



**Toxicidade diferencial e resistência do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* e do predador *Neoseiulus californicus* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom**

**Jéssica Fernanda Marçal**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio. Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

**São Paulo  
2020**

**Jéssica Fernanda Marçal**

**Toxicidade diferencial e resistência do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* e do predador *Neoseiulus californicus* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

Orientador:  
Prof. Dr. Mário Eidi Sato

São Paulo  
2020

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Jéssica Fernanda Marçal

Título: Toxicidade diferencial e resistência do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* e do predador *Neoseiulus californicus* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio do Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Aprovada em: 04 / 08 / 2020

### Banca Examinadora

Prof. Dr. Mário Eidi Sato

Instituição: Instituto Biológico

Julgamento: Aprovada Assinatura: 

Prof. Dr. Luiz Carlos Dias da Rocha  
Minas – Campus Inconfidentes

Instituição: Instituto Federal do Sul de

Julgamento: Aprovada Assinatura: 

Prof. Dr. José Eduardo Marcondes de Almeida  
Biológico

Instituição: Instituto

Julgamento: APROVADA Assinatura: 

Eu **Jéssica Fernanda Marçal**, autorizo o Instituto Biológico (IB-APTA), da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, a disponibilizar gratuitamente e sem ressarcimento dos direitos autorais, o presente trabalho acadêmico de minha autoria, no portal, biblioteca digital, catálogo eletrônico ou qualquer outra plataforma eletrônica do IB para fins de leitura, estudo, pesquisa e/ou impressão pela Internet desde que citada a fonte.

Assinatura: Jéssica F. M. de Barros Data 19 / 09 / 2020

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

---

Marçal, Jéssica Fernanda.

Toxicidade diferencial e resistência do ácaro praga *Tetranychus urticae* e do predador *Neoseiulus californicus* aos acaricidas ciflumetofem e diafenthiuron.  
/ Jéssica Fernanda Marçal. - São Paulo, 2020.

62 p.

doi: 10.31368/PGSSAAA.2020D.JM005

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: Mário Eidi Sato.

Versão do título para o inglês: Differential toxicity and resistance of the spider mite *Tetranychus urticae* and the predator *Neoseiulus californicus* to the acaricides cyflumetofen and diafenthiuron.

1. Tetranychidae 2. Phytoseiidae 3. Estabilidade da resistência 4. Ornamental 5. Manejo integrado de pragas I. Marçal, Jéssica Fernanda II. Sato, Mário Eidi III. Instituto Biológico (São Paulo) IV. Título.

IB/Bibl./2020/005

---

*A meus pais, Sonía e Valdécio e meu marido Leandro.*

*Por todo amor, apoio e incentivo.*

*Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado forças, saúde e perseverança.

Ao Prof. Dr. Mário Eidi Sato, pela oportunidade, orientação, conhecimento e ajuda durante esse trabalho.

Ao Dr. Jeferson Luiz de Carvalho Mineiro, pelos ensinamentos e ajuda na identificação do ácaro predador, *N. californicus*.

Aos doutores Luiz Carlos Dias da Rocha, José Eduardo Marcondes de Almeida, pela revisão da dissertação.

Aos proprietários do Sítio Palha Grande, por cederem populações de ácaro-rajado e ácaro predador para realização deste trabalho.

Aos proprietários do Sítio Florosa, por cederem populações de ácaro-rajado para realização deste trabalho.

Ao Instituto Biológico, pela oportunidade de realizar o Mestrado.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro à pesquisa (Processos: 2016/06919-4 e 2017/50334-3)

Aos colegas de laboratório, Maria Cristina, Sirlei, Rafaelly, Aline, Elias, Lina, Elena e Beatriz pela companhia, risadas e apoio.

A todos os professores e colegas da turma de Mestrado de 2018.

A toda minha família que me apoiou em todos os sentidos e em todos os momentos de minha vida pessoal e acadêmica.

A CAPES pela bolsa concedida.

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

Meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

MARÇAL, Jéssica Fernanda. **Toxicidade diferencial e resistência do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* e do predador *Neoseiulus californicus* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom.** 2020. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2020.

A cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais é de grande importância socioeconômica no Brasil, com destaque para o estado de São Paulo. A roseira tem importante participação neste setor e em seu cultivo o ataque de insetos e ácaros-pragas é frequente, com destaque o ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), que pode afetar a produção e a qualidade das flores produzidas. O ácaro predador *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) tem sido utilizado no Brasil para o controle biológico de ácaros tetraniquídeos em diversas culturas, incluindo morangueiro e roseiras. A pesquisa foi conduzida com os objetivos de: 1) avaliar o potencial de evolução da resistência e a estabilidade da resistência, aos acaricidas diafentiurom e ciflumetofem, em populações de *T. urticae*, encontradas em cultivos comerciais de roseiras no estado de São Paulo; 2) estudar os mecanismos bioquímicos (enzimas metabólicas) associados à resistência de *T. urticae* e *N. californicus* aos referidos acaricidas, visando explicar os possíveis contrastes na velocidade de evolução da resistência e tempo de reversão da resistência aos acaricidas; 3) realizar o monitoramento da resistência de *T. urticae* aos acaricidas, em populações do ácaro-praga em diferentes regiões brasileiras. Os experimentos com *T. urticae* e *N. californicus* foram conduzidos no Laboratório de Acarologia do Instituto Biológico, em Campinas, SP. Os resultados obtidos indicam maior potencial de evolução da resistência de *T. urticae* a ciflumetofem, em relação a diafentiurom, com magnitudes de resistência acima de 4.000 vezes para ciflumetofem e de apenas 55 vezes para diafentiurom. O acaricida ciflumetofem mostrou-se inócuo aos adultos de *N. californicus*, ao contrário de diafentiurom que apresentou toxicidade relativamente elevada ( $CL_{50} = 130$  ppm) ao predador, com redução significativa na taxa o aumento populacional do predador. A resistência de *T. urticae* a ciflumetofem e diafentiurom mostrou-se instável na ausência de pressão de seleção, com tendência de restabelecimento da suscetibilidade em um período de até seis meses. Observou-se o envolvimento de monooxigenases dependentes do citocromo P450 na resistência de *T. urticae* aos dois acaricidas e tolerância de *N. californicus* a diafentiurom. Verificou-se elevada variabilidade na suscetibilidade de *T. urticae* aos acaricidas estudados, com frequências de resistência variando de 0 a 100% para ciflumetofem, e de 3,9 a 85,3% para diafentiurom.

**Palavras-chave:** Tetranychidae, Phytoseiidae, estabilidade da resistência, ornamental, manejo integrado de pragas.

## ABSTRACT

MARÇAL, Jéssica Fernanda. **Differential toxicity and resistance of the spider mite *Tetranychus urticae* and the predator *Neoseiulus californicus* to the acaricides cyflumetofen and diafenthiuron.** 2020. Dissertation (Master in Health, Food Safety and Environmental Agrobusiness) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2020.

The production chain of flowers and ornamental plants is of great socioeconomic importance in Brazil, especially in the state of São Paulo. The rose bush has an important participation in this sector and in its cultivation the attack of insects and pest mites is frequent, with prominence the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), which can affect the production and quality of the flowers produced. The predatory mite *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) has been used in Brazil for the biological control of spider mites in several crops, including strawberry and roses. The research was conducted with the following objectives: 1) to evaluate the potential for evolution of resistance and the stability of resistance to the acaricides diafenthiuron and cyflumetofen in populations of *T. urticae* found in commercial cultivations of roses in the state of Sao Paulo; 2) to study the biochemical mechanisms (metabolic enzymes) associated with the resistance of *T. urticae* and *N. californicus* to the mentioned acaricides, aiming to explain the possible contrasts in the speed of resistance evolution and the time of reversal of acaricide resistance; 3) perform the monitoring of *T. urticae* resistance to acaricides in collecting the pest mite populations in different Brazilian regions. The experiments with *T. urticae* and *N. californicus* were conducted at the Laboratory of Acarology of Instituto Biológico in Campinas, State of São Paulo, Brazil. The results indicate a higher potential for the evolution of resistance of *T. urticae* to cyflumetofen in relation to diafenthiuron, with resistance magnitudes greater than 4,000 times for cyflumetofen and only 55 times for diafenthiuron. The ciflumetofem acaricide was shown to be harmless to adults of *N. californicus*, in contrast to diafentiuron which showed relatively high toxicity ( $LC_{50} = 130$  ppm) to the predator, with a significant reduction in the rate of population increase of the predator. The resistance of *T. urticae* to cyflumetofen and diafenthiuron was unstable in the absence of selection pressure, with a tendency to reestablish susceptibility over a period of up to six months. The involvement of cytochrome P450-dependent monooxygenases on *T. urticae* resistance to both acaricides and *N. californicus* tolerance to diafentiuron was observed. There was high variability in susceptibility of *T. urticae* to the studied acaricides, with resistance frequencies ranging from 0 to 100% for cyflumetofen, and from 3.9 to 85.3% for diafenthiuron.



**Key words:** Tetranychidae, Phytoseiidae, resistance stability, ornamental, integrated pest management.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Testes de toxicidade em populações de *Tetranychus urticae* resistente (mini rosa R) e suscetível (Mini rosa S) a ciflumetofem e diafentiurom: mês da coleta dos ácaros no campo, número de ácaros utilizados nos testes ( $n$ ), concentração letal 50% ( $CL_{50}$ ), coeficiente angular (média  $\pm$  erro padrão), qui-quadrado ( $X^2$ ), graus de liberdade (G.L.) e razão de resistência (RR)..... 21
- Tabela 2. Testes de toxicidade em população de *Neoseiulus californicus* (Morango Atibaia) resistente a ciflumetofem e diafentiurom: número de ácaros utilizados nos testes ( $n$ ), concentração letal 50% ( $CL_{50}$ ), coeficiente angular (média  $\pm$  erro padrão), qui-quadrado ( $X^2$ ) e graus de liberdade (G.L.) ..... 22
- Tabela 3. Seleções para resistência de *Tetranychus urticae* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom: data do teste, número de ácaros avaliados, concentração letal 50% ( $CL_{50}$ ), coeficiente angular (média  $\pm$  erro padrão), qui-quadrado ( $X^2$ ), graus de liberdade (G.L.) e razão de resistência (RR).....25
- Tabela 4. Efeito de ciflumetofem e diafentiurom, com ou sem sinergista, em linhagens de *Tetranychus urticae* resistentes a acaricidas. Número total de ácaros utilizados para a obtenção das curvas de concentração-mortalidade; estimativa da  $CL_{50}$  (ppm) e intervalo de confiança (I.C.) a 95%; coeficiente angular e erro padrão da média (EP); Qui-quadrado ( $X^2$ ); grau de liberdade (G.L.) e razão de sinergismo (RS).....28
- Tabela 5. Efeito de diafentiurom, com ou sem sinergista, em população de *Neoseiulus californicus* procedente de Atibaia, SP. Número total de ácaros utilizados para a obtenção das curvas de concentração-mortalidade; estimativa da  $CL_{50}$  (ppm) e intervalo de confiança (I.C.) a 95%; coeficiente angular e erro padrão da média (EP); Qui-quadrado ( $X^2$ ); grau de liberdade (G.L.) e razão de sinergismo (RS).....29

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Sobrevivência e aumento populacional de *Neoseiulus californicus* após tratamento de fêmeas adultas com acaricida diafentiurom, na concentração de 193 ppm de i.a., em condições de laboratório ( $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 5\%$  de UR e fotofase de 14 h).....23
- Figura 2. Variações na frequência da resistência de *Tetranychus urticae* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom: porcentagens médias de sobrevivência do ácaro para a respectiva concentração discriminante (média  $\pm$  EP) de cada acaricida (ciflumetofem: 40 ppm de i.a.; diafentiurom: 150 ppm de i.a.), em condições de laboratório ( $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 5\%$  de UR e fotofase de 14 h).....26
- Figura 3. Atividade relativa de carboxilesterases em populações resistente e suscetível de *Tetranychus urticae* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom, utilizando-se 1-NA (acetato de 1-naftil) como substrato. Colunas com a mesma letra não são significativamente diferentes a 5% de significância.....30
- Figura 4. Atividades de monooxigenases em linhagens suscetível e resistente de *Tetranychus urticae* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom, estimadas por quantificação de umbelliferona originária da O-desetilação de 7-ethoxycoumarin (7-EC) (valores médios  $\pm$  EP). Colunas com a mesma letra não são significativamente diferentes a 5% de significância..... 32
- Figura 5. Frequência de resistência de *Tetranychus urticae* a ciflumetofem e diafentiurom. Média de sobrevivência de fêmeas adultas de populações coletadas de mini rosa, jiló, berinjela, algodão, gérbera, morango e tomate, de diferentes localidades: Holambra-SP (Hol), Mogi Guaçu-SP (MG), Trindade-GO (Tri), Rio Verde-GO (RV), Pouso Alegre-MG (PA), Primavera do Leste-MT (PL), Monte Mor-SP (MM) e Luís Eduardo Magalhães-BA (LEM), após o tratamento com ciflumetofem (80 ppm de i.a.) e diafentiurom (150 ppm de i.a.), nas suas respectivas concentrações discriminatórias. Colunas com a mesma letra, para o cada acaricida, não são significativamente diferentes a 5% de significância.....33

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT .....	ii
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE FIGURAS .....	v
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	3
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	4
3.1 Cultivo de rosas .....	4
3.2 Pragas de roseira.....	5
3.2.1 <i>Tetranychus urticae</i> .....	5
3.3. Métodos de controle de ácaros-praga .....	7
3.3.1 Uso de ácaros predadores (Phytoseiidae) para o controle de ácaros-pragas .....	10
3.3.2 Resistência de ácaros a acaricidas e mecanismos de resistência .....	12
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	14
4.1 Populações de ácaros .....	14
4.2. Criação de ácaro-rajado .....	14
4.3 Criação do ácaro predador <i>Neoseiulus californicus</i> .....	14
4.4 Testes de toxicidade .....	15
4.4.1 Testes com ácaro-rajado .....	15
4.4.2 Testes com <i>N. californicus</i> .....	15
4.4.3 Efeito de diafentiurom sobre o crescimento populacional de <i>N. californicus</i> .....	16
4.5 Seleções para resistência a acaricidas.....	16
4.5.1 Seleção para resistência de ácaro-rajado .....	16
4.5.2 Estabelecimento de linhagem de ácaro-rajado suscetível a acaricidas.....	17
4.6 Estabilidade da resistência.....	17
4.7 Caracterização bioquímica da resistência a acaricidas .....	18
4.7.1 Estudos com sinergistas.....	18
4.7.2 Atividades enzimáticas em linhagens S e R de <i>Tetranychus urticae</i> .....	19
4.8.2.1 Atividade de carboxilesterases (CarE) .....	19
4.8.2.2 Atividade de monooxigenases dependentes do citocromo P450.....	20
4.8 Monitoramento da resistência de <i>Tetranychus urticae</i> a acaricidas .....	20
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	21
5.1 Testes de toxicidade.....	21
5.1.1 Testes com <i>Tetranychus urticae</i> .....	20
5.1.2 Testes com <i>Neoseiulus californicus</i> .....	23
5.2 Efeito de diafentiurom sobre o crescimento populacional de <i>N. californicus</i> .....	24

5.2 Seleções para resistência a acaricidas.....	26
5.2.1 Seleção para resistência de ácaro-rajado a acaricidas .....	26
5.3 Estabilidade da resistência.....	28
5.4 Caracterização bioquímica da resistência a acaricidas .....	30
5.4.1 Estudo com sinergistas em ácaro-rajado .....	31
5.4.2 Estudo com sinergistas em <i>Neoseiulus californicus</i> .....	31
5.4.3 Atividades enzimáticas em linhagens S e R de <i>Tetranychus urticae</i> .....	32
5.4.3.1 Atividade de carboxilesterases (CarE) .....	32
5.4.3.2 Atividade de monooxigenases dependentes do citocromo P450.....	33
5.5 Monitoramento da resistência de <i>Tetranychus urticae</i> a acaricidas .....	34
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>37</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>38</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A floricultura caracteriza-se pelo cultivo de plantas ornamentais, plantas de corte, plantas envasadas, floríferas ou não, produção de sementes, palmeiras, bulbos, arbustos, mudas de árvores e outras espécies de cultivo em jardins. Esse setor, com grande diversidade de produtos, necessita de conhecimento técnico, tecnologias avançadas e sistema eficiente de produção, distribuição e comercialização (LANDGRAF, 2006).

No Brasil, a produção e a comercialização de flores e plantas ornamentais começaram na década de 1930, quando imigrantes japoneses se instalaram na região de São Paulo. Na década de 1950, começou-se a associar os fatores de produção com os de consumo; a produção era de entorno, e tudo ocorria próximo aos grandes centros, como no caso de Atibaia e Holambra, no estado de São Paulo. Nessa época, era alta a produção de crisântemo e palma (AKI; PEROSA, 2002). Na década de 1970, os imigrantes holandeses deram um impulso à comercialização, criando um sistema efetivo de distribuição pelo país (SALOMÉ, 2007).

Até 1988, o Brasil teve uma atuação comercial baseada em comercialização por meio das unidades do CEASA e empresas de distribuição pelo país. Em 1989, surge o Veiling Holambra que fez uma transformação substancial no mercado de flores e plantas ornamentais (MOTOS, 2000). Essa cooperativa, é um centro comercial que distribui produtos Veiling, como plantas e flores em vaso, plantas e flores em corte e plantas ornamentais. Possui aproximadamente 400 fornecedores e esses produtos são vendidos a mais de 20.000 varejistas, como supermercados, lojas de flores e decoração (OLIVEIRA et al., 2014).

Após o surgimento da Veiling Holambra, a floricultura brasileira começou a se destacar como atividade agrícola de importância econômica, mas foi a partir da década de 1990 que se observou um crescimento maior da oferta de produtos da floricultura e paisagismo, devido à busca dos produtores por uma alternativa rentável para suas propriedades rurais (BONGERS, 2000).

De acordo com o Instituto Brasileiro de Floricultura (IBRAFLOR), o segmento de flores movimentou no país aproximadamente R\$ 8,5 bilhões em 2019, número 8% maior que o do ano anterior. O Brasil tem aproximadamente 8.300 produtores, 60 centrais de atacado, 680 atacadistas e prestadores de serviço e mais de 20 mil pontos de varejo. São cerca de 15.600 hectares de área cultivada, o que coloca o país no 8º lugar entre os maiores produtores de plantas ornamentais do mundo. Em 2019, foram criados 209 mil postos de trabalho, sendo

que 54% dessas vagas são no varejo, 39% na produção, 4% no atacado e 3% em outras funções (ARAÚJO, 2019).

A produção brasileira de flores e ornamentais é mais concentrada no estado de São Paulo (70%), cerca de 25% estão nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Paraná. Os 5% restantes são dos novos polos que vêm sendo criados nas regiões Norte, Centro-Oeste e Nordeste, principalmente no Ceará, em que os produtores de Holambra utilizam terras para o cultivo de rosas para exportação (BELLINI, 2008).

A maior área cultivada é a de mudas de plantas ornamentais, com 2.579 hectares, destacando os arbustos e trepadeiras, que correspondem a 90% do cultivo no campo. Entre as flores de corte, que ficam em segundo em área cultivada (1.476 hectares), destacam-se as rosas e crisântemos. Na área cultivada com flores de vasos, de 673 hectares, destacam-se crisântemos, orquídeas, mini rosas e azaleias, correspondendo a 35% da área total dessa categoria (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014).

No Brasil, são comercializadas cerca de 180 milhões de rosas por ano (MARTINS et al., 2009). Minas Gerais é uma das maiores regiões produtoras de rosas, tanto para o mercado interno como externo. Os locais com maior área cultivada de rosas estão na região de Barbacena e Andradas, pois apresentam condições de clima ameno, ideal para a produção dessa flor (LANDGRAF; PAIVA, 2008).

No Brasil, o cultivo de rosas é realizado em campo aberto ou em casa de vegetação. Nos dois ambientes, é possível observar o ataque de artrópodes, como os tripses (Insecta: Thysanoptera), que causam estrias esbranquiçadas nas folhas, e os botões florais infestados podem não abrir; e o ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), que se alimenta do conteúdo celular das folhas, tornando-as cloróticas, ocasionando a redução na produção de flores. Os danos podem ser observados na parte superior das folhas, com a presença de puncturas amareladas, que, com o passar dos dias, tornam-se maiores, ocasionando a queda prematura das folhas. Este ácaro pode se distribuir por toda a planta, tecendo grande quantidade de teia, com deposição de muitos ovos e fezes, afetando a qualidade da cultura (LEITE & D'ÁVILA, 2017).

As pulverizações com defensivos químicos têm sido o principal método utilizado para controle de pragas, sendo realizado, principalmente, de forma preventiva. Esse procedimento favorece a seleção de populações resistentes, além de aumentar os riscos de contaminação ambiental e intoxicação dos agricultores (CARVALHO et al., 2012).

## 2. OBJETIVOS

### Geral

Ampliar o conhecimento sobre resistência de ácaros (*Tetranychus urticae*) e predadores (*Neoseiulus californicus*) a pesticidas e gerar informações para o estabelecimento de programas manejo do ácaro-rajado, em cultivos de plantas ornamentais, com ênfase no uso de ácaros predadores da família Phytoseiidae.

### Específicos

Realizar testes de toxicidade em populações de ácaro-rajado e com o ácaro predador *N. californicus* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom.

Avaliar o potencial de evolução da resistência (através de seleções artificiais em laboratório) e a estabilidade da resistência (tempo necessário para reversão da resistência), aos acaricidas diafentiurom e ciflumetofem, em populações de *T. urticae* e *N. californicus* encontradas em cultivos comerciais de plantas ornamentais, no estado de São Paulo.

Estudar os mecanismos bioquímicos (enzimas metabólicas) associados à resistência desses ácaros (*T. urticae* e *N. californicus*) aos acaricidas diafentiurom e ciflumetofem, visando explicar os possíveis contrastes na velocidade de evolução da resistência e tempo de reversão da resistência (custo adaptativo) aos acaricidas, nessas espécies de ácaros (fitófago e predador).

Realizar o monitoramento da resistência de *T. urticae* aos dois acaricidas, coletando-se populações do ácaro-praga em diferentes cultivos (ex.: algodão, berinjela, jiló, tomate, morango, gérbera, rosa) e regiões brasileiras (SP, MG, GO, MT).



### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Cultivo de rosas

O cultivo de rosas começou por volta de 5000 anos antes da Era de Cristo. Estava presente entre assírios e babilônios, assim como no Egito, Creta e Roma. Pouco antes de serem descobertas no Brasil, as rosas eram encontradas na velha Inglaterra, que era símbolo às casas de Lancaster e de Iorqué (rosa branca e vermelha), numa guerra em que essas dinastias inglesas se envolveram (WALDEMAR, 1977).

As rosas pertencem à divisão Angiospermae (ou Anthophyta), classe Magnoliopsida (Eudicotiledôneas), subclasse Rosidae, ordem Rosales, família Rosaceae, Subfamília Rosoideae e tribo Roseae. As espécies do gênero *Rosa* são as plantas de cultivo mais antigo. Têm origem no Oriente (Ásia), com fósseis de rosas que datam 35 milhões de anos. São cultivadas há pelo menos cinco mil anos. Os povos antigos cultivavam, e por meio do cruzamento de espécies-tipo desenvolveram inúmeras variedades (CAVALCANTE, 1994).

Todas as rosas pertencem ao gênero *Rosa*, que faz parte de uma grande família de arbustos, árvores e ervas, denominada Rosaceae. Os parentes próximos das rosas são os morangos, pêssegos, cerejas e maçãs. A semelhança entre essas espécies é a flor que possui geralmente cinco pétalas. Para alguns autores, a rosa é um arbusto ereto, de ramos delicados e geralmente com espinhos. As folhas podem ser estreitas, ovais, com margem serreada e as flores produzidas são em sua maioria de coloração vermelha ou rósea, com sépalas pinadas (CAVALCANTE, 1994).

As roseiras são classificadas em rosas híbridas de té, rosas floribundas, rosas de mata, rosas pitiminí, rosas em miniatura e rosas rasteiras. As rosas híbridas de té (híbrida de chá): apresentam flores de grande tamanho, normalmente formando uma flor por haste, podendo apresentar pequenos cachos. Possui a forma de um arbusto compacto podendo ter altura entre 75 cm a 1,2 m. As rosas floribundas apresentam flores em cacho, podendo ter até 20 flores por cacho, e geralmente possuem pouco aroma. São semelhantes à espécie híbrida de té, podendo atingir menor ou maior porte. As rosas de mata, anteriormente conhecida como rosas de jardim, são as rosas silvestres, que deram origem a todos os outros grupos existentes. São as rosas presentes em aglomerados de matas, que podem florescer somente uma vez por estação reprodutiva ou mais de uma vez, dependendo da variedade. Apresentam pétalas muito perfumadas. As rosas pitiminí possuem flores grandes, em ramalhetes pequenos. São

originadas das espécies trepadeiras da mata. Rosas em miniaturas apresentam tamanho entre 30 e 38 cm. Têm origem de uma pequena rosa chinesa, de flores rosa. Nos cruzamentos com espécies floribundas, surgiram diversas colorações. Por último, as rosas rasteiras são as mais recentes. Ao crescerem, se esparramam e cobrem grande parte do terreno, podendo alcançar 1,4 m de altura (GIBSON, 1989).

### 3.2 Pragas da roseira

Dentre os vários artrópodes que ocorrem em roseiras e outras plantas ornamentais, encontram-se pulgões, cochonilhas, moscas brancas, cigarrinhas, percevejos, tripes, ácaros-rajado, entre outros (IMENES; IDE, 2002). Os pulgões alimentam-se dos caules, folhas e flores e causam o enrolamento das folhas e atrofiamento dos brotos, podendo atacar também os botões florais novos, quando há alta infestação. Alguns besouros [*Euphoria lurida* (Fabr.) (Coleoptera: Scarabaeidae) e *Rutela lineola* (L.) (Coleoptera: Melolonthidae)] também podem atacar roseiras, se alimentando de folhas e flores. Cochonilhas são encontradas em rosas, e quando o ataque é intenso pode derrubar folhas e provocar secamento dos ramos. A abelha conhecida como Irapuá [*Trigona spinipes* (Fabr.) (Hymenoptera: Apidae)] ataca flores e folhas novas na busca por substâncias resinosas para construção de seus ninhos, principalmente em plantações de roseiras. Por último, a saúva limão [*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae)] que pode desfolhar completamente um roseiral (LEITE; D'ÁVILA, 2017).

#### 3.2.1 *Tetranychus urticae*

O ácaro-rajado, *T. urticae*, causa grandes prejuízos a diversas culturas no Brasil. Os danos causados pelo ácaro consistem na perfuração das células superficiais, nas plantas em que se alimentam do conteúdo celular, reduzindo a taxa fotossintética. Primeiro, aparecem os sintomas de clorose, como pequenas manchas amareladas nas folhas, que evoluem tornando as folhas amarelas e secas, causando desfolha e até a morte da planta, em alguns casos (BERNARDI et al., 2015).

*Tetranychus urticae* é considerado um dos ácaros-praga de maior importância econômica no mundo (SATO et al., 2007). É encontrado em um grande número de países, desde as regiões tropicais até as regiões temperadas, tanto em casa de vegetação como no

campo. Mais de 1100 espécies de plantas são hospedeiras desse ácaro (BOLLAND et al., 1998; ZHANG, 2003).

Ocorre com bastante frequência em cultivo de Gérberas e roseiras (BELLINI, 2008). Na roseira, o ataque de *T. urticae* causa manchas cloróticas nas folhas, desfolhamento e falta de florescimento da planta. Em média, cada ácaro fêmea pode depositar 112 ovos em roseiras, um número maior do que o observado em outras ornamentais (MORAES; FLECHTMANN, 2008). Como o cultivo de flores é valorizado pela estética, um número relativamente baixo de ácaros já é suficiente para causar danos e desvalorizar o produto, causando prejuízos econômicos aos produtores (BELLINI, 2008).

O método mais utilizado para o seu controle ainda é o químico, fazendo uso de acaricidas, que nem sempre são eficientes; os descendentes sobreviventes podem herdar resistência ao produto, e as gerações seguintes, podem ter cada vez menos indivíduos suscetíveis (MEYER, 2003).

*Tetranychus urticae* é um dos artrópodes com maior número de casos de resistência a acaricidas e inseticidas sintéticos (WHALON et al., 2008), para o qual foi relatada resistência a pelo menos 94 ingredientes ativos, de praticamente todos os grupos químicos comercializados (IRAC-MSU, 2019). Problemas de resistência desse ácaro a acaricidas têm sido registrados para diversos compostos, como organoestênicos (FLEXNER et al., 1988; BEERS et al., 1998); organofosfatos (SATO et al., 1994), dicofol (FERGUSON-KOLMES et al., 1991), hexythiazox (HERRON; ROPHAIL, 1993), clofentezina (HERRON et al., 1993; AY e KARA., 2011); fenpiroximato (SATO et al., 2004), clorfenapir (SATO et al., 2007a), abamectina (STUMPF; NAUEN, 2001; SATO et al., 2005), milbemectina (NICASTRO et al., 2010); etoxazol (STOCCO et al., 2016) e espiromesifeno (SATO et al., 2016), e em diversos países, incluindo o Brasil.

A aplicação de doses mais altas de produtos, a maior frequência de aplicação e o uso de misturas indevidas podem favorecer o aumento de casos de resistência da praga a acaricidas. Diferentes estratégias de manejo precisam ser utilizadas, visando minimizar o problema da evolução da resistência aos acaricidas químicos. Uma das técnicas mais promissoras que vem sendo adotadas pelos agricultores é o controle biológico com uso de predadores (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

### **3.3 Métodos de controle de ácaros-praga**

Existem várias formas de se controlar ácaros, e as principais são: medidas quarentenárias, resistência de plantas, controle químico, controle biológico, além do uso de produtos naturais, controle cultural e mecânico (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Em medidas quarentenárias, se adotam medidas que visem reduzir a chance de introdução ou dispersão de uma determinada praga em uma região ou país. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) tem uma lista de pragas quarentenárias para o Brasil, que são classificadas como: A1- ausentes no país; A2- aqueles presentes, mas em regiões restritas. Exemplo de alguns ácaros na classificação A1 no Brasil são: *Acarus siro* L. (Acari: Acaridae), *Brevipalpus chilensis* Baker (Acari: Tenuipalpidae) e *Tetranychus pacificus* McGregor (Acari: Tetranychidae) (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

As medidas quarentenárias visam impedir a introdução de certos produtos provenientes de determinadas regiões, ou estabelecer regras para a sua introdução, para diminuir os riscos de introdução de pragas associados a eles (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Outro método de controle de pragas é a resistência de plantas. No Brasil, estudos estão sendo feitos, para se obter ou selecionar variedades de plantas resistentes a ácaros. Um exemplo, é o estudo de variedades de arroz com tolerância ou resistência ao ataque de *Steneotarsonemus spinki* Smiley (Acari: Tarsonemidae), em Cuba, em que (ALMAGUEL et al., 2000). Foram realizados também, estudos para se obter resistência de tomateiros a ácaros do gênero *Tetranychus*, utilizando-se técnicas bioquímicas para selecionar plantas com maior resistência a esses aracnídeos (MALUF et al., 2001).

O uso de produtos naturais, como os extratos de plantas, representa uma alternativa viável para o controle de ácaros-praga. Um exemplo de sucesso é o uso de extrato de nim para o controle do ácaro-rajado, em diversas culturas, do ácaro verde da mandioca, *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae) (GONÇALVES et al., 2001).

O controle químico, com o uso de produtos químicos sintéticos, passou a ser o método de controle de pragas mais empregado pelos agricultores, a partir da segunda guerra mundial. Nas décadas de 1950 e 1960, os agricultores foram levados a acreditar que os problemas com as pragas agrícolas estavam prestes a acabar, com o emprego fácil e prático de produtos químicos, que causavam a morte rápida das pragas, levando ao aumento da produtividade. Até hoje, a forma mais utilizada para controle de ácaros e outras pragas na agricultura é o químico, no entanto, têm sido observados muitos problemas associados ao uso incorreto de inseticidas e acaricidas, como a seleção de populações de pragas resistentes aos pesticidas,

além do efeito tóxico sobre organismos não-alvo e a contaminação ambiental e humana (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

O uso frequente de produtos químicos no controle de ácaros pode tornar os ácaros resistentes a determinados acaricidas (GALLO et al., 2002). A resistência é a capacidade da população de um organismo se mostrar menos suscetível a doses de agrotóxicos que normalmente seriam letais à espécie. É uma característica apresentada por uma parte da população e que progressivamente vai aumentando, mediante a exposição frequente a um produto químico. No Brasil, relatos sobre resistência de ácaro-rajado a acaricidas ocorrem desde o final dos anos 1960 (MELLO, 1968).

Dois ingredientes ativos, utilizados para controle de ácaro-rajado são o ciflumetofem e o diafentiurum.

Ciflumetofem é um produto relativamente novo, tendo sido registrado no Japão em 2007, sob o nome comercial de Danisaraba e, posteriormente, em outros 15 países. Estudos mostram que o ciflumetofem tem eficácia contra vários ácaros-praga, como os dos gêneros *Tetranychus* e *Panonychus*, que atacam frutas, vegetais e plantas ornamentais. Não mostrou qualquer atividade contra outras pragas, como insetos lepidópteros, homópteros e tisanópteros. Este acaricida se mostrou mais eficaz contra larvas do que para adultos (TAKAHASHI et al., 2012).

Quanto ao seu modo de ação, o ciflumetofem é inibidor do complexo II da cadeia de transporte de elétrons mitocondriais. A forma desesterificada do ciflumetofem inibe fortemente a função de transporte de elétrons do complexo II dos ácaros em doses muito baixas (TAKAHASHI et al., 2012).

O acaricida ciflumetofem é recomendado para o controle de diversas espécies de ácaros-praga [ex.: ácaro-da-leprose dos citros (*Brevipalpus* sp.); ácaro-vermelho do cafeeiro (*O. ilicis*); ácaro-vermelho da macieira (*Panonychus ulmi*)] no Brasil (AGROFIT, 2019). O uso do produto ainda é recente, tendo sido registrado para o controle de ácaros no Brasil em 2014 (AGROFIT, 2019).

O inseticida acaricida diafentiurum tem sido utilizado no Brasil para o controle de diversas espécies de insetos [moscas-bancas (*Bemisia tabaci* biótipo B), pulgões (*Aphis gossypii*, *Myzus persicae*), lagartas (*Alabama argilacea*)] e ácaros pragas [ácaro-rajado (*T. urticae*), ácaro-branco (*Polyphagotarsonemus latus*), ácaro-vermelho do cafeeiro (*O. ilicis*)] (AGROFIT, 2019). O produto atua como inibidor da ATP sintase mitocondrial (Grupo 12A, na classificação do IRAC) (IRAC, 2017). Pertence ao grupo químico feniltiouréia.

Outra forma de controle cada vez mais utilizada é o controle biológico. Foi definido por De Bach (1968) como “a ação de parasitoides, predadores e patógenos na manutenção da densidade populacional de outro organismo, em um nível mais baixo do que aquele que normalmente ocorreria na sua ausência”.

O controle biológico pode ser visto de três formas: (1) como um campo de estudo de diferentes áreas, como ecologia de populações, genética e fisiologia; (2) como um fenômeno natural em que quase todas as espécies têm inimigos naturais que ajudam a regular suas populações e (3) como estratégia de controle de pragas, utilizando parasitoides, patógenos e predadores (BUENO et al., 2015).

Do ponto de vista econômico, um inimigo natural efetivo é aquele que consegue regular a densidade de uma praga e mantê-la em níveis abaixo daquele que causa dano econômico. Os parasitoides e predadores para serem efetivos, devem apresentar algumas características, como: ser adaptável a mudanças das condições físicas do meio ambiente, ter certa especificidade a um determinado hospedeiro/presa, alta capacidade de busca pela presa e capacidade de sobreviver nos períodos de ausência do hospedeiro/presa (BUENO et al., 2015).

Os predadores são organismos de vida livre, normalmente maiores do que as presas, e que requerem um grande número de presas para completar seu ciclo de vida. Podem ter o comportamento predatório tanto nos estágios ativos de desenvolvimento como em adulto (BUENO et al., 2015).

O controle biológico pode ser dividido em duas formas: o controle biológico natural e o controle biológico aplicado. O controle biológico natural é aquele que regula a quantidade de plantas e animais através dos inimigos naturais. Esses inimigos naturais podem ser insetos benéficos, parasitoides, predadores, vírus, entre outros (EMBRAPA, 2006). O controle biológico aplicado consiste em liberações inundativas de parasitoides ou predadores após a criação massal em laboratório, visando reduzir a população da praga para seu nível de equilíbrio (ABREU et al., 2015).

Outra forma de controle é a destruição de restos culturais, o que reduz a possibilidade de dispersão de ácaros para áreas vizinhas. É recomendável destruir restos de cultura em áreas irrigadas, principalmente em áreas com grandes concentrações de pequenos agricultores, devido à possibilidade de repetir o cultivo várias vezes ao ano (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

### 3.3.1 Uso de ácaros predadores (Phytoseiidae) para o controle de ácaros-pragas

O controle biológico com o uso de ácaros predadores é amplamente utilizado nas Américas do Norte e do Sul, Europa e Ásia (MARAFELI et al., 2014).

No Brasil as espécies mais estudadas são *Neoseiulus californicus* (McGregor) e *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae), pois além de serem muito eficazes, são comercialmente produzidos, permitindo a liberação em massa nas culturas (POLETTI et al., 2006).

O ácaro predador *N. californicus* promove o controle biológico de ácaros tetraniquídeos em diversas culturas como morango, maçã, feijão, ornamentais etc. (SILVA; OLIVEIRA, 2007). Ocorre nas regiões semitropicais e temperadas da América do Sul e também no sul da Califórnia e sul da Europa (MCMURTRY; CROFT, 1997).

A história taxonômica de *N. californicus*, começou em 1954 na Califórnia, quando McGregor a partir de plantas de limões, descreveu o ácaro como *Typhlodromus californicus*. Posteriormente, foi classificado no gênero *Amblyseius* e mais tarde no gênero *Neoseiulus* (RHODES; LIBURD, 2005).

Os ovos desse ácaro predador são ovoides e de cor branca pálida. As larvas possuem seis pernas e são translúcidas. Os estágios de ninfas (protoninfa e deutoninfa) são menores que os adultos e não podem se reproduzir. Fêmeas adultas têm aproximadamente 0,1mm de comprimento e formato oval. Os machos são menores que as fêmeas. Tanto machos como fêmeas podem ser translúcidos ou de cor alaranjada (RHODES; LIBURD, 2005).

Dos ovos eclodem larvas de seis pernas que podem chegar até o estágio de protoninfa sem se alimentar. O estágio larval pode durar de 0,5 a 1 dia. Os estágios de protoninfa e deutoninfa necessitam de alimento e cada estágio ninfal pode durar de 1 a 3 dias. O tempo total de desenvolvimento varia de acordo com a temperatura, podendo variar de 4 a 12 dias, desenvolvendo-se mais rápido em temperaturas mais altas e quando se alimenta de uma presa favorável, como o ácaro-rajado (RHODES; LIBURD, 2005).

Sua capacidade de predação é de aproximadamente 15 a 20 ovos de ácaros tetraniquídeos por dia, podendo se alimentar de todas as fases biológicas da presa. É um ácaro generalista do tipo III, que pode se alimentar de outras fontes, como pólen, tripes, afídeos e outros ácaros, como por exemplo, o ácaro-rajado (MORAES; FLECHTMANN, 2008). Trabalhos feitos no Brasil, utilizando ácaros predadores, principalmente *N. californicus* e *P.*

*macropilis*, tem mostrado alto potencial dessas espécies no controle do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* (SATO et al., 2002, 2006; POLETTI et al., 2006).

*Neoseiulus californicus* além de ser utilizado no controle de *T. urticae*, também é utilizado para o controle de ácaros do gênero *Tetranychus* em vários tipos de cultura, inclusive gérberas e roseiras (KIEKIEWICZ; WITUL, 1995; DE VIS; BARRERA, 1999; WALZER; BLUMEL, 1999; WALZER; SCHAUSBERGER, 2000; BLUMEL; WALZER, 2002; BLUMEL et al., 2002; BRUN et al., 2005; EL-LAITHYL; SAWSAN, 2005; NICOLAS et al., 2005; PIZZOL et al., 2006; BELLINI, 2008).

O predador *N. californicus* é usado comercialmente no mundo todo para controlar o ácaro-rajado e vários outros ácaros de importância econômica, em culturas como abacate, citrus, uvas, morango e plantas ornamentais. No Reino Unido e na Argentina, foi reportado como agente de controle biológico para *T. urticae* e *Phytonemus pallidus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae) em morangueiro. Nos EUA, *N. californicus* foi utilizado com sucesso, em plantações de morango, para controle do ácaro-rajado. Também tem sido utilizado para controlar *Oligonychus perseae* Tuttle, Baker & Abbatiello (Acari: Tetranychidae) em abacate (HODDLE et al., 1999).

A taxa recomendada de liberação depende das espécies de pragas, da densidade populacional e estágio fenológico da cultura. Em morango, por exemplo, recomenda-se a liberação de uma fêmea de *N. californicus* para cada 10 ácaros-rajado. É recomendada sua liberação em baixa infestação de ácaro-rajado, principalmente na fase inicial da cultura (RONDON et al., 2004).

### **3.3.2 Resistência de ácaros a acaricidas e mecanismos de resistência**

A principal barreira de proteção do ácaro ao acaricida é seu exoesqueleto. Assim, para exercer efeito tóxico, o produto precisa penetrar no corpo do ácaro. Os produtos podem penetrar no corpo por ingestão (via oral) ou contato direto (tegumento e regiões membranosas). De todas as vias, a principal forma de penetração é pelo tegumento, em que produtos lipofílicos penetram mais facilmente pelo tegumento (por contato), enquanto os produtos hidrofílicos atuam principalmente por ingestão. Depois que penetrou no corpo do ácaro, para exercer função tóxica, o produto deve atingir o sítio de ação. Os ácaros desenvolveram mecanismos para dificultar que os produtos atinjam o sítio de ação, e se atingirem, não exerçam todo seu poder letal (BERNARDI; OMOTO, 2014).



Entre as principais características de *T. urticae*, consideradas favoráveis à evolução da resistência, estão a ampla variabilidade genética na suscetibilidade aos acaricidas; elevado potencial biótico da espécie, em que cada fêmea de *T. urticae* pode produzir em média de 50 a 150 ovos viáveis durante sua vida. O período de desenvolvimento é de aproximadamente sete dias, e de uma geração, em torno de 18 dias, a 25 °C (NICASTRO et al., 2011).

Com relação aos mecanismos pelos quais os artrópodes podem desenvolver resistência a inseticidas e acaricidas, podem ser mencionados: redução na penetração cuticular (FERGUSON-KOLMES et al., 1991), alteração no alvo de ação (Van LEEUWEN et al., 2010) e aumento de degradação metabólica, com o envolvimento de algumas enzimas, tais como esterases, monooxigenases dependentes do citocromo P-450 (SATO et al., 2001, 2006, 2007) e glutathione S-transferases (WU; MIYATA, 2005; FRAGOSO et al., 2007).

A redução na penetração cuticular, o ácaro recebe uma menor quantidade do tóxico no sítio de ação do produto. Geralmente, tem baixa intensidade de resistência, mas tem potencial de conferir resistência para todas as classes de pesticidas (BERNARDI; OMOTO, 2014).

Ácaros resistentes, devido ao aumento na detoxificação metabólica, são capazes de degradar a molécula do acaricida em compostos inertes, com maior eficácia do que os indivíduos suscetíveis. Vários grupos enzimáticos estão envolvidos no mecanismo de resistência em várias espécies de artrópodes, como as monooxigenases dependentes do citocromo P-450, esterases e as glutathione-S-transferases (BERNARDI; OMOTO, 2014).

A resistência devido à redução na sensibilidade do sítio de ação apresenta como característica uma alteração no sítio de ação, tornando-se menos sensível ao acaricida. Por exemplo, um ácaro é resistente a um determinado piretroide por apresentar os canais de sódio alterados, tornando-se insensível ao produto (BERNARDI; OMOTO, 2014).

No caso do mecanismo de resistência por comportamento, os ácaros detectam o tóxico e param de se alimentar, ou saem da área tratada, movendo-se para outra área da planta que não esteja tratada. Isso foi observado para o piretroide esfenvalerato (BERNARDI; OMOTO, 2014).

Os fatores que afetam a evolução da resistência nos ácaros são os genéticos e bioecológicos. Dentro dos fatores genéticos, a evolução da resistência depende do padrão de herança da resistência, frequência inicial do alelo de resistência, custo adaptativo dos indivíduos e fluxo gênico. Quanto maior a frequência inicial do alelo de resistência, mais rápido ocorre a evolução da resistência a campo. O custo adaptativo ocorre quando os indivíduos resistentes apresentam um menor valor adaptativo do que os indivíduos

suscetíveis, pelo menos no início da evolução da resistência. O fluxo gênico depende da capacidade de dispersão do organismo (BERNARDI; OMOTO, 2014).

Os fatores bioecológicos envolvem a taxa de reprodução, tempo de duração da geração, hábito alimentar, mobilidade da espécie e fatores bióticos de mortalidade (BERNARDI; OMOTO, 2014).

Para *T. urticae* e outras pragas, o aumento no uso de agrotóxicos ocasionou seleção de populações resistentes, diminuição na abundância/frequência de organismos benéficos e acúmulo de resíduos no solo, água e alimentos (Van LEEUWEN et al., 2010).

#### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Acarologia, do Centro Avançado de Pesquisa em Proteção de Plantas e Saúde Animal (CAPSA), do Instituto Biológico, em Campinas, SP.

##### **4.1 Populações de ácaros**

As populações de ácaro-rajado (*T. urticae*), foram coletadas de cultivo comercial de mini rosa (*Rosa* sp.) no Sítio Florosa, no município de Holambra, SP. A escolha da planta hospedeira de origem (mini rosa) foi baseada na importância da cultura e o elevado número relatos de agricultores do município de Holambra sobre a dificuldade para o controle do ácaro-praga na cultura.

Foram coletadas, também, várias populações de *T. urticae* em diferentes culturas e regiões brasileiras, para a avaliação da suscetibilidade aos acaricidas diafentiurom e ciflumetofem.

A população do ácaro predador *N. californicus* foi coletada no município de Atibaia, SP, em cultivo comercial de morango (SILVA et al., 2007).

##### **4.2 Criação de ácaro-rajado**

Foram coletadas aproximadamente 400 fêmeas adultas, de cada população de *T. urticae* de campo, e transferidas para plantas de feijão-de-porco, *Canavalia ensiformis* (L.),

cultivadas em vasos no interior de bandejas plásticas. As populações foram mantidas em laboratório, em condições controladas de temperatura ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), umidade relativa ( $70 \pm 5\%$ ) e fotofase de 14h.

### **4.3 Criação do ácaro predador *N. californicus***

Os ácaros predadores da espécie *N. californicus* foram mantidos em arenas de folha de feijão-de-porco, infestadas previamente com ácaro-rajado. Adicionou-se pólen de mamona (*Ricinus communis* L.) nas arenas, para servir como fonte de alimento para os predadores.

## **4.4 Testes de toxicidade**

### **4.4.1 Testes com ácaro-rajado**

Os testes de toxicidade foram realizados baseando-se no método descrito por Knight et al. (1990). Foram colocadas 40 fêmeas adultas de *T. urticae* sobre um disco de folha de feijão com aproximadamente 4 cm de diâmetro, sobre uma camada de algodão hidrófilo saturada com água destilada em placa de Petri (9 cm de diâmetro). A borda da folha foi coberta por uma tira de algodão hidrófilo umedecido, para evitar a fuga dos ácaros.

Foram avaliados os seguintes acaricidas: diafentiurom (Polo 500 PM) e ciflumetofem (Obny). Foram utilizadas cinco concentrações de cada produto, por meio de diluição sequencial em água destilada, para a obtenção das curvas de concentração-resposta e estimativa das concentrações letais médias ( $CL_{50}$ ).

As aplicações de acaricidas foram realizadas sobre os ácaros, mantidos nas arenas de folha de feijão, em torre de Potter (Burkard Manufacturing, Uxbridge, UK), utilizando-se um volume de calda de 2 mL e pressão de  $0,703 \text{ kg/cm}^2$ . Testes preliminares indicaram que  $1,6 \pm 0,1 \text{ mg/cm}^2$  de água destilada foi pulverizada no disco foliar com esse volume e pressão.

As avaliações da mortalidade foram realizadas 48h e 72 h após o tratamento, para os acaricidas ciflumetofem e diafentiurom, respectivamente. Foram considerados mortos os ácaros que não conseguiram se locomover por pelo menos uma distância equivalente ao comprimento de seu corpo, após leve toque com um pincel de pêlo macio.

Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit (FINNEY, 1971), utilizando-se o programa StatPlus 6.2.2.0 (ORTEGA, 2017).

#### **4.4.2 Testes com *Neoseiulus californicus***

Os testes toxicológicos com *N. californicus* foram realizados seguindo a mesma metodologia descrita para *T. urticae*, porém, colocando-se 20 fêmeas adultas de *N. californicus* em cada arena. Diferentes fases de desenvolvimento de *T. urticae* e pólen de mamona foram colocados para servir de alimento aos ácaros predadores.

#### **4.4.3 Efeito de diafentiurom sobre o crescimento populacional de *Neoseiulus californicus***

Foi realizado um estudo com a população de *N. californicus*, originária de cultivo comercial de morango de Atibaia, SP (Sato et al., 2005), visando avaliar o efeito de diafentiurom sobre a sobrevivência e o crescimento populacional do ácaro predador, considerando-se a geração tratada e a geração seguinte (F1). Para a condução do experimento, foram transferidas 10 fêmeas adultas por arena de folha de feijão-de-porco. Para estimular a oviposição, foram colocadas nas arenas, mechas de algodão cobertas por uma lamínula de microscopia (18 x 18 mm), ofertando-se pólen de mamona e ovos de ácaro-rajado como fontes de alimento. O experimento foi inteiramente casualizado com cinco repetições. No tratamento 1, foi aplicado o acaricida diafentiurom sobre as arenas (com as fêmeas de *N. californicus*), em torre de Potter, na concentração de 193 ppm de i.a. (equivalente a CL<sub>50</sub> do acaricida). No tratamento 2 (controle) não houve aplicação de acaricida. As fêmeas adultas do predador permaneceram por três dias nas arenas para ovipositarem e depois foram retiradas. Nesse período, avaliaram-se a sobrevivência das fêmeas e o número de ovos depositados em cada arena. Nos três dias seguintes, avaliou-se a taxa de eclosão de larvas e a sobrevivência dos ácaros até a fase adulta. Após as larvas tornarem-se adultas, 20 fêmeas adultas de cada tratamento foram transferidas para novas arenas de folhas de feijão, para avaliação do efeito do produto sobre o crescimento populacional da segunda geração do ácaro.

## **4.5 Seleções para resistência de acaricidas**

Foram realizadas seleções artificiais visando aumentar a frequência de resistência de ácaro-rajado a ciflumetofem e a diafentiurom. Essas seleções possibilitam a comparação do potencial de evolução da resistência aos diferentes acaricidas.

### **4.5.1 Seleção para resistência de ácaro-rajado**

Foram realizados testes toxicológicos para a obtenção das curvas de concentração-resposta e estimativa da  $CL_{50}$  para os dois acaricidas, utilizando-se uma população coletada de mini rosa em abril de 2019 (mini rosa 2). Após 48h e 72h, avaliou-se a sobrevivência das fêmeas adultas de *T. urticae*, para os acaricidas ciflumetofem e diafentiurom, respectivamente.

A pressão de seleção para resistência a ciflumetofem foi realizada, aplicando-se o acaricida em uma concentração de 120 ppm de i.a. sobre as plantas de feijão de porco infestadas por *T. urticae*. A concentração utilizada era equivalente a 1,5 vezes a concentração discriminatória estimada para o produto e causava aproximadamente 50% de mortalidade nos ácaros da população não selecionada (mini rosa 2). As aplicações foram realizadas semanalmente, com auxílio de um borrifador, por um período de cinco meses (maio a setembro de 2019). Foram mantidos quatro a seis vasos, com um total de 20 a 30 plantas infestadas por *T. urticae*, ao longo do processo de seleção.

O mesmo procedimento foi adotado para a pressão de seleção para resistência de *T. urticae* a diafentiurom utilizando-se, porém, uma concentração de 225 ppm de i.a., que também era equivalente a 1,5 vezes a sua concentração discriminatória e causava aproximadamente 50% de mortalidade nos ácaros da população de mini rosa 2.

### **4.5.2 Estabelecimento de linhagem de ácaro-rajado suscetível a acaricidas**

Foi mantida uma população de ácaro-rajado, coletada de cultivo de mini rosa em Holambra, SP, em junho de 2018, em condições de laboratório, livre de qualquer pressão de seleção por um período de mais de sete meses, visando-se à obtenção da linhagem suscetível de referência (mini rosa S) para os acaricidas ciflumetofem e diafentiurom.

## **4.6 Estabilidade da resistência**

Após a obtenção das populações de *T. urticae* resistentes de *T. urticae* aos acaricidas diafentiurom e ciflumetofem, e suscetível de referência aos acaricidas, foi possível a avaliar estabilidade da resistência aos diferentes produtos.

A pesquisa foi realizada seguindo-se a metodologia descrita por Stocco et al. (2016). Nesse estudo foram estabelecidas populações com 75% de ácaros resistentes, colocando-se 750 ácaros resistentes (selecionados para resistência) e 250 ácaros suscetíveis, em plantas de feijão-de-porco, cultivadas em vasos, no interior de bandejas plásticas. As avaliações foram realizadas mensalmente.

Os testes toxicológicos foram realizados conforme descrito anteriormente (pulverização em torre de Potter), utilizando-se a concentração discriminatória para ciflumetofem (40 ppm de i.a.) e diafentiurom (150 ppm de i.a.), estimada para o ácaro-rajado. Foram utilizados 240 ácaros (6 repetições de 40 ácaros) para cada produto testado, em cada avaliação (mensal).

Os dados de frequência de resistência (porcentagem de sobrevivência) ( $x$ ) para cada tratamento, estimados por seis meses, foram transformados em arco seno  $\sqrt{x/100}$  e analisados por ANOVA de dois fatores (acaricida e tempo) com interações ( $\alpha = 0,05$ ).

#### **4.7 Caracterização bioquímica da resistência a acaricidas**

Foram conduzidos estudos bioquímicos para avaliar os possíveis mecanismos associados à evolução da resistência de *T. urticae* e *N. californicus* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom.

##### **4.7.1 Estudos com sinergistas**

Após a obtenção das linhagens de *T. urticae* e *N. californicus* suscetíveis e resistentes a ciflumetofem e diafentiurom, foram iniciados os testes para verificar se a resistência aos diferentes produtos era metabólica (ou não) e quais grupos de enzimas estariam associados à evolução da resistência, para cada espécie e produto estudado.

Os sinergistas testados foram: 1) butóxido de piperonila (PBO), que é um conhecido inibidor de oxidases de função múltipla (monooxigenases dependentes do citocromo P450);

2) DEM (dietil maleato), inibidor de glutathione S-transferases; 3) DEF (S,S,S-tributilfosforotritioato), inibidor de esterases.

Os experimentos foram conduzidos baseando-se na metodologia descrita por Sato et al. (2001). Os ácaros foram expostos aos sinergistas, via contato residual no interior de tubos de vidro (10 cm de comprimento x 1,2 cm de diâmetro).

Foram colocados 200 µl de solução acetônica de um dos sinergistas (PBO, DEF ou DEM) em cada tubo (na sua máxima concentração, que não causava mortalidade significativa aos ácaros), distribuindo a solução por toda superfície interna do tubo e deixando secar. Vinte fêmeas adultas de *T. urticae* (ou *N. californicus*) foram colocadas no interior de cada tubo, fechando-o em seguida com parafilme, para evitar a fuga dos mesmos.

Os ácaros foram mantidos no interior do tubo, em contato com o sinergista, por um período de 4 h. Após esse período, os ácaros foram transferidos para uma arena de folha de feijão, onde receberam o tratamento com acaricida (ciflumetofem ou diafentiurom), em torre de Potter. No caso da testemunha, os ácaros foram tratados com o sinergista e, em seguida, transferidos para arenas onde receberam a aplicação de água destilada.

As avaliações foram realizadas 48 e 72 horas após a aplicação do acaricida. Foram obtidas as curvas de concentração-resposta e as CL<sub>50</sub> de cada acaricida, para as linhagens R e S de *T. urticae* e R de *N. californicus*, utilizando-se cinco concentrações de cada produto.

#### **4.7.2 Atividades enzimáticas em linhagens S e R de *T. urticae***

##### **4.7.2.1 Atividade de carboxilesterases (CarE)**

As atividades de esterases foram avaliadas pelo método proposto pelo Ministério da Saúde (2006), em que foram coletados 200 ácaros resistentes e 200 ácaros suscetíveis, colocados em dois tubos eppendorf de 1,5mL e congelados a -20° C.

Em cada tubo, contendo os 200 ácaros *T. urticae*, foram adicionados 10µl de tampão fosfato 0,1M, pH 7,6, realizando-se em seguida a maceração dos ácaros, com pistilo de vidro. Adicionou-se solução tampão (390µL) em cada tubo. Os tubos foram centrifugados a 9000 rpm, a 4° C, por 5 minutos. Foram transferidos 100µL do sobrenadante (homogenato) para cada poço de uma placa de 96 poços.

Foram comparados dois substratos para a avaliação da atividade de esterases: 4-NPA (acetato de 4-nitrofenil) e 1-NA (acetato de 1-naftil).

Para o preparo do substrato 4-NPA, foram adicionados 80µL de tampão fosfato de sódio (0,1M; pH 7,5) e 20µL de solução 0,5mM de acetato de 4-nitrofenil. Foi avaliada a formação de nitrofenil a 405nm a 30° C, durante um período de incubação de 5 minutos.

Para o substrato 1-NA, foram adicionados 60µL de tampão fosfato 0,1M, pH 7,5 e 20µL de uma solução de fast blue RR (1,5g/L). Iniciou-se a reação adicionando-se 20µL de solução acetato de 1-naftil em acetona 10%. Foi monitorada a formação do complexo 1-naftol-fast blue a 530nm, a 30° C, durante 5 minutos.

#### **4.7.2.2 Atividade de monooxigenases dependentes do citocromo P450**

As atividades de monooxigenases nas linhagens R e S do ácaro-rajado foi conduzida baseando-se no método descrito por Stumpf e Nauen (2001). A atividade de monooxigenases foi estimada bioquimicamente pela reação de O-deetilação de 7-ethoxycoumarin em 7-hydroxycoumarin (umbelliferone). Foram homogeneizadas 100 fêmeas adultas de *T. urticae* (das linhagens S e R) em 200 µl de tampão fosfatado (Sodium Phosphate Buffer, pH 7,6). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000g a 4°C, por 5 minutos e o sobrenadante resultante foi utilizado com fonte de enzimas (monooxigenases). Foram retirados 50 µl da solução enzimática, adicionando-se 40 µl de tampão fosfatado (sodium phosphate buffer) (0,1 M; pH 7,6), mais 2 µl de 20 mM 7-ethoxycoumarin (7-EC) em acetona, mais 10 µl de solução aquosa 10 mM de NADPH (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate). Após um período de incubação de 30 minutos a 30°C, a reação foi finalizada pela adição de 125 µl de acetonitrila a 50% (vol:vol) em solução tampão (Trizma a 0,05 mM, pH 10). A atividade específica de monooxigenases foi medida em espectrofotômetro (microplate reader) a 465 nm, com excitação a 390 nm, usando uma curva padrão de 7-hydroxycoumarin (SATO et al., 2006, 2007c). A quantidade de proteína nas amostras foi determinada pelo método de Bradford (1976), utilizando BSA (bovine serum albumin) como padrão.

#### **4.8 Monitoramento da resistência de *T. urticae* a acaricidas**

Esta parte da pesquisa foi realizada em parceria com o IRAC-BR (Comitê Brasileiro de Ação à Resistência a Inseticidas). Foram coletadas 14 populações (em 18 meses) de ácaro-rajado de diferentes cultivos (algodão, berinjela, gérbera, jiló, mini rosa, morango, rosa e tomate) e estados brasileiros (SP, MG, MT e GO). As populações coletadas foram



encaminhadas ao Laboratório de Acarologia do Instituto Biológico, em Campinas, SP. Para todas as populações, foram obtidas informações sobre os tratamentos químicos com acaricidas e inseticidas, realizados principalmente nas últimas safras.

As populações de *T. urticae* foram mantidas em plantas de feijão-de-porco, por um período de 18 a 25 dias, em condições de laboratório ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 5\%$  de UR e fotofase de 14 horas). Os testes toxicológicos foram realizados seguindo o método de pulverização dos acaricidas sobre os ácaros, em torre de Potter.

As porcentagens de ácaros resistentes aos acaricidas foram estimadas por meio de bioensaios utilizando-se a concentração discriminatória de ciflumetofem (80 ppm de i.a.) e diafentiurom (150 ppm de i.a.). Foram utilizados pelo menos 240 ácaros (seis repetições de 40 ácaros/arena) para a obtenção da frequência de resistência de *T. urticae*, para cada população avaliada.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Testes de toxicidade

#### 5.1.1 Testes com *Tetranychus urticae*

Os testes toxicológicos indicam diferenças significativas (baseadas na não sobreposição dos intervalos de confiança das  $CL_{50}$ ) entre as populações resistente (Mini rosa R) e suscetível (Mini rosa S) quanto à suscetibilidade aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom. O maior contraste foi observado para ciflumetofem, com razão de resistência da ordem de 1.600 vezes. No caso de diafentiurom, a razão de resistência foi de 55 vezes, sendo 29,3 vezes menor que a observada para ciflumetofem (Tabela 1). A população Mini rosa R foi selecionada para resistência aos dois acaricidas, em condições de campo, em consequência das frequentes aplicações de acaricidas sobre essas plantas ornamentais.

Esse é o primeiro relato de populações resistentes de *T. urticae* a ciflumetofem em condições de campo, no Brasil. O produto foi registrado para uso no Brasil, somente em 2014 (AGROFIT, 2019), passando a ser utilizado pelos produtores de ornamentais em Holambra

apenas nos últimos três anos. O histórico de uso do diafentiurom no Brasil já é bem mais antigo, com início de uso na década de 1990. Em cultivos de ornamentais, este inseticida-acaricida tem sido utilizado visando ao controle de moscas-brancas (*B. tabaci*) e ácaros.

Apesar do maior período de uso de diafentiurom em relação a ciflumetofem, a intensidade de resistência de *T. urticae* a diafentiurom foi consideravelmente menor, indicando menor potencial de evolução de resistência ao acaricida.

Assis et al. (2018) avaliaram a toxicidade de diafentiurom em uma população de *T. urticae* e obtiveram um valor de  $CL_{50}$  de 200 mg i.a/L (ppm) que é um pouco acima da  $CL_{50}$  observada para a linhagem Mini rosa S, porém, bem inferior a verificada para a população Mini rosa R.

Segundo Kadir e Knowles (1991), o acaricida diafentiurom apresentou baixa toxicidade para uma população de ácaro-rajado, causando 41,7% de mortalidade para uma concentração de 500 ppm de i.a. Nesse caso, provavelmente, a população de *T. urticae* avaliada por esses autores já apresentava resistência moderada ao diafentiurom, considerando-se que a  $CL_{50}$  do produto foi 15,9 vezes acima da estimada para a linhagem de Mini rosa S, no presente trabalho.

**Tabela 1.** Testes de toxicidade em populações de *Tetranychus urticae* resistente (mini rosa R) e suscetível (Mini rosa S) a ciflumetofem e diafentiurom: mês e ano da coleta dos ácaros no campo, número de ácaros utilizados nos testes ( $n$ ), concentração letal 50% ( $CL_{50}$ ), coeficiente angular (média  $\pm$  erro padrão), qui-quadrado ( $\chi^2$ ), graus de liberdade (G.L.) e razão de resistência (RR).

Acaricida	População	Coleta	$n$	$CL_{50}$ (95% I.C.)	Coeficiente Angular $\pm$ EP	$\chi^2$	G.L.	RR <sup>1</sup>
Ciflumetofem	Mini rosa R	Jan 2019	275	4127,44 (3673,62 – 4849,08)	4,25 $\pm$ 0,54	3,70	5	1618,6
Ciflumetofem	Mini rosa S	Jun 2018	291	2,55 (2,18 – 2,95)	3,11 $\pm$ 0,33	1,08	3	1
Diafentiurom	Mini rosa R	Jan 2019	193	1743,60 (1379,95 – 2307,12)	1,96 $\pm$ 0,27	1,86	3	55,2
Diafentiurom	Mini rosa S	Jun 2018	269	31,57 (7,39 – 116,80)	4,63 $\pm$ 1,00	5,64	2	1

<sup>1</sup>RR = Razão de Resistência =  $CL_{50}$  população resistente/ $CL_{50}$  população suscetível

Kavya et al. (2015) realizaram teste de toxicidade de ácaro-rajado a diafentiurom e obtiveram uma  $CL_{50}$  de 47,9 ppm, para fêmeas adultas do ácaro-praga, sendo um valor semelhante ou ligeiramente acima da observada para a linhagem de Mini rosa S.

Esteves Filho (2012) obteve mortalidade superior a 90% em adultas fêmeas de *T. urticae* em algodoeiro, em concentração muito inferior a recomendada para uso no Brasil, indicando que a população avaliada ainda se mostrava suscetível ao acaricida, contrastando com a população de Mini rosa R.

Para ciflumetofem, em um trabalho realizado por Cheon et al. (2008) na Coreia do Sul, utilizando a dose máxima recomendada (100 ppm), todas as fêmeas adultas de *T. urticae* morreram após 3 dias de exposição ao produto. Esses resultados indicam, também, a elevada suscetibilidade da população avaliada por esses autores, há mais de dez anos, pouco tempo após o primeiro registro do produto no mundo, que ocorreu no Japão em 2007.

### 5.1.2 Testes com *Neoseiulus californicus*

Os bioensaios com *N. californicus* indicam que as fêmeas adultas do ácaro predador são muito tolerantes a ciflumetofem, não tendo sido detectada mortalidade significativa dos ácaros mesmo na concentração de 4000 ppm (Tabela 2), que é 50 vezes acima da sua concentração registrada para uso no Brasil. Nesta concentração, já se observa mortalidades iguais ou acima de 50% em fêmeas adultas de *T. urticae*, mesmo na população selecionada em campo (Mini rosa R) para resistência ao acaricida.

A elevada tolerância de *N. californicus* a vários inseticidas e acaricidas já foi reportada por diversos autores (SATO et al., 2002; SILVA; OLIVEIRA, 2007). Em um trabalho realizado por Silva et al. (2012), observou-se que ciflumetofem era inócuo a *N. californicus*. Em outro trabalho, realizado por Lee e Kim (2015), no qual, avaliou-se a toxicidade de nove agroquímicos a *N. californicus*, o ciflumetofem exibiu baixa toxicidade para fêmeas e ninfas deste ácaro predador, com pouco efeito na reprodução e eclosão de larvas para ovos depositados por ácaros predadores tratados com o acaricida.

No caso de diafentiurom, o ácaro predador já se mostrou bem mais suscetível ao produto (Tabela 2), com valor de  $CL_{50}$  (130,4 ppm de i.a.) inferior à concentração recomendada do produto para o controle de *T. urticae* em roseira no Brasil (300 ppm de i.a.) (AGROFIT, 2019).

A  $CL_{50}$  de diafentiurum estimada para *N. californicus* não diferiu significativamente da observada para a linhagem Mini rosa S de *T. urticae*.

**Tabela 2.** Testes de toxicidade em população de *Neoseiulus californicus* (Morango Atibaia): número de ácaros utilizados nos testes ( $n$ ), concentração letal 50% ( $CL_{50}$ ), coeficiente angular (média  $\pm$  erro padrão), qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e graus de liberdade (G.L.).

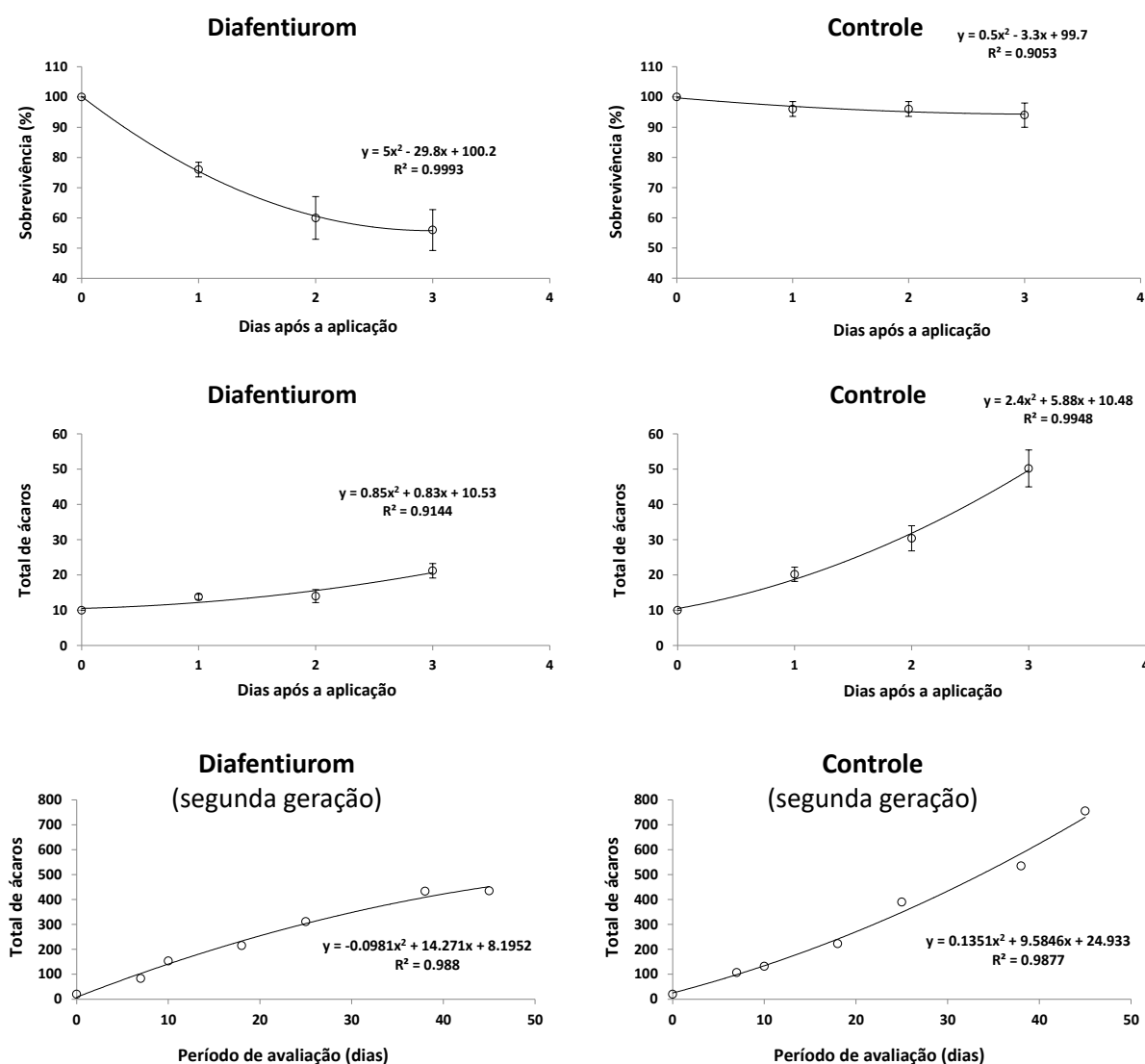
Acaricida	$n$	$CL_{50}$ (95% I.C.)	Coeficiente Angular $\pm$ EP	$\chi^2$	G.L.
Ciflumetofem	183	> 4000*	-	-	-
Diafentiurum	162	130,38 (107,03 – 161,58)	3,08 $\pm$ 0,45	1,90	2

\*Não houve mortalidade significativa de fêmeas adultas do ácaro predador para esta concentração do acaricida.

## 5.2 Efeito de diafentiurum sobre o crescimento populacional de *Neoseiulus californicus*

Os resultados indicam influência significativa de diafentiurum sobre a sobrevivência de fêmeas adultas de *N. californicus*, com aproximadamente 44% de mortalidade nos três primeiros dias. Observou-se também uma redução significativa no número de ovos depositados, resultando em um aumento populacional médio de apenas 2,1 vezes, em três dias, enquanto que, para a população não tratada (controle) esse aumento foi de 5,0 vezes. Com relação à segunda geração, observou-se também uma taxa menor de crescimento populacional para as fêmeas tratadas com diafentiurum, com redução de 42,4% no número de descendentes originados, em relação ao controle, em um período de 45 dias (Figura 1).

Em um trabalho realizado por Silva et al. (2006), avaliando a toxicidade de diafentiurum para ovos e fêmeas adultas de *Euseius alatus*, observou-se 0% de mortalidade de ovos, porém, no caso de fêmeas adultas, a mortalidade variou de 2 a 100%, dependendo do tempo de exposição ao produto, em um período de 72 horas. Em outro estudo realizado por Poletti et al. (2008), o acaricida diafentiurum causou mortalidade acima de 60% para imaturos (larvas e ninfas), porém, não houve mortalidade significativa para fêmeas adultas de *N. californicus*. Seguindo a mesma tendência, Assis et al. (2018), também não observaram redução significativa na sobrevivência de adultos *N. californicus* quando tratados com o acaricida diafentiurum.



**Figura 1.** Sobrevivência e aumento populacional de *Neoseiulus californicus* após tratamento de fêmeas adultas com acaricida diafentiurum, na concentração de 193 ppm de i.a., em condições de laboratório ( $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 5\%$  de UR e fotofase de 14 h).

Os resultados de Poletti et al. (2008) e Assis et al. (2018) diferem dos obtidos no presente experimento, no qual houve mortalidades acima de 40% em fêmeas adultas de *N. californicus*, quando tratadas a uma concentração de 193 ppm de i.a., que é inferior à recomendada (300 ppm de i.a.) para o controle ácaros e moscas-brancas em roseira no Brasil. Uma das explicações para essa diferença entre populações pode estar associada à variabilidade natural entre populações de *N. californicus*, originárias de diferentes regiões ou plantas hospedeiras. Outra possibilidade seria a influência do elevado tempo de criação em laboratório, para a população do predador mantida no Instituto Biológico, com mais de 10 anos sem pressão de seleção com produtos químicos, havendo tendência de redução na porcentagem de ácaros resistentes a acaricidas, quando esses estão presentes na população de campo.

A aplicação de diafentiurom em cultivos de rosa pode afetar a população de *N. californicus*, causando mortalidade em diferentes estágios de desenvolvimento (larvas, ninfas e adultos), além de afetar a taxa de oviposição das fêmeas tratadas e da geração seguinte, com provável efeito negativo sobre o controle biológico exercido pelo ácaro predador.

## 5.2 Seleções para resistência a acaricidas

### 5.2.1 Seleção para resistência de ácaro-rajado a acaricidas

A população de Mini rosa 2 de *T. urticae*, de mesma origem que Mini rosa R, porém, coletada após um intervalo de cinco meses, foi rapidamente selecionada para resistência a ciflumetofem (Tabela 3), com aumento da CL<sub>50</sub> de 150 para 10656,4 ppm de i.a., em um período de 4 meses e meio, após as aplicações semanais do acaricida, em uma concentração (120 ppm de i.a.) que é ligeiramente acima da concentração registrada (80 ppm de i.a.) para o controle de ácaros no Brasil (AGROFIT, 2019) e no exterior (SUMMIT AGRO MÉXICO, 2019).

Ao contrário do observado para ciflumetofem, não foi observado nenhum aumento significativo na CL<sub>50</sub> de diafentiurom (Tabela 3), apesar das aplicações semanais do inseticida acaricida na concentração de 225 ppm, que é próxima da recomendada para uso em roseira no Brasil (AGROFIT, 2019).

Esses resultados corroboram a hipótese de menor potencial de evolução da resistência de *T. urticae* a diafentiurom em relação a ciflumetofem.

**Tabela 3.** Seleções para resistência de *Tetranychus urticae* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom: data do teste, número de ácaros avaliados, concentração letal 50% (CL<sub>50</sub>), coeficiente angular (média ± erro padrão), qui-quadrado ( $\chi^2$ ), graus de liberdade (G.L.) e razão de resistência (RR).

Acaricida	População	Data	<i>n</i>	CL <sub>50</sub> (95% I.C.)	Coeficiente Angular ± EP	$\chi^2$	G.L.	RR <sup>1</sup>
Ciflumetofem	Mini rosa S	01/02/2019	291	2,55 (2,18 – 2,95)	3,11 ± 0,33	1,08	3	1
Ciflumetofem	Mini rosa 2	08/05/2019	378	150,25 (75,17 – 1222,66)	1,68 ± 0,45	0,60	2	58,9

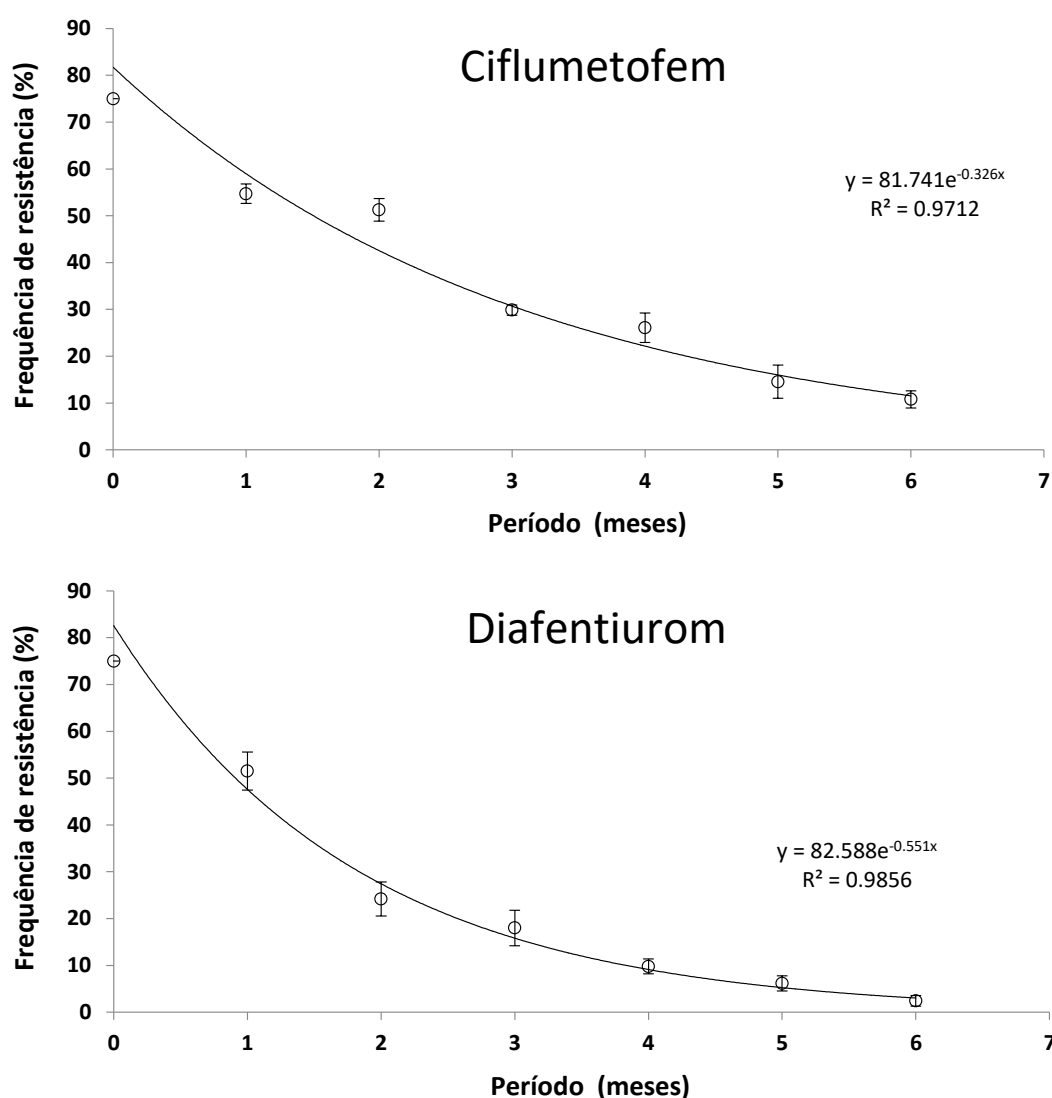
Ciflumetofem	Mini rosa 2 R1	19/08/2019	386	2982,38 (1593,35 – 11296,06)	0,96 ± 0,19	2,67	3	1169,6
Ciflumetofem	Mini rosa 2 R2	24/09/2019	378	10656,44 (4002,76 – 188520,34)	0,96 ± 0,19	2,67	3	4179,0
Diafentiurom	Mini rosa S	01/02/2019	269	31,57 (7,39 – 116,80)	4,63 ± 1,00	5,64	2	1
Diafentiurom	Mini rosa 2	03/05/2019	375	659,32 (333,10 – 3048,92)	0,84 ± 0,17	0,82	3	20,9
Diafentiurom	Mini rosa 2 R1	10/06/2019	363	721,85 (457,77 – 1880,76)	1,29 ± 0,26	0,41	2	22,9
Diafentiurom	Mini rosa 2 R2	24/09/2019	378	620,95 (253,37 – 1010,92)	2,26 ± 0,41	3,21	3	19,7

<sup>1</sup>RR = Razão de Resistência = CL<sub>50</sub> população resistente/CL<sub>50</sub> população suscetível

Wang et al. (2014) realizaram testes com outro tetraniquídeo, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval), e observaram que antes da seleção para resistência a ciflumetofem, o valor da CL<sub>50</sub> do acaricida era de 2,19 ppm. Durante o processo de seleção para resistência, houve um lento aumento na intensidade da resistência de *T. cinnabarinus* a ciflumetofem, e após aproximadamente 38 meses após o início do processo de seleção, observaram uma razão de resistência de 7,69 vezes. Nesse caso, os autores concluíram que, para ciflumetofem, havia baixa probabilidade de uma rápida evolução de resistência de *T. cinnabarinus* ao acaricida. Esses resultados diferem dos obtidos para a população Mini rosa 2 de *T. urticae*, provavelmente, devido à maior frequência de ácaros resistentes (para Mini rosa 2) no início do processo de seleção para a resistência ao produto.

### 5.3 Estabilidade da resistência

Observou-se rápida reversão da resistência de *T. urticae* a difentiurom, com redução da porcentagem de ácaros resistentes de 75% para valores iguais ou inferiores a 2,4%, em um período de seis meses, em condições de ausência de pressão de seleção com acaricidas (Figura 1).



**Figura 2.** Variações na frequência da resistência de *Tetranychus urticae* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom: porcentagens médias de sobrevivência do ácaro para a respectiva concentração discriminante (média  $\pm$  EP) de cada acaricida (ciflumetofem: 40 ppm de i.a.; diafentiurom: 150 ppm de i.a.), em condições de laboratório ( $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 5\%$  de UR e fotofase de 14 h).

No caso de ciflumetofem, observou-se também um restabelecimento da suscetibilidade de *T. urticae* ao acaricida ao longo do experimento, porém, não na mesma rapidez observada para diafentiurom, com redução da porcentagem de ácaros resistentes de 75% para valores iguais ou inferiores a 10,8%, em um período de seis meses.

Foram observadas diferenças significativas ( $t \geq 2,998$ ; g.l. = 10;  $p \leq 0,03$ ) entre as porcentagens de ácaros resistentes a ciflumetofem e diafentiurom a partir do segundo mês (60 dias) após o início do experimento, até a última avaliação. Para diafentiurom, o tempo necessário para redução da porcentagem de ácaros resistentes de 75% para valores iguais ou



inferiores a 10% foi de quatro meses, enquanto que, para ciflumetofem, frequências de resistência iguais ou inferiores a 10% foram observadas apenas aos seis meses após o início do experimento.

A instabilidade da resistência de *T. urticae* a outros acaricidas, como abamection, milbemectin, etoxazol e espiromesifeno, já havia sido reportada por vários autores (SATO et al., 2005, 2016; NICASTRO et al., 2010, 2011; STOCCO et al., 2016). No caso de abamectin, o tempo necessário para a redução da porcentagem de ácaros resistentes de 75% para valores iguais ou inferiores a 15% foi de seis meses, em condições de ausência de pressão de seleção com acaricidas (SATO et al., 2005), seguindo um padrão semelhante ao observado para diafentiurom.

No presente estudo, os resultados mostraram uma tendência de redução das frequências de resistência a ciflumetofem e diafentiurom. Uma possível explicação para a instabilidade da resistência aos acaricidas é o custo adaptativo associado a um mecanismo de resistência metabólica (RAYMOND et al., 2001; RIVERO et al., 2010). Um aumento na produção de enzimas desintoxicantes (ex.: monooxigenases, esterases), pode ter afetado alguns aspectos adaptativos (ex.: fecundidade, fertilidade, período de desenvolvimento, longevidade) do ácaro-praga (RAYMOND et al., 2001; NICASTRO et al., 2011).

Desvantagens reprodutivas foram consideradas o principal fator relacionado à instabilidade da resistência de *T. urticae* aos acaricidas hexitiazoxi (HERRON; ROPHAIL, 1993), milbemectina (NICASTRO et al., 2011) e etoxazole (STOCCO et al., 2016). No caso da resistência a milbemectina, o contraste principal entre as linhagens S e R de *T. urticae* foram observadas para a taxa de oviposição. O número de ovos postos pelas fêmeas suscetíveis foi 27,4% superior ao das fêmeas resistentes a milbemectina.

## **5.4 Caracterização bioquímica da resistência a acaricidas**

### **5.4.1 Estudo com sinergistas em ácaro-rajado**

Os resultados indicam envolvimento de enzimas metabólicas na resistência de *T. urticae* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom. O maior efeito sinérgico foi observado para PBO (inibidor de oxidases com funções múltiplas), sobre a linhagem resistente do ácaro-

rajado quando tratado com ciflumetofem, com uma razão de sinergismo de 14,2 vezes. O sinergista PBO também apresentou efeito significativo para diafentiurom, com uma razão de sinergismo de 2,1 vezes (Tabela 4).

**Tabela 4.** Efeito de ciflumetofem e diafentiurom, com ou sem sinergista, em linhagens de *Tetranychus urticae* resistentes a acaricidas. Número total de ácaros utilizados para a obtenção das curvas de concentração-mortalidade; estimativa da CL<sub>50</sub> (ppm) 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.) e razão de sinergismo (RS).

População (+ Sinergista)	Número Ácaros	CL <sub>50</sub> (95% I.C.)	Coeficiente Angular ± EP	$\chi^2$	G.L.	<sup>1</sup> RS
Ciflumetofem R	207	2251,82 (1158,28 – 12113,78)	1,03 ± 0,25	0,822	3	-
Ciflumetofem R + PBO	180	158,92 (6,35 – 375,42)	0,56 ± 0,22	0,012	2	14,17
Ciflumetofem R + DEF	194	653,70 (361,66 – 7774,76)	0,88 ± 0,31	0,850	2	3,44
Ciflumetofem R + DEM	191	2348,12 (1234,38 – 20883,22)	1,17 ± 0,35	1,80	2	0,96
Diafentiurom R	200	275,85 (199,13 – 473,57)	1,50 ± 0,32	0,12	2	-
Diafentiurom R + PBO	182	130,10 (98,97 – 172,16)	2,07 ± 0,28	1,25	2	2,12
Diafentiurom R + DEF	178	187,13 (64,30 – 14568,78)	0,50 ± 0,22	0,056	2	1,47
Diafentiurom R + DEM	180	205,24 (150,79 – 303,50)	1,66 ± 0,35	1,43	2	1,34

<sup>1</sup>RS = Razão de Sinergismo = CL<sub>50</sub> sem sinergista/CL<sub>50</sub> com sinergista

Para os outros sinergistas (DEF e DEM), o efeito sinérgico foi menor, indicando menor importância de esterases e glutatona-S-transferases na resistência de *T. urticae* a esses acaricidas, em relação às monooxigenases dependentes do citocromo P450.

O envolvimento de enzimas metabólicas normalmente implica na presença de custo adaptativo (RAYMOND et al., 2001; NICASTRO et al., 2010, 2011; STOCCO et al., 2016; QUEIROZ; SATO, 2016) associado à resistência de pragas a pesticidas, podendo explicar a rápida reversão da resistência de *T. urticae* a esses acaricidas. Stumpf e Nauen (2002) relataram um aumento na produção de enzimas desintoxicantes (monooxigenases) em linhagens resistentes de *T. urticae* à abamectina. A resistência à abamectina mostrou-se

instável em uma linhagem brasileira (BR3-00) do ácaro-praga, que apresentou uma redução de 3,9 vezes na atividade de monooxigenases após seis meses sem pressão de seleção com acaricidas (STUMPF; NAUEN 2002).

#### 5.4.2 Estudo com sinergistas em *N. californicus*

No caso do ácaro predador *N. californicus*, foi observado, também, o provável envolvimento de monooxigenases na resistência a diafentiurom, devido à elevada razão de resistência (9,7 vezes) verificada para o tratamento com PBO (Tabela 5).

**Tabela 5.** Efeito de diafentiurom, com ou sem sinergista, em população de *Neoseiulus californicus* procedente de Atibaia, SP. Número total de ácaros utilizados para a obtenção das curvas de concentração-mortalidade; estimativa da CL<sub>50</sub> (ppm) 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.) e razão de sinergismo (RS).

População (+ Sinergista)	Número Ácaros	CL <sub>50</sub> (95% I.C.)	Coeficiente Angular ± EP	$\chi^2$	G.L.	<sup>1</sup> RS
Diafentiurom	95	1017,18 (529,23 – 14769,03)	1,84 ± 0,63	7,18	4	-
Diafentiurom + PBO	70	104,83 (46,06 – 207,43)	1,16 ± 0,32	0,96	3	9,70
Diafentiurom + DEF	87	432,97 (244,02 – 8326,66)	2,04 ± 0,77	0,32	2	2,35
Diafentiurom + DEM	87	1741,38 (134,87 – 22484,44)	0,82 ± 0,49	0,57	2	0,58

<sup>1</sup>RS = Razão de Sinergismo = CL<sub>50</sub> sem sinergista/CL<sub>50</sub> com sinergista

O efeito sinérgico de PBO também foi observado para uma população resistente de *N. californicus* a clorfenapir, indicando o envolvimento de monooxigenases na resistência do predador ao acaricida (ASSIS et al., 2018).

#### 5.4.3 Atividades enzimáticas em linhagens S e R de *T. urticae*

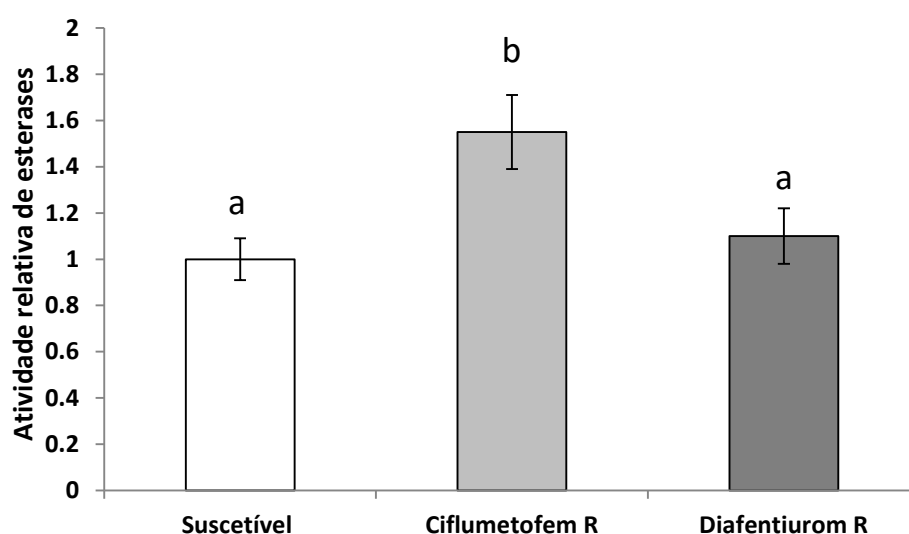
##### 5.4.3.1 Atividade de carboxilesterases (CarE)

Os estudos preliminares sobre as atividades de esterases, utilizando 1-NA (acetato de 1-naftil) como substrato, indicaram maior atividade (55%) de carboxilesterases na linhagem

resistente de *T. urticae* (Mini rosa R) a ciflumetofem em relação à linhagem suscetível, estando em concordância com os resultados obtidos no experimento com sinergistas, no qual se observou uma razão de sinergismo de 3,4 vezes para o tratamento com aplicação prévia de DEF (inibidor de esterases) seguida de pulverização com ciflumetofem (Figura 2).

No caso de diafentiurom, não se observou efeito significativo das esterases sobre a resistência do ácaro-rajado ao acaricida.

O envolvimento de esterases na resistência de ácaros fitófagos e predadores a acaricidas já foi reportado por diversos autores (SATO et al., 2001; ASSIS et al., 2018).



**Figura 3.** Atividades relativas de carboxilesterases em linhagens suscetível e resistente de *Tetranychus urticae* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom, utilizando-se 1-NA (acetato de 1-naftil) como substrato. Colunas com a mesma letra não são significativamente diferentes a 5% de significância.

#### 5.4.3.2 Atividade de monooxigenases dependentes do citocromo P450

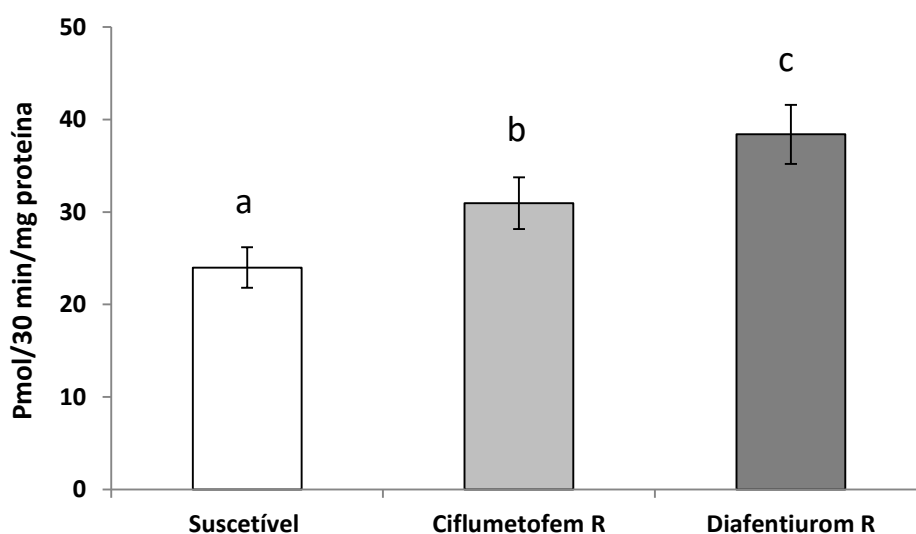
As atividades de monooxigenases dependentes do citocromo P450 foram determinadas bioquimicamente pela O-desetilação de 7-EC. Diferenças significativas nas atividades de monooxigenases ( $F = 14,1685$ ;  $P = 0,0006$ ) foram observadas para as diferentes linhagens de *T. urticae*, selecionadas para resistência a acaricidas (ciflumetofem e diafentiurom) e suscetível (Figura 3).

A atividade de monooxigenases para Ciflumetofem R (19,2 pmol/30 min/mg de proteína) foi, respectivamente, 24% e 60% maior que as atividades observada nas linhagens ciflumetofem R e suscetível (Figura 3).

Os resultados obtidos no presente experimento confirmam os dos testes com sinergistas, indicando influência de monooxigenases nas resistências de ácaro-rajado aos dois acaricidas. No caso da resistência de *T. urticae* a ciflumetofem, a razão de sinergismo estimada foi de aproximadamente 14 vezes (Tabela 4), no entanto, a diferença na atividade de monooxigenases entre a linhagem Ciflumetofem R e a suscetível foi de apenas 24%.

Essa atividade relativamente baixa de monooxigenases observada para a linhagem Ciflumetofem R pode estar relacionada ao período de incubação (tempo de exposição do substrato 7-EC às enzimas metabolizadoras dos ácaros) utilizado no experimento, que foi de apenas 30 minutos. Segundo Feng et al. (2019), o citocromo P450 CYP389C16 (40 pmol), associado à resistência do ácaro *T. cinnabarinus* a ciflumetofem, metabolizou efetivamente  $25,0 \pm 0,7\%$  de ciflumetofem e  $69,3 \pm 3,3\%$  de AB-1 (metabólito ativo desesterificado de cyflumetofen), em um período de duas horas. Assim sendo, caso o período de incubação utilizado no experimento tivesse sido um pouco mais longo, haveria a possibilidade de observação de uma diferença maior entre a linhagem ciflumetofem R e a suscetível.

Diferenças semelhantes ou mais altas nas atividades de O-desetilação de 7-EC, entre linhagens suscetíveis e resistentes de artrópodes, também foram reportadas para ácaro-rajado (STUMPF; NAUEN, 2002), *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), (YU; NGUYEN, 1992) e *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) (LEE; SCOTT, 1989). Stumpf e Nauen (2002) observaram uma atividade de desetilação de 7-EC (substrato) 13 vezes maior em linhagem resistente de *T. urticae* à abamectina (NL-00), comparada à linhagem suscetível (GSS) do ácaro. A linhagem suscetível de *T. urticae* (GSS) mostrou atividade de O-desetilação de 7-EC em torno de 1 pmol/min/mg (ou 30 pmol/30 min/mg de proteína) (Stumpf; Nauen, 2002). Essa atividade de monooxigenases foi semelhante ou ligeiramente superior à atividade encontrada na linhagem suscetível (24 pmol/30 min/mg de proteína) avaliada no presente experimento.



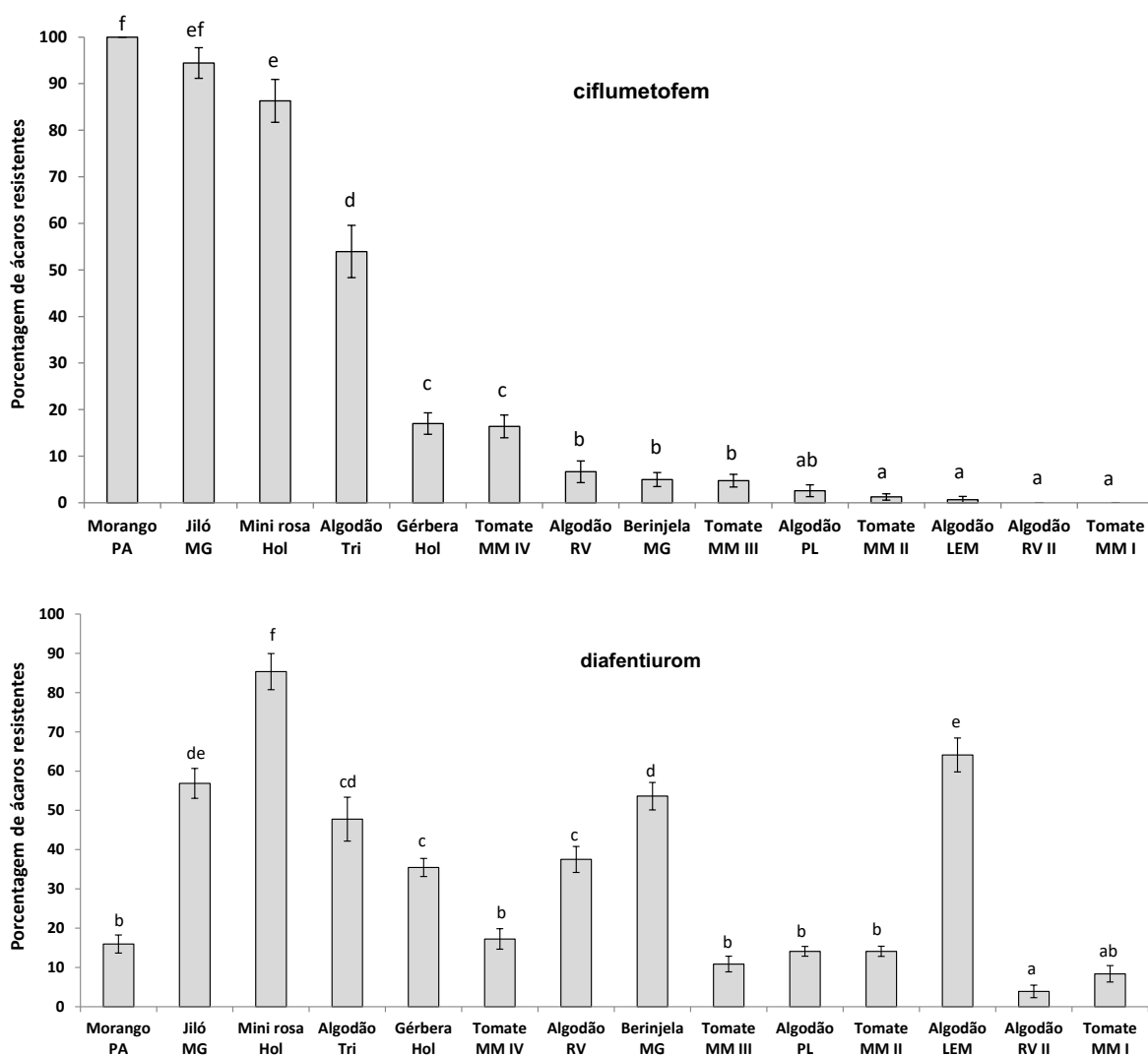
**Figura 4.** Atividade de monooxigenases em linhagens suscetível e resistente de *Tetranychus urticae* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom, estimadas por quantificação de umbelliferona originária de O-desetilação de 7-ethoxycoumarin (7-EC) (valores médios +/- EP). Colunas com a mesma letra não são significativamente diferentes a 5% de significância.

### 5.5 Monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* a acaricidas

O estudo de monitoramento da resistência de *T. urticae* a acaricidas indica elevada variabilidade na suscetibilidade do ácaro-praga aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom, com frequências de resistência variando de 0 a 100% para ciflumetofem e de 3,9 a 85,3% para diafentiurom (Figura 4).

As maiores porcentagens de ácaros resistentes a ciflumetofem foram observadas para as populações de morango de Pouso Alegre-MG, jiló de Mogi Guaçu-SP, mini rosa de Holambra-SP e algodão de Trindade-GO, com frequências de resistência iguais ou acima de 53,9%.

No caso de diafentiurom, as porcentagens de resistência foram um pouco menores para essas populações, com diferenças significativas para as de morango de Pouso Alegre e jiló de Mogi Guaçu. Embora os resultados indiquem a presença de ácaros resistentes ao acaricida em todas as populações avaliadas, para 43% das populações, a frequência de resistência foi igual ou inferior a 15,9%.



**Figura 5.** Frequência de resistência de *Tetranychus urticae* a ciflumetofem e diafentiurom. Média de sobrevivência de fêmeas adultas de populações coletadas de mini rosa, jiló, berinjela, algodão, gérbera, morango e tomate, de diferentes localidades: Holambra-SP (Hol), Mogi Guaçu-SP (MG), Trindade-GO (Tri), Rio Verde-GO (RV), Pouso Alegre-MG (PA), Primavera do Leste-MT (PL), Monte Mor-SP (MM) e Luís Eduardo Magalhães-BA (LEM), após o tratamento com ciflumetofem (80 ppm de i.a.) e diafentiurom (150 ppm de i.a.), nas suas respectivas concentrações discriminatórias. Colunas com a mesma letra, para o cada acaricida, não são significativamente diferentes a 5% de significância.

Não foi observada correlação significativa ( $F = 2,941$ ; g.l. = 13;  $r = 0.443$ ;  $p = 0,109$ ) entre as frequências de resistência para os dois acaricidas, nas diversas populações avaliadas, indicando que os mecanismos de resistência aos acaricidas são distintos. Esses resultados concordam com os dos testes bioquímicos, que indicam grupos distintos de enzimas influenciando a resistência de *T. urticae* a ciflumetofem e diafentiurom. Observa-se, por exemplo, o envolvimento de esterases apenas na resistência a ciflumetofem. No caso de

monoxigenases, grupos distintos de CYP (citocromo P450) devem estar envolvidos na resistência a cada acaricida.

Apesar de as populações de ácaro-rajado dos diferentes cultivos agrícolas terem sido expostas a diafentiurom por um período muito mais longo que a ciflumetofem (registrado recentemente no Brasil), já existem populações do ácaro-praga com porcentagens de resistência a ciflumetofem acima da observada para diafentiurom. Esses resultados confirmam a tendência observada nos experimentos de pressão de seleção em laboratório, com maior potencial de evolução da resistência de *T. urticae* a ciflumetofem. Além disso, a resistência do ácaro-praga a diafentiurom mostra-se mais instável que a ciflumetofem, com menor tempo para o restabelecimento da susceptibilidade.

Segundo Marques et al. (2017), tem sido observado um aumento gradual na frequência de ácaros resistentes a diafentiurom, nas populações de ácaro-rajado das diferentes regiões brasileiras, nos últimos dez anos. Esse aumento na porcentagem de ácaros resistentes ao inseticida-acaricida pode estar associado à maior frequência de uso de diafentiurom para o controle de moscas-brancas (*B. tabaci*), nas principais regiões agrícolas do país. Além disso, o produto se mostra pouco seletivo aos ácaros predadores da família Phytoseiidae, favorecendo o aumento da infestação do ácaro-praga, e a seleção de populações resistentes ao acaricida, após as aplicações com diafentiurom.



## 6. CONCLUSÕES

Há maior potencial de evolução da resistência de *T. urticae* a ciflumetofem, em relação a diafentiurom, com magnitudes de resistência acima de 4.000 vezes para ciflumetofem e de 55 vezes para diafentiurom.

O acaricida ciflumetofem se mostra inócuo aos adultos do ácaro predador *N. californicus*.

O acaricida diafentiurom apresenta elevada toxicidade a *N. californicus*, influenciando negativamente o crescimento populacional do ácaro predador.

A resistência de *T. urticae* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom mostra-se instável na ausência de pressão de seleção, com tendência de restabelecimento da suscetibilidade em um período de até seis meses.

Há envolvimento de enzimas monooxigenases dependentes do citocromo P450 na resistência de *T. urticae* a ciflumetofem e diafentiurom, e tolerância de *N. californicus* a diafentiurom.

Há envolvimento de carboxilesterases na resistência de *T. urticae* a ciflumetofem.

Há elevada variabilidade na suscetibilidade de *T. urticae* aos acaricidas ciflumetofem e diafentiurom, com frequências de resistência variando de 0 a 100% para ciflumetofem e de 3,9 a 85,3% para diafentiurom.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU J.A.S.; ROVIDA A.F.S.; CONTE H. Controle biológico por insetos parasitoides em culturas agrícolas no Brasil: revisão de literatura. *Revista UNINGÁ Review*, v.22, n.2, p.22-25, 2015.

AGROFIT. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 05 Ago. 2019.

AKI, A.; PEROSA, J.M.Y. Aspectos da Produção e Consumo de Flores e Plantas Ornamentais no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.8, p.13-23, 2002.

ALMAGUEL, L.; HERNÁNDEZ, J.; DE LA TORRE, P. SANTOS, A.; CABRERA, R.I.; GARCIA, A.; RIVERO, L.E.; BÁEZ, L.; CÁCERES, I.; GINARTE, A. Evaluación del comportamiento del ácaro *Steneotarsonemus spinki* (Acari: Tarsonemidae) em los estúdios de regionalización desarrollados em Cuba. **Fitosanidad**, v.4, n.3194, p. 15-20. 2000.

ARAÚJO, L. Mercado de flores projeta faturamento de R\$ 8,5 bi. Edição do Brasil. Disponível em: <<http://edicaodobrasil.com.br/2019/09/27/mercado-de-flores-projeta-faturamento-de-r-85-bi/>>. Acesso em: 07 Jul. 2020.

ASSIS, C.P.P.; GONDIM JR, M.G.C.; SIQUEIRA, H.A.A. Synergism to acaricides in resistant *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae), a predator of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Crop Protection**, p.139-145, 2018.

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

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.

BELLINI, M.R. Manejo de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em plantas ornamentais. Tese (Doutorado). ESALQ, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

BERNARDI, O.; OMOTO, C. Manejo de resistência de insetos e ácaros a pesticidas. In: ZAMBOLIM, L.; SILVA, A. A. da; PICANÇO, M.C. (Org). **O que Engenheiros Agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários**. 4 ed. Viçosa, v.1, p.495-528, 2014.

BERNARDI, D.; BOTTON, M.; NAVA, D.E.; ZAWADNEAK, M.A.C. Guia para identificação e monitoramento de pragas e seus inimigos naturais em morangueiro. EMBRAPA, 2015.

BLUMEL, S.; WALZER, A. Efficacy of different release strategies of *Neoseiulus californicus* McGregor and *Phytoseiulus persimilis* Athias Henriot (Acari: Phytoseiidae) for the control of two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) on greenhouse cut roses. **Systematic and Applied Acarology**, v.7, p.35-48, 2002.

BLUMEL, S.; WALZER, A.; HAUSDORF, H. Successive release of *Neoseiulus californicus* McGregor and *Phytoseiulus persimilis* A.H. (Acari: Phytoseiidae) for sustainable biological control of spider mites in greenhouse cut roses - interim results of a two years study in a commercial nursery. **International Organization of Biological Control Western Palearctic Regional Section Bulletin**, Victoria, v. 25, p. 21-24, 2002.

BOLLAND, H.R.; GUTIERREZ, J.; FLECHTMANN, C.H.W. World catalogue of the spider mite family (Acari: Tetranychidae). Leiden (The Netherlands): Brill Academic Publisher, 1998.

BONGERS, F.J.G. Informativo IBRAFLOR. Holambra, p.1-10, 2000.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v.72, P.248-254, 1976.

BRUN, R.; BLANC, M.L.; METAY, C.; WDZIEKONSKI, C. Management of mites on a rose crop under glass with integrated protection. **PHM Revue Horticole**, v.465, p.44-48, 2005.

BUENO, V.H.P.; JUNIOR, J.C.L.; JUNIOR, A.M.; SILVEIRA, L.C.P. Controle biológico e manejo de pragas na agricultura sustentável. Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras. Apostila, Lavras, 2015. Disponível em: <http://www.den.ufla.br/attachments/article/75/ApostilaCB%20%28final%29.pdf>. Acesso em: 28 Set. 2019.

CARVALHO, L.M.; ALMEIDA, K.; TAQUES, T.C.; SOARES, C.S.A.; ALMEIDA, E.F.A.; REIS, S.N. Manejo de pragas em cultivo de roseira de sistema de produção integrada e sistema convencional. **Bioscience Journal**, v.28, n.6, p.938-944, 2012.

CAVALCANTE, A.L. Mudanças garantem o lucro. **Manchete Rural**, São Paulo, v.7, n.91, p-28-31, 1994.

CHEON, G.S.; PAIK, C.H.; KIM, S.S. Selective Toxicity of three acaricides to the predatory mite, *Neoseiulus womersleyi* and its Prey, *Tetranychus urticae* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). **Korean Journal of Pesticides Science**, v.1, n.3, p. 249-255, 2008.

DEBACH, P. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Editora Continental, S.A., México. 927p, 1968.

DE VIS, R.M.J.; BARRERA, A.J. Use of two predators *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) and *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) for the biological control of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in roses in the Bogota plateau. **Acta Horticulturae**, n.482, p.259-267, 1999.

EL-LAITHYL, A.Y.M.; SAWSAN, A.E. Release of the predatory mites *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot and *Neoseiulus californicus* McGregor to control the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch infesting cucumber and rose in plastic houses in Egypt. **Annals of Agricultural Science Cairo**, v. 50, p. 759-767, 2005.

EMBRAPA. Controle Biológico. Documento. Folder. 2006. Disponível em: <[https://www.embrapa.br/documents/1355163/1994475/fold06-08\\_controleBiologico.pdf/71cf43ce-0f8e-46da-ac5a-4c76688170e5](https://www.embrapa.br/documents/1355163/1994475/fold06-08_controleBiologico.pdf/71cf43ce-0f8e-46da-ac5a-4c76688170e5)>. Acesso:15 jun 2019.

ESTEVES FILHO. A.B. Toxicidade, efeito residual e repelência de acaricidas sintéticos e produtos naturais sobre *Tetranychus urticae* Koch e *Phytoseiulus macropilis* (Banks), em algodoeiro. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

FENG, K.; OU, S.; ZHANG, P.; WEN, X.; SHI, L.; YANG, Y.; HU, Y.; ZHANG, Y.; SHEN, G.; XU, Z.; HE, L. The cytochrome P450 CYP389C16 contributes to the cross-resistance between cyflumetofen and pyridaben in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval).

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.

FINNEY, D.J. **Probit Analysis**, 3rd ed. London, Cambridge University Press. 1971. 315 p.

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

FRAGOSO, D.B.; GUEDES, R.N.C.; OLIVEIRA, M.G.A. Partial characterization of glutathione S-transferases in pyrethroid-resistant and -susceptible populations of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Journal of Stored Products Research**, v.43, p.167-170, 2007.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Manual de Entomologia Agrícola**. FEALQ, Piracicaba, 2002.

GIBSON, M. **Rosales**. 1ed. Barcelona. Editorial Blume, 1989.

GONÇALVES, M.E.C.; OLIVEIRA, J.V.; BARROS, J.; TORRES, B. Efeito dos extratos vegetais sobre estágios imaturos e fêmeas adultas de *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). **Neotropical Entomology**, 30(2): 305-309. 2001.

HABIG, W.H.; PABST, M.J.; JAKOBY, W.B. Glutathione S-transferases, the first step in mercapturic acid formation. **Journal of Biological Chemistry**, v.22, p.7130-7139, 1974.

HERRON, G.A.; EDGE, V.; ROPHAIL, J. Clofentezine and hexythiazox resistance in *Tetranychus urticae* Koch 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 and Applied Acarology**, v.17, p.423-431, 1993.

HODDLE, M.S.; APONTE, V.; KERGUÉLEN, J.; HERATY, J. Biological Control of *Oligonychus perseae* (Acari: Tetranychidae) on Avocado: Evaluating Release Timing, Recovery, and Efficacy of Six Commercially Available Phytoseiids. **Internat J. Acarol.** 1999.

IMENES, S.L.; IDE, S. Principais grupos de insetos pragas em plantas de interesse econômico. **O Biológico**, v.64, n.2, p.235-238, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA - IBRAFLOR. Brasil: mostra tua flora. Informativo IBRAFLOR, São Paulo, v.7, n.23, p.4, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA - IBRAFLOR. Relatório Floricultura Brasileira. Informativo IBRAFLOR, São Paulo, v. 5, n. 19, maio 2000.

IRAC - Insecticide Resistance Action Committee. IRAC Mode of Action Classification Scheme. Version 8.3. Issued: July 2017. Disponível em: <http://www.iraconline.org/documents/moa-classification/>. Acesso em: 25 jul. 2019.

IRAC-MSU - Inseticide Resistance Action Committee - Michigan State University. Arthropod Pesticide Resistance Database. Disponível em: <http://www.pesticideresistance.com/search.php>. Acesso em: 20 mai. 2019.

JUNKES, S.; PEDROTTI, E.L.; SIMM, C.R. Cultivando Roseiras. Universidade Federal de Santa Catarina. Centro de Ciências Agrárias, 1995. Disponível em: <http://atividaderural.com.br/artigos/590b6554630fd.pdf>. Acesso em: 28 set 2019.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETS, M. S. Os pólos de produção de flores e plantas ornamentais do Brasil: uma análise do potencial exportador. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.18, n.1/2, p.25-47, 2002.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETS, M.S. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais do Brasil, no período de 2008 a 2013: atualizações, balanços e perspectivas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.20, p. 115-120, 2014.

KADIR, H.A.; KNOWLES, C.O. Toxicological studies of the thiourea diafenthiuron in diamondback moths (Lepidoptera: Yponomeutidae), twospotted spider mites (Acari: Tetranychidae), and bulb mites (Acari: Acaridae). **Journal of Economic Entomology**, v.84, n.3, p.780-784, 1991.

KAVYA, M.K.; SRINIVASA, N.; RAVI, G.B.; VIDYASHREE, A.S. Relative Toxicity of selected acaricides on two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) of Brinjal. **The Bioscan**, v.10, n.2, p. 605-608, 2015.

KIEKIEWICZ, M.; WITUL, A. Effectiveness of integrated control of spider mites on gerbera. **Materiy Sesji Instytutu Ochrony Roslin**, Poznan, v.35, p.133-137, 1995.

KIYUNA, I.; FRANCISCO, V.L.F.S.; COELHO, P.J.; CASER, D.V.; ASSUMPTÃO, R.; ANGELO, J.A. A floricultura brasileira no início do século XXI; perfil do produtor. **Informações Econômicas**, SP, v.34, n.4, p.14-32, 2004.

KNIGHT, A.L.; BEERS, E.H.; HOYT, S.C.; RIEDL, H. Acaricide bioassay with spider mites (Acari: Tetranychidae) on pome fruits: evaluation of methods and selection of discrimination concentrations for resistance monitoring. **Journal of Economic Entomology**, v. 83, n. 5, p. 1752-1760, 1990.

LANDGRAF, P.R.C. Diagnóstico da Floricultura no Estado de Minas Gerais. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, 2006.

LANDGRAF, P.R.; PAIVA, P.D.O. Floricultura Produção e comercialização no estado de Minas Gerais. Lavras: Editora da UFLA, 2008. 96p.

LEE S.M.; KIM, S.S. Susceptibility of the predatory mite, *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) to acaricides. **The Korean Journal of Pesticide Science**, v.19, p. 418-423, 2015. DOI 10.7585/kjps.2015.19.4.418

LEE, S.S.T.; SCOTT, J.G. Microsomal cytochrome P450 monooxygenases in the house fly (*Musca domestica* L.): biochemical changes associated with pyrethroid resistance and phenobarbital induction. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.35, p.1-10, 1989.

LEITE, G.L.D.; D'ÁVILA, V.A. **Pragas de Roseiras**. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias, 2017. Disponível em: <[https://halley.adm-serv.ufmg.br/ica/wpcontent/uploads/2017/06/Pragas\\_de\\_roseira.pdf?fbclid=IwAR3K58BWNc8rNzPhrN5qrz0AI7KFeU118iGg0XnYkwMCxw13t0XXzAVG2g](https://halley.adm-serv.ufmg.br/ica/wpcontent/uploads/2017/06/Pragas_de_roseira.pdf?fbclid=IwAR3K58BWNc8rNzPhrN5qrz0AI7KFeU118iGg0XnYkwMCxw13t0XXzAVG2g)>. Acesso em 18 jul 2019.

MALUF, W.R.; CAMPOS, G.A.; CARDOSO, G.; CAMPOS, M. Relationships between trichome types and spider mite (*Tetranychus evansi*) repellence in tomatoes with respect to zingiberene contents. **Euphytica**, 121: 73-80. 2001.



MARAFELI, P.P.; REIS, P.R.; SILVEIRA, E.C. SOUZA-PIMENTEL, G.C.; TOLEDO, M.A. Life history of *Neoseiulus californicus* (McGregor, 1954) (Acari:Phytoseiidae) fed with castor bean (*Ricinus communis* L.) pollen in laboratory conditions. **Brazilian Journal of Biology**, v.74, n.3, p.691-697, 2014.

MARQUES, S.S.; CARVALHO, A.B.; QUEIROZ, M.C.V.; MACENA, A.B.; SATO, M.E. Monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) a diafenthiuron no Brasil, de 2008 a 2017. **O Biológico**, v.79, n.2, p. 89, 2017.

MARTINS, M. V. M.; ANDRIGUETO, J. R.; VAZ, A. P. A.; MOSCA, J. L. Produção Integrada de Flores no Brasil. Informe Agropecuario, v.30, n.249, p.64-66, 2009.

McMURTRY, J.A.; CROFT, B.A. Life styles of phytoseiid mites and their roles as biological control agents. **Annual Review of Entomology**, v.42, p.291- 321, 1997.

MELLO, E.J.R. Resistência do “ácaro rajado” do algodoeiro a ação de produtos fosforados. Reunião da Sociedade Brasileira de Entomologia, 1, Piracicaba, Anais. p. 65-66, 1968.

MEYER, J.R. Resistance to pesticides. 2003. Disponível em: <[http://www.cals.ncsu.edu/course/ent425/library/tutorials/applied\\_entomology/resistance.html](http://www.cals.ncsu.edu/course/ent425/library/tutorials/applied_entomology/resistance.html)>. Acesso em: 13 maio. 2019.

MORAES, G.J.; FLECHTMANN, C.H.W. **Manual de Acarologia**: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto: Holos. 2008. 308 p.

MOTOS, J.R. Apostila “Flor de Corte”. Holambra, p. 1-7, 2000.

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, p.223-228, 2011.

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.

NICOLAS, O.; GROS, P.; BOUJOT, Y.; CAMBOURNAC, L.; CHAMPOUSSIN, J.N.; FRANCESCHINI, C.; LANZA, R.; PARIS, B. Integrated biological protection in rose cut flower cultivation: overview of 5 years experimentation in Alpes-Maritimes. **PHM Revue Horticole**, v.469, p. 39-42, 2005.

NOMURA, E.S. Diagnóstico da produção de flores tropicais na região do Vale do Ribeira. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.14, n.1, p. 23-25, 2008.

OLIVEIRA, R.; POZZEBON, M.; HECK, E.V. Veiling Holambra- Trading Brazilian Flowers in the International Market Enabled by IT. *Journal of Information Technology Case and Application Research*, 2014.

ORTEGA, F. Statistical analysis program and spreadsheet. Easy to use. A review of StatPlus. StatPlus 6.2.2.0. Disponível em: <https://statplus-2008.en.lo4d.com/windows>. Acesso em: 28 Set. 2019.

PIZZOL, J.; PONCET, C.; HECTOR, S.; ZIEGLER, M. Preventive IPM for greenhouse roses in the South of France. **International Organization of Biological Control (IOBC) Western Palearctic Regional Section Bulletin**, Murcia, v. 29, p. 31-36, 2006.

POLETTI, M., KONNO, RH., SATO, ME.; OMOTO, C. Controle biológico aplicado do ácaro rajado em cultivo protegido: viabilidade no emprego dos ácaros predadores. In PINTO, A.S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. (Orgs.). **Controle biológico de pragas: na prática**. Piracicaba: FEALQ. p.193-203, 2006.

POLETTI, M.; COLLETTE, L.P.; OMOTO, C. Compatibilidade de Agrotóxicos com os ácaros predadores *Neoseiulus californicus* (McGregor) e *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae). **BioAssay**, v.3, n.3, p.1-14, 2008.

QUEIROZ, M.C.V.; SATO, M.E. Pyrethroid resistance in *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae): cross-resistance, stability and effect of synergists. **Experimental and Applied Acarology**, v.68, p.71-82, 2016.

RAYMOND, M.; BERTICAT, C.; WEILL, M.; PASTEUR, N.; CHEVILLON, C. Insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens*: what have we learned about adaptation? **Genetica**, v.112-113, p.287-296, 2001.

RHODES, E.M.; LIBURD, O.E. Predatory Mite, *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Arachnida: Acari: Phytoseiidae). Entomology and Nematology Department, University of Florida, Gainesville, 2005. Disponível em: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.577.8395&rep=rep1&type=pdf>. Acesso em: 28 Set 2019.

RIVERO, A.; VEZILIER, J.; WEILL, M.; READ, A.F.; GANDON, S. Insecticide control of vector-borne diseases: when is insecticide resistance a problem? **PLOS Pathogens**, v.6, p.e1001000, 2010.

RONDON, S.I.; PRICE, J.F.; LIBURD, O.E.; FRANCIS, R.; CANTLIFF, D.J. *Neoseiulus californicus* McGregor: A Predatory Mite Species for Controlling Twospotted Spider Mites in Strawberries. Gainesville: University of Florida Institute of Food and Agricultural Sciences, 2004.

SALOMÉ, J.R. Mercado Brasileiro de Flores e plantas ornamentais. **Pesquisa & Tecnologia**, v.4, n.1 jan-jun 2007. Disponível em: < [http://www.apta regional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2007/2007-janeiro-junho/511-mercado-brasileiro-de-flores-e-plantas-ornamentais/file.html?force\\_download=1](http://www.apta regional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2007/2007-janeiro-junho/511-mercado-brasileiro-de-flores-e-plantas-ornamentais/file.html?force_download=1)>. Acesso em: 18 jun. 2019.

SATO, M.E.; SUPPLY FILHO, N.; SOUZA FILHO, M.F. de; 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. **Ecosistema**, v.19, p.40-46, 1994.

SATO, M.E.; MIYATA, T.; KAWAI, A.; NAKANO, O. Methidathion resistance mechanisms in *Amblyseius womersleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.69, p.1-12., 2001.

SATO, M. E.; SILVA, M. da; GONÇALVES, L. R.; SOUZA FILHO, M. F. de; RAGA, A. Toxicidade diferencial de agroquímicos a *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) e *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em morangueiro. **Neotropical Entomology**, v.31, p.449-456, 2002.

SATO, ME., SILVA, MZ., SOUZA-FILHO, MF. and RAGA, A. Manejo de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em morangueiro utilizando ácaros predadores (Phytoseiidae) e propargite. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.69, p.261-264, 2002.

SATO, M.E.; MIYATA, T.; SILVA, M. da; RAGA, A.; SOUZA FILHO, M.F. de Selections for fenpyroximate resistance and susceptibility, and inheritance, cross-resistance and stability of fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* Koch (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 (Acari: Tetranychidae): selection, cross-resistance and stability of resistance. **Neotropical Entomology**, v. 34, n.6, 2005.

SATO, ME., SILVA, MZ., SOUZA FILHO, MF. and RAGA, A. Monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae) a abamectin e fenpyroximate em diversas culturas no Estado de São Paulo. In: Simpósio Brasileiro de Acarologia, 1, 2006. Resumos. Viçosa. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. p.169, 2006.

SATO, M.E.; SILVA, M.Z. da; 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**, v.66, n.1, p.89-95, 2007.

SATO, M.E.; VERONEZ, B.; STOCCO, R.S.M.; QUEIROZ, M.C.V.; GALLEGU, R. Spiromesifen resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): Selection, stability, and monitoring. **Crop Protection**, v.89, p. 278-283, 2016.

SILVA, F.R.; VASCONCELOS, G. J. N.; JUNIOR, M. G. C. G.; OLIVEIRA, J.V. Toxicidade de acaricidas para ovos e fêmeas adultas de *Euseius alatus* Deleon (Acari: Phytoseiidae). **Revista Caatinga**. Universidade Federal Rural do Semi- Árido (UFERSA), 2006.

SILVA, M.Z.; OLIVEIRA, C.A.L. Toxicidade residual de alguns agrotóxicos recomendados na citricultura sobre *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.29, n.1, p. 85-90, 2007.

SILVA, M.Z.; SATO, M.E., OLIVEIRA, C.A.L.; VERONEZ, B. Toxicidade de agroquímicos ao ácaro-da-leprose dos citros *Brevipalpus phoenicis* (Geijkes) e ao ácaro predador *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Tenuipalpidae, Phytoseiidae). **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.3, p.363-370, 2012.

STOCCO, R.S.M.; SATO, M.E.; SANTOS, T.L. Stability and fitness costs associated with etoxazole resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Experimental & Applied Acarology**, v.69, n.4, p.413-425, 2016.

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.

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.

SUMMIT AGRO MÉXICO. Acaricida Danisaraba. Disponível em: <https://summitagromexico.com/productos/informacion/danisaraba-20-sc/>. Acesso em: 02 Out. 2019.

TAKAHASHI, N.; NAKAGAWA, H.; SASAMA, Y.; IKEMI, N. Development of a new acaricide, cyflumetofen. **Journal of Pesticide Science**, v.37, n.3, p.263-264, 2012.

van LEEUWEN, T., VONTAS, J., TSAGKARAKOU, A., DERMAUW, W., TIRRY, L. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: a review. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v.40, n.8, p.563-572, 2010.

WALDEMAR, S. **Cultivo de rosas no Brasil**. 2. Ed. São Paulo: Nobel, 1977.

WALZER, A.; BLUMEL, S. Effect of different prey amounts on the population development of the phytoseiid mites *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus* in a single and in a two-species system on detached rose leaves. **International Organization of Biological Control (IOBC) Western Palearctic Regional Section Bulletin**, Brest, v. 22, p. 275-278, 1999.

WALZER, A.; SCHAUSBERGER, P. Combined use of two predatory mite species for biological/integrated control of spider mites. **Forderungsdienst**, v.48, p.50-56, 2000.

WANG, Y.; ZHAO, S. SHI, L.; XU, Z.; HE, L. Resistance selection and biochemical mechanism of resistance against cyflumetofen in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.111, p.24-30, 2014.

WHALON, M.E.; MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R.M. Analysis of global pesticide resistance in arthropods. Cambridge: CAB International, p.5-31, 2008.

WU, G.; MIYATA, T. Susceptibilities to methamidophos and enzymatic characteristics in species of pest insects and their natural enemies in crucifer vegetable crops. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.82, p.79-93. 2005.

YU, S.J.; NGUYEN, S.N. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in the diamondback moth. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.44, p.74-81, 1992.

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