2. Estudos de estratégias de manejo de ácaro-rajado em morangueiro e roseira ....	14
3.2.1. Criação de ácaros predadores .....	14
3.2.2. Experimento em morangueiro .....	15
3.2.3. Experimento em roseira .....	17
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>19</b>
4.1. Resistência de ácaro-rajado a acaricidas.....	19
4.1.1. Seleção para resistência a etoxazole .....	19
4.1.2 Concentrações discriminatórias .....	20
4.1.3. Estabilidade da resistência de <i>T. urticae</i> a etoxazole .....	20
4.1.4. Custo adaptativo associado à resistência de <i>T. urticae</i> a etoxazole.....	22
4.1.4.1. Biologia comparada das linhagens de <i>T. urticae</i> resistente e suscetível a etoxazole .....	22
4.1.5. Monitoramento da resistência de <i>T. urticae</i> a etoxazole espiromesifen.....	27
4.1.5.1. Monitoramento da resistência a etoxazole .....	27
4.1.5.2. Monitoramento da resistência a spiromesifen .....	29
4.1.6. Sensibilidade de diferentes populações de <i>T. urticae</i> a azadirachtin.....	30
4.2. Estudos de estratégias de manejo de ácaro-rajado em morangueiro e roseira ....	31
4.2.1. Experimento em morangueiro .....	32
4.2.2. Experimento em roseira .....	36
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>40</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>41</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Entre os principais motivos para a queda na produção de diversas culturas no Brasil está o ataque de pragas como, por exemplo, os ácaros fitófagos que têm causado sérios prejuízos econômicos. Ácaros da família Tetranychidae são conhecidos por serem estritamente fitófagos, e também por atacarem um grande número de plantas hospedeiras. A principal espécie da família Tetranychidae, bastante conhecida por atacar diversas culturas no Brasil, é o ácaro *Tetranychus urticae* Koch, popularmente conhecido como ácaro-rajado. O método de controle utilizado por agricultores para combater *T. urticae* se baseia quase que exclusivamente com a utilização de pesticidas químicos, podendo causar um impacto ambiental significativo, dependendo das circunstâncias apresentadas (MORAES; FLECHTMANN, 2008; WATANABE et al., 1994).

Atualmente, um dos sérios problemas enfrentados pelos agricultores tem sido a dificuldade do controle de ácaro-rajado pelo uso de acaricidas. O desequilíbrio biológico causado pela eliminação de inimigos naturais e a evolução de resistência desse ácaro a diversos acaricidas estão entre as principais razões para essa dificuldade de controle (SATO et al., 1994).

O controle de *T. urticae* também envolve o uso de ácaros predadores da família Phytoseiidae, importantes agentes de controle biológico de ácaros fitófagos em diversas culturas no Brasil (MORAES, 2002). Em roseira, a liberação de ácaros predadores para o controle biológico de *T. urticae* vem sendo realizada em diversos países na Europa, América do Norte e América do Sul (MORAES; FLECHTMANN, 2008). No Brasil, ainda são poucos os relatos sobre o uso desses inimigos naturais em roseira. Em morangueiro, o uso de algumas espécies de ácaros predadores como *Neoseiulus californicus* (McGregor) e *Phytoseiulus macropilis* (Banks), em associação ou não com acaricidas seletivos ou produtos naturais de origem botânica (ex.: extratos de alho e agave, nim) representa uma estratégia promissora para o controle do ácaro em campo, podendo minimizar o uso de produtos químicos na cultura, diminuindo riscos de presença de resíduos de agrotóxicos nos frutos de morango, favorecendo a produção de alimentos mais seguros para o consumo humano (SATO et al., 2007b; VERONEZ, 2010; BERNARDI et al., 2010).

O morangueiro [*Fragaria X ananassa* (Weston) Duchesne] é um híbrido originado de um cruzamento, ocorrido na Europa no ano de 1750, entre as espécies *F. chiloensis*, *F. virginiana* e *F. ovalis*. Os frutos originados por este híbrido eram grandes, gerados de flores autoférteis, dispensando qualquer interferência externa para que ocorresse a polinização (DARROW, 1966; LORENZI et al., 2006). É uma planta herbácea,

rasteira e perene, propagada por via vegetativa, por meio de estolhos, pertence à família Rosaceae. Sua cultura é renovada anualmente, tendo seu cultivo distribuído em todos os continentes, sendo que seu desenvolvimento tem maior sucesso em países que apresentam clima temperado, como Estados Unidos, Espanha, Japão, Itália, Coreia do Sul e Polônia (CASTRO et al., 2003; FERLA et al., 2007).

Outras espécies pertencentes à família Rosaceae, que têm importância econômica no Brasil, são as do gênero *Rosa*. Este gênero é constituído de plantas arbustivas ou trepadeiras, com folhas compostas, pinadas, estipuladas e alternadas, tendo os bordos dos folíolos serrilhados. Evidências fósseis indicam a existência de rosas há 40 milhões de anos na Terra, mas estudos recentes utilizando análises moleculares indicam que existe a possibilidade de que elas existam há cerca de 200 milhões de anos. Atualmente, existem mais de 30.000 variedades de rosas, com diferentes cores e tamanhos, resultantes do cruzamento entre *Rosa odorata*, *R. multiflora*, *R. pensilla*, *R. semperflorens*, *R. chinensis* entre outras. As flores geralmente desabrocham no final da primavera ou início do verão, sendo polinizadas por insetos (ALEXANDRE; DUARTE, 2010; BARBIERI; STUMPF, 2005). Segundo MATSUNAGA et al. (1995), as rosas foram implantadas no Brasil pelos portugueses, onde, desde então, a cultura se estabeleceu tendo seus altos e baixos no mercado econômico.

## **1.1. Objetivos**

O objetivo geral do projeto é ampliar o conhecimento sobre resistência de *Tetranychus urticae* a acaricidas e fornecer subsídios para o manejo integrado do ácaro-rajado nas culturas de morangueiro e roseira no Estado de São Paulo, visando minimizar os problemas causados por essa praga.

### **1.1.1 Objetivos Específicos:**

1. Estudar a resistência do ácaro-rajado aos acaricidas etoxazole e spiromesifen.
  - 1.1. Estudar a estabilidade da resistência de *T. urticae* a etoxazole em condições de laboratório.
  - 1.2. Realizar estudos sobre custos adaptativos associados à resistência de *T. urticae* a etoxazole.
  - 1.3. Realizar estudos de monitoramento de resistência de *T. urticae* aos acaricidas etoxazole e spiromesifen em diversas culturas, de diferentes regiões brasileiras.

- 1.4. Estudar a sensibilidade a azadirachtin em diferentes populações de *T. urticae*.
2. Estudar estratégias de manejo de ácaro-rajado em morangueiro e roseira mediante liberações de ácaros predadores (*Neoseiulus californicus* e *Phytoseiulus macropilis*), em associação ou não com inseticidas/acaricidas botânicos (Azamax<sup>®</sup> e Rotate<sup>®</sup>) e fungos entomopatogênicos (*Hirsutella thompsonii*).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Importância socioeconômica das culturas de morangueiro e ornamentais

No Brasil, a cultura do morangueiro é uma atividade de alta importância para pequenos e médios produtores. A produção anual gira em torno de 100 mil toneladas, proveniente principalmente das regiões Sul e Sudeste, sendo Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul os três maiores estados produtores, responsáveis por mais de 80% da produção nacional. Normalmente é utilizada mão de obra familiar para o cultivo de morango (FERLA et al., 2007; MADAIL et al., 2007).

No ano de 2006, segundo o SIM CEAGESP, 9,7 toneladas de morango foram comercializadas no ETSP da CEAGESP, tendo como maior contribuinte o Estado de Minas Gerais, que teve uma participação de 50,42% do morango vendido. São Paulo teve uma participação de 28,54% dos morangos vendidos, seguido do Rio Grande do Sul com 10%, Paraná com 6,34% e Santa Catarina com 4,01% do total. Isto mostra que ocorreu uma mudança no abastecimento do mercado paulista que, anteriormente, tinha seus municípios como principais fornecedores de morangos para o mercado atacadista (FAGUNDES, 2008).

Estudos mostram que a redução da produção de morango no Estado de São Paulo teve como principais fatores o elevado valor da terra e a dificuldade em controlar pragas e doenças, tendo em vista que as condições climáticas são favoráveis para o desenvolvimento destes (CALEGARIO et al., 2008).

Já o mercado de ornamentais, caracterizado por exigir alto investimento por unidade de área, utiliza grande quantidade de mão-de-obra e emprega tecnologia de ponta, mas com retornos mais rápidos que diversos outros setores (MIRANDA et al., 1994).

Estudos demonstram que no ano de 2010 houve um crescimento de 15% no mercado de flores, uma vez que o consumo se tornou maior. Tendo gerado aproximadamente 194 mil empregos diretos, devido ao grande aumento do mercado. A

produção do estado de São Paulo correspondeu no ano de 2010, a mais de 70% do mercado de flores (IBRAFLOR, 2012).

Entre os principais motivos para a queda na produção de diversas culturas no Brasil está o ataque de pragas, sendo que, os ácaros fitófagos cada vez mais têm causado prejuízos econômicos para o setor agrário no país (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

## **2.2. Resistência de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) a acaricidas**

O ácaro *T. urticae*, popularmente conhecido como “ácaro-rajado”, é uma das espécies mais importantes no mundo, trata-se de uma praga cosmopolita, que geralmente apresenta cor esverdeada. Em regiões que apresentam clima frio, as fêmeas passam o inverno em diapausa como fêmeas adultas hibernantes de coloração avermelhada; (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

As fêmeas deste ácaro medem aproximadamente 500 µm de comprimento e frequentemente apresentam dois pares de manchas escuras no dorso. Este ácaro forma colônias numerosas na face inferior das folhas, recobertas com apreciável quantidade de teia. As folhas atacadas por este ácaro mostram manchas branco-prateadas na face inferior; pela face superior aparecem áreas inicialmente cloróticas, que passam a bronzeadas; as folhas secam e caem com conseqüente queda na produção (FLECHTMANN, 1979).

Este acarino constitui-se em uma das principais pragas do morangueiro e de plantas ornamentais de várias espécies (ex.: crisântemo, rosas, gérberas), podendo também atacar várias outras culturas, como algodão, berinjela, feijão, maçã, pêsego, pimentão, soja, tomate, etc. Quando não controlado ou controlado de forma incorreta, pode reduzir a produção de frutos de morango em cerca de 80% (para alguns cultivares), quando em altas populações (CHIAVEGATO; MISCHAN, 1981).

A dispersão desse acarino pode ser realizada de forma ativa, por caminhamento, ou de forma passiva, como por exemplo, pelo vento, por transporte de plantas ou partes vegetais, ferramentas ou por pessoas (ZHANG, 2003).

O grande desafio enfrentado atualmente pelos agricultores, em relação ao controle do ácaro-rajado através de acaricidas, é a evolução da resistência desses ácaros aos defensivos. Com isto o controle desta praga se torna cada vez mais difícil, permitindo a esta causar ainda mais prejuízos econômicos. Aplicações frequentes e inadequadas de pesticidas são as principais causas que contribuem para a evolução da resistência, não só

em ácaros-praga, mas em diversas espécies de artrópodes de importância agrícola (SATO et al., 1994).

A resistência de *T. urticae* a pesticidas tem sido documentada em diversos países para diferentes compostos tais como organofosforados (SATO et al., 1994), dicofol (FERGUSSON-KOLMES et al., 1991), organoestênicos (FLEXNER et al., 1988), hexythiazox (HERRON; ROPHAIL, 1993; YAMAMOTO et al., 1996), clofentezine (HERRON; EDGE; ROPHAIL, 1993; AY; KARA, 2011), fenpyroximate (STUMPF; NAUEN, 2001; SATO et al., 2004; Van POTTELBERGE et al., 2009b), abamectin (BEERS; RIEDL; DUNLEY, 1998; DERMAUW et al., 2012); etoxazole (KOBAYASHI; KOBAYASHI; NISHIMORI, 2001; UESUGI; GOKA; OSAKABE, 2002; LEE et al., 2004; ASAHARA; UESUGI; OSAKABE, 2008) e spiroadiclofen (Van POTTELBERGE et al., 2009a). Trabalhos desenvolvidos no Instituto Biológico têm indicado que diversas populações deste ácaro já se mostram resistentes a acaricidas como abamectin, milbemectin, fenpyroximate e chlorfenapyr (SATO et al., 2004, 2005, 2007a, 2009; NICASTRO et al., 2010, 2013).

### **2.3. Acaricidas etoxazole e spiromesifen**

O método de controle utilizado por agricultores para combater o ácaro *T. urticae* se baseia principalmente na utilização de pesticidas químicos, podendo causar um impacto ambiental significativo, dependendo das circunstâncias apresentadas (WATANABE et al., 1994).

Etoxazole é o único composto pertencente ao grupo químico 2,4-difenil-1,3-oxazolina atualmente comercializado. Trata-se de um acaricida efetivo contra ácaros dos gêneros *Brevipalpus*, *Panonychus* e *Tetranychus*. Seu modo de ação é por contato e ação translaminar. Atua principalmente como ovicida, e no caso de larvas e ninfas, atua inibindo o processo normal de mudança dos estádios dos ácaros, impedindo que as formas jovens tornem-se adultos, apresentando também, efeito esterilizante, ou seja, as fêmeas que entram em contato com o produto passam a colocar ovos inviáveis. O acaricida etoxazole apresenta baixo efeito adverso aos insetos benéficos, podendo ser utilizado como ferramenta para o Manejo Integrado de Pragas (MIP) em diversas culturas (AGROFIT, 2013; NAUEN; SMAGGHE, 2006).

Spiromesifen é um inseticida/acaricida de contato e ingestão do grupo cetoenol, indicado para o controle de moscas-brancas e ácaros. Pertence ao grupo 23 dos inibidores de acetil CoA carboxilase (IRAC, 2014). Este acaricida foi registrado no ano de 2006 para o



controle de *T. urticae*, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) e *Bemisia tabaci* (Gennadius) para as culturas de algodão, feijão, melão, soja e do tomate (AGROFIT, 2013).

#### **2.4. Controle biológico de *T. urticae* com ácaros predadores da família Phytoseiidae**

O controle de *T. urticae* também envolve o uso de ácaros predadores da família Phytoseiidae, importantes agentes de controle biológico de ácaros fitófagos em diversas culturas no Brasil (MORAES, 2002). Essa família é considerada a mais importante para o controle biológico de ácaros na agricultura (HOY, 1990; REIS et al., 2000).

O desenvolvimento de pesquisas em manejo de ácaro-rajado vem favorecendo o uso de controle biológico em culturas como morangueiro e ornamentais no Brasil. O morangueiro suporta bem uma densidade relativamente alta de ácaro-rajado (ex.: 20 ácaros por folíolo) (ZALOM, 2002; IWASSAKI, 2010), possibilitando assim um controle integrado de *T. urticae*, com a utilização de ácaros predadores e acaricidas seletivos (IWASSAKI, 2010).

Em um experimento conduzido por Iwassaki (2010) em Atibaia, SP, com liberações de predadores em níveis adequados de infestação da praga (1 a 5 ácaros/folíolo em 30% das amostras) e aplicações de acaricidas seletivos (propargite) somente quando a densidade do ácaro-praga atingia o nível de ação (10 ácaros por folíolo), foi possível reduzir em seis vezes o número de aplicações de acaricidas, minimizando os riscos de intoxicação dos produtores e reduzindo a contaminação ambiental provocada por esses produtos. O menor número de aplicações também implica em melhoria na qualidade de vida aos produtores, com possibilidade de redução no custo de produção de morango.

Segundo Moraes (2002), algumas das principais espécies utilizadas para o controle de ácaros-praga no Brasil são *Phytoseiulus macropilis* (Banks) e *Neoseiulus californicus* (McGregor).

A espécie *P. macropilis* caracteriza-se por apresentar corpo de coloração avermelhada, podendo mudar de cor em função da coloração do alimento (presa), longas pernas, formato ovoide e comprimento aproximado de 0,5 mm. Em morangueiro, é encontrado principalmente na face inferior dos folíolos, estando geralmente associado às teias do ácaro-rajado. *P. macropilis* apresenta cinco estágios de desenvolvimento (ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto), com duração média que varia, conforme a fase a temperatura. A duração média do período de ovo a adulto é de 7,4 dias (SILVA et al., 2005). O adulto pode ser visualizado a olho nu e apresenta movimentos rápidos. Os ovos apresentam formato oblongo e coloração translúcida, sendo ovipositados nas folhas das

plantas hospedeiras do ácaro-praga, principalmente na face inferior das mesmas (abaxial) (SILVA et al., 2005; MORAES; FLECHTMANN, 2008; BERNARDI et al., 2010). Por ser um predador obrigatório, não se alimenta de fontes alternativas como pólen e néctar, o que afeta drasticamente sua população na ausência do ácaro-rajado (SILVA et al., 2005).

O predador *N. californicus* caracteriza-se por apresentar corpo de coloração branco-alaranjada, longas pernas, formato ovoide e comprimento aproximado de 0,5 mm, sendo as fêmeas maiores do que os machos (BERNARDI et al., 2010). *N. californicus* é encontrado principalmente na face inferior dos folíolos de morangueiro. A duração média do período de desenvolvimento (ovo a adulto) é de aproximadamente 6,4 dias (ESCUADERO; FERRAGUT, 2005). A capacidade de predação de *N. californicus* é de aproximadamente quinze a vinte ovos do ácaro-rajado por dia, podendo se alimentar de todos os estágios biológicos da presa. Como são generalistas, podem se alimentar, também, de outras fontes, como pólen, outros ácaros, tripes e pulgões, sobrevivendo durante vários dias sem a presença de *T. urticae* no campo (MORAES; FLECHTMANN, 2008; BERNARDI et al., 2010).

## **2.5. Controle de *T. urticae* com inseticidas botânicos e fungos entomopatogênicos**

A utilização de compostos originários de produtos intermediários ou finais de metabólitos secundários de algumas plantas, encontrados em raízes, folhas e sementes, vem sendo retomado para o controle de pragas. Entre eles estão os rotenoides, piretroides, alcaloides e terpenoides, que podem interferir de forma severa no metabolismo de outros organismos, causando repelência, deterrência alimentar e de oviposição, esterilização, bloqueio do metabolismo e interferência no desenvolvimento, não necessariamente causando a morte destes (MEDEIROS, 1990; LANCHER, 2000).

O uso de espécies de ácaros predadores, em associação ou não com produtos naturais de origem botânica (ex.: extratos alho e agave, nim) representa uma estratégia promissora para o controle de *T. urticae* em campo, podendo minimizar o uso de produtos químicos na cultura, diminuindo riscos de presença de resíduos agrotóxicos nos alimentos, proporcionando a produção de alimentos mais seguros para o consumo humano (VERONEZ, 2010). POTENZA et al. (1999a,b; 2006) obtiveram eficiência acima de 75% no controle de *T. urticae* com extratos de *Annona squamosa*, *Agave angustifolia*, *Ruta graveolens*, *Dieffenbachia brasiliensis* e *Allium cepa*.

Popularmente conhecida como nim no Brasil, uma representante da família Meliaceae, *Azadirachta indica*, possui como principal metabólito secundário o azadirachtin (SCHMUTTERER 1990; REMBOLD 1989). Essa meliácea tem-se mostrado bastante

promissora no manejo integrado de ácaros fitófagos, apresentando, normalmente, seletividade para os inimigos naturais (SCHMUTTERER, 1997). A seletividade para ácaros predadores foi constatada em vários trabalhos com espécies da família Phytoseiidae, mostrando-se pouco tóxico a adultos e formas imaturas, e com baixo impacto sobre a fecundidade (MANSOUR et al., 1993; MOMEN et al., 1997; SPOLLEN; ISMAN, 1996).

Segundo estudos realizados por MARTÍNEZ-VILLAR et al. (2005), azadirachtin causa uma queda significativa na longevidade do ácaro-rajado, principalmente adultos, em determinadas concentrações causam também queda do número de ovos por fêmea, porém não afetando a fertilidade dos mesmos.

Os fungos das ordens Entomophthorales e Hyphomycetes são os microrganismos patogênicos a *T. urticae* que apresentam maior número de pesquisas atualmente, sendo os gêneros *Hirsutella* e *Beauveria* da ordem dos Hyphomycetes, muito importantes. As razões pelas quais os fungos são os organismos mais estudados para o controle microbiano de ácaros-praga estão na diversidade, na prevalência e no fácil reconhecimento pelo crescimento micelial externo ao corpo do ácaro (TAMAI, 2002; DELALIBERA Jr. et al., 2008).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3. 1. Estudo sobre resistência de *T. urticae* a etoxazole spiromesifen

##### 3.1.1. Coleta de ácaros no campo

Os ácaros *T. urticae* utilizados neste estudo foram coletados de plantas de morango, rosa e de diversas outras plantas de importância agrícola, em diversos municípios do Estado de São Paulo, além de algumas localidades dos Estados de Mato Grosso e Goiás.

As linhagens resistente e suscetível a etoxazole, utilizadas para a realização dos estudos de estabilidade da resistência e custo adaptativo, foram originárias de ácaros coletados de plantas de rosa no município de Holambra, SP, no ano de 2011 e de plantas de feijão no município de Brazabrantes, GO, no ano de 2011, respectivamente.

##### 3.1.2. Manutenção das populações

Após a coleta, as populações foram criadas isoladamente, em plantas de feijão-deporco (*Canavalia ensiformis* L.) cultivadas em vasos, no interior de caixas plásticas (32 x 42 x 48 cm, em salas climatizadas ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 5\%$  de UR, fotofase de 14 h) do Laboratório de Acarologia do Centro Experimental do Instituto Biológico, em Campinas, SP.

##### 3.1.3. Testes toxicológicos com acaricidas

Os testes com os acaricidas etoxazole (Borneo<sup>®</sup>) e spiromesifen (Oberon<sup>®</sup>) foram realizados utilizando-se ovos de *T. urticae*. Foram colocadas 20 fêmeas adultas de *T. urticae* em um disco de folha de feijão-de-porco (4 cm de diâmetro), mantido sobre uma camada de algodão hidrófilo úmido em uma placa de Petri (9 cm de diâmetro). A borda da folha foi coberta por uma estreita faixa de algodão úmido, formando uma barreira para evitar a fuga dos ácaros. As fêmeas foram deixadas sobre as arenas por um período de 24 horas para oviposição. Cada fêmea ovipositou em torno de quatro ovos, nesse período. Após esse período, todas as fêmeas foram retiradas das arenas, deixando-se apenas os ovos. Em seguida, cada arena de folha recebeu aplicação em torre de Potter (Burkard Scientific, Uxbridge, UK), calibrada a 68,9 kPa. Foi utilizado um volume de calda de 2 ml, o que correspondeu a uma deposição média de resíduo úmido de  $1,6 \text{ mg/cm}^2$  da arena. Após o tratamento, os ovos foram mantidos a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 5\%$  de UR e fotofase de 14h.

As avaliações da mortalidade de ovos foram realizadas diariamente por um período de oito dias. Ovos que não originaram larvas durante esse período foram considerados inviáveis (mortos). Os testes foram repetidos pelo menos cinco vezes.

#### **3.1.4. Seleção para resistência a etoxazole**

Esta seleção foi conduzida em laboratório, utilizando-se a população de *T. urticae* coletada de plantas de rosa no município de Holambra, SP, no ano de 2012, realizando-se a aplicação com torre de Potter, sobre os ovos.

Foram colocadas em média 50 fêmeas adultas de *T. urticae* por arena por um período de 24 horas. Após a retirada das fêmeas, os ovos receberam a aplicação do acaricida etoxazole. Foram realizadas diversas seleções, utilizando-se concentrações crescentes do acaricida a cada ciclo de seleção [19,8; 66,0; 132,0; 165,0; 198,0 mg de ingrediente ativo (i.a.) L<sup>-1</sup>], procurando-se obter mortalidades de ovos entre 50 a 70%. Foram utilizados pelo menos 1500 ovos em cada seleção. O intervalo entre uma seleção e outra foi de 25 a 30 dias. Os ovos sobreviventes após o tratamento foram utilizados para a formação de novas colônias. A criação destes ácaros foi conduzida como descrita no item 3.1.2.

#### **3.1.5. Concentrações diagnósticas para etoxazole e spiromesifen**

A concentração diagnóstica é aquela capaz de matar praticamente 100% dos indivíduos suscetíveis, sem afetar os resistentes. De acordo com Halliday e Burnham (1990), o uso dessa concentração para o monitoramento da resistência é mais eficiente que o estudo baseado na estimativa da CL<sub>50</sub>, podendo-se detectar a resistência em populações em que a frequência de indivíduos resistentes ainda se mostra baixa.

A concentração diagnóstica foi estabelecida para os dois acaricidas estudados, sendo equivalente à CL<sub>99</sub> dos produtos para a população suscetível de referência mantida em laboratório.

A partir do estabelecimento da concentração diagnóstica foi possível monitorar a resistência, baseando-se apenas na mortalidade dos ácaros para uma única concentração de cada acaricida.

### 3.1.6. Estabilidade da resistência de *T. urticae* a etoxazole

Para este estudo, as frequências de resistência a etoxazole foram avaliadas mensalmente em uma população com uma frequência inicial de 75% de ácaros resistentes ao produto. Essa população foi obtida colocando-se 750 fêmeas adultas de ácaros da linhagem R (selecionada para resistência a etoxazole) e 250 fêmeas adultas de ácaros da linhagem S (suscetível de referência). A população foi mantida sobre plantas de feijão-de-porco (*C. ensiformis*), cultivadas em vasos livres de qualquer aplicação de pesticidas. A população foi mantida em câmara B.O.D. a 25°C e fotofase de 14 horas.

A população inicial (R + S) foi de 1.000 ácaros (fêmeas adultas). A população de ácaros no interior da B.O.D., ao longo experimento, foi muito acima de 1.000 ácaros.

Avaliações mensais da frequência de resistência desses ácaros a etoxazole foram realizadas durante 13 meses. Foram colocadas 20 fêmeas adultas de *T. urticae* em cada disco de folha de feijão-de-porco (4 cm de diâmetro), mantido sobre uma camada de algodão hidrófilo úmido em uma placa de Petri (9 cm de diâmetro) por um período de 24 horas para oviposição. Após a retirada das fêmeas, foram realizadas aplicações sobre os ovos em torre de Potter, utilizando-se 2 mL de calda acaricida, conforme descrito no item 3.1.3. As avaliações foram conduzidas observando-se a mortalidade de ovos de *T. urticae* após a aplicação de etoxazole na sua concentração discriminatória (5,5 mg de i.a./L).

A avaliação da mortalidade de ovos foi realizada por um período de oito dias, os ovos que não deram origem a larvas nesse período foram considerados mortos. Foram utilizados pelo menos 400 ovos em cada avaliação.

### 3.1.7. Custo adaptativo associado à resistência de *T. urticae* a etoxazole

#### 3.1.7.1. Biologia comparada das linhagens de *T. urticae* resistente e suscetível a etoxazole

A biologia das linhagens de *T. urticae* suscetível e resistente a etoxazole foi conduzida em arenas de folhas de feijão-de-porco (*C. ensiformis* L.). As arenas foram mantidas em câmaras climatizadas (tipo B.O.D.) a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotofase de 14h.

Foram transferidas três fêmeas por arena para ovipositar por seis horas. Após esse período, as fêmeas foram retiradas, deixando-se apenas um ovo por arena. As observações da biologia foram realizadas em intervalos de 12h, anotando-se a duração e a mortalidade em cada estágio de desenvolvimento. Foram avaliados os estágios embrionário e pós-embrionário, e na fase adulta, os períodos de pré-oviposição, oviposição, pós-oviposição, e a fecundidade.

Os dados de cada parâmetro biológico avaliado para as linhagens S e R foram analisados pelo teste *t*. O nível de significância foi de  $\alpha = 0,05$ . No caso da razão sexual, a proporção de fêmeas, para cada linhagem, foi comparada utilizando-se o teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ).

Tabelas de vida de fertilidade para as duas linhagens foram preparadas utilizando-se o método proposto por SILVEIRA NETO et al. (1976). As análises estatísticas para os parâmetros avaliados [duração média de uma geração (*T*); taxa líquida de reprodução (*R*<sub>0</sub>); capacidade intrínseca de crescimento populacional (*r*<sub>m</sub>) e razão finita de aumento ( $\lambda$ )] foram realizadas pelo método Jackknife (MEYER et al., 1986) e as respectivas médias para cada linhagem foram comparadas pelo teste *t* a 5% de significância (MAIA et al., 2000).

O valor do “fitness relativo” (relative fitness) (*Rf*) foi estimado utilizando-se a seguinte fórmula:

$$Rf = \frac{R_0 \text{ da linhagem R}}{R_0 \text{ da linhagem S}}$$

Valores de *Rf* maiores que um ( $Rf > 1$ ) sugerem que a taxa líquida de reprodução da linhagem R é aumentada (vantagem adaptativa), enquanto que, valores de *Rf* menores que 1 ( $Rf < 1$ ) sugerem a presença de custo adaptativo na linhagem R (GROTTERS et al., 1994; LI et al., 2000).

### 3.1.8. Monitoramento da resistência de ácaro-rajado aos acaricidas etoxazole e spiromesifen

No período de 2010-2013, foram realizadas coletas de 16 populações de *T. urticae*, em cultivos comerciais de algodão, crisântemo, feijão, framboesa, gérbera, mamão, morango e rosa, de diferentes localidades brasileiras, conforme indicado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Local de coleta, coordenadas geográficas, cultura e data de coleta de *Tetranychus urticae* para monitoramento da resistência a acaricidas.

Cultura	Local de coleta (Município - Estado)	Período de coleta	Coordenadas Geográficas
Algodão	Primavera do Leste – MT	Abr. / 2012	15° 33' S, 54° 17' W
Algodão	Rio Verde – GO	Jul. / 2010	17° 47' S, 50° 54' W
Algodão	Rondonópolis – MT	Jul. / 2011	16° 28' S, 54° 38' W
Algodão	Itiquira – MT	Abr. / 2013	17° 13' S, 55° 50' W
Crisântemo	Campinas – SP	Ago. / 2011	22° 47' S, 47° 02' W
Crisântemo	Santo Antonio de Posse - SP	Set. / 2011	22° 36' S, 46° 55' W
Crisântemo	Holambra – SP	Nov. / 2011	23° 35' S, 47° 04' W
Feijão	Brazabranes – GO	Set. / 2011	16° 25' S, 49° 23' W
Framboesa	Campos do Jordão – SP	Ago. / 2012	22° 44' S, 45° 35' W
Gérbera	Holambra – SP	Set. / 2011	23° 35' S, 47° 04' W
Mamão	Indaiatuba – SP	Fev. / 2010	23° 05' S, 47° 13' W
Morango	Atibaia – SP	Set. / 2010	23° 07' S, 46° 33' W
Morango	Monte Alegre do Sul – SP	Set. / 2011	22° 40' S, 46° 40' W
Morango	Socorro – SP	Ago. / 2012	22° 35' S, 46° 31' W
Rosa	Atibaia – SP	Jun. / 2010	23° 06' S, 46° 29' W
Rosa	Holambra – SP	Mai. / 2011	23° 35' S, 47° 04' W

Após cada coleta, os ácaros foram transferidos para plantas de feijão-de-porco, mantidos por um período de 18 a 25 dias, em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 5\%$  de UR e fotofase de 14h). Os testes toxicológicos foram realizados seguindo-se a mesma



metodologia descrita no item 3.1.3, utilizando-se a concentração discriminatória de cada acaricida. Foram utilizados pelo menos 400 ovos de *T. urticae* (5 repetições de 60 ovos/arena), para a obtenção da frequência de resistência de *T. urticae*, para cada produto e para cada população avaliada.

Análise estatística: As percentagens de mortalidade para cada população de ácaro-rajado foram corrigidas através da fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925), transformadas em  $\arcsen\sqrt{x/100}$ . As médias de sobrevivência foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de  $\alpha = 0,05$ .

### **3.1.9. Sensibilidade de diferentes populações de *T. urticae* a azadirachtin**

Os bioensaios com azadirachtin (Azamax<sup>®</sup>) foram realizados utilizando-se os mesmos procedimentos descritos no item 3.1.3, porém, os testes foram realizados com fêmeas adultas.

Foram utilizadas quatro populações de *T. urticae* das seguintes culturas e localidades: feijoeiro de Brazabrantes - GO, algodoeiro de Rio Verde - GO, algodoeiro de Rondonópolis - MT, algodoeiro de Itiquira - MT e morangueiro de Monte Alegre do Sul - SP. Estas populações apresentavam diferentes frequências de resistência a acaricidas. Foram utilizadas populações resistentes e suscetíveis a acaricidas. Foram utilizadas 5 a 6 concentrações de azadirachtin para a obtenção das curvas de concentração-mortalidade, para cada população avaliada. Foram utilizados pelo menos 620 ácaros de cada população avaliada para a definição das curvas de concentração-resposta.

As avaliações do número de ácaros vivos e mortos foram realizadas 72 horas após a aplicação. Foram considerados mortos os ácaros que não conseguiram se locomover por uma distância mínima equivalente ao comprimento do seu corpo, ao serem tocados com um pincel de pelo macio.

Os dados de mortalidade para as populações de *T. urticae* foram submetidos a análise de Probit (FINNEY, 1971), utilizando-se o programa POLO PLUS (LEORA SOFTWARE, 2003).

## **3.2. Estudos de estratégias de manejo de ácaro-rajado em morangueiro e roseira**

### **3.2. 1. Criação de ácaros predadores**

Criações de ácaros predadores das espécies *N. californicus* e *P. macropilis* foram mantidas no Laboratório de Acarologia, Centro Experimental Central do Instituto Biológico (CEIB) em Campinas, SP. Estes ácaros predadores foram colocados em arenas constituídas de folhas de feijão-de-porco com a face adaxial voltada para baixo, circundada por algodão hidrófilo, sobre espuma de poliuretano de 1 cm de espessura, no interior de

placas de Petri de vidro de 15 cm de diâmetro, contendo água destilada, conforme metodologia de criação de ácaros proposta por REIS et al. (1997). Foram mantidas também criações em condições de casa-de-vegetação, em plantas de feijão-de-porco (cultivadas em vasos) infestada com *T. urticae*.

### 3.2. 2. Experimento em morangueiro

O experimento foi conduzido em cultivo comercial de morangueiro, da variedade “Oso Grande”, no município de Monte Alegre do Sul (22°43’ S, 46°38’ W; 850 a 867 m) na propriedade do Sr. Roberto Moreira, no período de 25/07 a 07/11/2012, onde foram comparados os tratamentos apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Produtos utilizados em canteiros de morangueiro no município de Monte Alegre do Sul - SP e suas respectivas concentrações (mL de p.c./L), apresentando ou não liberação de ácaros predadores (*N. californicus*).

	<b>Tratamento</b>	<b>Concentração</b>	<b>Com liberação de Predadores</b>	<b>Sem liberação de Predadores</b>
<b>A1</b>	Testemunha	-	X	
<b>A2</b>	Testemunha	-		X
<b>B1</b>	Rotate <sup>®</sup>	1mL/1L	X	
<b>B2</b>	Rotate <sup>®</sup>	1mL/1L		X
<b>C1</b>	Azamax <sup>®</sup>	2mL/1L	X	
<b>C2</b>	Azamax <sup>®</sup>	2mL/1L		X
<b>D1</b>	<i>Hirsutella thompsonii</i> + Silwet <sup>®</sup>	100mL/1L + 1mL/L	X	
<b>D2</b>	<i>Hirsutella thompsonii</i> + Silwet <sup>®</sup>	100mL/1L + 1mL/L		X

O experimento foi realizado em blocos casualizados com 8 tratamentos e 4 repetições. Cada parcela foi constituída de um canteiro de morango com 1 m de largura e 4 m de comprimento.

Nos tratamentos A1, B1, C1 e D1 foram liberados ácaros predadores (*N. californicus*) no dia 25/07/2012 em uma taxa de aproximadamente 30 ácaros predadores por m<sup>2</sup> de canteiro, imediatamente após a aplicação dos acaricidas.

Nos tratamentos A1 (testemunha com predadores) e A2 (testemunha sem predadores), não houve aplicações de acaricidas.

Nos tratamentos que receberam aplicação de acaricidas, foram realizadas duas aplicações, nos dias 25/07/2012 e 03/09/2012.

Nos tratamentos B1 e B2, foi utilizado Rotate<sup>®</sup> (produto a base de extrato de plantas), na concentração de 1 mL de produto comercial para 1 L de água, sendo aplicados aproximadamente 150 mL de calda por m<sup>2</sup> de canteiro, utilizando-se pulverizador costal manual.

Nos tratamentos C1 e C2, foi utilizado Azamax<sup>®</sup> (azadirachtin) na concentração de 2 mL de produto comercial para 1 L de água, seguindo-se a mesma metodologia do tratamento B1.

Nos tratamentos D1 e D2, foi utilizada uma formulação SC (suspensão concentrada) (produzido pela empresa Bio Controle) do fungo entomopatogênico *Hirsutella thompsonii* (Fischer), na diluição de 100 mL de formulação para 1 L de água (ou aproximadamente  $1,5 \times 10^7$  conídios/mL). O fungo entomopatogênico foi aplicado juntamente com o espalhante adesivo Silwet<sup>®</sup> na concentração de 1 mL/L. A metodologia de aplicação foi a mesma descrita para o tratamento B. A avaliação da qualidade desse fungo foi realizada com a colaboração dos pesquisadores Dr. Luís Garrigós Leite e Dr. José Eduardo Marcondes de Almeida do Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico.

Foram realizadas, no total, seis avaliações com intervalos de 2 a 3 semanas. As datas das avaliações foram: 25/07; 14/08; 03/09; 20/09; 10/10 e 07/11/2012. Foram coletados 10 folíolos de morangueiro por parcela, em cada avaliação. Os folíolos foram colocados em sacos papel, acondicionados em caixas de poliestireno contendo gelo artificial, e transportados para o Laboratório de Acarologia do IB, em Campinas, SP. A contagem dos ácaros (fitófagos e predadores) foi realizada observando a área total do folíolo com auxílio de microscópio estereoscópico com aumento de até 60 vezes.

Os dados das avaliações foram submetidos a análise de variância, pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste Tukey, a 5% de significância, utilizando-se o programa estatístico SPSS v.10.0 (Statistical Package for Social Sciences) (SPSS, 2000). Os percentuais de redução populacional de *T. urticae* foram calculados de acordo com a fórmula de Henderson e Tilton (1955).

Amostras de adultos dos ácaros fitófagos e predadores foram montadas em lâminas de microscopia (meio de Hoyer) para a identificação das espécies.

### 3.2. 3. Experimento em roseira

O experimento foi realizado em cultivo comercial de mini-roseira (*Rosa* sp.), no município de Holambra, SP (22° 37'S, 47° 05 W a 642,2 m), na propriedade do Sr. Johannes Kotstee no período de 21/05/2012 a 20/03/2013.

Estudos preliminares realizados na propriedade indicaram altas frequências ( $\geq 80\%$ ) de resistência de *T. urticae* a praticamente todos os acaricidas registrados para a cultura no Brasil (NICASTRO; SATO; SILVA, 2010; SATO et al., 2009, NICASTRO et al., 2013), o que inviabilizava o controle químico da praga. De acordo com o proprietário, eram realizadas até quatro aplicações de acaricidas por semana, visando o controle da praga.

Assim sendo, foi proposto um programa de manejo do ácaro-praga, utilizando-se ácaros predadores. Foi iniciada uma criação massal de ácaros predadores da espécie *N. californicus*, na propriedade, inicialmente em 70 m<sup>2</sup> de área de estufa. Uma das vantagens da linhagem de *N. californicus* utilizada no estudo, é que ela se mostrava altamente tolerante a vários inseticidas e acaricidas, o que permitia o uso de químicos para o manejo de pragas no cultivo comercial de roseira. Essa linhagem foi encontrada por pesquisadores do Instituto Biológico em roseira, na região de Atibaia, SP, em junho de 2010.

Para o monitoramento do ácaro-rajado nas diferentes fases de cultivo (desde o enraizamento até a fase de comercialização das plantas) foram realizadas coletas mensais de 150 folíolos (50 folhas com 3 folíolos cada) de rosa por fase, sendo dividido em três fases: enraizamento (Fase 0), fase de crescimento (Fase 1) e período pré-venda (Fase 2). Foram liberados também, além de *N. californicus*, ácaros predadores da espécie *P. macropilis* quando a população de *T. urticae* atingia elevadas densidades ( $> 10$  ácaros/folíolo).

As liberações de ácaros predadores *N. californicus* foram realizadas pelo próprio produtor, em uma frequência de aproximadamente uma liberação por mês a partir de 21/05/2012. Foi realizada uma liberação de ácaros *P. macropilis* em agosto de 2012.

Durante o estudo, mesmo com as liberações de predadores, foram realizadas aplicações de inseticidas/acaricidas visando ao controle de pragas, tendo sido realizada pelo menos uma pulverização dos seguintes produtos: propargite (Omite<sup>®</sup>), spiromesifen (Oberon<sup>®</sup>), etoxazole (Borneo<sup>®</sup>), abamectin (Vertimec<sup>®</sup>), fenpropathrin (Danimen<sup>®</sup>), pyridaben (Sanmite<sup>®</sup>) e azadirachtin (Azamax<sup>®</sup>). Foi testado também um produto a base de extratos de plantas (Rotate<sup>®</sup>).

Foram realizadas, no total, sete avaliações com intervalos de 30 a 60 dias entre coletas. As datas das avaliações foram: 21/05; 24/07; 21/08; 02/10; 07/11/2012; 10/01 e 21/03/2013. Os folíolos amostrados foram colocados em sacos de papel, acondicionados em caixas de poliestireno contendo gelo artificial, e transportados para o Laboratório de Acarologia do IB, em Campinas, SP.

A contagem dos ácaros foi realizada observando a área total do folíolo com auxílio de microscópio estereoscópico com aumento de até 60 vezes. Os dados das avaliações foram submetidos à análise de variância, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de significância. Os percentuais de redução populacional de *T. urticae* foram calculados de acordo com a fórmula de Henderson e Tilton (1955).

Foram avaliadas as frequências de resistência de ácaros *T. urticae* em populações coletadas na área de roseira estudada em dois períodos: maio de 2011 (antes do início das liberações de predadores) e novembro de 2012 (seis meses após o início das liberações de predadores). Foram avaliados oito acaricidas comerciais, através de bioensaios, utilizando-se a concentração discriminatória para cada acaricida, em condições de laboratório.

Os produtos testados (concentração em mg de i.a./L) foram: abamectin (4,79), milbemectin (5,5), fenpyroximate (46,3), chlorfenapyr (37,4), diafenthiuron (150), propargite (40,3), spiromesifen (6,96) e etoxazole (5,5). Arenas de folhas foram infestadas com fêmeas adultas e submetidas à aplicação de acaricidas em torre de Potter (2 mL de calda; 68,9 kPa). As porcentagens de sobrevivência foram registradas 48 e 72 h após a aplicação. No caso de spiromesifen e etoxazole, os bioensaios foram conduzidos utilizando-se em média 400 ovos para cada avaliação, colocando 20 fêmeas sobre cada arena por um período de 24 horas para oviposição. As avaliações de mortalidade de ovos foram realizadas sete dias após a aplicação.

Amostras de adultos dos ácaros fitófagos e predadores foram montadas em lâminas de microscopia (meio de Hoyer) para a identificação das espécies.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

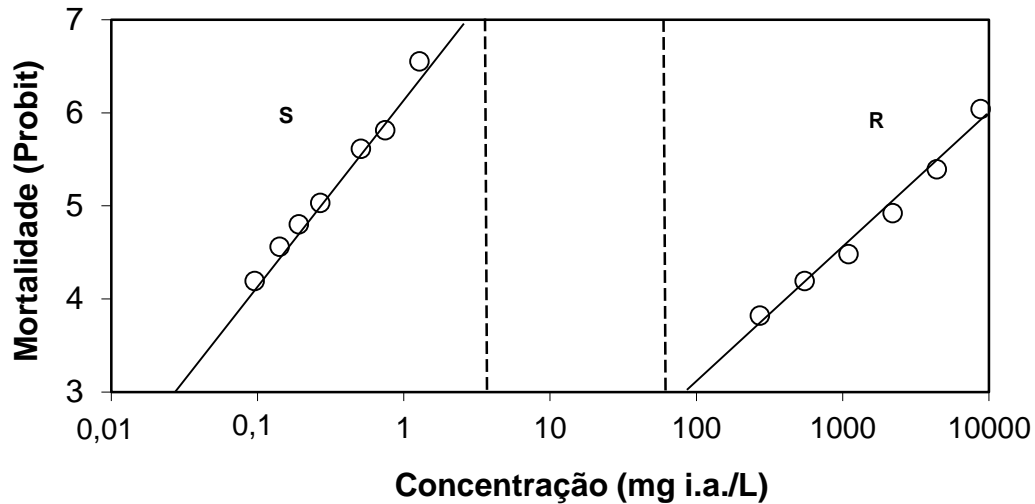
### 4.1. Resistência do ácaro-rajado à acaricidas

#### 4.1.1. Seleção para resistência à etoxazole

Durante o processo de seleção, com cinco ciclos seleção para resistência a etoxazole, utilizando-se ácaros *T. urticae* de uma população de roseira de Holambra, SP, observou-se um aumento da CL<sub>50</sub> de 192,9 para 2176 mg de i.a./L. Com relação à linhagem S, a CL<sub>50</sub> estimada para a linhagem originária de ácaros *T. urticae* coletados de plantas de feijão em Brazabrantes, GO, em 2011. Após mais de um ano em condições de laboratório, livre de qualquer pressão de seleção com acaricidas, a CL<sub>50</sub> estimada foi de 0,249 mg de i.a./L. Comparando-se as linhagens S e R (selecionada para resistência), a razão de resistência a etoxazole atingiu 8.739 (vezes).

Estudos anteriores sobre seleções artificiais de *T. urticae* com acaricidas, conduzidos no Instituto Biológico, também mostraram rápida evolução da resistência do ácaro-rajado a diversos acaricidas (SATO et al., 2004, 2007a; NICASTRO; SATO; SILVA, 2010, NICASTRO et al. 2013). Para fenpyroximate, a razão de resistência (CL<sub>50</sub> R / CL<sub>50</sub> S) alcançou 2.970 (vezes), após cinco seleções para resistência e três seleções para suscetibilidade (SATO et al., 2004). Elevadas intensidades de resistência de *T. urticae* a acaricidas (ex.: abamectin, fenpyroximate, clofentezine) também foram registradas por diversos autores (STUMPF; NAUEN, 2001; KIM et al., 2004; TIRELLO et al., 2012).

#### 4.1.2 Concentrações discriminatórias

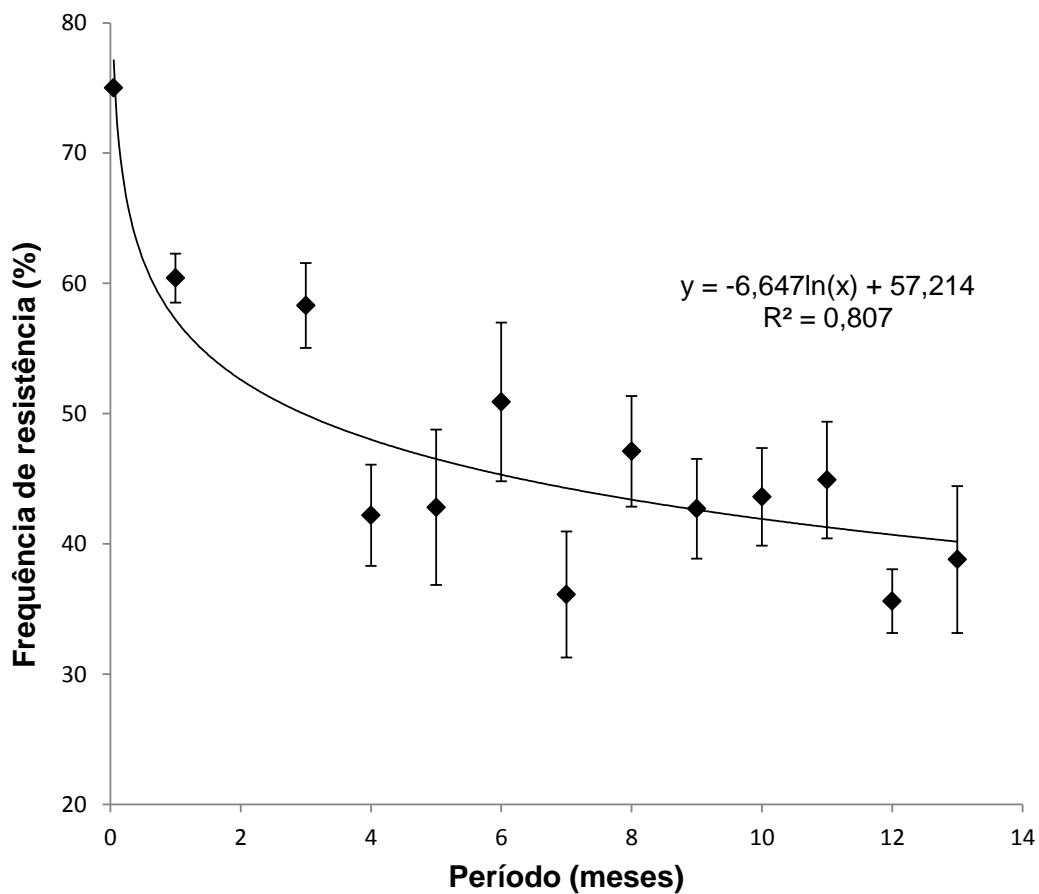


**Figura 1.** Curvas concentração-resposta para as linhagens S e R de *T. urticae*. O intervalo entre as linhas tracejadas mostra as concentrações que causam 100% de mortalidade dos ácaros da linhagem S sem afetar os da linhagem R.

Para etoxazole, a concentração discriminatória foi estimada em 5,5 mg de i.a./L, correspondente à  $CL_{99}$  para a linhagem S (Figura 1).

#### 4.1.3. Estabilidade da resistência de *T. urticae* a etoxazole

O estudo da estabilidade de resistência de *T. urticae* a etoxazole indicou que a resistência é instável na ausência de pressão de seleção, em condições de laboratório (Figura 2). A porcentagem de ácaros resistentes a etoxazole variou significativamente ( $F = 11,06$ ; g.l. = 13, 70;  $P < 0,0001$ ) ao longo do tempo, decrescendo de 75% para aproximadamente 36%, em 13 meses. A porcentagem de ácaros resistentes decresceu seguindo uma curva de tendência logarítmica [ $y = - 6,647 \ln(x) + 57,214$ ;  $R^2 = 0,807$ ;  $P < 0,00001$ ], para esse período.



**Figura 2.** Variação nas frequências de resistência de *Tetranychus urticae* a etoxazole [porcentagem média de sobrevivência ( $\pm$  EP) de ovos de ácaro-rajado para a concentração discriminatória da 5,5 mg de i.a./L), em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 5\%$  UR e fotofase de 14 h).

Estudos de estabilidade da resistência de *T. urticae* e outras espécies de ácaros a acaricidas também têm sido conduzidos por vários autores, para diferentes compostos (OMOTO et al. 1995; DAGLI; TUNÇ, 2001; SATO et al. 2004; STUMPF; NAUEN, 2002).

Flexner et al. (1988), observaram que a resistência de *T. urticae* a cyhexatin declinou rapidamente quando aplicações em campo foram interrompidas.

Veronez (2010) observou que a resistência de *T. urticae* a spiromesifen declinou rapidamente na ausência de pressão de seleção em laboratório. Nicastro et al. (2010) também observaram rápida reversão na resistência de *T. urticae* a milbemectin e abamectin, em condições de laboratório. Para spiromesifen, milbemectin e abamectin, o restabelecimento da suscetibilidade foi mais rápido que o observado para etoxazole, com reduções nas frequências de resistência de 75% para menos de 15% em sete meses.

Tian et al. (1992) sugerem que o tempo de reversão da resistência pode ser influenciado por fatores ecológicos, como a presença de plantas hospedeiras alternativas, onde não são feitas aplicações de acaricidas, o que pode ser uma tática proveitosa para o



manejo da resistência. Essas plantas hospedeiras do ácaro-praga serviriam de refúgio para as populações suscetíveis.

Os resultados observados no presente trabalho indicam a existência de alguma desvantagem adaptativa nos ácaros resistentes a etoxazole, o que pode ser favorável ao manejo da resistência ao acaricida.

#### **4.1.4. Custo adaptativo associado à resistência de *T. urticae* etoxazole**

##### **4.1.4.1. Biologia comparada das linhagens de *T. urticae* resistente e suscetível a etoxazole**

Não foram observadas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) entre as linhagens S e R, com relação à duração dos estágios de desenvolvimento (ovo, larva, larva quiescente, protoninfa, protoninfa quiescente deutoninfa, deutoninfa quiescente) e dos períodos de ovo a adulto, pré-oviposição, oviposição, pós-oviposição, longevidade de adultos e ciclo de vida completo (Tabela 2).

Foram detectadas apenas pequenas diferenças ( $t = 9,12$ ; g.l. = 82;  $P < 0,0001$ ) para número de ovos por fêmea, sendo que, o número de ovos por fêmea foi 10,3% maior para linhagem suscetível (Tabela 2).

Comparando-se os padrões das curvas de sobrevivência para as fêmeas das linhagens S e R, observou-se tendência de maior mortalidade das fêmeas adultas da linhagem R, principalmente para aquelas com idades acima de 12 dias (Figura 3).

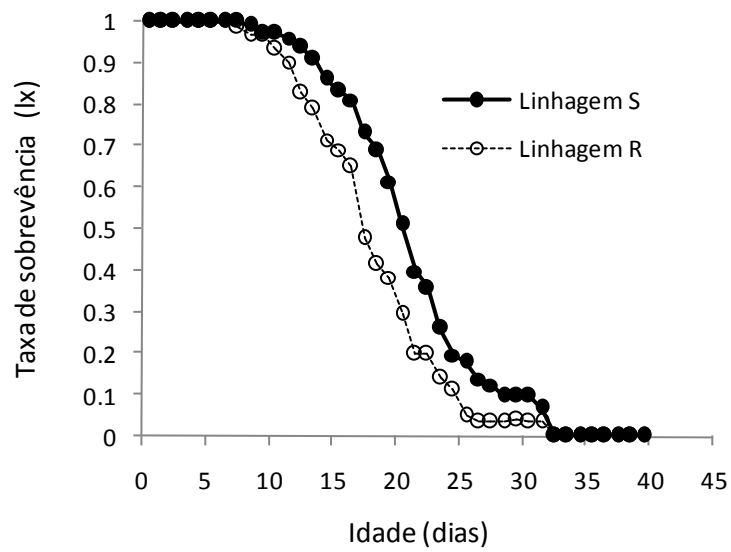
Com relação à oviposição, observou-se tendência de maior taxa de oviposição para fêmeas da linhagem S, nos primeiros 19 dias (10 dias a partir do início da oviposição) e após 24 dias de idade (Figura 4).

Verificou-se também uma diferença significativa na razão sexual entre as linhagens S e R de *T. urticae*. A proporção de fêmeas originadas de fêmeas suscetíveis (66,5%) foi significativamente ( $\chi^2 = 24,132$ ; g.l. = 1;  $P < 0,0001$ ) maior que de fêmeas resistentes (57,4%). A razão sexual foi estimada pela análise da proporção de fêmeas originadas, de ovos depositados, por fêmeas de ambas as linhagens, ao longo do estudo, para um total amostrado de 2.718 ovos, sendo 1.331 ovos da linhagem R e 1.387 da linhagem S.

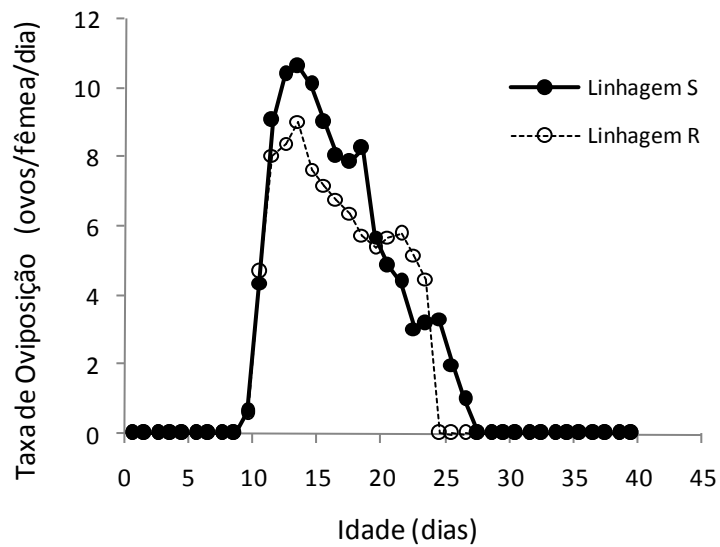
**Tabela 3.** Duração média  $\pm$  erro padrão (em dias) dos estágios embrionário e pós-embrionário e número médio de ovos por fêmea, das linhagens de *Tetranychus urticae* suscetível e resistente a etoxazole, à temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotofase de 14 horas

Estágio de Desenvolvimento	Linhagens			
	<i>N</i>	Suscetível	<i>n</i>	Resistente
Ovo	113	3,91 $\pm$ 0,04 a	114	3,93 $\pm$ 0,05 a
Larva	112	1,00 $\pm$ 0,02 a	111	1,03 $\pm$ 0,03 a
Larva Quiescente	112	0,81 $\pm$ 0,03 a	111	0,86 $\pm$ 0,03 a
Protoninfa	112	0,81 $\pm$ 0,02 a	111	0,82 $\pm$ 0,03 a
Protoninfa Quiescente	112	0,88 $\pm$ 0,03 a	111	0,81 $\pm$ 0,02 a
Deutoninfa	112	0,94 $\pm$ 0,03 a	111	0,90 $\pm$ 0,03 a
Deutoninfa Quiescente	112	1,09 $\pm$ 0,02 a	111	1,13 $\pm$ 0,02 a
Ovo-adulto (Fêmea)	91	9,45 $\pm$ 0,05 a	85	9,46 $\pm$ 0,06 a
Ovo-adulto (Macho)	21	9,36 $\pm$ 0,09 a	39	9,55 $\pm$ 0,13 a
Pré-oviposição	91	0,49 $\pm$ 0,03 a	84	0,60 $\pm$ 0,04 a
Oviposição	90	9,37 $\pm$ 0,36 a	84	8,77 $\pm$ 0,43 a
Pós-oviposição	90	0,99 $\pm$ 0,23 a	84	0,75 $\pm$ 0,12 a
Longevidade de fêmeas	90	11,65 $\pm$ 0,41 a	84	10,12 $\pm$ 0,45a
Longevidade de machos	21	9,67 $\pm$ 0,82 a	39	9,77 $\pm$ 0,91 a
Ciclo completo de fêmeas	90	20,58 $\pm$ 0,41 a	84	20,11 $\pm$ 0,47 a
Ciclo completo de machos	21	19,02 $\pm$ 0,79 a	39	19,67 $\pm$ 0,90 a
Número de ovos/fêmea	90	78,01 $\pm$ 1,98 b	84	70,72 $\pm$ 2,36 a

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste *t*.



**Figura 3.** Curvas de sobrevivência ( $l_x$ ) para fêmeas das linhagens suscetível (S) e resistente (R) de *Tetranychus urticae* a etoxazole, em condições de laboratório.



**Figura 4.** Taxas de oviposição para fêmeas das linhagens suscetível (S) e resistente (R) de *Tetranychus urticae* a etoxazole, em condições de laboratório.

Comparações entre as linhagens R e S indicam diferenças significativas ( $P \leq 0,029$ ) na taxa líquida de reprodução ( $R_0$ ), taxa intrínseca de aumento ( $r_m$ ) e razão finita de aumento ( $\lambda$ ). Para  $R_0$ , o valor estimado para a linhagem S foi 18,2% maior que para a linhagem R. O valor do “fitness relativo” ( $Rf$ ) observado para a linhagem R foi de 0,84, indicando a presença de custo adaptativo associado à resistência a etoxazole nessa linhagem (Tabela 4).

A única variável da tabela de vida que não apresentou diferença significativa entre as linhagens S e R foi a duração média de cada geração ( $T$ ), que foi de aproximadamente 15,5 dias (Tabela 4).

**Tabela 4.** Parâmetros biológicos estimados através de tabela de vida e fertilidade para as linhagens de *Tetranychus urticae* suscetível e resistente a etoxazole (à temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotofase de 14 horas): taxa líquida de reprodução ( $R_0$ ), duração média de uma geração ( $T$ ), taxa intrínseca de aumento ( $r_m$ ), razão finita de aumento ( $\lambda$ ) e “fitness relativo” ( $Rf$ ).

Parâmetros biológicos	Linhagens	
	Suscetível	Resistente
$T$	15,22 $\pm$ 0,42 a	15,85 $\pm$ 0,65 a
$R_0$	50,73 $\pm$ 1,63 a	42,91 $\pm$ 2,13 b
$r_m$	0,259 $\pm$ 0,007 a	0,238 $\pm$ 0,006 b
$\lambda$	1,295 $\pm$ 0,008 a	1,268 $\pm$ 0,007 b
$Rf$	1	0,84

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste *t*.

Os contrastes observados entre as linhagens S e R, em termos de taxa líquida de reprodução e razão finita de aumento podem explicar a instabilidade na resistência de *T. urticae* a etoxazol, mencionada no item anterior (Figura 2). Baseando-se na taxa líquida de reprodução ( $R_0$ ) estimada para a linhagem R (42,91 fêmeas/fêmea/geração) por um período de 6 meses (aproximadamente 180 dias ou 11 gerações), cada fêmea seria capaz de produzir  $9,08 \times 10^{17}$  fêmeas, enquanto que, para a linhagem S (50,73 fêmeas/fêmea/geração), o número de fêmeas originadas atingiria  $5,72 \times 10^{18}$ , sendo 6,3 vezes maior que da linhagem R.

Desvantagens reprodutivas também foram consideradas como o principal fator associado à instabilidade da resistência de *T. urticae* a hexythiazox (HERRON; ROPHAIL, 1993) e milbemectin (NICASTRO et al., 2011). Para milbemectin, foram mencionados

contrastos maiores entre as linhagens R e S, com valor de  $R_0$ , estimado para a linhagem S, 56,9% maior que da linhagem R. Verificou-se, nesse caso, uma reversão mais rápida da resistência de *T. urticae* ao acaricida (milbemectin), em condições de laboratório (NICASTRO et al., 2010).

Em contraste com esses resultados, Flexner et al. (1989) não constataram diferença significativa no número de ovos por fêmea de *T. urticae* para as linhagens resistente e suscetível a cyhexatin, no entanto, foi observado em laboratório um menor tempo de desenvolvimento para fêmeas da linhagem suscetível. Franco et al. (2007) não detectaram custo adaptativo associado à resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) a propargite.

Embora tenha sido observada uma diferença significativa na razão sexual entre as linhagens de *T. urticae* suscetível (66,5%) e resistente (57,4%) a etoxazole no presente estudo, Mable e Pree (1992) encontraram razão sexual similar para as linhagens de *Panonychus ulmi* (Koch) suscetível e resistente a dicofol; para essas linhagens de *P. ulmi*, a principal diferença foi na taxa de oviposição, que foi maior na linhagem S.

Os fatores associados à maior proporção de machos na linhagem de ácaro-rajado resistente a etoxazole ainda são desconhecidas. Um dos fatores que podem afetar a razão sexual em *T. urticae* é o desempenho no acasalamento. Quando o sucesso do acasalamento é baixo, a proporção de machos na população tende a aumentar. Há diversos fatores conhecidos (ex.: atraso no acasalamento, disponibilidade de alimento, incompatibilidade citoplasmática induzida por *Wolbachia*) que podem interferir na razão sexual de ácaros tetraniquídeos (ROEDER et al., 1996; SABELIS; NAGELKERKE; BREEUWER, 2002; GOTOH et al., 2007). Os estudos ainda precisam ser continuados para se entender melhor os mecanismos envolvidos na alteração da razão sexual na linhagem resistente a etoxazole.

A instabilidade da resistência, como observada nessa linhagem de *T. urticae* resistente a etoxazole pode ser favorável ao manejo da resistência a acaricidas. Para essa linhagem, o restabelecimento gradual da suscetibilidade a etoxazole, em condições de laboratório, está provavelmente associado ao custo adaptativo observado para a linhagem R. Em condições de campo, a migração de ácaros suscetíveis (ou resistentes) pode influenciar no tempo para a reversão da resistência (MILLER et al., 1985; DUNLEY; CROFT, 1992).

#### 4.1.5. Monitoramento da resistência de ácaro-rajado aos acaricidas etoxazole e spiromesifen

##### 4.1.5.1. Monitoramento da resistência a etoxazole

A avaliação das diferentes populações coletadas no Brasil indicou que a suscetibilidade das populações de ácaro-rajado a spiromesifen e etoxazole mostrou-se variável, com grandes contrastes ( $P < 0,05$ ) entre as populações.

Observou-se que 56,3% das populações de ácaro-rajado coletadas no Brasil ainda se mostra suscetível a etoxazole, com frequências de resistência iguais ou abaixo de 5%, no entanto, cinco populações (ou 31,2%) apresentaram frequências de resistência acima de 30% (Figura 5).

As maiores porcentagens de ácaros resistentes foram observadas para morangueiro e ornamentais (crisântemo, gérbera e rosa), com destaque para duas populações de roseira que apresentaram frequências de resistência de aproximadamente 90%. Elevadas frequências de ácaros resistentes foram observadas apenas no estado de São Paulo.

Os resultados indicam que, embora a maioria das populações de ácaro rajado ainda se mostre suscetível a etoxazole. Em alguns cultivos comerciais (ex.: morangueiro e ornamentais), com alta pressão de seleção com acaricidas, porcentagens entre 30% e 90% de ácaros resistentes a etoxazole foram observadas.

No caso de plantas ornamentais (ex.: rosa, crisântemo), o controle químico sozinho, mesmo com o uso de rotação de acaricidas, não tem sido o suficiente para proporcionar um bom controle de *T. urticae* no Estado de São Paulo (NICASTRO, 2014). Em alguns cultivos comerciais em Atibaia, Campinas e Holambra, a resistência não tem se limitado a etoxazole, estendendo-se para a maioria dos acaricidas disponíveis no mercado, incluindo abamectin, milbemectin, chlorfenapyr, fenpyroximate, propargite e fenpropathrin (NICASTRO; SATO; SILVA, 2010; SATO et al., 2009, NICASTRO et al., 2013).

Populações resistentes de *T. urticae* a etoxazole também foram detectadas em pomares de maçã no Japão (KOBAYASHI et al. 2001; UESUGI et al. 2002) e em cultivos de rosas na República da Coreia (LEE et al., 2004).

Uesugi et al. (2002) reportaram que as resistências de *T. urticae* a etoxazole e chlorfenapyr são monogênicas e que estão geneticamente ligadas com uma taxa de recombinação de 14,8%. Nesse caso, é possível que a seleção para resistência a chlorfenapyr possa afetar a frequência de resistência a etoxazole.

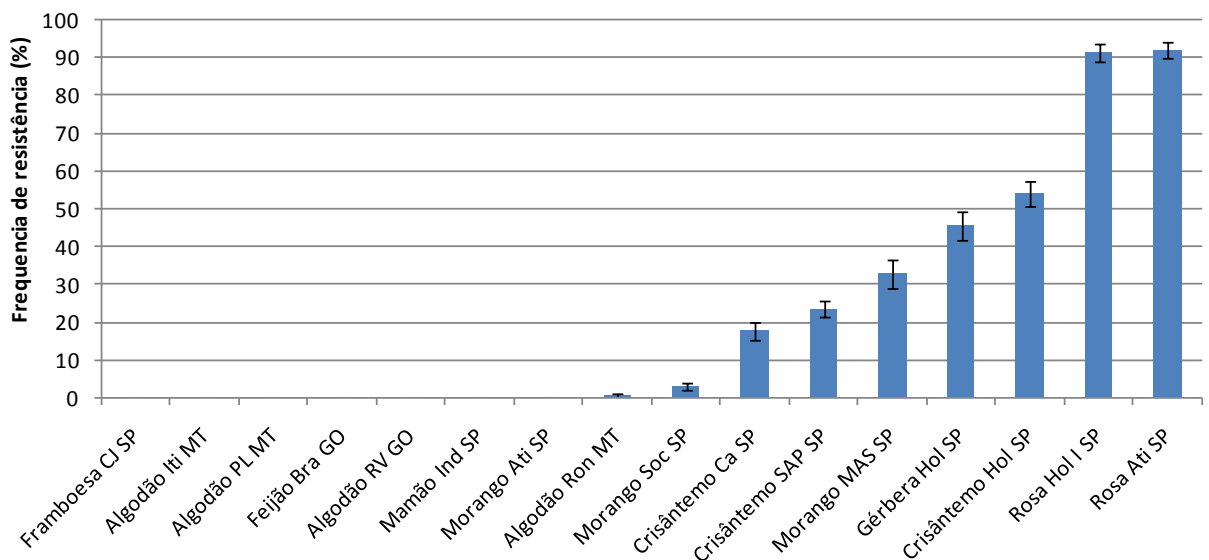
Etoxazole trata-se de um acaricida que tem o modo de ação realizado por contato e ação translaminar (AGROFIT, 2013).

Nicastro et al. (2013) também mencionaram uma possível resistência associada entre chlorfenapyr e etoxazole. Nesse aspecto, as altas frequências de resistência a

etoxazole, observadas em populações coletadas de ornamentais (Figura 5) podem ter sido influenciadas pelas frequentes aplicações de chlorfenapyr nessas culturas, com elevadas porcentagens de ácaros resistentes (até 88,5%) a esse produto, no estado de São Paulo (SATO et al., 2007a; NICASTRO et al., 2013).

Resultados obtidos por Papa et al. (2003) em testes de eficiência do acaricida etoxazole no controle de *T. urticae* em cultura de tomate no estado de São Paulo demonstraram que o produto se mostrou eficiente mesmo em baixas concentrações (ex.: 2,2 mg de i.a./L), indicando que a população testada ainda se mostrava suscetível ao acaricida.

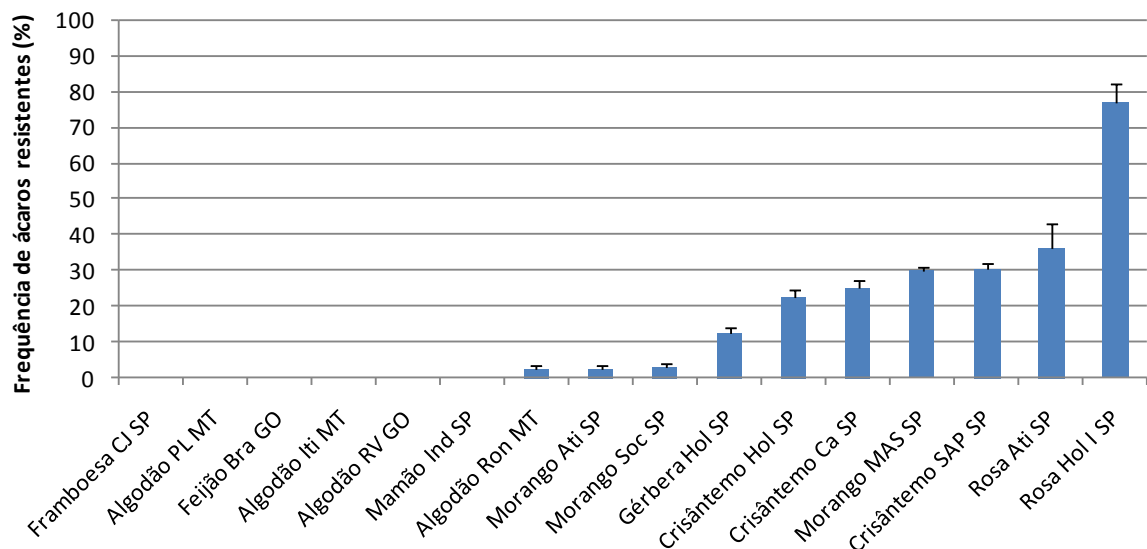
Populações de *T. urticae* coletadas na Itália por Tirello et al. (2012) mostram-se suscetíveis a etoxazole, tendo valores de  $CL_{90}$  muito abaixo das concentrações utilizadas em campo.



**Figura 5.** Sobrevivência média (%) de ácaros *Tetranychus urticae* tratados com etoxazole, em sua concentração discriminatória (5,5 mg de i.a./L). As populações foram coletadas no período de 2010 a 2013 de culturas comerciais de algodão (Primavera do Leste, MT; Rio Verde, GO; Rondonópolis, MT; Itiquira, MT), crisântemo (Campinas, SP; Holambra, SP; Santo Antonio de Posse, SP), feijão (Brazabrantas, GO), framboesa (Campos do Jordão, SP), gérbera (Holambra, SP); mamão (Indaiatuba, SP), morango (Atibaia, SP; Monte Alegre do Sul, SP; Socorro, SP) e rosa (Atibaia, SP; Holambra, SP).

#### 4.1.5.2. Monitoramento da resistência a spiromesifen

Com relação à resistência de *T. urticae* a spiromesifen, observou-se que a maioria (60,0%) das populações de ácaro-rajado coletadas no Brasil também se mostrou suscetível a spiromesifen, com frequências de resistência iguais ou abaixo de 10%, no entanto, duas populações (ou 13,3%) apresentaram frequências de resistência acima de 35%. Uma das populações, coletada de roseira em Holambra, SP, apresentou quase 80% de ácaros resistentes (Figura 6).



**Figura 6.** Sobrevivência média (%) de ácaros *Tetranychus urticae* tratados com spiromesifen, em sua concentração discriminatória (6,96 mg de i.a./L). As populações foram coletadas no período de 2010 a 2013 de culturas comerciais de algodão (Primavera do Leste, MT; Rio Verde, GO; Rondonópolis, MT; Itiquira, MT), crisântemo (Campinas, SP; Holambra, SP; Santo Antonio de Posse, SP), feijão (Brazabrantas, GO), framboesa (Campos do Jordão, SP), gérbera (Holambra, SP); mamão (Indaiatuba, SP), morango (Atibaia, SP; Monte Alegre do Sul, SP; Socorro, SP) e rosa (Atibaia, SP; Holambra, SP).

Algumas populações de *T. urticae* coletadas de rosas cultivadas em casa-de-vegetação na Holanda também se mostraram resistentes a spiromesifen e etoxazole, porém, a maioria apresentou suscetibilidade a esses acaricidas (KHAJEHALI et al., 2011).

Spiromesifen trata-se de um acaricida que tem o modo de ação realizado por contato e ingestão (AGROFIT, 2013).



A instabilidade na resistência de ácaro-rajado a spiromesifen (VERONEZ, 2010) pode ser um dos fatores associados à baixa frequência de resistência ao acaricida, observada na maioria das populações avaliadas.

#### 4.1.6. Sensibilidade de diferentes populações de *T. urticae* a azadirachtin

Praticamente não foram detectadas diferenças nas sensibilidades a azadirachtin nas populações de *T. urticae* coletadas em cultivos comerciais de algodão, feijão e morango, em diferentes regiões brasileiras (Tabela 4).

O maior contraste foi observado entre as populações de feijoeiro de Goiás e de Morangueiro de São Paulo, com razão de resistência de 1,76 (vezes). A maior CL<sub>50</sub> observada para azadirachtin (na população de morangueiro de Monte Alegre do Sul) corresponde a apenas 15,7% da concentração recomendada do produto para o controle de ácaro-rajado em morangueiro no Brasil.

Os resultados indicaram que há diferenças na sensibilidade a azadirachtin entre as diversas populações de *T. urticae*, porém os contrastes são pequenos. A influência desses contrastes sobre a eficiência do produto em condições de campo ainda precisa ser avaliada.

A elevada sensibilidade a azadirachtin nas diversas populações de *T. urticae* (Tabela 5), com diferentes frequências de resistência a acaricidas (ex.: abamectin, milbemectin, propargite, fenpyroximate, chlorfenapyr) (NICASTRO, 2014), indicou que o uso de azadirachtin pode representar uma boa estratégia para o manejo da resistência a esses compostos.

No caso da população procedente de morangueiro de Monte Alegre do Sul, SP, para a qual as frequências de resistência a abamectin, milbemectin, propargite e fenpyroximate foram acima de 85% (NICASTRO, 2014), a aplicação de azadirachtin pode ser uma alternativa para o controle do ácaro-praga.

Nesse contexto, diversos autores têm mencionado que produtos derivados da planta de nim, *Azadirachta indica* (A. Juss), destacam-se pela sua eficiência no controle de artrópodes-praga e baixa toxicidade aos inimigos naturais e ao homem (MARTINEZ, 2002; VENZON et al., 2008), representando uma importante ferramenta para o manejo integrado de pragas. Além disso, os produtos derivados da planta de nim não deixam resíduos tóxicos no produto final, permitindo realizar o tratamento próximo ou no momento da colheita (BERNARDI et al., 2010).

O modo de ação de azadirachtin é desconhecido por ser um metabólito secundário do nim que possui um amplo modo de ação (IRAC, 2014). Azadirachtin apresenta propriedades antialimentares e esterilizantes, afetando mais de 250 espécies de insetos-praga. Estudos demonstraram que a expressão de algumas proteínas pode ser afetada

expondo-se os insetos a azadirachtin em dietas contendo o produto ou por injeção do mesmo (SCHMUTTERER, 1990; ANNADURAI; REMBOLD, 1993). Schmutterer (1990) sugeriu que azadirachtin influencia os sistemas hormonais, especialmente o de ecdisona, podendo causar a morte de insetos, antes ou durante a muda.

**Tabela 5.** Testes toxicológicos com azadirachtin (Azamax®) em quatro populações de *Tetranychus urticae*: 1) de feijoeiro de Brazabranes, GO; 2) de algodoeiro de Rio Verde, GO; 3) de algodoeiro de Rondonópolis, MT; 4) de algodoeiro de Itiquira, MT; 5) de morangueiro de Monte Alegre do Sul, SP. Número total de ácaros utilizados para a obtenção das curvas de concentração-resposta ( $n$ ); estimativa da concentração letal média (CL<sub>50</sub>) e intervalo de confiança (I.C.) a 95%; coeficiente angular e erro padrão da média (EP); Qui-quadrado ( $\chi^2$ ); grau de liberdade (G.L.); razão de resistência (RR).

População (Local de coleta)	$n$	CL <sub>50</sub> ( $\mu$ L de i.a./L) [I.C. a 95%]	Coeficiente angular $\pm$ EP	$\chi^2$	G.L.	RR <sup>(1)</sup>
Feijoeiro Bra GO	640	19,61 (16,89 – 22,69)	1,96 $\pm$ 0,13	2,79	3	1
Algodoeiro Ron MT	720	25,38 (20,88 – 31,21)	1,38 $\pm$ 0,04	2,44	3	1,29
Algodoeiro Iti MT	840	28,31 (21,92 – 35,88)	1,72 $\pm$ 0,03	1,51	5	1,44
Algodoeiro RV GO	620	28,98 (23,42 – 36,75)	1,26 $\pm$ 0,08	1,63	3	1,47
Morangueiro MES SP	780	34,54 (30,14 – 39,34)	2,46 $\pm$ 0,14	5,97	2	1,76

<sup>(1)</sup>RR = Razão de resistência = CL<sub>50</sub> resistente / CL<sub>50</sub> suscetível

## 4.2. Estudos de estratégias de manejo de ácaro-rajado em morangueiro e roseira

### 4.2.1. Experimento em morangueiro

Considerando-se as avaliações realizadas no período de 25/07/2012 a 07/11/2012, foi possível observar diferenças significativas nas densidades populacionais de *T. urticae* entre tratamentos ( $F_{(7, 24)} \geq 2,43$ ;  $P \leq 0,049$ ) (para as quatro primeiras avaliações) e entre datas de avaliação ( $F_{(5, 18)} \geq 3,72$ ;  $P \leq 0,017$ ) (para todos os tratamentos). Também foram observadas diferenças significativas nas densidades populacionais de *N. californicus* entre tratamentos ( $F_{(7, 24)} \geq 3,18$ ;  $P = 0,016$ ) (apenas na quarta avaliação) e entre datas de avaliação ( $F_{(5, 18)} \geq 4,62$ ;  $P \leq 0,007$ ) (para todos os tratamentos).

Na testemunha com liberação de predadores (A1), não foram observados aumentos significativos na densidade populacional da praga, ao longo do experimento. A máxima densidade populacional da praga (47,9 ácaros/folículo) foi observada no vigésimo dia após a liberação dos ácaros predadores (Tabela 6), quando a população de *N. californicus* no campo (0,0 ácaros/folículo) ainda era muito baixa. Na última avaliação (07/11), as plantas de morango já se apresentavam isentas da infestação da praga.

Na Testemunha sem liberação de *N. californicus* (A2), a população de *T. urticae* chegou a 88,9 ácaros por folículo, na avaliação realizada aos 20 dias após o início do experimento (14/08) (Tabela 6). Após 55 dias (20/09), a população da praga (12,8 ácaros/folículo) apresentou redução significativa em relação às avaliações anteriores (14/08 e 03/09), provavelmente devido à migração dos ácaros predadores da área para este tratamento. Nessa ocasião (20/09), registrou-se o pico populacional de *N. californicus* (1,33 ácaros/folículo) (Tabela 7) e nas avaliações posteriores, as densidades populacionais de *T. urticae* foram iguais ou inferiores a 0,5 ácaro por folículo (Tabela 6).

No tratamento B1, com duas aplicações de extratos vegetais (Rotate<sup>®</sup>) (25/07 e 03/09) e uma liberação de ácaros predadores (25/07), observou-se aumento populacional da praga até 40 dias após a liberação de *N. californicus* (03/09), atingindo 70,4 ácaros por folículo. Observou-se tendência de redução populacional a partir de 20/09 (55 dias), quando o número de predadores por folha atingiu 1,23 ácaros por folículo (Tabela 6). A partir dessa data (20/09), verificaram-se baixas populações da praga ( $\leq 15,7$  ácaros/folículo). O tratamento B1 não diferiu estatisticamente da testemunha com liberação de predadores (A1) em nenhuma avaliação ao longo do experimento, indicando que as aplicações do produto a base de extratos vegetais (Rotate<sup>®</sup>) não afetaram significativamente a população de *T. urticae*. A baixa eficiência verificada para o produto pode ter sido influenciada pela baixa toxicidade do produto em ovos de *T. urticae*, observada em estudos conduzidos condições

de laboratório (Dados não publicados). Outros fatores, como o curto efeito residual do produto e a elevada dispersão de *T. urticae* em campo, podem ter contribuído para a não redução populacional da praga nos canteiros de morango. O produto quando aplicado sobre as plantas de morango, no dia 03/09, na fase de estabelecimento dos ácaros predadores no campo, não causou nenhum efeito prejudicial perceptível sobre a população de predadores, que cresceu de 0,28 ácaro por folíolo (03/09) para 1,23 ácaros por folíolo, nas duas semanas posteriores à aplicação (Tabela 7).

No tratamento com aplicação de Rotate<sup>®</sup> sem liberação de ácaros predadores (B2), as densidades populacionais de *T. urticae* foram semelhantes às observadas no tratamento A2 (Testemunha sem predador), confirmando a baixa eficiência do produto em condições de campo. Embora o produto não tenha se mostrado efetivo em morangueiro, Rotate<sup>®</sup> causou mortalidade de 100% em adultos de *T. urticae*, em concentrações iguais ou superiores a 0,75 mL de p.c. por litro de água, em laboratório (Dados não publicados). No presente estudo, o produto foi utilizado na concentração de 1 ml por litro.

Considerando-se que Rotate<sup>®</sup> apresenta alta eficiência sobre formas ativas de *T. urticae*, porém não causa mortalidade em ovos de *T. urticae* (na concentração estudada), uma das possíveis estratégias para viabilizar o uso do produto em programa de manejo de ácaro-rajado em morangueiro seria a aplicação do produto em cultivos com alta infestação da praga, repetindo-se a aplicação do produto 4 ou 5 dias a primeira aplicação. Esse período entre aplicações corresponderia ao período de duração da fase de ovo (SAITO et al., 1979; NICASTRO et al., 2011). O produto (Rotate<sup>®</sup>) pode ser interessante para o manejo do ácaro-praga em morangueiro e diversas outras culturas, devido à sua baixa toxicidade a *N. californicus* e elevada toxicidade sobre formas ativas de *T. urticae*, podendo contribuir para a redução no custo de liberação de ácaros predadores em campo.

No tratamento C1, com aplicação de azadirachtin (Azamax<sup>®</sup>) e liberação de ácaros predadores, a população de *T. urticae* apresentou crescimento gradual até 03/09, quando o número de ácaros por folíolo atingiu 38,3 (Tabela 6). Observou-se tendência de decréscimo populacional após essa data, devido à presença dos ácaros predadores (Tabela 7). Azadirachtin também se mostrou inócuo para a população de *N. californicus*, com aumento na densidade populacional dos predadores após a aplicação realizada no dia 03/09.

No tratamento C2, com aplicação de azadirachtin (Azamax<sup>®</sup>), sem liberação de ácaros predadores, observou-se redução populacional significativa (69,9%) de *T. urticae*, em relação à testemunha sem liberação de predadores (A2), aos 20 dias após a primeira aplicação. Não foi possível avaliar a eficiência da segunda aplicação (03/09), devido ao

aumento populacional de ácaros *N. californicus* em todos os tratamentos, após a data dessa aplicação.

O tratamento D1, com aplicação de *H. thompsonii* e liberação de ácaros predadores, seguiu a mesma tendência do tratamento C1 (azadirachtin + predador), porém, observou-se maior densidade populacional de *T. urticae* no tratamento D1, na avaliação realizada aos 55 dias após o início do experimento (20/09) (Tabela 6). O fungo entomopatogênico também se mostrou inócuo ao ácaro predador *N. californicus* (Tabela 7).

No tratamento D2, com aplicação de *H. thompsonii*, sem liberação de ácaros predadores, também se observou redução populacional significativa (70,9%) de *T. urticae*, em relação à testemunha sem liberação de predadores (A2), aos 20 dias após a primeira aplicação. Não foi possível avaliar a efetividade da segunda aplicação do fungo entomopatogênico (03/09), devido à presença de ácaros predadores em todos os tratamentos, após a data dessa aplicação. O tratamento D2 não diferiu estatisticamente do tratamento D1, ao longo do experimento, indicando que *H. thompsonii* aplicado isoladamente pode representar uma boa alternativa para o controle de *T. urticae*.

O bom desempenho de *N. californicus* no controle biológico de *T. urticae* em morangueiro da cultivar Oso Grande, já havia sido relatado por outros autores (SATO et al., 2007b; IWASSAKI, 2010).

**Tabela 6.** Número de ácaros-praga *T. urticae* por folíolo (formas ativas) em canteiros de morangueiro com diferentes tratamentos: extrato de plantas (Rotate<sup>®</sup>), azadirachtin (Azamax<sup>®</sup>) e o fungo entomopatogênico (*Hirsutella thompsonii*). Monte Alegre do Sul, SP, julho a novembro de 2012.

Tratamento	Datas (amostragens)					
	25.07.2012 <sup>1</sup>	14.08.2012	03.09.2012	20.09.2012	10.10.2012	07.11.2012
<b>A1.</b> Testemunha + predador	4,50 ± 2,99 ab AB	47,93 ± 16,79 ab B	16,83 ± 4,03 a AB	35,30 ± 7,80 ab AB	35,10 ± 14,53 b AB	0,00 ± 0,00 a A
<b>A2.</b> Testemunha s/ predador	13,18 ± 3,18 ab A	88,95 ± 6,87 b C	30,43 ± 3,77 a B	12,83 ± 3,57 a A	0,50 ± 0,17 a A	0,00 ± 0,00 a A
<b>B1.</b> Rotate <sup>®</sup> + predador	0,90 ± 0,67 a A	12,13 ± 4,56 a A	70,45 ± 23,68 a B	28,95 ± 3,50 ab AB	15,68 ± 8,03 ab A	0,00 ± 0,00 a A
<b>B2.</b> Rotate <sup>®</sup> s/ predador	9,95 ± 4,38 ab A	43,65 ± 12,04 ab BC	48,68 ± 10,22 a C	14,15 ± 1,54 a AB	2,28 ± 1,18 ab A	0,00 ± 0,00 a A
<b>C1.</b> Azamax <sup>®</sup> + predador	2,55 ± 1,75 ab A	8,15 ± 3,02 a AB	38,28 ± 16,03 a B	14,50 ± 3,10 a AB	16,28 ± 5,33 ab AB	0,00 ± 0,00 a A
<b>C2.</b> Azamax <sup>®</sup> s/ predador	14,23 ± 2,59 b A	28,88 ± 0,90 a AB	48,13 ± 12,20 a B	47,95 ± 10,52 b B	9,60 ± 4,28 ab A	0,00 ± 0,00 a A
<b>D1.</b> <i>Hirsutella</i> + predador	7,03 ± 4,72 ab A	9,75 ± 2,73 a A	22,93 ± 2,42 a AB	55,50 ± 20,80 b B	12,25 ± 9,95 ab AB	0,03 ± 0,03 a A
<b>D2.</b> <i>Hirsutella</i> s/ predador	14,92 ± 4,03 b AB	29,28 ± 8,57 a B	22,15 ± 1,47 a B	24,68 ± 1,25 ab B	7,95 ± 3,23 ab AB	0,00 ± 0,00 a A

Médias seguidas pela mesma letra (minúscula) na mesma coluna não diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

Médias seguidas pela mesma letra (maiúscula) na mesma linha não diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

<sup>1</sup> Avaliação prévia

**Tabela 7.** Número de ácaros predadores da espécie *N. californicus* por folíolo (formas ativas) em canteiros de morangueiro com diferentes tratamentos: extrato de plantas (Rotate<sup>®</sup>), azadirachtin (Azamax<sup>®</sup>) e o fungo entomopatogênico (*Hirsutella thompsonii*). Monte Alegre do Sul, SP, julho a novembro de 2012.

Tratamento	Datas (amostragens)					
	25.07.2012 <sup>1</sup>	14.08.2012	03.09.2012	20.09.2012	10.10.2012	07.11.2012
<b>A1.</b> Testemunha + predador	0,00 ± 0,00 a A	0,00 ± 0,00 a A	0,03 ± 0,03 a A	1,08 ± 0,61 ab AB	1,75 ± 0,69 a B	0,03 ± 0,03 a A
<b>A2.</b> Testemunha s/ predador	0,00 ± 0,00 a A	0,00 ± 0,00 a A	0,23 ± 0,10 a A	1,33 ± 0,28 ab B	0,18 ± 0,09 a A	0,00 ± 0,00 a A
<b>B1.</b> Rotate <sup>®</sup> + predador	0,00 ± 0,00 a A	0,00 ± 0,00 a A	0,28 ± 0,16 a A	1,23 ± 0,63 ab AB	1,48 ± 0,91 a B	0,00 ± 0,00 a A
<b>B2.</b> Rotate <sup>®</sup> s/ predador	0,00 ± 0,00 a A	0,00 ± 0,00 a A	0,00 ± 0,00 a A	0,18 ± 0,03 ab A	0,53 ± 0,23 a B	0,05 ± 0,05 a A
<b>C1.</b> Azamax <sup>®</sup> + predador	0,00 ± 0,00 a A	0,03 ± 0,03 a A	0,25 ± 0,19 a A	0,50 ± 0,25 ab A	1,48 ± 0,49 a B	0,08 ± 0,05 a A
<b>C2.</b> Azamax <sup>®</sup> s/ predador	0,00 ± 0,00 a A	0,00 ± 0,00 a A	0,00 ± 0,00 a A	0,33 ± 0,11 ab A	1,63 ± 0,53 a B	0,00 ± 0,00 a A
<b>D1.</b> <i>Hirsutella</i> + predador	0,00 ± 0,00 a A	0,00 ± 0,00 a A	0,15 ± 0,06 a A	1,73 ± 0,35 b B	1,05 ± 0,33 a B	0,03 ± 0,03 a A
<b>D2.</b> <i>Hirsutella</i> s/ predador	0,00 ± 0,00 a A	0,00 ± 0,00 a A	0,05 ± 0,05 a A	0,18 ± 0,14 a A	1,38 ± 0,46 a B	0,03 ± 0,03 a A

Médias seguidas pela mesma letra (minúscula) na mesma coluna não diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

Médias seguidas pela mesma letra (maiúscula) na mesma linha não diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

<sup>1</sup> Avaliação prévia

Sato et al. (2007b) observaram baixa mobilidade de *N. californicus* em cultivo de morango com altas infestações ( $\geq 40$  ácaros/folíolo) de ácaro-rajado, provavelmente devido à elevada disponibilidade de alimento nas plantas. No presente experimento, a liberação dos predadores foi realizada quando a infestação do ácaro-praga era em torno de 8,4 ácaros por folíolo (média geral na avaliação do dia 25/07), o que favoreceu a dispersão dos ácaros predadores na área do experimento.

A utilização dos produtos à base de extratos vegetais (Rotate<sup>®</sup>), azadirachtin (Azamax<sup>®</sup>) e *Hirsutella thompsonii* mostra-se compatível com a liberação de ácaros predadores da espécie *N. californicus* em morangueiro, podendo ser útil para o manejo da praga nessa cultura.

O uso de azadirachtin e produtos a base de extratos vegetais pode ser interessante em condições desfavoráveis à multiplicação de ácaros predadores, como em períodos de baixa umidade relativa do ar (MORAES; McMURTRY, 1981).

A liberação de predadores, juntamente com o uso de produtos seletivos (ex.: Rotate<sup>®</sup>, Azamax<sup>®</sup>), pode ser uma boa alternativa para o manejo do ácaro-praga na cultura de morango.

No presente experimento foi possível observar densidades populacionais de ácaro-rajado de até 88,9 ácaros por folíolo na área testemunha (A2) sem liberação de predadores, que são consideradas bastante elevadas (ZALOM, 2002), podendo afetar significativamente a produção.

O nível de dano econômico estabelecido para ácaro-rajado em morangueiro é variável na literatura. Fraulo e Liburd (2007) consideram 70 a 80 formas ativas do ácaro por folha (ou 23 a 27 ácaros por folíolo) como nível de dano econômico para morangueiro. Zalom (2002) considera que nos primeiros quatro meses após o transplante das mudas de morangueiro este nível é de cinco a dez ácaros por folíolo, porém, durante a fase de frutificação, a planta se torna mais tolerante ao ataque do ácaro-praga, e o nível de dano econômico aumenta para 20 ácaros por folíolo.

#### **4.2.2. Experimento em roseira**

Considerando-se as avaliações realizadas no período de 21/05/2012 a 21/03/2013, foi possível observar diferenças significativas nas densidades populacionais de *T. urticae* entre as diferentes fases de produção [enraizamento (Fase 0), crescimento das plantas (Fase 1) e de pré-venda (Fase 2)], em estufas de cultivo de *Rosa* spp., para quatro datas de

avaliação ( $F_{(2, 12)} \geq 8,76$ ;  $P \leq 0,0048$ ) e entre datas de avaliação, para todas as fases ( $F_{(6, 343)} \geq 3,84$ ;  $P \leq 0,001$ ).

Não foram realizadas análises estatísticas para ácaros predadores, devido ao baixo número de ácaros encontrados ( $< 0,1$  ácaros/folíolo) ao longo do experimento. O reduzido número de ácaros predadores observados pode estar associado à forma de amostragem (posição das folhas coletadas nas plantas e tamanho das amostras), às aplicações eventuais de inseticidas e acaricidas não seletivos (ex.: abamectin, etoxazole, fenprothrin) realizadas pelo produtor, além da grande rotatividade da produção das rosas produzidas em vasos.

Com a liberação dos ácaros predadores, foi possível reduzir significativamente o uso de acaricidas na propriedade, que passou de 3 a 4 aplicações semanais, nos períodos de maior infestação da praga (março a outubro), para aproximadamente uma aplicação semanal.

As densidades populacionais de ácaro-rajado se mantiveram relativamente baixas (média geral de 1,25 ácaros/folíolo) ao longo do estudo (após a liberação de predadores). As maiores populações de *T. urticae* (13,9 ácaros/folíolo) em roseira foram observadas em agosto de 2012, para a fase de pré-venda. As fases de enraizamento (Fase 0) e crescimento das plantas (Fase 1) foram as menos infestadas, com número de ácaros iguais ou inferiores a 1,74 por folíolo (Tabela 8). Antes do início das liberações de predadores (em 2011), as densidades populacionais da praga chegavam a mais de 40 ácaros por folíolo, na fase de pré-venda.

**Tabela 8.** Número de ácaros *T. urticae* (formas ativas / folíolo) presentes nas fases de enraizamento (Fase 0), crescimento das plantas (Fase 1) e de pré-venda (Fase 2), em estufas de cultivo de rosa, submetidos à liberação de ácaros predadores (*N. californicus* e *P. macropilis*).

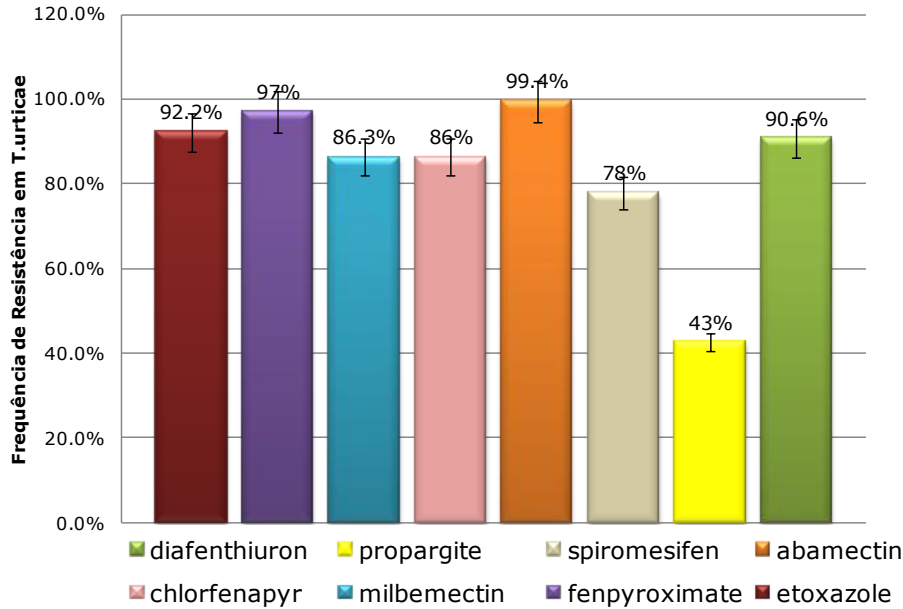
	Datas de amostragem						
	21.05.12	24.07.12	21.08.12	02.10.12	07.11.12	10.01.13	21.03.13
<b>Fase 0</b>	0,04 ± 0,04 a A	0,00 ± 0,00 a A	1,74 ± 1,24 a B	0,10 ± 0,08 a A	0,00 ± 0,00 a A	0,00 ± 0,00 a A	0,00 ± 0,00 a A
<b>Fase 1</b>	0,52 ± 0,36 a A	1,74 ± 0,64 ab B	0,00 ± 0,00 a A	0,00 ± 0,00 a A	0,50 ± 0,23 a AB	0,16 ± 0,16 a A	0,00 ± 0,00 a A
<b>Fase 2</b>	0,00 ± 0,00 a A	3,66 ± 1,31 b C	13,86 ± 1,47 b D	1,04 ± 0,78 a ABC	1,96 ± 0,56 a BC	0,76 ± 0,43 a ABC	0,10 ± 0,05 a AB

Médias seguidas pela mesma letra (minúscula) na mesma coluna não diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

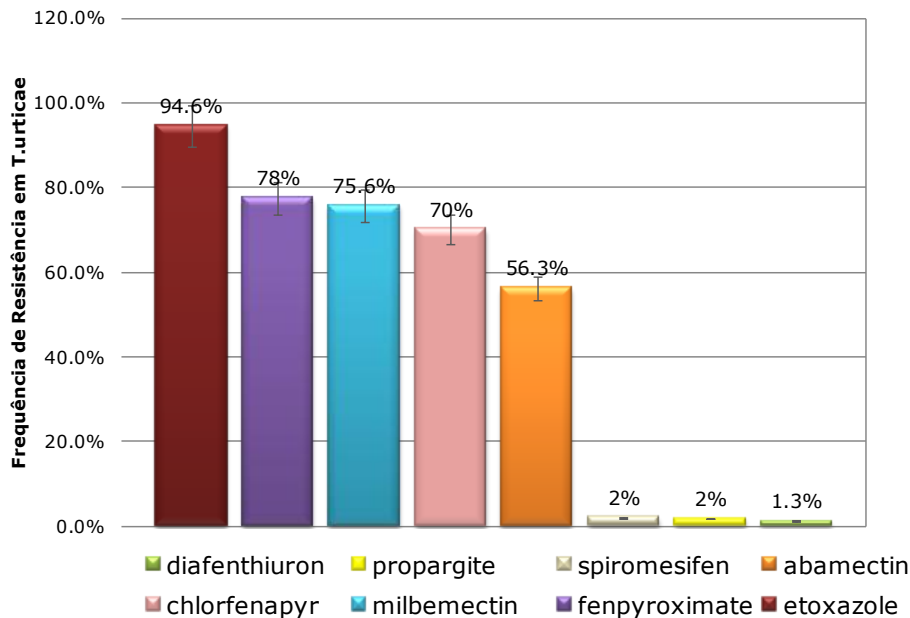
Médias seguidas pela mesma letra (maiúscula) na mesma linha não diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey.



Durante o período de avaliações, foi possível observar uma queda na frequência de resistência de *T. urticae* a diversos acaricidas (Figura 7 e 8).



**Figura 7.** Sobrevivência média (%) de ácaros *Tetranychus urticae* tratados com diafenthiuron, propargite, spiromesifen, abamectin, chlorfenapyr, milbemectin, fenpyroximate e etoxazole em suas concentrações discriminatórias. A população foi coletada em maio de 2011, em cultivo comercial de rosa em Holambra, SP.



**Figura 8.** Sobrevivência média (%) de ácaros *Tetranychus urticae* tratados com diafenthiuron, propargite, spiromesifen, abamectin, chlorfenapyr, milbemectin, fenpyroximate e etoxazole em suas concentrações discriminatórias. A população foi coletada em novembro de 2012 de cultivo comercial de rosa em Holambra, SP.

Em 2011, foram observadas altas frequências de resistência, iguais ou acima de 86%, a quase todos os acaricidas, com exceção de propargite (43%) e spiromesifen (78%). Já no ano de 2012, as frequências de resistência caíram significativamente ( $P < 0,05$ ) para a maioria dos acaricidas, com exceção de etoxazole.

As principais reduções na porcentagem de ácaros resistentes foram observadas para diafenthiuron (90,6% para 1,3%), spiromesifen (78% para 2%) e propargite (43% para 2%). As quedas nas frequências de resistência estão provavelmente associadas a um manejo mais adequado da praga, adotado a partir de 2012, com liberação de ácaros predadores e redução no uso de acaricidas.

No caso de etoxazole, não foi observada redução na frequência de resistência de *T. urticae* ao acaricida, provavelmente devido às aplicações realizadas (pelo menos uma) nos meses anteriores ao período da coleta da amostra em 2012.

Para spiromesifen, houve praticamente o restabelecimento da suscetibilidade. Esse resultado já era esperado devido à instabilidade da resistência de *T. urticae* ao acaricida, conforme observado em estudos anteriores conduzidos no Instituto Biológico (VERONEZ, 2010).

As quedas nas porcentagens de resistência a abamectin (99,4% a 56,3%) também podem estar associadas à instabilidade da resistência, a esse produto, em ácaro-rajado (SATO et al., 2005; NICASTRO et al., 2010).

## 5. CONCLUSÕES

- A resistência de *T. urticae* a etoxazole é instável na ausência de pressão de seleção, em condições de laboratório.
- Há custo adaptativo associado à resistência de *T. urticae* a etoxazole. O custo adaptativo da resistência de *T. urticae* a etoxazole está relacionado principalmente à menor taxa de reprodução ( $R_0$ ) da linhagem resistente em relação à linhagem suscetível ao produto.
- A maioria das populações de ácaro-rajado se mostrou suscetível a etoxazole e spiromesifen, porém, foram detectadas populações com frequências de resistência acima de 70% para esses acaricidas. As maiores porcentagens de ácaros resistentes foram observadas em populações coletadas de morangueiro e ornamentais (rosa, crisântemo e gérbera), no estado de São Paulo.
- A liberação de predadores da espécie *N. californicus*, juntamente com o uso de produtos seletivos (ex.: Rotate<sup>®</sup>, Azamax<sup>®</sup>, *Hirsutella thompsonii*), representa uma boa alternativa para o manejo do ácaro-praga *T. urticae* em morangueiro.
- A liberação de ácaros predadores (*N. californicus* e *P. macropilis*) é favorável ao manejo da praga e reduz a resistência de *T. urticae* à acaricidas em roseira.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W.S. A method for computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p. 265-267, 1925.

AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 29 jul. 2013.

ALEXANDRE, M.A.V.; DUARTE, L.M.L. Mosaico da roseira. 2010. Artigo em Hyper texto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_2/MosaicoRoseira/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_2/MosaicoRoseira/index.htm)>. Acesso em: 18/1/2012

ANNADURAI, R.S.; REMBOLD, H. Azadirachtin A modulates the tissue specific 2D polypeptide patterns of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. **Naturwissenschaften**, v.80, p.127-130, 1993.

ASAHARA, M.; UESUGI, R.; OSAKABE, M.H. Linkage between one of the polygenic hexythiazox resistance genes and an etoxazole resistance gene in the two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 101, p. 1704-1710, 2008.

AY, R.; KARA, F.E. Toxicity, inheritance and biochemistry of clofentezine resistance in *Tetranychus urticae*. **Insect Science**, v.18, p.503-511, 2011.

BARBIERI, R.L.; STUMPF, E. R.T.; Origem, evolução e história das rosas cultivadas. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.11, n.3, p.267-271, 2005.

BEERS, E.H.; RIEDL, H.; DUNLEY, J.E. Resistance to abamectin and reversion to susceptibility to fenbutatin oxide in spider mite (Acari: Tetranychidae) populations in the Pacific Northwest. **Journal of Economic Entomology**, v.91, n.2, p. 352-360, 1998.

BERNARDI, D.; BOTTON, M.; CUNHA, U.S.; NAVA, D.E.; GARCIA, M.S. Bioecologia, monitoramento e controle do ácaro-rajado com o emprego da azadiractina e ácaros predadores na cultura do morangueiro. Bento Gonçalves: Embrapa – CNPUV, 2010. 8p. (Circular Técnica, 83)

CALEGARIO, F.F.; IWASSAKI, L.A.; HAMMES, V.S. A situação da cultura e o desenvolvimento da produção integrada do morangueiro no Estado de São Paulo. In: SEMINÁRIO MINEIRO SOBRE A CULTURA DO MORANGUEIRO, 1., 2008, Pouso Alegre. Inovações tecnológicas e prospecção de demandas técnico-científicas. Belo Horizonte: EPAMIG; Pouso Alegre: UNIVÁS, 2008. 31p. CD-ROM. Palestra 1.

CASTRO, R.L.; CASALI, V.W.D.; BARRELLA, T.P.; SANTOS, R.H.S.; CRUZ, C.D. Produtividade de cultivares de morangueiro em sistema de cultivo orgânico. **Horticultura Brasileira**, v.21, n. 2, p.227-230, 2003.

CHIAVEGATO, L.G.; MISCHAN, M.M. Efeito do ácaro *Tetranychus urticae* Koch, 1836, 1963 (Acari: Tetranychidae) na produção no morangueiro (*Fragaria* spp.) cv. Campinas. **Científica**, v.9, n.2, p. 257-266, 1981.

DAGLI, F.; TUNÇ, İ. Dicofol resistance in *Tetranychus cinnabarinus*: resistance and stability of resistance in populations from Antalya, Turkey. **Pest Management Science**, v.57, p. 609-614, 2001.

DARROW, G.M. **The strawberry: history, breeding, and physiology**. 1st ed. New York: Holt, Rinehart and Winston. 1966. 447p.

DELALIBERA Jr., I.; ALVES, S.B.; ZALAF, L.S.R. Controle microbiano de ácaros fitófagos. In: Simpósio Brasileiro de Acarologia, 2., 2008, Poços de Caldas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2008.

DERMAUW, W.; ILIAS, A.; RIGA, M.; TSAGKARAKOU, A.; GRBIĆ, M.; TIRRY, L.; Van LEEUWEN, T.; VONTAS, J. The cys-loop ligand-gated ion channel gene family of *Tetranychus urticae*: implications for acaricide toxicology and a novel mutation associated with abamectin resistance. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v.42, p.455-465, 2012.

DUNLEY, J.E.; CROFT, B.A. Dispersal and gene flow of pesticide resistance traits in phytoseiid and tetranychid mites. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v.14, p.313-325, 1992.

ESCUADERO, L.A.F.; FERRAGUT, F. Life-history of predatory mites *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) on four spider mite species as prey, with special reference to *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae). **Biological Control**, v.32, p.378-384, 2005.

FAGUNDES, P.R.S. Retrato da comercialização de morango em São Paulo no ano de 2006. **Análise e Indicadores do Agronegócio**, v.3 (1), Janeiro de 2008.

FERGUSON-KOLMES, L.A.; SCOTT, J.G.; DENNEHY, T.J. Dicofol resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): Cross-resistance and pharmacokinetics. **Journal of Economic Entomology**, v.84, p.41-48, 1991.

FERLA, N.J.; MARCHETTI, M.M.; GONÇALVES, D. Ácaros predadores (Acari) associados à cultura do morango (*Fragaria* sp., Rosaceae) e plantas próximas no Estado do Rio Grande do Sul. **Biota Neotropica**, v.7, n.2, 2007.

FINNEY, D.J. Probit analysis. 3. ed. London: Cambridge University Press, 1971. 315p.

FLECHTMANN, C.H.W. **Ácaros de importância agrícola**. São Paulo, Livraria Nobel, 1979, 189p.

FLEXNER, J.L.; WESTIGARD, P.H.; CROFT, B.A. Field reversion of organotin resistance in the two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) following relaxation of selection pressure. **Journal of Economic Entomology**, v.81, p. 1516-1520, 1988.

FLEXNER, J.L.; THEILING, K.M.; CROFT, B.A.; WESTIGARD, P.H. Fitness and immigration: factors affecting reversion of organotin resistance in the two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v.82, n.4, p.996-1002, 1989.

FRANCO, C.R.; CASARIN, N.F.B.; DOMINGUES, F.A.; OMOTO, C. Resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) a acaricidas inibidores da respiração celular em citros: resistência cruzada e custo adaptativo. **Neotropical Entomology**, v.36, n.4, p.565-576, 2007.

FRAULO, A.B; LIBURD, O.E. Biological control of two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, with predatory mite, *Neoseiulus californicus*, in strawberries. **Experimental and Applied Acarology** v. 43, p. 109-119, 2007.

GOTOH, T.; SUGASAWA, J.; NODA, H.; KITASHIMA, Y. *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility in Japanese populations of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.42, n.1, p.1-16, 2007.

GROTTERS, F.R.; TABASHNIK, B.E.; FINSON, N. Fitness costs of resistance to *Bacillus thuringiensis* in the diamondback moth (*Plutella xylostella*). **Evolution**, v.48, n.1, p.197-201, 1994.

HALLIDAY, W.R.; BURNHAM, K.P. Choosing the optimal diagnostic dose for monitoring insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**, v. 83, p. 1151-1159, 1990.

HENDERSON, C.F.; TILTON, E.W. Tests with acaricides against the brown wheat mite. **Journal of Economic Entomology**, v.48, p.157-161, 1955.

HERRON, G.A.; EDGE, V.; ROPHAIL, J. Clofentezine and hexythiazox resistance in *Tetranychus urticae* Koch, 1836 in Australia. **Experimental and Applied Acarology**, v.17, p. 433-440, 1993.

HERRON, G.A., ROPHAIL, J. Genetics of hexythiazox resistance in two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, 1836. **Experimental Applied Acarology**, v.17, p. 423-431, 1993.

HOY, M.A. Pesticide resistance in arthropod natural enemies: variability and selection responses. In: ROUSH, R.T.; TABASHNIK, B.E. (Ed.) **Pest resistance in arthropods**. New York: Chapman and Hall, 1990. p. 203-236.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA - IBRAFLOR. Floricultura no Brasil: Uma visão do Mercado de Flores. Disponível em: <http://www.ibraflor.com/publicacoes/vw.php?cod=21>. Acesso em 18 jan. 2012.

INSECTICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE - IRAC. The IRAC e Classification: mode of action (MoA). Disponível em: <http://www.irc-online.org/eclassification>. Acesso em: 11 fev. 2014.

IWASSAKI, L.A. Preferência hospedeira e estratégias de manejo do ácaro rajado, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), nas culturas de morango e crisântemo. 2010. 91p. Dissertação (Mestrado). Instituto Biológico. São Paulo, 2010.

KHAJEHALI J, VAN NIEUWENHUYSE P, DEMAEGHT P, TIRRY L, VAN LEEUWEN T. Acaricide resistance and resistance mechanisms in *Tetranychus urticae* populations from rose greenhouses in the Netherlands. **Pest Management Science**, v.67, p. 1424–1433. 2011.

KIM, Y.J.; LEE, S.H.; LEE, S.W.; AHN, Y.J. Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): cross-resistance and biochemical resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v.60, p.1001-1006, 2004.

KOBAYASHI, M.; KOBAYASHI, S.; NISHIMORI, T. Occurrence of etoxazole resistance individuals of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch from a limited region. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology**, v.45, p. 83–88. 2001.

LANCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: Rima, 2000. p.519.

LEORA SOFTWARE. Polo. In: ROBERTSON, J.L.; PREISLER, H.K.; RUSSEL, R.M. (Ed.). A user's guide to probit or logit analysis. Berkeley: LeOra Software. 2003. p. 7-11.

LEE, S.Y.; AHN, K.S.; KIM, C.S.; SHIN, S.C.; KIM, G.H. Inheritance and stability of etoxazole resistance in two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, and its cross resistance. **Korean Journal of Applied Entomology**, v.43, p. 43–48. 2004.

LI, T.W.; GAO, X.W.; ZHENG, B.Z.; LIANG, P. Study on genetics of avermectins resistance and population fitness in *Plutella xylostella*. **Acta Entomologica Sinica**, v.43, n.3, p.255-263, 2000.

LORENZI, H.; BACHER, L.B.; LACERDA, M.T.C. de; SARTORI, S.F. **Frutas Brasileiras e Exóticas Cultivadas** (de consumo *in natura*). São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 2006. 640p.

MABLE, B.K.; PREE, D.J. Stability of dicofol resistance in populations of European red mite (Acari: Tetranychidae) on apples in Southern Ontario. **Journal of Economic Entomology**, v.85, n.3, p.642-650.1992.

MADAIL, J.C.M.; ANTUNES, L.E.; BELARMINO, L.C.; da SILVA, B.A.; GARDIN, J.A. Avaliação econômica dos sistemas de produção de morango: convencional, integrado e orgânico. Comunicado Técnico 181. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007.

MAIA, A.H.N.; LUIZ, A.J.B.; CAMPANHOLA, C. Statistical inference on associated fertility life table parameters using Jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology**, v.93, n.2, p.511-518, 2000.

MANSOUR, F. A.; ASCHER, K. R. S.; ABO-MOCH, F. Effects of Margosan-O™, Azatin™ and RD9-Repelinon spiders, and on predacious and phytophagous mites. **Phytoparasitica**, v.21, n.3, p.205-211, 1993.

MARTINEZ, S. S. O nim: *Azadirachta indica* - natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: IAPAR, 2002. 142 p.

MARTÍNEZ-VILLAR, E.; SÁENZ-DE-CABEZÓN, F.J.; MORENO-GRIJALBA, F.; MARCO, V.; PÉREZ-MORENO, I. Effects of azadirachtin on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.35, p.215-222, 2005.

MATSUNAGA, M.; OKUYAMA, M. H.; BESSA JUNIOR, A.A. Cultivo em estufa de rosa cortada: custos e rentabilidade. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.25, n.8, 1995.

MEDEIROS, A.R.M. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Hortisul**, v.1, n.3, p.27-32, 1990.

MEYER, J.S.; INGERSOLL, C.G.; McDONALD, L.L.; BOYCE, M.S. Estimating uncertainty in population growth rates: jackknives vs. bootstrap techniques. **Ecology**, v.67, n.5, p.1156-1166, 1986.

MILLER, R.W.; CROFT, B.A.; NELSON, R.D. Effects of early season immigration on cyhexatin and formetanate resistance of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on strawberries in Central California. **Journal of Economic Entomology**, v.78, n.6, p.1379-1388, 1985.

MIRANDA, M.C.; MATSUNAGA, M.; OKUYAMA, M.H. Sistema de cultivo e custo operacional de produção de crisântemos. **Agricultura em São Paulo**, São Paulo, v.41, n.1, p.103-124, 1994.

MOMEN, F. M.; REDA, A. S.; AMER, S. A. A. Effect of neem Azal-F on *Tetranychus urticae* and three predacious mites of the family Phytoseiidae. **Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica**, Budapest, v.32, n.3/4, p.355-362, 1997.

MORAES, G.J. Controle biológico de ácaros fitófagos com ácaros predadores. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Ed. Manole, 2002. p.225-238.

MORAES, G.J.; FLECHTMANN, C.H.W. **Manual de Acarologia** – Acarologia Básica e Ácaros de Plantas Cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto: Holos, 2008. 308p.

MORAES, G.J. de; McMURTRY, J.A. Biology of *Amblyseius citrifolius* (Denmark and Muma) (Acarina: Phytoseiidae). **Hilgardia**, v.49, p.1-29, 1981.

NAUEN, R.; SMAGGHE, G. Mode of action of etoxazole. **Pest Management Science**, v.62, p.379-382, 2006.



NICASTRO, R.L. Resistência de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) ao acaricida milbemectin e manejo do ácaro-praga em morangueiro e ornamentais com utilização de ácaros predadores (Acari: Phytoseiidae). 2009. 57p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Biológico. São Paulo, 2009.

NICASTRO, R.L. Resistência de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) a acaricidas e uso de ácaros predadores (Phytoseiidae) para o manejo do ácaro-praga em diversas culturas. 2014. 84p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2014.

NICASTRO, R.L.; SATO, M.E.; SILVA, M.Z. Milbemectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): selection, stability and cross-resistance to abamectin. **Experimental and Applied Acarology**, v.50, n.3, p.231-241, 2010.

NICASTRO, R.L.; SATO, M.E.; SILVA, M.Z. Fitness costs associated with milbemectin resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. **International Journal of Pest Management**, v.57, n.3, p.223-228, 2011.

NICASTRO, R.L.; SATO, M.E.; ARTHUR, V.; SILVA, M.Z. Chlorfenapyr resistance in the spider mite *Tetranychus urticae*: stability, cross-resistance and monitoring of resistance. **Phytoparasitica**, v.41, p.503-513, 2013.

OMOTO, C.; DENNEHY, T.J.; McCOY, C.W.; CRANE, S.E.; LONG, J.W. Management of citrus rust mite (Acari: Eriophyidae) resistance to dicofol in Florida citrus. **Journal of Economic Entomology**, v.88, p.1120-1128, 1995.

PAPA, G.; CELOTO, F.J.; ROTUNDO, M. Atividade de novo acaricida (Etoxazole) no controle do ácaro rajado, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), na cultura do tomate. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.21, n.2, p.338, 2003.

POTENZA, M.R.; TAKEMATSU, A.P.; SIVIERI, A.P.; SATO, M.E.; PASSEROTTI, C.M. Efeito acaricida de alguns extratos vegetais sobre *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) em laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.66, n.1, p.31-37, 1999a.

POTENZA, M.R.; TAKEMATSU, A.P.; BENEDICTO, L.H. Avaliação do controle de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) através de extratos vegetais, em laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.66, n.2, p.91-97, 1999b.

POTENZA, M.R.; GOMES, R.C.O.; JOCYS, T.; TAKEMATSU, A.P.; RAMOS, A.C.O. Avaliação de produtos naturais para o controle do ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Koch,1836) (Acari: Tetranychidae) em casa de vegetação. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73,n.4, p.455-459, 2006.

REIS, P.R.; ALVES, E.B.; SOUSA, E.O. Biologia do ácaro-vermelho do cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 21, n. 3, p. 260-266, 1997.

REIS, P.R.; TEODORO, A.V.; PEDRO NETO, M. Predatory activity of Phytoseiidae mites on the developmental stages of coffee ring spot mite (Acari: Phytoseiidae: Tenuipalpidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.29, n.3, 2000.

REMBOLD, H. Azadirachtins: Their structure and mode of action, In: ARNASON, J. T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (eds.), *Insecticides of plant origin*. Washington: American Chemical Society. 1989. p.150-163.

ROEDER, C.; HARMSSEN, R.; MOULDEY, S. The effects of relatedness on progeny sex ratio in spider mites. **Journal of Evolutionary Biology**, v.9, p.143-151, 1996.

SABELIS, M.W.; NAGELKERKE, C.J.; BREEUWER, J.A.J. Sex ratio control in arrhenotokous and pseudo-arrhenotokous mites. In: HARDY, I.C.W. (Ed.). **Sex ratio: concepts and research methods**. Cambridge (UK): Cambridge University Press. 2002. p.235-253.

SAITO, Y. Comparative studies on life histories of three species of spider mites (Acari: Tetranychidae). **Applied Entomology and Zoology**, v.14, p.83-94, 1979.

SATO, M.E.; SUPLICY FILHO, N.; SOUZA FILHO, M.F.; TAKEMATSU, A.P. Resistência do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) a diversos acaricidas em morangueiro (*Fragaria* sp.) nos municípios de Atibaia-SP e Piedade-SP. **Ecossistema**, v.19, p.40-46, 1994.

SATO, M.E.; MIYATA, T.; SILVA, M.Z.; RAGA, A.; SOUZA FILHO, M.F. Selections for fenpyroximate resistance and susceptibility, and inheritance, cross-resistance and stability of fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae). **Applied Entomology and Zoology**, v.39, p. 293-302, 2004.

SATO, M.E.; SILVA, M.Z. da; RAGA, A.; SOUZA FILHO, M.F. de. Abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae): selection, cross-resistance and stability of resistance. **Neotropical Entomology**, v.34, n.6, 2005.

SATO, M.E.; SILVA, M.Z.; CANGANI, K.G.; RAGA, A. Seleções para resistência e suscetibilidade, detecção e monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) ao acaricida clorfenapir. **Bragantia**, Campinas, v.66, n.1, p.89-95, 2007a.

SATO, M.E.; SILVA, M.Z. da; SOUZA FILHO, M.F. de; MATIOLI, A.L.; RAGA, A. Management of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in strawberry fields with *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) and acaricides. **Experimental and Applied Acarology**, v.42, p. 107-120, 2007b.

SATO, M.E.; SILVA, M.Z.; SILVA, R.B.; SOUZA FILHO, M.F.; RAGA, A. Monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) a abamectin e fenpyroximate em diversas culturas no Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, p.217-223, 2009.

SCHMUTTERER, H. Insect growth-disrupting and fecundity reducing ingredients from the neem and chinaberry trees. In: MORGAN, E. D.; MANDAVA, N. B. (eds.) **CRC Handbook of**

**natural pesticides.** Boca Raton: CRC series in naturally occurring pesticides. 1987. p.119-170.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, v.35, p.271-297, 1990.

SCHMUTTERER, H. Side-effects of neem (*Azadirachta indica*) products on insect pathogens and natural enemies of spider mites and insects. **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v.121, p.121-128, 1997.

SILVA, F.R.; VASCONCELOS, G.J.N.; GONDIM JUNIOR, M.G.C.; OLIVEIRA, J.V. Exigências térmicas e tabela de vida de fertilidade de *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, p. 291-296, 2005.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N.A. **Manual de Ecologia dos Insetos**. São Paulo: Ceres, 1976. 419p.

SPOLEN, K. M.; ISMAN, M. B. Acute and sublethal effects of a neem insecticide on the commercial biological control agents *Phytoseiulus persimilis* and *Amblyseius cucumeris* (Acari: Phytoseiidae) and *Aphidoletes aphidimyza* (Diptera: Cecidomyiidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v. 89, n. 6, p.1379-1386, Dec. 1996.

STATISTICAL PACKAGE FOR THE SOCIAL SCIENCES – SPSS Inc. Statistical Package for Social Sciences for Windows, v.10.0. User's Guide. Chicago, IL, 2000.

STUMPF, N.; NAUEN, R. Cross-resistance, inheritance, and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v.94, p.1577-1583, 2001.

STUMPF, N.; NAUEN, R. Biochemical markers linked to abamectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.72, p.111-121, 2002.

TAMAI, M.A. Controle de *Tetranychus urticae* Koch com fungos entomopatogênicos. 2002. 144p. **Tese (Doutorado)** - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2002.

TIAN, T.; GRAFTON-CARDWELL, E. E.; GRANETT, J. Resistance to *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) to cyhexatin and fenbutatin-oxide in California pears. **Journal of Economic Entomology**, v.85, n.6, p.2088-2095, 1992.

TIRELLO, P.; POZZEBON, A.; CASSANELLI, S.; VAN LEEUWEN, T.; DUSO, C. Resistance to acaricides in Italian strains of *Tetranychus urticae*: toxicological and enzymatic assays. **Experimental and Applied Acarology**, v.57, p.53-64. 2012.

UESUGI R, GOKA K, OSAKABE MH. Genetic basis of resistances to chlorfenapyr and etoxazole in the two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v.95, n.6, p.1267-1274. 2002.

Van POTTELBERGE, S.; Van LEUWEEN, T.; KHAJEHALI, J.; TIRRY, L. Genetic and biochemical analysis of a laboratory-selected spirodiclofen-resistant strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Pest Management Science**, v.65, p.358-366, 2009a.

Van POTTELBERGE, S.; Van LEEUWEN, T.; NAUEN, R.; TIRRY, L. Resistance mechanisms to mitochondrial electron transport inhibitors in a field-collected strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.99, p.23-31, 2009b.

VENZON, M.; ROSADO, M.C.; MOLINARUGAMA, A.J.; DUARTE, V.S.; DIAS, R.; PALLINI, A. Acaricidal efficacy of neem against *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae). **Crop Protection**, v.27, p.869-872, 2008.

VERKERK, R.H.J.; WRIGHT, D.J. Biological activity of neem seed kernel extracts and synthetic azadirachtin against larvae of *Plutella xylostella* L. **Pesticide Science**, v.37, p.83-91, 1993.

VERONEZ, B. Efeito de compostos sintéticos e naturais sobre *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae) e *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae) e resistência do ácaro-praga a spiromesifen. 2010. 39p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Biológico. São Paulo. 2010.

WATANABE, M.A.; MORAES, G.J. de; GASTALDO Jr., I.; NICOLELLA, G. Controle biológico do ácaro rajado com ácaros predadores fitoseídeos (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) em culturas de pepino e morango. **Scientia Agrícola**, v.51, n.1, p. 75-81, 1994.

YAMAMOTO, A.; YONEDA, H.; HATANO, R.; ASADA, M. Studies on hexythiazox resistance in phytophagous mites. Stability of hexythiazox resistance in the citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor) under laboratory and field conditions. **Journal of Pesticide Science**, v.21, p.37-42, 1996.

ZALOM, F.G. UC IPM Pest Management Guidelines: Strawberry, Insects and Mites. In: Philips P.A., UC IPM Program, UC Cooperative Extension Ventura Co. N.C. Toscano, Entomology, UC Riverside UC ANR, Publication 3468 (2002). Disponível em: <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/selectnewpest.strawberry.html>. Acesso em 10 Jan 2014.

ZHANG, Z.Q. Mites in greenhouse: identification, biology and control. Cambridge: CABI Publishing, 244 p, 2003.