

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E TEMPORAL DE *Brevipalpus phoenicis* (ACARI:
TENUIPALPIDAE) VIRULÍFEROS E DA LEPROSE-DOS-CITROS EM POMARES
COM CONTROLE QUÍMICO**

**José Ricardo Lorençon
Biólogo**

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E TEMPORAL DE *Brevipalpus phoenicis* (ACARI:
TENUIPALPIDAE) VIRULÍFEROS E DA LEPROSE-DOS-CITROS EM POMARES
COM CONTROLE QUÍMICO**

Biólogo José Ricardo Lorençon

Orientador: Prof. Dr. Daniel Junior de Andrade

Co-orientador: Prof. Dr. Renato Beozzo Bassanezi

Dissertação apresentada à
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do
título de Mestre em Agronomia
(Entomologia Agrícola).

2015

L868d Lorençon, José Ricardo
Distribuição espacial e temporal de *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) virulíferos e da leprose-dos-citros em pomares com controle químico / José Ricardo Lorençon. – – Jaboticabal, 2015
xii, 59 f.: il.; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015
Orientador: Daniel Junior de Andrade
Banca examinadora: Pedro Takao Yamamoto, Raphael de
Campos Castilho
Bibliografia

1. *Brevipalpus phoenicis*. 2. CiLV. 3. Acaricidas. 4. Mapas de
variabilidade espacial. 5. Geoestatística. I. Título. II. Jaboticabal-
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.7:634.3

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

José Ricardo Lorençon – Nasceu em 27 de julho de 1989 na cidade de São Carlos – SP, filho de Sebastiana Grigol Lorençon e José Lorençon. É formado em Licenciatura em Ciências Biológicas (2009-2011) e Pós-Graduado *Latus senso* em Educação Ambiental e Desenvolvimento Sustentável (2012), pela Faculdade de Educação São Luís de Jaboticabal – SP. De agosto de 2010 à fevereiro de 2013, realizou atividades na área de Tecnologia de Aplicação de Produtos Fitossanitários como bolsista de Treinamento Técnico (Bolsa FAPESP – Nível I) no Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal – SP, tendo como supervisor o Prof. Dr. Marcelo da Costa Ferreira. Em 2013 ingressou no Mestrado em Agronomia (Entomologia Agrícola) pela FCAV/UNESP para atuar na área de Acarologia Agrícola.

“Cada dia que amanhece assemelha-se a uma página em branco, na qual gravamos os nossos pensamentos, ações e atitudes. Na essência, cada dia é a preparação de nosso próprio amanhã.”
(Psicografia de Francisco Chico).

Dedico...

Dedico inteiramente este trabalho aos meus pais Sebastiana Grigol Lorençon e José Lorençon, por estarem sempre ao meu lado. E ao Jean Carlos de Souza Almeida, uma pessoa extraordinária, por me oferecer grandes forças e saberes, e a nunca desistir.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela “Força, Fé e Foco” em minhas atividades acadêmicas.

Agradeço aos meus pais Sebastiana Grigol Lorençon e José Lorençon, por sempre estarem ao meu lado me incentivando, educando e me oferecendo forças em minha caminhada. Agradeço profundamente ao Jean Carlos de Souza Almeida, pela paciência, carisma, incentivo e principalmente por estar sempre ao meu lado me ajudando e dando forças.

Agradeço ao Prof. Dr. Marcelo da Costa Ferreira, por acreditar em meu trabalho e a todas as palavras de incentivo e ajuda durante meu treinamento técnico em seu laboratório.

Agradeço ao Prof. Dr. Antônio Carlos Busoli, por todo carisma, confiança em meu trabalho e principalmente nas palavras de incentivo e motivação.

Agradeço ao Prof. Dr. Daniel Junior de Andrade, por ser mais do que meu Orientador mais sim um amigo, e a Profa. Dra. Nilza Maria Martinelli e a todos os (as) amigos (as) conquistados no Laboratório de Acarologia.

Ao meu Co-orientador Dr. Renato Beozzo Bassanezi pesquisador do Fundo de Defesa da Citricultura - FUNDECITRUS pela seu inestimável auxílio na realização deste trabalho.

Em especial ao Dr. Diego Silva Siqueira pelo auxílio nas análises geoestatísticas e interpretação dos resultados.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP Câmpus de Jaboticabal e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado.

Ao Grupo Yamane Agrícola - Taquaral-SP, em especial ao Sr. Roberto Yochio Yamane pela concessão das áreas de estudo e apoio para realização dos trabalhos.

Ao Centro de Citricultura Sylvio Moreira de Cordeirópolis-SP (IAC-APTA), em especial as pesquisadoras Valdenice Moreira Novelli, Juliana Freitas-Astúa, Marines Bastianel e a Maria Andreia Nunes pelo auxílio na realização das análises moleculares.

Agradeço ao Prof. Dr. Elliot Watanabe Kitajima e ao Prof. Dr. Francisco André Ossamu Tanaka por todos os ensinamentos, paciência e carisma no meu treinamento de microscopia eletrônica no Laboratório do Núcleo de Apoio à Pesquisa - Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP-MEPA) ESALQ/USP.

Por fim agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela Auxílio à pesquisa concedido (Processo 2013/04147-6).

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	02
2.1 Produção de citros no Brasil.....	02
2.2 A leprose-dos-citros.....	03
2.3 Ácaros <i>Brevipalpus</i> spp. associados a leprose.....	06
2.4 Manejo e distribuição espacial da leprose.....	07
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	08
3.1 Áreas experimentais.....	08
3.2 Características dos talhões selecionados.....	09
3.2.1 Talhão 01.....	09
3.2.2 Talhão 02.....	09
3.3 Incidência e severidade da leprose.....	10
3.4 Confirmação do vírus CiLV-C.....	10
3.5 Coleta dos ácaros.....	11
3.6 Identificação dos ácaros <i>Brevipalpus</i> coletados.....	12
3.7 Aplicações dos acaricidas.....	12
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
4.1 Confirmação do vírus CiLV e do ácaro <i>Brevipalpus</i> spp.....	13
4.2 Distribuição espacial e temporal da leprose-dos-citros.....	14
4.2.1 Resultados para o Talhão 01.....	14
4.2.2 Resultados para o Talhão 02.....	23
5. CONCLUSÕES.....	30
6. REFERÊNCIAS.....	30
APÊNDICES.....	40

01 Histórico de aplicações de produtos fitossanitários no talhão 01.....	41
02 Histórico de aplicações de produtos fitossanitários no talhão 02.....	43

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Resultados de número de plantas, áreas (m ²) e porcentagem de plantas cítricas com e sem sintomas da leprose-dos-citros em talhão de laranjeira (Talhão 01).....	15
Tabela 2. Nível de disseminação de severidade da leprose-dos-citros na área experimental, entre a segunda e a terceira avaliação para todas as plantas do talhão de laranjeira (Talhão 01).....	21
Tabela 3. Resultados de número de plantas, áreas (m ²) e porcentagem de plantas cítricas com e sem sintomas da leprose-dos-citros em talhão de laranjeira (Talhão 02).....	24
Tabela 4. Disseminação da leprose-dos-citros na área experimental entre as três avaliações para todas as plantas do Talhão 02.....	28

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Eletromicrografias de transmissão e de varredura. (A) Corte transversal de lesões de leprose-dos-citros em frutos de laranja, indicando a presença de viroplasma do vírus CiLV-C. (B) Espécime de ácaro <i>Brevipalpus phoenicis</i> coletado na área experimental (aumento de 660x).....	13
Figura 2. Histogramas de distribuição das notas de severidade de leprose-dos-citros no Talhão 01, obtidas na (A) primeira avaliação em março de 2013, (B) segunda avaliação em setembro de 2013 e (C) terceira avaliação em janeiro de 2014.....	17
Figura 3. Mapas de variabilidade de disseminação de leprose-dos-citros, durante os meses de março de 2013 à janeiro de 2014 no Talhão 01. (A) primeira avaliação em março de 2013, (B) segunda avaliação em setembro de 2013 e (C) terceira avaliação em janeiro de 2014.....	19
Figura 4. (A) Mapa de sobreposição da primeira e segunda avaliação de disseminação da leprose-dos-citros nas linhas e entrelinhas, avaliada após 6 meses (março à setembro de 2013) no Talhão 01. (B) Evolução de notas de severidade da leprose-dos-citros entre as avaliações realizadas.....	20
Figura 5. Resultados das análises de RT-PCR para ácaros <i>Brevipalpus phoenicis</i> coletados no Talhão 01 antes da aplicação do acaricida.....	23
Figura 6. Histograma de distribuição das notas de severidade da leprose-dos-citros no Talhão 02 obtidas na (A) primeira avaliação em julho de 2013, (B) segunda avaliação em agosto de 2014 e (C) terceira avaliação em dezembro de 2014.....	26

Figura 7. Mapas de variabilidade da leprose-dos-citros durante os meses de julho de 2013 à dezembro de 2014 no Talhão 02. (A) primeira avaliação em julho de 2013, (B) segunda avaliação em agosto de 2014 e (C) terceira avaliação em dezembro de 2014..... 27

Figura 8. Mapa de sobreposição das três avaliações de disseminação da leprose-dos-citros, realizadas nos meses de julho de 2013 à dezembro de 2014 no Talhão 02..... 29

DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E TEMPORAL DE *Brevipalpus phoenicis* (ACARI: TENUIPALPIDAE) VIRULÍFEROS E DA LEPROSE-DOS-CITROS EM POMARES COM CONTROLE QUÍMICO

RESUMO – A leprose-dos-citros é uma das doenças mais graves da citricultura brasileira, acarretando sérios prejuízos à produção de laranja. O objetivo foi determinar a distribuição espacial e temporal da leprose em pomares cítricos sob aplicações de acaricidas para controle do ácaro-vetor *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939). Os experimentos foram conduzidos de março de 2013 a dezembro de 2014 em dois pomares cítricos, localizados no município de Taquaral-SP, Brasil. O primeiro pomar apresentava no início do experimento 594 plantas de laranja em uma área de 17.374,5 m². O segundo pomar apresentava inicialmente de 2.686 plantas de laranja em uma área de 38.610 m². Foram realizadas três avaliações de severidade da leprose em cada um dos pomares selecionados para instalação dos experimentos. No primeiro pomar, as avaliações foram realizadas em março e setembro de 2013 e janeiro de 2014, enquanto que no segundo pomar foram realizadas em julho de 2013, agosto e dezembro de 2014. Foram aplicados acaricidas com pulverizador tratorizado de jato transportado nos dois pomares após constatação do nível de controle após a amostragem do ácaro. Nos dois pomares, houve coletas de ácaros para confirmação da espécie e de material vegetal infectado com leprose para determinação do vírus presente. Somente no primeiro pomar o número de ácaros coletados foi suficiente para constatação do vírus no vetor empregando testes de RT-PCR. A leprose no início das infecções não apresentou distribuição normal e padrão agregado. As aplicações de acaricidas não foram suficientes para conter a disseminação da leprose nos dois pomares avaliados. As amostras de ácaros positivas para CiLV-C foram encontradas predominantemente próximos aos focos de leprose, indicando a dependência entre ácaros virulíferos e as plantas sintomáticas. No início das infecções, a leprose-dos-citros apresenta padrão agregado e as aplicações dos acaricidas spirodiclofen e óxido de fembutatina para o controle do ácaro *B. phoenicis* não foram suficientes para evitar ou reduzir o crescimento da disseminação da leprose-dos-citros nos talhões. E o uso intensivo de equipamentos de pulverização podem contribuir na dispersão de ácaros *B. phoenicis* virulíferos nas linhas e entrelinhas de plantio, aumentando a disseminação da leprose.

Palavras-chave: *Brevipalpus phoenicis*, CiLV, Acaricidas, Mapas de variabilidade e Geoestatística.

SPATIAL AND TEMPORAL DISTRIBUTION OF *Brevipalpus phoenicis* (ACARI: TENUIPALPIDAE) VIRULIFEROUS AND LEPROSIS-IN-CITRUS ORCHARDS WITH CHEMICAL CONTROL

ABSTRACT – Citrus leprosis is one of the most severe diseases of Brazilian citrus, resulting in serious losses on the production. The purpose was to determine the spatial and temporal distribution of leprosis in citrus orchards under miticide sprays for controlling the mite vector *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939). The trials were conducted from March 2013 to December 2014 in two citrus orchards, located in the municipality of Taquaral – SP, Brazil. The first orchard presented initially 594 citrus plants in an area of 17.374,5 m². The second orchard presented initially 2,686 citrus plants in an area of 38.610 m². Were carried out three evaluations of leprosis severity on each of the selected orchards for the experiments installation. In the first orchard the evaluations were conducted in March and September 2013 and January 2014, whilst in the second orchard occurred in July 2013, August and December 2014. Miticides were sprayed using an airblast field sprayer in both the orchards after noticed the level of control according to the traditional mite sampling. In the two orchards there were mite collections for confirming the species and vegetal material infected with leprosis in order to determine the presence of virus. Only in the first orchard the number of collected mites was enough to ascertain the virus inside the vector by applying RT-PCR tests. The leprosis in the beginning of infections does not present normal distribution and presents aggregate pattern. The sprays of miticides on the basis of traditional mite samplings were not enough to contain the leprosis dissemination in both assessed orchards. The mite samplings positive for CiLV-C were found predominantly closer to the leprosis focus, referring to a dependence between virulent mite and symptomatic plants. At the beginning of infections, leprosis-of-citrus presents aggregate pattern and applications of miticides spiroticlofen and fenbutatina oxide for the control of *B. phoenicis* were not sufficient to prevent or reduce the growth of the spread of leprosis-in-citrus in plots. And the intensive spraying equipment can contribute to the spread of mites *B. phoenicis* viruliferous lines and planting lines, increasing the spread of leprosis.

Keywords: *Brevipalpus phoenicis*, CiLV, Miticides, Maps of spatial variability and Geostatistics.

1. INTRODUÇÃO

A leprose-dos-citros é uma das doenças mais graves da citricultura, acarretando sérios prejuízos à produção de citros, especialmente no Brasil, principal produtor mundial (KITAJIMA et al., 2010; GARITA et al., 2013). Duas formas do vírus da leprose são conhecidas, o CiLV-C (*Citrus leprosis virus* – tipo citoplasmático) e o CiLV-N (*Citrus leprosis virus* – tipo nuclear) (KITAJIMA et al., 1974; COLARICCIO et al., 1995; BASTIANEL et al., 2010). Contudo, o CiLV-C prevalece na maior parte dos casos (NUNES et al., 2012). Freitas-Astúa et al. (2005) demonstraram que as duas formas de CiLV não compartilham sequências genômicas, sendo provavelmente vírus geneticamente distintos.

O vírus CiLV é transmitido somente por algumas espécies de ácaros do gênero *Brevipalpus* contaminados. O CiLV se caracteriza pelos sintomas em folhas com lesões circulares de diâmetro de 2 a 3 mm, cloróticos e necróticos, e desfolha intensa. Nos frutos as lesões são circulares e localizadas com halos cloróticos e necróticos de diâmetro de 5 a 12 mm, e a presença de rachaduras no centro das lesões. Nos ramos as lesões são circulares com presença de descamações e rachaduras (NOVELLI et al., 2005; GARITA et al., 2013).

A leprose-dos-citros por ser uma doença cujo agente causal é um vírus de caráter supostamente não-sistêmico, a presença do ácaro-vetor e a existência de plantas sintomáticas são condições obrigatórias para disseminação da doença nos pomares (RODRIGUES et al., 2003). Em 2005, foi confirmado a não transmissão transovariana do CiLV-C em *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) por RT-PCR (NOVELLI et al., 2005). Até o momento, o ácaro *B. phoenicis* é considerado o único vetor da leprose no Brasil. Atualmente, a identificação de ácaros *Brevipalpus* está sendo revista, não sendo possível neste momento determinar a espécie somente pela análise de caracteres morfológicos, devido a ocorrência de espécies crípticas (NAVIA et al., 2013). De acordo com Navia et al. (2013) e Tassi (2014), para uma correta identificação dos ácaros *Brevipalpus* torna-se necessário a integração de identificação de características morfológicas e moleculares.

Para o Brasil, o custo de controle da leprose está estimado entre 75 e 80 milhões de dólares/ano (BASTIANEL et al., 2010). A maior parte deste montante é

usado na aquisição de acaricidas, pois, é uma das táticas utilizadas para evitar a ocorrência e disseminação da leprose é o controlando do ácaro-vetor (CÁCERES et al., 2013).

O inóculo da leprose acumula-se de ano para ano, especialmente em ramos, todavia sua incidência não é correlacionada com a presença de ácaros na planta (CZERMAINSKI et al., 2007). Dessa forma, é preconizado que a tomada de decisão para controle não considere somente a presença do ácaro-vetor na área, mas, também a presença de sintomas da doença (FRANCISCON et al., 2008; BASSANEZI; LARANJEIRA, 2007). Além da presença do ácaro-vetor e dos sintomas da leprose, a quantificação da frequência de ácaros virulíferos poderá contribuir para o aprimoramento das técnicas de amostragem do ácaro e das melhorias no manejo da leprose. Nos últimos anos, foram desenvolvidos testes moleculares como o RT-PCR e qRT-PCR que possibilitaram a identificação do CiLV nos tecidos internos do ácaro, ampliando as possibilidades de estudo e de manejo do ácaro em campo.

A dinâmica temporal de populações de ácaros *Brevipalpus* e da leprose foi estudada por alguns autores, entretanto, estes trabalhos avaliaram o crescimento da incidência da leprose em áreas sem aplicações de acaricidas (BASSANEZI; LARANJEIRA, 2007; CZERMAINSKI et al., 2007; FRANCISCON et al., 2008). Contudo, os acaricidas podem afetar os padrões de distribuição da leprose em um pomar, devido ao efeito direto sobre o ácaro-vetor, ou atuando na dispersão de ácaros virulíferos, devido ação dos ventos produzidos pelos equipamentos de aplicação. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi determinar a distribuição espacial e temporal de ácaros *B. phoenicis* virulíferos e da leprose-dos-citros em pomares com controle químico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produção de citros no Brasil

Na safra de 2013/2014, a produção do Cinturão Citrícola do Estado de São Paulo e Triângulo Mineiro, foi de 289,9 milhões de caixas de 40,8 kg de laranja. Uma parte deste montante, quase 50 milhões de caixas, foram destinados ao mercado *in*

natura e para exportação. E a outra parte, totalizando 240 milhões de caixas, foram destinados para a indústria de processamento de sucos concentrado congelado. Estimativas demonstraram que na safra de 2014/2015 possa haver um aumento na produção de laranja de 6,5%, podendo produzir em torno de 308,8 milhões de caixas 40,8 kg (CITRUSBR, 2014).

A citricultura brasileira é constituída por diversos pequenos produtores, embora, quase a metade da produção está concentrada nas grandes propriedades pertencentes às indústrias que investem em pomares próprios, resultando na concentração econômica do segmento (BOTEON; NEVES, 2005). Entretanto, a área plantada de citros no Brasil tem diminuído significativamente nos últimos anos, em especial no estado de São Paulo que é o principal produtor nacional. Nesta safra de 2014/2015, estima-se queda de 2,6% de plantas produtivas, passando de 157,0 milhões de plantas para 152,9 milhões (CITRUSBR, 2014).

A região sudeste brasileira é a principal produtora de suco de laranja, com aproximadamente 85% da produção nacional de laranjas (AGRIANUAL, 2014). As exportações do suco de laranja concentrado e congelado brasileiro sustentam a produção de matéria-prima e de comercialização do produto, que acaba tendo efeitos diretos e indiretos na geração de empregos, na receita pública e na aceleração de outras atividades econômicas (BOTEON; PAGLIUCA, 2010).

Os principais fatores que contribuem atualmente para redução da área plantada e da rentabilidade da citricultura brasileira referem-se ao aumento dos custos de produção da mão de obra, a limitação do aumento de produtividade devido à maior incidência de pragas e doenças, bem como a elevação de oportunidades de empreendimentos em outras culturas, como, por exemplo na cana-de-açúcar e no eucalipto (BOTEON; PAGLIUCA, 2010).

2.2 A leprose-dos-citros

A leprose foi relatada pela primeira vez em 1907 por Fawcett, Flórida, EUA, sendo denominada de “scaly bark”. A doença nos EUA foi controlada, e em meados dos anos 50 foi erradicada, isso graças às condições climáticas adversas e aos rigorosos tratos culturais aplicados, os quais contaram, principalmente com

sucessivas aplicações de enxofre para controle do ácaro-vetor, que segundo Knorr (1968), tratava-se de *Brevipalpus californicus* (Banks, 1904) (CHILDERS; RODRIGUES; WELBOURN, 2003).

Na América do Sul, os primeiros relatos da doença começaram a surgir na década de 20, com a denominação de “lepra explosiva”, que afetava plantas de laranja no Paraguai, já na década de 30 a doença “lepra explosiva” surgiu em Misiones, na Argentina e Uruguai (BASTIANEL et al., 2010). No Brasil, o primeiro relato da doença foi na década de 30 por Bitancourt, que a constatou em laranja-doce da variedade Navel [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] em pomar localizado no município de Sorocaba-SP, denominando-a de leprose-dos-citros (BASTIANEL et al., 2010). Na década de 30, por meio de comparações fotográficas dos sintomas de “scaly bark”, “lepra explosiva” e de leprose-dos-citros, Fawcett e Knorr concluíram que se tratava da mesma doença (BASTIANEL et al., 2010).

A leprose-dos-citros é uma das doenças virais mais graves da citricultura na América do Sul e Central (BASTIANEL et al., 2010; KITAJIMA et al., 2011). Duas formas do vírus da leprose são conhecidas, o CiLV-C (*Citrus leprosis virus* – tipo citoplasmático) que se encontra no citoplasma das células e o CiLV-N (*Citrus leprosis virus* – tipo nuclear) que se encontra no núcleo celular, contudo, o CiLV-C prevalece na maior parte dos casos encontrados em pomares cítricos (NUNES et al., 2012).

Freitas-Astúa et al. (2005) demonstraram que as duas formas de CiLV não compartilham sequências genômicas, sendo provavelmente vírus geneticamente distintos. Locali-Fabris et al. (2006) e Pascon et al. (2006) completaram o sequenciamento do genoma do CiLV-C e verificaram que o CiLV-C, até então considerado como um membro tentativo da família Rhabdoviridae, deve ser considerado como um membro-tipo de um novo gênero de vírus, denominado *Cilevirus*. O CiLV-C é considerado endêmico nos pomares citrícolas do Brasil, sendo transmitido por alguns ácaros do gênero *Brevipalpus* (Acari: Tenuipalpidae) (NAVIA et al., 2013). O CiLV já foi encontrado na Argentina, Paraguai, Bolívia, Venezuela e Colômbia, e está se disseminando na direção norte do continente americano, pela Colômbia, Panamá, Costa Rica, Nicarágua, Guatemala, Honduras, El Salvador e

México (GOMÉS et al., 2005; LEON et al., 2006; BASTIANEL et al., 2010; IZQUIERDO-CASTILLO et al., 2011; CÁCERES et al., 2013).

Por ser uma doença cujo agente causal é um vírus de caráter não-sistêmico, a presença do ácaro-vetor e a existência de plantas doentes no pomar são condições fundamentais para a disseminação da doença na planta ou entre plantas (KITAJIMA et al., 1972; RODRIGUES et al., 2003; KITAJIMA et al., 2010). Para o Brasil, principal produtor mundial de citros o custo de controle da leprose está estimado entre 75 e 80 milhões de dólares/ano (BASTIANEL et al., 2010). A maior parte deste montante é usado na aquisição de acaricidas, pois a única forma de evitar a ocorrência da leprose é combatendo o vetor.

A leprose é mais incidente nas laranjas-doces (*C. sinensis*), laranjas-azedas (*Citrus aurantium* L.) e pomelos (*Citrus paradisi* Macfayden) e outras espécies cítricas, como mandarins (*Citrus reshni* Hort. Ex Tanaka, *Citrus deliciosa* Tenore, *Citrus reticulata* Blanco). Híbridos como tangor 'Murcott' são muito pouco suscetíveis, enquanto que, lima da 'Pérsia' (*Citrus aurantifolia* L.), limões verdadeiros (*Citrus limon* L.), limas ácidas (*C. aurantifolia*), limas doces (*Citrus limettioides* Tanaka, *Citrus medica* L.) são praticamente resistentes à doença (BITANCOURT, 1955; ROESSING; SALIBE, 1967; RODRIGUES, 1995; BASSANEZI; SPÓSITO; YAMAMOTO, 2002; BASTIANEL et al., 2006; FREITAS-ASTÚA et al., 2008).

As plantas afetadas pela leprose reduzem a capacidade fotossintética pela acentuada desfolha ocasionada pela doença e secas dos ramos. Quando há incidência severa da doença, o pomar pode tornar-se economicamente inviável, pois ocorre intensa queda de frutos e conseqüentemente redução da produtividade. Caso a doença não seja controlada adequadamente pode ocorrer morte de plantas (MÜLLER et al., 2005; ANDRADE et al., 2013; GARITA et al., 2013). O patossistema leprose é complexo, devido à multiplicidade de fatores envolvidos, bem como a complexidade das interações existentes (vetor, vírus, planta hospedeira e os fatores ambientais) e também as dificuldades de manejo, que exigem conhecimentos específicos (BASSANEZI, 2001; BASSANEZI; LARANJEIRA, 2007; GARITA et al., 2014).

2.3 Ácaros *Brevipalpus* spp. associados a leprose

O gênero *Brevipalpus* inclui mais de 200 espécies no mundo (MESA et al., 2009), sendo que a espécie *B. phoenicis* é considerada a de maior importância para a agricultura, por ser responsável pela transmissão de 25 tipos de vírus diferentes e transmitir viroses em diversas plantas cítricas, café, maracujá, hibiscos e mais de 40 espécies de plantas infestantes hospedeiras que estão presentes em pomares cítricos (WELBOURN et al., 2003; KRANTZ; WALTER, 2009; SALAZAR, 2013).

Os ácaros do gênero *Brevipalpus* são polípagos, podendo ser encontrados em várias plantas, inclusive em plantas infestantes comuns em pomares de citros (TRINDADE; CHIAVEGATO, 1994), existindo assim a possibilidade de essas plantas servirem de refúgio para o ácaro. São cosmopolitas, sendo relatados em todos os continentes, com exceção das regiões Ártica e Antártica. Apresentam registros de aproximadamente 456 hospedeiros, o que comprova seu alto grau de adaptação, tornando-os de difícil controle (CHILDERS; RODRIGUES; WELBOURN, 2003). Algumas espécies de *Brevipalpus* são consideradas eficientes na transmissão de vírus para as plantas, e já foram listados 25 vírus associados a *Brevipalpus* spp. no Brasil (KITAJIMA et al., 2003)

Os ácaros *B. phoenicis* podem ser distinguido morfológicamente das demais espécies de ácaros pela quetotaxia dorsal opistosomal, apresentando cinco pares de setas dorsolaterais e um par de setas humerais. Além dessas características, as fêmeas da espécie *B. phoenicis* possui duas setas em forma de bastonetes denominadas de solenídeos no tarso II (WELBORN et al., 2003). Entretanto, atualmente a taxonomia de alguns ácaros *Brevipalpus* associados a leprose está sendo revista devido a ocorrência de espécies crípticas (NAVIA et al., 2013). De acordo com Tassi (2014), o ácaro *B. phoenicis* apresenta variações morfológicas diferenciando em sete grupos de espécies crípticas. Para uma correta identificação destes grupos de espécies crípticas e de outros ácaros do gênero *Brevipalpus* torna-se necessário, agora, a integração de características morfológicas e uso de técnicas moleculares (NAVIA et al., 2013).

O ciclo biológico dessas espécies identificadas como *B. phoenicis* é composto por quatro estágios ativos (larva, protoninfa, deutoninfa e adulto) e quatro imóveis (ovo, protocrisálida, deutocrisálida e telocrisálida). Os estágios imóveis são

fisiologicamente ativos e ocorrem entre os estágios ativos (RODRIGUES et al., 2003). O ciclo completo sobre frutos de citros é de 14,4 dias a 30°C e de 17,6 dias quando criados sobre folhas (CHIAVEGATO, 1986). Novelli et al. (2005) confirmaram que não ocorre transmissão transovariana do CiLV-C, pois utilizando a técnica de RT-PCR conseguiram detectar o vírus da leprose em todas as fases de desenvolvimento do ácaro *B. phoenicis*, exceto em ovos.

2.4 Manejo e distribuição espacial da leprose

O controle da leprose nos pomares brasileiros por meio de aplicações de acaricidas para redução da população do ácaro-vetor tem sido a principal e praticamente a única tática de manejo da leprose (BASSANEZI, 2001; BASTIANEL et al., 2010). Contudo, o uso isolado de aplicações de acaricidas não tem sido suficiente para conter a disseminação da leprose (RODRIGUES, 2002; ANDRADE et al., 2013).

A epidemiologia da leprose em pomar sem controle químico indica que a velocidade de aumento da doença é proporcional a quantidade de tecido lesionado e a quantidade de tecido sadio disponível (RODRIGUES et al. 2001). Assim, em face das peculiaridades do CiLV, a redução da quantidade de inóculo é fundamental e recomendada por vários autores (MOREIRA, 1941; BITANCOURT, 1955; OLIVEIRA, 1986; ROSSETTI, 1995; BARRETO; PAVAN, 1995; BASSANEZI, 2004; PATTARO, 2006, ANDRADE et al., 2013).

Por outro lado, outras medidas recomendadas são preconizadas, como; plantar mudas isentas do ácaro, desinfestar veículos e caixas de coleta (ROSSETTI et al., 1997), eliminar plantas daninhas hospedeiras do ácaro (TRINDADE; CHIAVEGATO, 1994; CATI, 1997; MAIA; OLIVEIRA, 2004), empregar práticas que favoreçam a população de inimigos naturais (YAMAMOTO et al., 1992), evitar o uso de roçadoras ou grades no período de estiagem (OLIVEIRA; PATTARO, 2004), utilizar cobertura verde com espécies menos favoráveis ao ácaro (GRAVENA; COLETTI; YAMAMOTO, 1992), utilizar quebra-ventos (FEICHTENBERGER, 2000) e cercas-vivas desfavoráveis ao acarino (NUNES, 2004; NUNES, 2007), utilizar

produtos seletivos aos inimigos naturais do ácaro e com diferentes mecanismos de ação (OMOTO, 2005).

Para reduzir fontes de inóculo do vírus recomenda-se eliminar plantas infestantes, cercas-vivas e quebra-ventos hospedeiros do vírus (MAIA; OLIVEIRA, 2005; NUNES, 2004), plantio de mudas sadias (OLIVEIRA, 2004), coleta de frutos com sintomas e caídos no chão após a colheita (BUSOLI, 1995), e realizar o quanto antes a colheita (OLIVEIRA, 1986).

Chiavegato (1995) ressaltou que a importância da leprose no Brasil não pode ser avaliada somente em razão da sua ocorrência generalizada e aos sérios prejuízos que causa, mas também, pelas dificuldades de manejo, que exigem conhecimentos específicos sobre as relações entre vetor, vírus, plantas hospedeiras e fatores ambientais.

A dinâmica temporal de populações de ácaros *Brevipalpus* e da leprose foi estudada por alguns autores, entretanto, estes trabalhos avaliaram o crescimento da incidência da leprose em áreas sem aplicações de acaricidas (BASSANEZI; LARANJEIRA, 2007; CZERMAINSKI et al., 2007; FRANCISCON et al., 2008). Czermainski et al. (2007) verificaram que a leprose comporta-se com acúmulo de inóculo de ano para ano, especialmente em ramos. Dessa forma, estes resultados sugerem que tomada de decisão para uso de acaricidas com base em amostragens não deve levar em consideração somente a presença do ácaro-vetor na área, mas também, a presença de sintomas da doença (FRANCISCON et al., 2008; BASSANEZI; LARANJEIRA, 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Áreas experimentais

Os trabalhos foram desenvolvidos de março de 2013 a dezembro de 2014 em pomares cítricos localizados no município de Taquaral, São Paulo, Brasil. O clima da região segundo a classificação de Köppen (1948) é do tipo Aw, com verão quente e úmido e inverno com estação seca. A precipitação pluvial média anual é de 1.629 mm, concentrada no período de setembro a março. A temperatura média anual é de

23 °C. Nestes pomares foram selecionados dois talhões com incidência de leprose para instalação dos experimentos.

3.2 Características dos talhões selecionados

3.2.1 Talhão 01

As coordenadas geográficas desse talhão são: 21°04'04.24" latitude sul e 48°24'47.77" longitude oeste e altitude de 643 m, constando no início do experimento de 594 plantas de laranja 'Pera' (*C. sinensis*) enxertadas sobre limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*) com espaçamento de 6,5 x 4,5 metros e com 14 anos de idade. O talhão apresentava uma área total de 17.374,5 m² e encontrava-se margeado ao norte por cultura de soja [*Glycine max* (L.) Merrill], ao sul por solo descoberto, ao leste por pomar cítrico convencional e a oeste por estrada de terra e pastagem. Este talhão vinha sendo tratado com produtos fitossanitários comumente utilizados no controle de pragas, doenças e plantas infestantes de pomares cítricos (Apêndice 1). Após a seleção deste talhão, o experimento foi instalado em março de 2013 e todas as plantas foram georreferenciadas.

3.2.2 Talhão 02

Talhão com coordenadas geográficas de 21°02'39.6" latitude sul e 48°23'54.2" longitude oeste, constando inicialmente de 2.686 plantas de laranja Valência (*C. sinensis*) enxertadas sobre limoeiro 'Volkamericano' (*Citrus volkamericano* Tem & Pasq.), com espaçamento de 6,0 x 2,5 metros e com 4 anos de idade. O talhão selecionado possuía área total de 38.610 m² e encontrava-se margeado ao norte e ao sul por cerca-viva *Syzygium jambolanum* (Lam.), ao leste por cultura de cana-de-açúcar *Saccharum officinarum* L. e a oeste por pomar cítrico convencional. O histórico das aplicações de produtos fitossanitários nesta área pode ser encontrado no Apêndice 2. Após a seleção deste talhão todas as plantas foram georreferenciadas e o experimento foi instalado em julho de 2013.

3.3 Incidência e severidade da leprose

As avaliações de incidência e de severidade da leprose no Talhão 01 foram realizadas em março e setembro de 2013 e em janeiro de 2014, e no Talhão 02 foram realizadas em julho de 2013 e em, agosto e dezembro de 2014. A severidade da leprose foi quantificada para todas as plantas da área experimental utilizando-se de escala visual de notas que varia de 0 a 5, proposta por Rodrigues (2000), onde (0) representa ausência de lesões; (1) poucas lesões em qualquer órgão, restritas a um setor da planta; (2) lesões em mais de um órgão e/ou distribuídas em mais de um setor; (3) lesões abundantes em todos os órgãos e bem distribuídas pela planta; (4) lesões abundantes (toda planta) e queda de folhas e/ou frutos e (5) lesões abundantes (toda planta) e queda de folhas e/ou frutos, mais seca e morte de ramos. Para verificar a distribuição da leprose na área, foi utilizado o teste de normalidade de Anderson-Darling, com auxílio do software Minitab®. Em seguida, foram gerados mapas de distribuição da leprose com auxílio do software Surfer®.

3.4 Confirmação do vírus CiLV-C

Nas áreas experimentais foram coletados dez amostras de frutos, dez de ramos de 30 cm e dez folhas, todas as amostras com sintomas de leprose foram encaminhados ao Laboratório do Núcleo de Apoio à Pesquisa – Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP-MEPA), da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" ESALQ/USP Piracicaba/SP, para confirmação do vírus presente. Tecido vegetal de folhas, frutos e ramos com lesões de leprose foram colocadas em solução Karnovsky modificada (Formaldeído 2%, Glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato 0,05M pH7,2) por 1 hora. Em seguida, pós-fixados em OsO₄ 1% mais tampão cacodilato 0,1M por 1 hora. Feito isto, realizou-se o contraste de *enbloc* em acetato de uranila 0,5% durante aproximadamente 12 horas. Após este período, as amostras foram desidratadas em acetona 30, 50, 70, 90, 100, 100 e 100% por 15 minutos cada etapa.

Em seguida, foi feito a infiltração em solução de acetona mais Spurr (1:1) por 6 horas e na sequência infiltrou-se novamente em resina Spurr pura por 24 horas. As amostras foram levadas para estufa em temperatura de 65°C por 72 horas para

polimerização. Os blocos foram seccionados em ultramicrotomo LEICA UCT equipado com uma navalha de diamante. As secções dos cortes foram montados em um retículo de cobre de 100 mesh coberto com uma película plástica Formvar e constratadas em acetato de uranila e citrato de chumbo, para em seguida serem examinadas sob microscópio eletrônico de transmissão (MET) JEOL JEM – 1011.

3.5 Coleta dos ácaros

As coletas de dez frutos e dois ramos de 30 cm cada para a retirada de ácaros *Brevipalpus*, iniciaram-se após os cálculos de *alcance* entre as demarcações das plantas de coleta. No Talhão 1 foram demarcadas 40 plantas distribuídas uniformemente no talhão, cada planta demarcada obteve um *alcance* de 27 metros por planta na mesma linha e 6,5 metros por plantas entre linhas. No talhão 2, as coletas de frutos foram realizadas em 98 plantas distribuídas uniformemente, em dois focos de 225 plantas avaliadas, totalizando 49 plantas coletadas para cada foco. Em cada avaliação coletaram-se 10 frutos e 2 ramos de 30 cm por planta. Estes materiais vegetativos foram colocados em sacos de papel e encaminhados ao Laboratório de Acarologia pertencente ao Departamento de Fitossanidade da Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP/FCAV) para a retirada dos ácaros, com auxílio de máquina de varredura (OLIVEIRA, 1983). As coletas de frutos para retirada de ácaros foram realizadas mensalmente.

Espécimes dos ácaros coletados nos dois talhões foram colocados em tubos eppendorf de 2 µL em grupos de no mínimo cinco indivíduos e enviados ao Centro de Citricultura Sylvio Moreira, de Cordeirópolis-SP (IAC-APTA) para detecção de CiLV-C por RT-PCR. A infectividade para CiLV-C, bem como a concentração viral adquirida pelos ácaros, foi realizada por RT-PCR, utilizando-se de primers específicos para o vírus (LOCALI et al., 2003). Na amplificação deste fragmento específico, o RNA total dos ácaros foi extraído de acordo com protocolo modificado de Gibbs e Mackenzie (1997). A reação RT-PCR foi composta de tampão 10x, MgCL₂ (50 mM), DNTPs (2,5 mM), primers forward e reverse (10 pmol), Taq-DNA polimerase (1u) (Invitrogen), 5 µl de cDNA e água estéril, completando o volume final

de 25 µl. As condições de amplificação foram de 3 minutos a 94°C, 30 ciclos de 30 s a 94°C, 30 s a 56°C e 40 s a 72°C, com extensão final de 5 minutos por 72°C. A visualização dos produtos amplificados e a confirmação da aquisição do CiLV foram feitas em gel de agarose a 1% (TAE 1x – brometo etídio 0,5%), sob luz UV (KUBO et al., 2011).

3.6 Identificação dos ácaros *Brevipalpus* coletados

Alguns espécimes de *Brevipalpus* coletados nas áreas experimentais foram encaminhados ao Laboratório NAP-MEPA, ESALQ/USP para identificação. No laboratório, os ácaros foram fixados em solução de glutaraldeído a 3%, em tampão de fosfato de potássio a 0,1 M e pH 7,2, por 24 horas.

Em seguida, o material foi colocado em pequenos tubos com uma malha muito fina nas extremidades e lavado em solução-tampão pura, para retirada do excesso de fixador. Posteriormente, o material foi pós-fixado em tetróxido de ósmio a 2%, por quatro horas, e depois lavado na mesma solução-tampão citada anteriormente. Na sequência, foi procedida a desidratação do material em álcool etílico e recobrimento com partículas de ouro (35 nm). Após essas etapas, o material foi preparado sob microscópio estereoscópico, e em seguida foi elétron-micrografado em microscópio eletrônico de varredura (MEV) PHENOM – World BV.

3.7 Aplicações dos acaricidas

Em 07/06/2013, após as coletas iniciais de ácaros, foi realizada uma aplicação do acaricida spiroticlofen (Envidor®) em toda a área do Talhão 01. No Talhão 02, foram realizadas duas aplicações de acaricidas, sendo uma no dia 22/10/2013 utilizando o produto óxido de fembutatina (Torque 500 SC®) e a outra no dia 17/04/2014 com o produto spiroticlofen. Utilizou-se nas aplicações as dosagens recomendadas para o ácaro-da-leprose em citros, sendo spiroticlofen a 20 mL p.c./100 L de água e de óxido de fembutatina a 40 mL p.c./100 L de água, até além do ponto de escoamento, suficiente para proporcionar completa cobertura das

plantas. O equipamento utilizado nas aplicações foi um pulverizador tratorizado de jato transportado - Jacto®, modelo Arbus 4.000 Tower.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Confirmação do vírus CiLV e do ácaro *Brevipalpus* spp.

A presença do CiLV nas amostras de material vegetal coletado nas áreas experimentais foi confirmada após o preparo e exame ao MET. Partículas virais do CiLV - tipo citoplasmático baciliformes dotadas de membrana, contidas no lúmen do retículo endoplasmático, e viroplasma denso no citoplasma foram encontrados no tecido vegetal contendo os sintomas de leprose (KITAJIMA et al., 1972; COLARICCIO et al., 1995) (Figura 1A).

A análise das setas (quetotaxia) presentes no opistossoma, propodossoma e pernas dos ácaros *Brevipalpus* coletados indicou tratar-se de *B. phoenicis* (Figura 1B). Esta espécie segundo Welbourn et al. (2003) possui um par de setas humerais, cinco pares de setas dorsolaterais e as fêmeas possuem duas setas solenideas (omega) no tarso dois. Entretanto, a determinação da espécie de *Brevipalpus* somente pela análise das setas (quetotaxia) está sendo revista, devido a possibilidade de ocorrências de espécies crípticas (NAVIA et al., 2013).

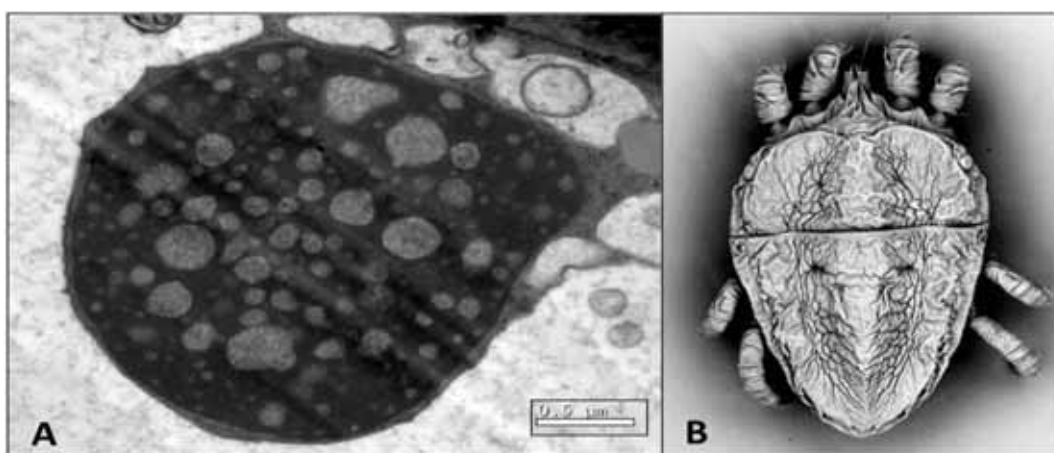


Figura 1. Eletromicrografias de transmissão e de varredura. (A) Corte transversal de lesões de leprose-dos-citros em frutos de laranja, indicando a presença de viroplasma do vírus CiLV-C. (B) Espécime de ácaro *Brevipalpus phoenicis* coletado na área experimental (aumento de 660x).

4.2 Distribuição espacial e temporal da leprose-dos-citros

4.2.1 Resultados para o Talhão 01

Na primeira avaliação realizada em março de 2013, portanto, antes da aplicação do acaricida, detectaram-se 140 plantas com sintomas de leprose e 365 sem sintomas da doença (Tabela 1). Dentre as plantas com leprose, 7 receberam nota 4; 14 nota 3; 47 nota 2, e 72 nota 1. Após a segunda avaliação de incidência e severidade da leprose, realizada em setembro de 2013, pode-se observar que a leprose se disseminou consideravelmente neste talhão, mesmo após a aplicação de acaricida para combate ao ácaro-vetor. Em setembro de 2013, constatou-se que 47,2% da área apresentava plantas com sintomas de leprose (Tabela 1). Na terceira avaliação realizada (janeiro de 2014) observou-se que a leprose não estava presente apenas em 22,0% da área (Tabela 1).

O nível populacional do ácaro-vetor da leprose-dos-citros antes da aplicação do spirodiclofen, apresentou-se baixa ao longo dos primeiros meses de avaliação. Encontrando 80 ácaros *B. phoenicis* distribuídas em 8 larvas, 17 protoninfas, 10 deutoninfas, 45 adultos e 67 ovos durante três meses de avaliação antes da aplicação. Após a aplicação do spirodiclofen no Talhão 01, não encontrou-se mais, a presença de ácaros-vetores da leprose-dos-citros nas coletas de amostragem.

Os resultados indicaram que a aplicação de acaricida não foi suficiente para contenção da leprose-dos-citros na área experimental. O progresso da doença foi intenso durante a realização do experimento. Ficou claro que o controle da leprose pautada somente na amostragem do ácaro-vetor e aplicações de acaricidas pode acarretar em falhas de manejo. Na área experimental, antes do início do experimento, o manejo da leprose era realizado com a amostragem do ácaro seguindo recomendações da Cati (1997), e atingindo o nível de controle procedia-se a aplicação de algum acaricida. Diversos fatores podem estar relacionados ao aumento da leprose na área, mesmo após a aplicação de acaricidas, entre estes destacam-se os erros na amostragem (LOPES et al. 2007; PINTO et al. 1995; GASPARINO, 2013), o período de incubação do CiLV (COLARICCIO et al. 1995; RODRIGUES, 1995, CZERMAINSKI et al., 2007), a falta de conhecimentos sobre as

relações entre infestação e infecção (MARQUES et al., 2007; GARITA et al., 2014), entre outros fatores.

Tabela 1. Resultados de número de plantas, áreas (m²) e porcentagem de plantas cítricas com e sem sintomas da leprose-dos-citros em talhão de laranjeira (Talhão 01).

Notas de leprose	Avaliações								
	1 ^a			2 ^a			3 ^a		
	março de 2013			setembro de 2013			janeiro de 2014		
	Plantas	Área (m ²)	%	Plantas	Área (m ²)	%	Plantas	Área m ²	%
0	365	10.676,3	61,4	223	6.522,7	37,5	130	3.802,5	22,0
1	72	2.106,0	12,1	77	2.252,3	13,0	107	3.129,7	18,0
2	47	1.374,7	7,9	87	2.544,7	14,6	131	3.831,7	22,0
3	14	409,5	2,4	73	2.135,3	12,3	84	2.457,0	14,1
4	7	204,7	1,2	41	1.199,5	7,0	37	1.082,3	6,2
5	0	0,0	0,0	2	58,5	0,3	8	234,0	1,4
Plantas arrancadas	89	2.603,3	15	91	2.661,5	15,3	97	2.837,3	16,3

Área total da área: 17.374,5 m²

O teste de normalidade de Anderson-Darling referente a incidência da leprose nas avaliações demonstrou que a doença não apresentou distribuição normal (p.Value < 0,005). Os dados apresentaram leve assimetria, como indicado pelos coeficientes de Skewness e Kurtosis (Figura 2A, B, C). Se os dados apresentassem distribuição normal, esses coeficientes deveriam ter valores entre 0 e 1. Dessa forma, estes resultados indicaram que a leprose ocorreu inicialmente de maneira agregada. Na primeira avaliação, os focos de leprose estavam bastante visíveis, indicando o padrão agregado da leprose. Contudo, na segunda avaliação houve diminuição deste padrão agregado devido a maior disseminação da leprose na área. Na terceira avaliação já não foi mais possível definir com clareza os focos de leprose, devido à alta disseminação da doença nesta área. Neste momento, a incidência da leprose apresentava-se homogênea na área experimental.

Após a geração de mapas de variabilidade foi possível visualizar e confirmar que a leprose ocorreu inicialmente de forma agregada. As áreas demarcadas no mapa indicam os locais onde foram encontrados focos de leprose, nos quais a região central evidência as plantas com maior severidade de leprose (Figura 3A). Os setores verdes representam áreas isentas de leprose. A modelagem variográfica indicou variação exponencial dos dados, assim as notas de leprose variaram suavemente e a curtas distâncias. Portanto, não se observou plantas que receberam notas 5 ou 4, próximas a muitas plantas isentas de leprose.

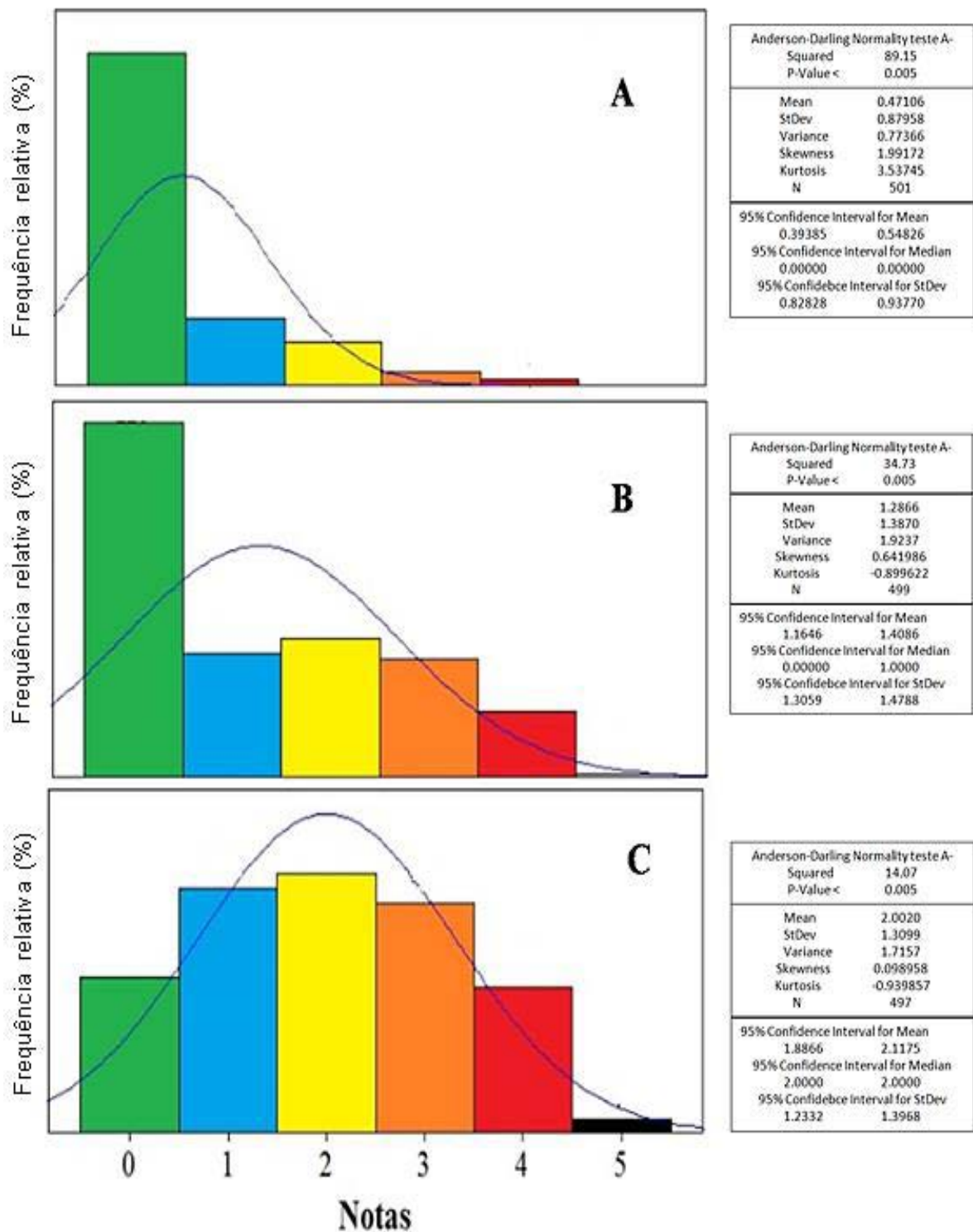


Figura 2. Histogramas de distribuição das notas de severidade de leprose-dos-citros no Talhão 01, obtidas na (A) primeira avaliação em março de 2013, (B) segunda avaliação em setembro de 2013 e (C) terceira avaliação em janeiro de 2014.

Por outro lado, a distribuição inicial agregada do CiLV-C foi constatada, resultados estes que corroboraram aos obtidos por outros autores (BASSANEZI; LARANJEIRA, 2007; CZERMAINSKI et al., 2007; FRANCISCON et al., 2008). Como o vírus não transloca nos vasos condutores de seiva (MARQUES et al., 2007) e não é transmitido por material propagativo infectado, a população de ácaros virulíferos desempenha papel fundamental na disseminação da leprose em um pomar cítrico (RODRIGUES et al., 2003).

Dessa forma, os resultados também confirmaram a alta dependência entre plantas sintomáticas em relação a outras plantas doentes. Na primeira avaliação, pode-se verificar que as plantas com notas altas de severidade da leprose sempre foram encontradas rodeadas por muitas plantas com sintomas de leprose. Com os dados da primeira avaliação foi possível calcular o *alcance*, da primeira planta demarcada para segunda planta da mesma linha numa distância de 27 metros e por 6,5 metros de plantas demarcadas entre linhas. Entretanto, significa a dependência entre as plantas cítricas e a leprose na prática. Isso demonstrou que se pode avaliar uma planta e a cada 810 metros com os cálculos de *alcance*, pode-se construir um mapa de disseminação da leprose num pomar cítrico. Esses resultados foram fundamentais para a definição da quantidade e do posicionamento das plantas a serem amostradas quanto a presença de ácaros *B. phoenicis* virulíferos.

Constatou-se que a disseminação da leprose nesta área experimental após a aplicação do acaricida foi intensa, como verificado nos mapas de variabilidade referente a segunda e terceira avaliações (Figuras 3B, 3C). Verificou-se que a disseminação da leprose nas linhas e nas entrelinhas foi muito semelhante (Figura 4A). Portanto, os resultados indicaram que o controle químico do ácaro pode interferir diretamente na distribuição espacial e temporal da leprose em um pomar cítrico.

Estes resultados discordam parcialmente de outros trabalhos (RODRIGUES, 2002; BASSANEZI; LARANJEIRA, 2007; CZERMAINSKI et al., 2007) que apontaram que a disseminação da leprose é mais efetiva entre plantas do que nas entrelinhas de plantio. Os autores destes trabalhos atribuíram está maior disseminação nas plantas da linha de plantio a movimentação de ácaros virulíferos.

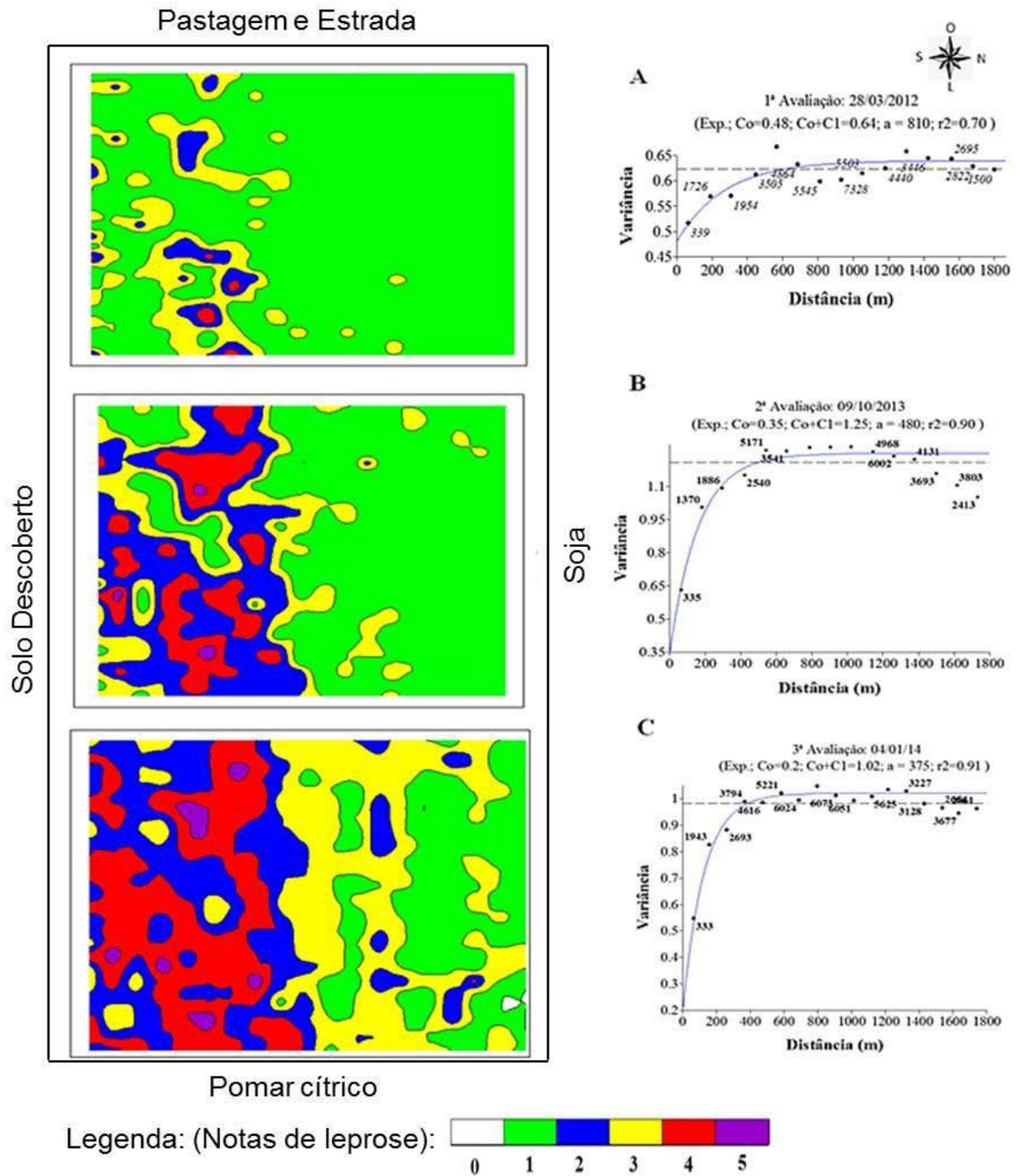


Figura 3. Mapas de variabilidade de disseminação de leprose-dos-citros, durante os meses de março de 2013 à janeiro de 2014 no Talhão 01. (A) primeira avaliação em março de 2013, (B) segunda avaliação em setembro de 2013 e (C) terceira avaliação em janeiro de 2014.

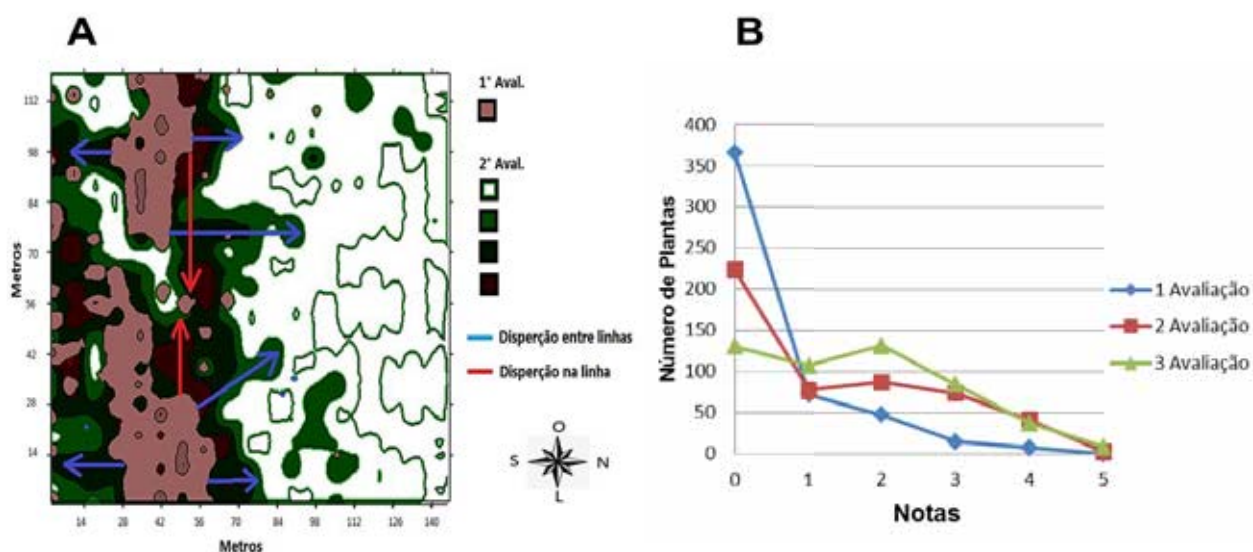


Figura 4. (A) Mapa de sobreposição da primeira e segunda avaliação de disseminação da leprose-dos-citros nas linhas e entrelinhas, avaliada após 6 meses (março à setembro de 2013) no Talhão 01. (B) Evolução de notas de severidade da leprose-dos-citros entre as avaliações realizadas.

Na Figura 4B, mostra a evolução das notas de severidade da leprose-dos-citros entre as três avaliação realizadas no Talhão 01. Que na primeira avaliação tinha 365 plantas com notas 0 de severidade, na segunda avaliação este número caiu para 223 e na terceira avaliação caiu novamente para 130 plantas com notas 0 de severidade (Tabela 1). Entre a primeira e a segunda avaliação, constatou-se que 3,2% do total de plantas regrediram em termos de severidade, 39,5% mantiveram-se estável, 19,2% aumentaram normalmente em severidade e 22,7% das plantas apresentaram aumento extremamente rápido da leprose. Entre a primeira e a terceira avaliação, observou-se que não houve regressão dos sintomas, 43,1% mantiveram-se estáveis, 25,8% apresentaram aumento normal de severidade e 14,8% apresentaram aumento extremamente rápido da severidade da leprose (Tabela 2).

Tabela 2. Nível de disseminação de severidade da leprose-dos-citros na área experimental, entre a segunda e a terceira avaliação para todas as plantas do talhão de laranjeira (Talhão 01).

Severidade da leprose	2ª avaliação Setembro de 2013		3ª avaliação Janeiro de 2014	
	Plantas	%	Plantas	%
Regrediu	19	3,2	0,0	0,0
Estável	235	39,6	256	43,1
Aumento normal	114	19,2	153	25,8
Aumento extremamente rápido	135	22,7	88	14,8
Plantas arrancadas	91	15,3	97	16,3

Considerou-se aumento natural da severidade, as plantas em que houve um aumento do nível de severidade em apenas uma unidade de uma avaliação para outra e o aumento extremamente rápido, das plantas em que houve aumento da severidade em duas ou mais unidades de nota de uma avaliação para outra. Esta regressão e o aumento expressivo de severidade dos sintomas de leprose nas plantas sintomáticas, é devido aos fatores dos períodos fenológicos das plantas, que ocorre uma redução fotossintética natural por meio das quedas de folhas na estação seca do inverno, deixando os sintomas de leprose mais visíveis na hora da avaliação. E no período de chuvas na estação de verão, ao um aumento fotossintético natural das plantas aumentando a sua massa foliar, deixando menos visíveis os sintomas de leprose nas plantas.

Fernandes et al. (2007) avaliaram a dispersão de cochonilhas *Praelongorthezia praelonga* Douglas causada por equipamentos de pulverização em pomar cítrico. Estes autores verificaram que os turbopulverizadores Martignani e Bié foram capazes de lançar a praga a até 15 m, enquanto que, para o turbopulverizador Turbo Valência detectaram-se fragmentos cerosos de *P. praelonga* a até 22 m da máquina. Dessa forma, infere-se que estes equipamentos de pulverização podem modificar o padrão de distribuição de ácaros *B. phoenicis* virulíferos e consequentemente da leprose.

Outro fator ainda pouco explorado refere-se a suscetibilidade de ácaros virulíferos e avirulíferos aos acaricidas, pois devido as dificuldades nos estudos que envolvem as relações entre o vírus e o ácaro-vetor pouco se sabe sobre isso

(KITAJIMA et al., 2003; MARQUES et al., 2010). Entretanto, a seleção de populações de ácaros *B. phoenicis* resistentes nos pomares brasileiros é comum (OMOTO, 1998; CAMPOS e OMOTO 2002; OMOTO; ALVES; RIBEIRO, 2000). Porém, o conhecimento sobre a frequência de resistência de ácaros virulíferos em comparação aos avirulíferos é totalmente desconhecida pela ciência.

Entretanto, não foi possível coletar ácaros *Brevipalpus* depois das aplicações de acaricidas, todavia, foi possível constatar que existe dependência entre as plantas sintomáticas e os ácaros virulíferos para CiLV-C (Figura 5). Portanto, a redução do inóculo de leprose é uma medida preconizada (ANDRADE et al., 2013) e que pode auxiliar na diminuição da quantidade de ácaros virulíferos de um pomar, tendo em vista a não-transmissão transovariana do vírus CiLV em *B. phoenicis* (NOVELLI et al., 2005).

As coletas de ácaros no Talhão 01 foram bem sucedidas antes da aplicação do acaricida, nos quais coletou-se ácaros em todas as 40 plantas previamente demarcadas. Na Figura 5, pode-se observar que as amostras de ácaros positivas para CiLV-C foram encontradas nas plantas com focos iniciais de leprose. Após a aplicação do acaricida, não foram encontrados ácaros *B. phoenicis* em todas as plantas demarcadas. De maneira geral, a quantidade de ácaros encontrados por planta (menos de 5) após a aplicação não permitiu a realização do RT-PCR com confiabilidade. Entretanto, os resultados apontaram a população de ácaros virulíferos estava concentrada próximo as plantas com alta quantidade de CiLV-C (Figura 5).

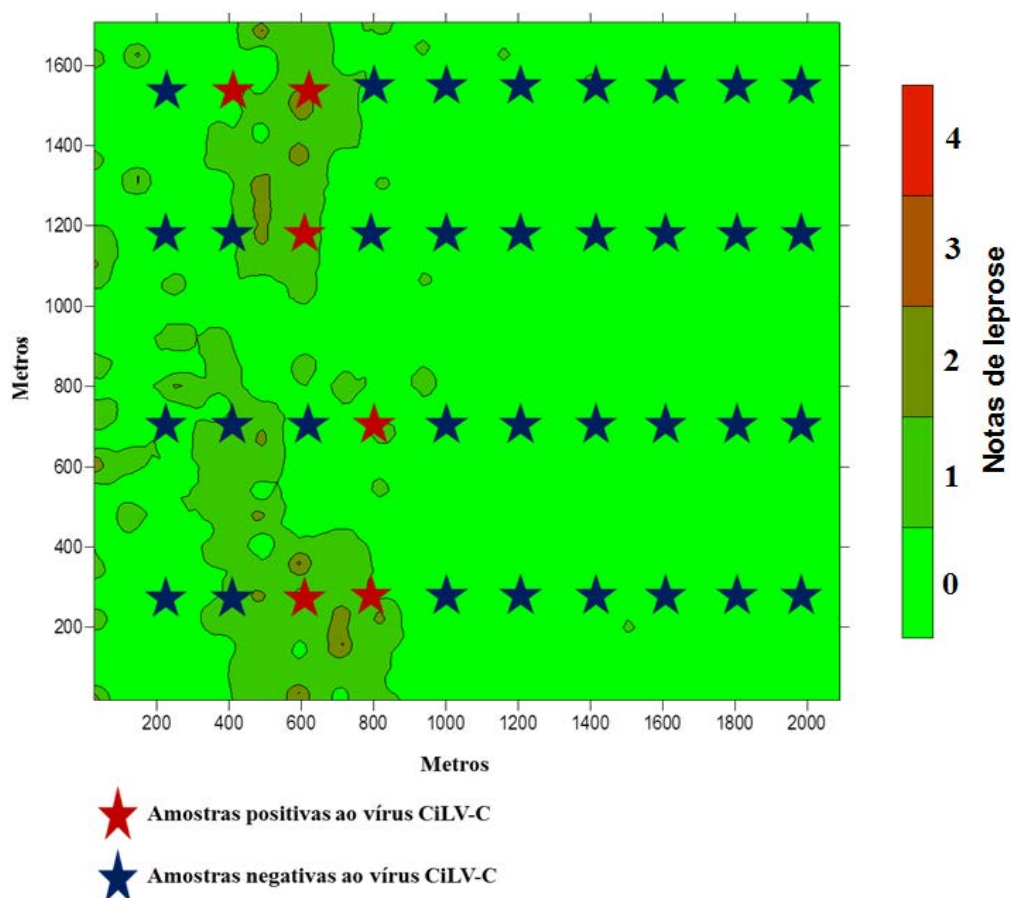


Figura 5. Resultados das análises de RT-PCR para ácaros *Brevipalpus phoenicis* coletados no Talhão 01 antes da aplicação do acaricida.

4.2.2 Resultados para o Talhão 02

Na primeira avaliação realizada em julho de 2013, observou-se que 95,0% das plantas estavam isentas de leprose, o que correspondeu a 2.551 plantas. Por outro lado, 2,1% das plantas estavam contaminadas com o vírus CiLV-C, totalizando 56 plantas, nos quais 1,2% das plantas do talhão obtiveram nota 1; 0,2% com nota 2; 0,3% com nota 3; 0,3% com nota 4 e 0,1% com nota 5. A porcentagem de plantas arrancadas no momento da avaliação correspondia a 2,9% (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados de número de plantas, áreas (m²) e porcentagem de plantas cítricas com e sem sintomas da leprose-dos-citros em talhão de laranjeira (Talhão 02).

Notas de leprose	Avaliações								
	1 ^a julho de 2013			2 ^a agosto de 2014			3 ^a dezembro de 2014		
	Plantas	Área (m ²)	%	Plantas	Área (m ²)	%	Plantas	Área (m ²)	%
0	2.551	36.669,4	95,0	2.336	33.578,9	87,0	2.098	30.157,8	78,1
1	32	460,0	1,2	85	1.221,8	3,2	203	2.918,0	7,6
2	6	86,2	0,2	37	531,9	1,4	98	1.408,7	3,6
3	9	129,4	0,3	24	345,0	0,9	48	690,0	1,8
4	7	100,6	0,3	14	201,2	0,5	33	474,4	1,2
5	2	28,8	0,1	9	129,4	0,3	21	301,8	0,8
Plantas Arrancadas	79	1.135,6	2,9	181	2.601,8	6,7	185	2.659,3	6,9

Área total da área: 38.610 m²

Na segunda avaliação em agosto de 2014, portanto, 13 meses após a primeira a avaliação, pode-se observar que houve aumento no número de plantas com sintomas de leprose. Nesta avaliação, detectou-se a leprose em mais 215 plantas, e a área ocupada pelas plantas isentas de leprose reduziu de 95,0% para 87,0% (Tabela 3). Ressalta-se que, a segunda avaliação foi realizada dez meses após a aplicação do acaricida óxido de fembutatina e quatro meses após a aplicação do spiroadiclofen. Em relação ao número de plantas infectadas, houve aumento considerável, e consequentemente da área com plantas sintomáticas. Das plantas do talhão, 3,2% receberam nota 1, 1,4% nota 2, 0,9% nota 3, 0,5%, nota 4 e 0,3% de nota 5 de severidade da leprose (Tabela 3).

Observou-se na terceira avaliação, realizada dezenove meses após a primeira avaliação, aumento expressivo da leprose, mesmo com o controle químico do ácaro. Constatou-se que 15,0% das plantas do Talhão 02 apresentavam sintomas de leprose na última avaliação (Tabela 3). No monitoramento da presença do ácaro *B. phoenicis* no Talhão 02 nos meses de julho, agosto, setembro e outubro de 2013 antes da aplicação do acaricida fembutatina. Foram encontrados 231 ovos, 32 larvas, 23 protoninfas, 10 deutoninfas e 115 ácaros adultos de *B.*

phoenicis antes da aplicação do acaricida e após a aplicação não foi encontrado mais ácaros nas coletas.

As aplicações de acaricidas de óxido fembutatina e spirodiclofen não foram suficientes para conter a disseminação da leprose na área experimental, como verificado nos mapas de variabilidade temporal da leprose apresentados na Figura 7. Semelhantemente aos resultados do talhão anterior, constatou-se que para o Talhão 02 a disseminação da leprose inicialmente também não apresentou distribuição normal ($p\text{-Value} < 0,005$), segundo o teste de normalidade de Anderson-Darling (Figura 6). Os dados de distribuição apresentaram leve assimetria, como indicado pelos coeficientes de Skewness e Kurtosis (Figura 6). Para distribuição normal os coeficientes de Skewness e Kurtosis devem estar entre 0 e 1. Os resultados também indicaram que a doença no campo ocorreu no início de forma agregada, como esperado.

O primeiro grande foco de leprose foi observado na região sudoeste do talhão, com plantas em início da infecção por leprose, portanto, receberam notas de severidade entre 1 e 2 (Figura 7). Todavia, nesta região o foco de leprose estava de forma agregada e localizada na primeira avaliação, para segunda avaliação houve um *efeito pepita*, ocasionando uma desfragmentação do foco formando novos outros focos menores. Provavelmente, o início da leprose nesta região deveu-se a área de citros vizinha localizada no lado oeste do Talhão 02. A área vizinha era composta por plantas adultas de citros e bem mais velhas que as plantas do Talhão 02. Dessa forma, é provável que os primeiros ácaros virulíferos que atingiram o Talhão 02 foram provenientes da área vizinha iniciando as infecções por leprose no experimento.

A partir da segunda avaliação os níveis de severidade da leprose aumentaram, e consequentemente reduziram os padrões de agregação, surgindo inclusive plantas que receberam notas de severidade superior a 3 (Figura 6). Pode-se visualizar nitidamente na Figura 6 que a partir da segunda avaliação a curva de frequência torna-se cada vez menos simétrica. Neste sentido, estes resultados apontaram a necessidade de integração de táticas de controle no manejo da leprose, e não somente o controle químico do ácaro com acaricidas.

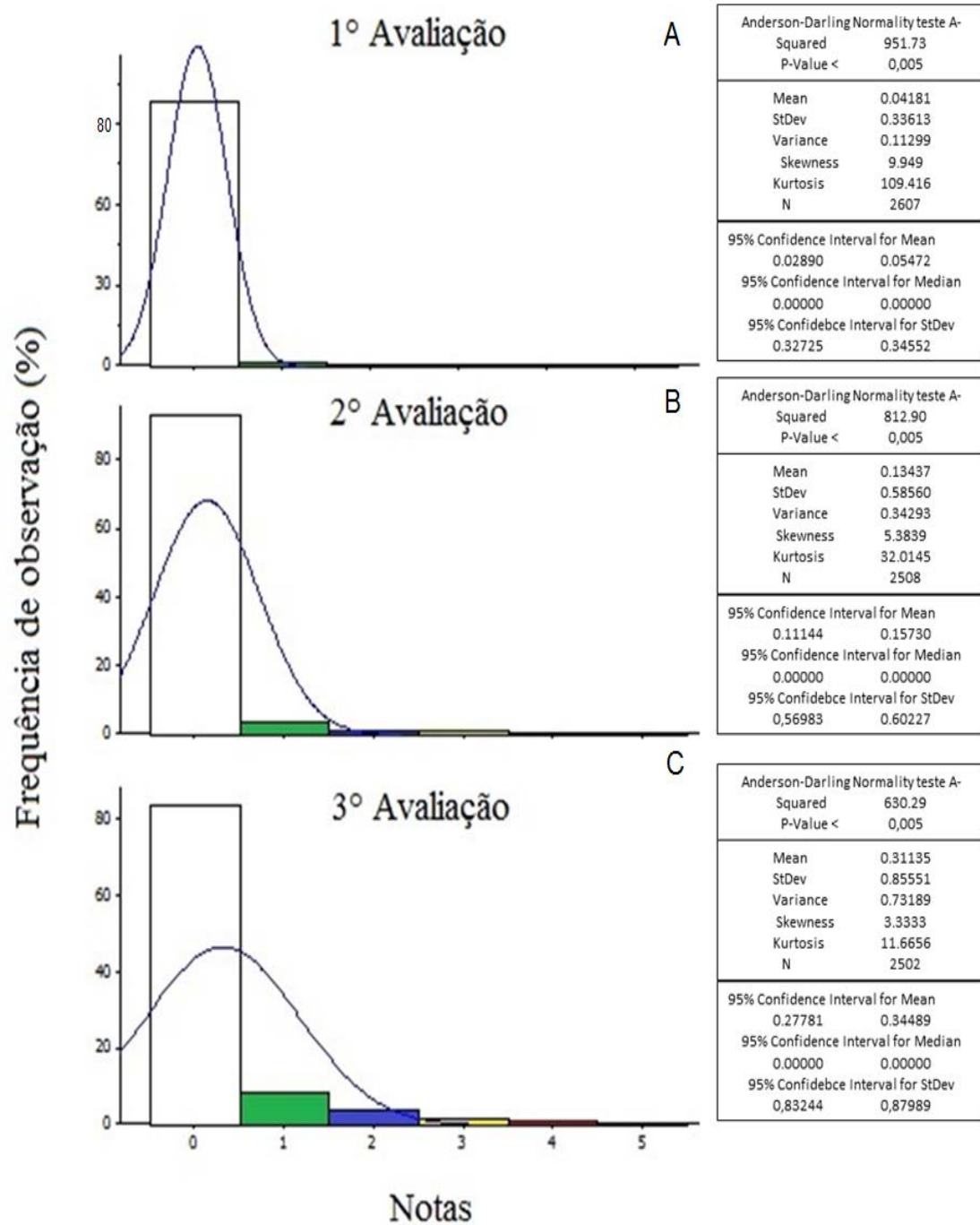


Figura 6. Histograma de distribuição das notas de severidade da leprose-dos-citros no Talhão 02 obtidas na (A) primeira avaliação em julho de 2013, (B) segunda avaliação em agosto de 2014 e (C) terceira avaliação em dezembro de 2014.

Entre as avaliações realizadas não houve para nenhuma planta, diminuição da nota atribuída inicialmente, tampouco desaparecimento total dos sintomas nas plantas avaliadas (Tabela 4). Houve uma disseminação considerada normal de 2,5% entre os níveis de severidade, 2,3% das plantas avaliadas houve crescimento rápido em seus níveis e 88,5% das plantas mantiveram suas notas (Tabela 4). Por outro lado, na terceira avaliação realizada, constatou-se que 82,1% das plantas mantiveram-se estáveis quanto a severidade da leprose, portanto, apresentam a mesma nota obtida na segunda avaliação (Tabela 4).

Tabela 4. Disseminação da leprose-dos-citros na área experimental entre as três avaliações para todas as plantas do Talhão 02.

Severidade da leprose	2ª avaliação agosto de 2014		3ª avaliação dezembro de 2014	
	Plantas	%	Plantas	%
Regrediu	0	0,0	0	0,0
Estável	2.378	88,5	2.206	82,1
Aumento normal	66	2,5	190	7,1
Aumento extremamente rápido	61	2,3	105	3,9
Plantas arrancadas	181	6,7	185	6,9

Da mesma forma, como observado para o Talhão 1, os resultados evidenciaram que a leprose se disseminou de forma semelhante tanto na linha de plantio como nas entrelinhas (Figura 08). Esses resultados discordaram parcialmente dos de Rodrigues (2002) que relatou que a dispersão dos ácaros nos pomares cítricos tende a ser mais efetiva nas linhas do que nas entrelinhas, sendo que os dois mecanismos de dispersão, vento e caminhamento, podem ocorrer de modo a se somarem, facilitados pela proximidade das plantas nas linhas (RODRIGUES, 2002).

Alves (2004) mencionou que o ácaro *B. phoenicis* locomove-se em até 7,3 centímetros por dia sobre substrato de areia fina. Apesar de esta distância ser considerada pequena, uma fêmea adulta tem longevidade próxima a 19 dias, portanto pode locomover-se 1,33 metros no decorrer desse período (NUNES, 2007). Todavia, a dispersão por caminhamento em condições naturais de campo é considerada secundária, a não ser que as plantas estejam em contato direto,

possibilitando que os ácaros se locomovam mais rapidamente (ALVES; CASARIN; OMOTO, 2005).

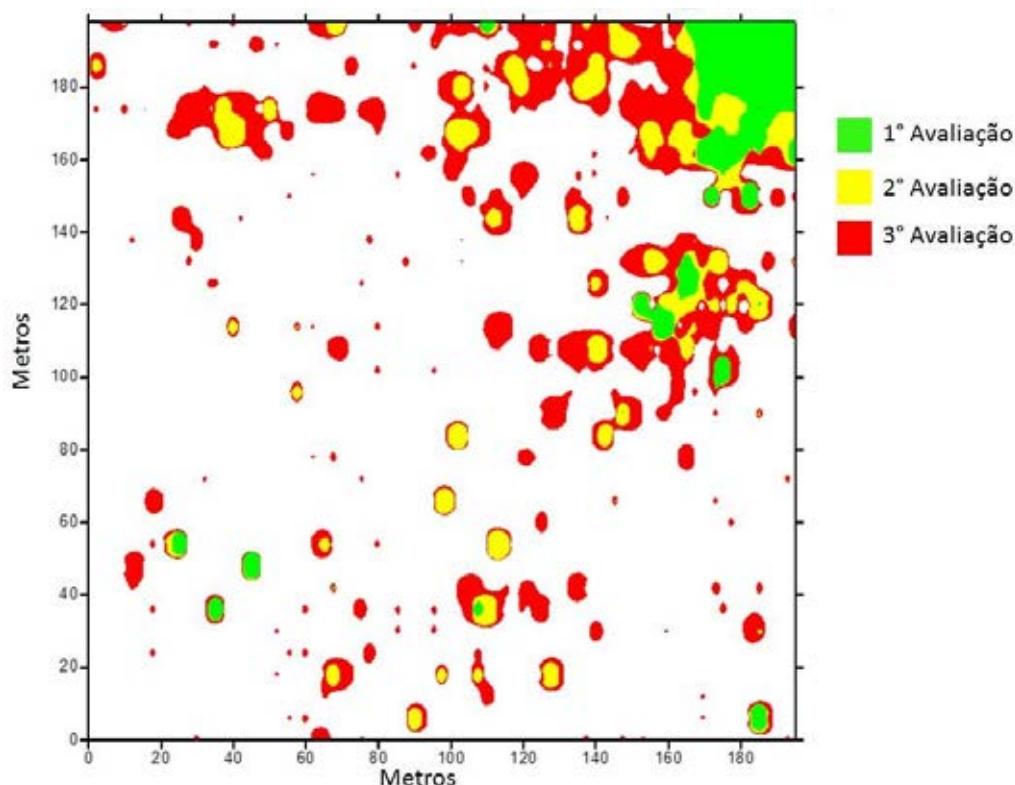


Figura 8. Mapa de sobreposição das três avaliações de disseminação da leprose-dos-citros, realizadas nos meses de julho de 2013 à dezembro de 2014 no Talhão 02.

Ao contrário do Talhão 01, as plantas do Talhão 02 no início do experimento ainda tinham pouco contato uma com as outras na linha de plantio. Sendo assim, infere-se que a principal forma de dispersão de ácaros *B. phoenicis* foi devido a ação dos ventos, seja ventos naturais ou produzidos pelo homem, principalmente durante o uso de equipamentos de pulverização. No apêndice 2, pode-se observar a quantidade de aplicações de produtos químicos, que foram realizados antes e durante a realização do experimento no conduzido no Talhão 02.

Alves, Casarin e Omoto (2005) verificaram que ventos de 30 km/h-1 são capazes de arrastar ácaros da superfície de frutos e levá-los a distâncias maiores. Dessa forma, os resultados obtidos no presente estudo serão úteis no futuro para

aprimoramento das técnicas de amostragem do ácaro-vetor e melhorias no manejo da leprose, bem como contribui para melhor compressão da epidemiologia da leprose nos agroecossistemas.

5. CONCLUSÕES

- No início das infecções, a leprose-dos-citros apresenta padrão agregado;
- As aplicações dos acaricidas spiroticlofen e óxido de fentotatina para o controle do ácaro *B. phoenicis*, não foram suficientes para evitar ou reduzir o crescimento da disseminação da leprose-dos-citros nos talhões;
- Os ácaros *B. phoenicis* virulíferos contaminados pelo vírus CiLV-C, foram encontrados somente em plantas sintomáticas, ou em plantas muito próximas de plantas sintomáticas com níveis elevados de severidade da leprose;
- O uso intensivo de equipamentos de pulverização podem contribuir na dispersão de ácaros *B. phoenicis* virulíferos, nas linhas e entrelinhas de plantio aumentando a disseminação da leprose.

6. REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL 2014: **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2014. 462 p.
- ALBUQUERQUE, F. A.; OLIVEIRA, C. A. L.; BARRETO, M. Estudos da relação entre as incidências de verrugose da laranja-doce e leprose-dos-citros em frutos de laranja-pera. **Científica**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 393-402, 1997.
- ALVES, E. B.; CASARIN, N. F. B.; OMOTO, C. Mecanismos de dispersão de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) em pomares de citros. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 89-96, 2005.
- ALVES, E. B. **Dinâmica da resistência de *Brevipalpus phoenicis* Geijskes (Acari:Tenuipalpidae) ao acaricida dicofol**. 2004. 95 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

ANDRADE, D. J.; PATTARO, F. C.; MORAIS, M. R.; BARBOSA, C. L.; OLIVEIRA, C. A. L. Aspectos técnicos e econômicos da poda e do controle químico de *Brevipalpus phoenicis* no manejo da leprose-dos-citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 409-424, 2013.

BARRETO, M.; PAVAN, A. Relação verrugose x leprose. In: OLIVEIRA, C. A. L. de; DONADIO, L. C. **Leprose-dos-citros**, Jaboticabal: FUNEP, p. 69-76, 1995.

BASSANEZI, R. B. Aspectos da leprose-dos-citros. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 246-247, 2001. (Suplemento).

BASSANEZI, R. B. Leprose-dos-citros: foco no controle do ácaro vetor. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 2, p. 24-29, 2004.

BASSANEZI, R. B.; SPÓSITO, M. B.; YAMAMOTO, P. T. Adeus à leprose. **Revista Cultivar**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 37, 2002.

BASSANEZI, R.B.; LARANJEIRA, F. F. Spatial patterns of leprosis and its mite vector in commercial citrus groves in Brazil. **Plant Pathology**, Oxford, v. 56, n. 1, p. 97-106, 2007.

BASTIANEL, M., NOVELLI, V. M., BASSANEZI, R., KITAJIMA, E. W., MACHADO, M. A., KUBO, K. S.; FREITAS-ASTUA, J. Citrus leprosis: Centennial of an unusual mite-virus pathosystem. **Plant Disease**, Saint Paul – Minnesota, v. 94, n. 3, p. 284-292, 2010.

BASTIANEL, M.; FREITAS-ASTÚA, J.; KITAJIMA, E. W.; MACHADO, M. A. The citrus leprosis pathosystem. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 3, p. 211-220, 2006.

BITANCOURT, A. A. Estudos sobre a leprose-dos-citros IV. I. Distribuição geográfica e sintomatologia. II. Transmissão natural às folhas. III. Transmissão natural às frutas. IV. Experiências de tratamento. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 22, s/n., p. 161-231, 1955.

BOTEON, M.; NEVES, E. M. Citricultura brasileira: aspectos econômicos. In: MATTOS JUNIOR, D.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. **Citros**. Campinas, IAC, p. 19-36, 2005.

BOTEON, M.; PAGLIUCA, L. G. Análise da sustentabilidade econômica da citricultura paulista. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 31, n. 2, p. 101-106, 2010.

BUSOLI, A. C. O manejo integrado de pragas – citros e a busca de qualidade total na citricultura. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 16, n. 1, p. 155-186, 1995.

CÁCERES, S.; AGUIRRE, A.; COSTA, N.; COLL, O.; SEGNANA, L. G.; FARIÑA, N.; TASSI, A. D.; CALEGARIO, R. F.; MORAES, G. J.; FREITAS-ASTÚA, J.; PEREIRA, J. A.; SALAROLI, R. B.; KITAJIMA, E. W. Present status of citrus leprosis in Argentina and Paraguay. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, n. 4, p. 282-294, 2013.

CAMPOS, F. J.; OMOTO, C. Resistance to hexythiazox in *Brevipalpus phoenicis* Acari: Tenuipalpidae) from Brazilian citrus. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 26, n. 3-4, p. 243-251, 2002.

CATI. **Citros: recomendação para o controle das principais pragas e doenças em pomares do Estado de São Paulo**. Campinas. 58p. (Boletim Técnico, 165), 1997.

CHIAVEGATO, L. G. Avaliação da potencialidade de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) na transmissão da leprose em plantas cítricas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15, 1995, Caxambu 1995. **Anais...** Camambu: editora, p.14, 1995.

CHIAVEGATO, L. G.; SALIBE, A. A. New results on the transmissibility of leprosis symptoms by mite *Brevipalpus phoenicis* in citrus. In: CONFERENCE IOCV, 10, 1986, OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, Valencia. **Proceedings...** p.136.

CHILDERS, C. C.; RODRIGUES, J. C. V.; WELBOURN, W. C. Host plants of *Brevipalpus californicus*, *B. obovatus*, and *B. phoenicis* (Acari:Tenuipalpidae) and their potential involvement in the spread of one or more viral diseases vectored by these mites. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 30, n. 1-3, p. 29-105, 2003.

CITRUSBR. Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos. **Release de maio/2014 sobre o resultado final apurado na safra 2013/14 e a estimativa da**

CitrusBR para a safra 2014/15. São Paulo, 1 mai. 2014. Disponível em: < <http://www.citrusbr.com/#>> Acesso em: 15 jan. 2015.

COLARICCIO, A.; LOVISOLO, O.; CHAGAS, C. M.; GALLETI, S. R.; ROSSETTI, V.; KITAJIMA, E. W. Mechanical transmission and ultra-estrutural aspects of citrus leprosis disease. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 208-213, 1995.

CZERMAINSKI, A. B. C.; BASSANEZI, R. B.; LARANJEIRA, F. F.; AMORIM, L. Dinâmica temporal da população do ácaro *Brevipalpus phoenicis* da leprose-dos-citros sob condições naturais de epidemia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 4, p. 295-303, 2007.

FEICHTENBERGER, E. Manejo integrado das principais doenças dos citros no Brasil. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS, 6. **Anais...** Bebedouro, p. 177-216, 2000.

FERNANDES, O. A.; CARNEIRO, T. R.; CAMPOS, A. P.; OLIVEIRA, T. T.; FERREIRA, M. C. Dispersão de *Orthezia praelonga* Douglas, 1891 (Hemiptera: Ortheziidae) causada por equipamentos de pulverização em pomar de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 249-253, 2007.

FRANCISCON, L.; JUNIOR, P. J. R.; KRAINSKI, E. T.; BASSANEZI, R. B.; CZERMAINSKI, A. B. C. Modelo autológico espaço-temporal com aplicação à análise de padrões espaciais da leprose-dos-citros. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 12, p.1677-1682, 2008.

FREITAS-ASTÚA, J.; KITAJIMA, E. W.; LOCALI, E. C.; ANTONIOLI-LUIZON, R.; BASTIANEL, M.; MACHADO, M. A. Further evidence to support that *Citrus leprosis virus* cytoplasmic and nuclear types are different viruses. In: **Annual Meeting of the American Phytopathological Society**. 45., 2005, Caribbean Division. **Anais**. San Jose: APS. p. 93.

FREITAS-ASTÚA, J.; FADEL, A. L.; BASTIANEL, M.; NOVELLI, V. M.; ANTONIOLI-LUIZON, R.; MACHADO, M. A. Resposta diferencial de espécies e de híbridos de citros à leprose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 7, p. 809-814, 2008.

GARITA, L. C.; TASSI, A. D.; CALEGARIO, R. F.; CARBONELL, S. A. M.; FREITAS-ASTÚA, J.; KITAJIMA, E. W. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): experimental local lesion host for *Citrus leprosis virus* C (CiLV-C) and some other cytoplasmic-type

Brevipalpus-transmitted viruses. **Plant Disease**, Saint Paul – Minnesota, v. 97, n. 10, p. 1.346-1.351, 2013

GARITA, L. C.; TASSI, A. D.; CALEGARIO, R. F.; FREITAS-ASTÚA, J.; SALAROLI, G. O. R.; KITAJIMA, E. W. Experimental host range of *Citrus leprosis virus C* (CiLV-C). **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 39, n. 1, p. 043-055, 2014.

GASPARINO, C. F. **Tamanho da amostra e custo para monitoramento da infestação do ácaro-da-leprose em pomares de laranja**. Dissertação (Mestrado) - Fundo de Defesa da Citricultura, Araraquara-SP, 2013.

GIBBS, A.; MACKENZIE, A. A primer pair for amplifying part of the genome of all potyvirids by RT-PCR. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 63, n. 1-2, p. 9-16, 1997.

GRAVENA, S.; COLETTI, A.; YAMAMOTO, P. T. Influence of green cover with *Ageratum conyzoides* and *Eupatorium pauciflorum* on predatory and phytophagous mites in citrus. In: International Citrus Congress, 1992, Acireale. **Proceedings of the International Society of Citricultures**. Catania: International Society of Citriculture, 1992. v. 3. p. 1259-1262.

IZQUIERDO-CASTILLO, I.; ZERMEÑO- DIAZ, L. F.; MENDEZ, W.; OTERO-COLINA, G.; FREITAS-ASTÚA, J.; LOCALI-FABRIS, E. C.; MORAES, G. J.; CALEGARIO, R. F.; TASSI, A. D.; KITAJIMA, E. W. Confirmation of the presence of the *Citrus leprosis virus C* (CiLV-C) in Southern Mexico. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 36, n. 6, p. 400-403, 2011.

KITAJIMA, E. W.; CHAGAS, C. M.; RODRIGUES, J. C. V. *Brevipalpus*-transmitted plant virus and virus-like diseases: cytopathology and some recent cases. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 30, n. 1-3, p. 135-160, 2003.

KITAJIMA, E. W., MÜLLER, G. W., COSTA, A. S., YUKI, V. A. Short rod-like particles associated with citrus leprosis. **Virology**, New York, v. 50, n. 1, p. 254-258, 1972.

KITAJIMA, E. W., RODRIGUES, J. C. V.; FREITAS-ASTUA, J. An annotated list of ornamentals naturally found infected by *Brevipalpus* mite-transmitted viruses. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 67, n. 3, p. 348-371, 2010.

KITAJIMA, E. W.; ROSILLO, M. A.; PORTILLO, M. M.; MÜLLER, G. W.; COSTA, A. S. Microscopia eletrônica de tecidos foliares de laranjeiras infectadas pela lepra explosiva da Argentina. **Fitopatologia**, Brasília, v. 9, s/n., p. 55-56, 1974.

KITAJIMA, E. W.; CHAGAS, C. M.; HAKAKAVA, R.; CALEGARIO, R. F.; FREITAS-ASTÚA, J.; RODRIGUES, J. C. V.; CHILDERS, C. C. Citrus leprosis in Florida, USA, appears to have been caused by the nuclear type of *Citrus leprosis virus* (CiLV-N). **Virus Review and Research**, Belo Horizonte, v. 16, n. 1-2, p. 23-27, 2011.

KÖPPEN, W. **Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra**. Fondo de Cultura Económica. México, 479 p., 1948.

KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. (Eds.). **A Manual of Acarology**. 3rd ed. Texas Tech University Press, Lubbock, TX, 807 p., 2009.

KUBO, K. S.; NOVELLI, V. M.; BASTIANEL, M.; LOCALI-FABRIS, E. C.; ANTONIOLI-LUIZON, R.; MACHADO, M. A.; FREITAS-ASTÚA, J. 2011. Detection of *Brevipalpus*-transmitted viroses in their mite vectors by RT-PCR. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 54, n. 1, p. 33-39, 2011.

LOCALI, E. C.; FREITAS-ASTÚA, J.; SOUZA, A. A.; TAKITA, M. A.; ASTÚA-MONGE, G.; ANTONIOLLI, R.; KITAJIMA, E. W.; MACHADO, M. A. Development of a molecular tool for the diagnosis of leprosis a major treat to the citrus production in the Americas. **Plant Disease**, Saint Paul – Minnesota, v. 87, n. 11, p. 1.317-1.321, 2003.

LOCALI-FABRIS, E. C.; FREITAS-ASTUA, J.; SOUZA. A. A.; TOKITA, M. A., ASTUA-MONGE, G.; ANTONIOLI-LUIZON, R.; RODRIGUES, V.; TARGON, M. L. P. N.; MACHADO, M. A. Complete nucleotide sequence, genomic organization and phylogenetic analysis of *Citrus leprosis virus* cytoplasmatic type. **Journal General Virology**, London, v. 87, n. 1, p. 2721-2729, 2006.

LOPES, M. V.; OLIVEIRA, C. A. L.; BARRETO, M.; BARBOSA, J. C.; ROSSI, F. M. Dimensionamento de amostras para monitoramento do ácaro da leprose *Brevipalpus phoenicis* (GEIJSKES, 1939) em citrus. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 671-676, 2007.

MAIA, O. M. A.; OLIVEIRA, C. A. L. Capacidade de colonização de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) em cercas-vivas, quebra-ventos e plantas invasoras. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 625-629, 2004.

MARQUES, J. P. R.; FREITAS-ASTÚA, J.; KITAJIMA, E. W.; GLÓRIA, B. A. Lesões foliares e de ramos de laranjeira-doce causadas pela leprose-dos-citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 11, p. 1531-1536, 2007.

MARQUES, J. P. R.; KITAJIMA, E. W.; FREITAS-ASTÚA, J.; APPEZATO-DA-GLÓRIA, B. Comparative morpho-anatomical studies of the lesions caused by *Citrus leprosis virus* on sweet orange. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 2, p. 501-511, 2010.

MESA, N. C.; OCHOA, R.; WELBOURN, W. C.; EVANS, G. A.; MORAES, G. J. **A catalog of the tenuipalpid (Acari) of the world with a key to genera**. Zootaxa, Auckland, v. 2098, p. 1-185, 2009.

MOREIRA, S. Podas em plantas cítricas. **O Agrônomo**, Campinas, v. 1, n. 1-2, p. 43-49, 1941.

MÜLLER, G. W.; TARGON, M. L. P. N.; CARVALHO, A. S.; SOUZA, A. A.; RODRIGUES, J. C. V. Doenças de citros causadas por vírus e viróides. In: MATTOS JUNIOR, D.; DENEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. **Citros**, Campinas, Instituto Agrônomo e Fundag, p. 569-604, 2005.

NAVIA, D.; MENDONÇA, R. S.; FERRAGUT, F.; MIRANDA, L. C.; TRINCADO, R. C.; MICHAUX, J.; NAVAJAS, M. Cryptic diversity in *Brevipalpus* mites (Tenuipalpidae). **Zoologica Scripta**, Oslo, v. 42, n. 1, p. 406-426, 2013.

NOVELLI, V. M.; FREITAS-ASTÚA, J.; ANTONIOLI-LUIZON, R.; LOCALI, E. C.; ARRIVABEM, F.; HILF, M. E.; GOTTWALD, T. R.; MACHADO, M. A. Detecção do vírus da leprose-dos-citros (CiLV-C) através de RT-PCR em diferentes fases de desenvolvimento do ácaro-vetor (*Brevipalpus phoenicis*). In: Congressos Brasileiro de Fitopatologia Brasileira, 38, 2005, Brasília, DF. **Resumos...** [Brasília, DF: FIT/IB/UNB], 2005, p. 183.

NUNES, M. A. **Constatação da transmissibilidade do vírus da leprose-dos-citros por *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) em cercas-vivas, quebra-ventos e plantas daninhas através da microscopia eletrônica de transmissão**. 2004. 46p. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2004.

NUNES, M. A. **Transmissão do vírus da leprose-dos-citros por *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (acarí: Tenuipalpidae) para plantas associadas a pomares cítricos.** 2007. 67p. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2007.

NUNES, M. A.; BERGAMINI, M. P.; COERINI, L. F.; BASTIANEL, M.; NOVELLI, V. M.; KITAJIMA, E. W.; FREITAS-ASTÚA, J. *Citrus leprosis virus C* (CiLV-C) naturally infecting *Commelina benghalensis*, a prevalent monocot weed of citrus orchards. **Plant Disease**, Saint Paul – Minnesota, v. 96, n. 5, p. 770-2, 2012.

OLIVEIRA, C. A. L. Máquinas de varredura de ácaro “modelo Jaboticabal”. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 12, s/n., p. 299-303, 1983.

OLIVEIRA, C. A. L. Flutuação populacional e medidas de controle do ácaro da leprose *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) em citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 7, n. 1, p. 1-31, 1986.

OLIVEIRA, C. A. L. de; PATTARO, F. C. Leprose: Estratégias de manejo que bem utilizadas podem erradicá-la do seu pomar. **Tecnologias de Produção: Hortaliças, Frutas, Flores & CITRUS**, Jaguariúna, v. 3, n. 3, p. 34-36, 2004.

OMOTO, C. Acaricide resistance management of leprosis mite (*Brevipalpus phoenicis*) in Brazilian citrus. **Pesticide Science**, Japão, v. 53, n. 2, p. 189-198, 1998.

OMOTO, C. **Bases para um programa de manejo da resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acarí: Tenuipalpidae) a acaricidas em pomares de citros.** 2005. 156p. Texto sistematizado (Concurso Livre-Docência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, 2005.

OMOTO, C.; ALVES, E. B.; RIBEIRO, P. C. Detecção e monitoramento da resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acarí: Tenuipalpidae) ao dicofol. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 757-764, 2000.

PASCON, R. C.; KITAJIMA, J. P.; BRETON, M. C.; ASSUMPÇÃO, L.; GREGGIO, C.; ZANCA, A. S.; OKURA, V. K.; ALEGRIA, M. C.; CAMARGO, M. E.; SILVA, G. G. C.; CARDOZO, J. C.; VALLIM, M. A.; FRANCO, S. F.; SILVA, V. H.; JORDÃO JÚNIOR, H.; OLIVEIRA, F.; GIACHETTO, P. F.; FERRARI, F.; AGUILAR-VILDOSO, C. I.; FRANCHISCINI, F. J. B.; SILVA, J. M. F.; ARRUDA, P.; FERRO, J. A.;

REINACH, F.; SILVA, A. C. R. The complete nucleotide sequence and genomic organization of Citrus Leprosis associated Virus, Cytoplasmatic type (CiLV-C). **Virus Genes**, New York, v. 32, n. 3, p. 289-298, 2006.

PATTARO, F. C. **Aspectos técnicos e econômicos da poda e do controle químico no manejo da leprose-dos-citros**. 2006. 140p. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

PINTO, R. A.; YAMAMOTO, P. T.; PAIVA, P. E. B.; GRAVENA, S. Amostragem seqüencial: uma metodologia rápida e segura. In: Oliveira, C. A. L. & Donadio, L. C. (Eds.) **Leprose-dos-citros**. Jaboticabal. FUNEP, p. 147-158, 1995.

RAMOS, H. H.; YANAI, K.; CORREA, I. M.; BASSANEZI, R. B.; GARCIA, L. C. Características da pulverização em citros em função do volume de calda aplicado com turbopulverizador. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal. v. 27, n. especial, p. 56-65, 2007.

RODRIGUES, J. C. V. **Leprose-dos-citros: cito-patologia, transmissibilidade e relação com o vetor *Brevipalpus phoenicis* Geijskes (Acari: Tenuipalpidae)**. 1995. 79f. Dissertação (mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

RODRIGUES, J. C. V. Programa de redução do inóculo da leprose-dos-citros. **Laranja**, Cordeirópolis. v. 23, n. 2, p. 307-332, 2002.

RODRIGUES, J. C. V.; CHILDERS, C. C.; KITAJIMA, E. W.; MACHADO, M. A.; NOGUEIRA, N. L. Uma estratégia para o controle da leprose-dos-citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 22, n. 2, p. 411-423, 2001.

RODRIGUES, J. C. V.; KITAJIMA, E. W.; CHILDERS, C. C.; CHAGAS, C. M. *Citrus leprosis virus* vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) on citrus in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 30, n. 1-3, p. 161-179, 2003.

ROESSING, C.; SALIBRE, A. A. Incidência da leprose em variedades cítricas. **Ciência e Cultura**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 303, 1967.

ROSSETTI, V. A Leprose-dos-citros no Brasil. In: OLIVEIRA, C. A. L. de; DONADIO, L. C. **Leprose-dos-citros**. Jaboticabal: FUNEP, p. 1-12, 1995.

ROSSETTI, V.; COLARICCIO, A.; CHAGAS, C. M.; SATO, M. E.; RAGA, A. Leprose-dos-citros. **Boletim técnico do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 6, p. 5-27, 1997.

SALAZAR, L. C. G. **Relação vírus-vetor-hospedeira no patossistema da leprose-dos-citros**. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, p. 96, 2013.

TASSI, A. D. **Avaliação da diversidade morfológica de diferentes populações de espécies de *Brevipalpus* (Acari: Tenuipalpidae) transmissores de vírus e de suas competências com vetor**. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, p. 141, 2014.

TRINDADE, M. L. B.; CHIAVEGATO, L. G. Caracterização biológica dos ácaros *Brevipalpus obovatus* D., *B. californicus* e *B. phoenicis* G. (Acari: Tenuipalpidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 189-195, 1994.

WELBOURN, W. C.; OCHOA, R.; KANE, E. C.; ERBE, E. F. Morphological observations on *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) including comparisons with *B. californicus* and *B. obovatus*. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 30, n. 1-3, p. 107-133, 2003.

YAMAMOTO, P. T.; PINTO, A. S. de; PAIVA, P. E. B.; GRAVENA, S. Seletividade de agrotóxicos aos inimigos naturais de pragas dos citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 13, n. 2, p. 709-755, 1992.

APÊNDICES

APÊNDICE 01

Histórico de aplicações de produtos fitossanitários no Talhão 01 (21°04'04.24"S e 48°24'47.77"W) laranja Pera [<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck] enxertadas sob limão Cravo (<i>Citrus limonia</i> Osbeck) com espaçamento de 6,5 x 4,5 metros. Plantio: Fevereiro de 2000				
Data	Produto Fitossanitário	Acaricida	Inseticida	Fungicida
02/01/2013	Abamectina, Cipermetrina, Piriproxifem		X	
19/01/2013	Imidacloprido, Piraclostrubina		X	X
31/01/2013	Hidróxido de Cobre Lambda-Cialotrina, Óleo Mineral, Piriproxifem		X	X
14/02/2013	Clorpirifós Lambda-Cialotrina, Óleo		X	
25/02/2013	Mineral, Inseticida Biológico, Abamectina		X	
12/03/2013	Carbosulfano, Óleo Mineral Piraclostrubina		X	X
28/03/2013	Hidróxido de Cobre Lambda-Cialotrina, Óleo Mineral		X	X
08/04/2013	Cipermetrina		X	
22/04/2013	Lambda-Cialotrina, Óleo Mineral		X	
06/05/2013	Enxofre Acefato		X	X
20/05/2013	Enxofre Cipermetrina		X	X
07/06/2013	Spirodiclofen Profenofós+Lufenuron	X	X	
19/06/2013	Imidacloprido		X	
02/07/2013	Difenoconazol Propargite, Imidacloprido		X	X
15/07/2013	Propargite, Piriproxifem		X	
30/07/2013	Hidróxido de Cobre Triamethoxam		X	X
13/08/2013	Imidacloprido		X	
27/08/2013	Hidróxido de Cobre Triamethoxam		X	X
14/09/2013	Enxofre, Dimetoato, Bifentrina		X	
25/09/2013	Óleo Mineral, Bifentrina Piraclostrubina		X	X
08/10/2013	Hidróxido de Cobre Imidacloprido, Óleo Mineral		X	X

21/10/2013	Clorpirifós, Óleo Mineral	X	
07/11/2013	Imidacloprido	X	
	Piraclostrubina		X
19/11/2013	Hidróxido de Cobre		X
	Imidacloprido, Óleo Mineral, Abamectina	X	
05/12/2013	Beta-Ciflutina, Óleo Mineral	X	
16/12/2013	Bifentrina	X	
02/01/2014	Piraclostrubina, Hidróxido de Cobre		X
	Piriproxifem, Dimetoato, Óleo Mineral	X	
13/01/2014	Imidacloprido	X	
27/01/2014	Cipermetrina	X	

APÊNDICE 02

Histórico de aplicações de produtos fitossanitários no Talhão 02 (21°02'39.6"S e 48°23'54.2"W) laranja Valência [(*Citrus sinensis* (L.)) enxertadas sob limão Volkamericano (*Citrus volkamericano* Tem & Pasq) com espaçamento de 6,0 x 2,5 metros. Plantio: Fevereiro de 2011.

Data	Produto Fitossanidade	Acaricida	Inseticida	Fungicida
11/01/2013	Bifentrina, Abamectina		X	
23/01/2013	Imidacloprido, Óleo Mineral, Piriproxifem		X	
	Piraclostrubina			X
10/02/2013	Clorpirifós, Óleo Mineral, Triametrina		X	
	Hidróxido de Cobre			X
18/02/2013	Imidacloprido		X	
21/02/2013	Lambda-Cialotrina, Flubendiamida, Inseticida Biológico		X	
22/03/2013	Lambda-Cialotrina, Abamectina, Óleo Mineral		X	
17/04/2013	Profenofós+Lufenuron		X	
	Enxofre			X
14/05/2013	Lambda-Cialotrina		X	
	Enxofre			X
28/05/2013	Profenofós+Lufenuron		X	
11/06/2013	Carbosulfano		X	
26/06/2013	Triamethoxam, Imidacloprido		X	
08/07/2013	Piriproxifem, Propargite		X	
22/07/2013	Triamethoxam		X	
	Difenoconazol			X
08/08/2013	Imidacloprido		X	
	Hidróxido de Cobre			X
19/08/2013	Profenofós+Lufenuron		X	
09/09/2013	Dimetoato		X	
	Hidróxido de Cobre, Piraclostrubina			X
22/10/2013	Clorpirifós		X	
	Hidróxido de Cobre			X
	Óxido de Fembutatina	X		
29/10/2013	Imidacloprido		X	
11/11/2013	Imidacloprido		X	
	Piraclostrubina			X
27/11/2013	Imidacloprido, Óleo Mineral, Abamectina		X	
	Hidróxido de Cobre			X

12/12/2013	Beta-Ciflutrina		X	
24/12/2013	Bifentrina, Piriproxifem		X	
	Piraclostrubina			X
07/01/2014	Dmetoato, Óleo Mineral		X	
	Hidróxido de Cobre			X
22/01/2014	Imidacloprido		X	
04/02/2014	Cipermetrina		X	
24/02/2014	Imidacloprido		X	
06/03/2014	Propargite		X	
14/03/2014	Triamethoxam		X	
19/03/2014	Cipermetrina		X	
17/04/2014	Spiroclufen	X		
29/04/2014	Imidacloprido		X	
12/05/2014	Bifentrina		X	
30/05/2014	Dimetoato, Óleo Mineral		X	
	Clorpirifós			X
10/06/2014	Beta-Ciflutrina,		X	
25/06/2014	Triamethoxam		X	
09/07/2014	Imidacloprido, Óleo Mineral		X	
22/07/2014	Bifentrina		X	
08/08/2014	Triamethoxam, Óleo Mineral, Piridabem		X	
26/08/2014	Clorpirifós, Óleo Mineral		X	
	Dimetoato			X
11/09/2014	Dimetoato		X	
26/09/2014	Dimetoato		X	
06/10/2014	Dimetoato, Piridabem		X	
19/10/2014	Dimetoato		X	
	Trifloxistrobina+Tebuconazol, Difenoconazol			X
30/10/2014	Dimetoato		X	
	Oxicloreto de Cobre			X
03/11/2014	Difenoconazol			X
	Piriproxifem		X	
11/11/2014	Dimetoato		X	
	Difenoconazol			X
19/11/2014	Bifentrina, Óleo Mineral, Abamectina		X	
	Oxicloreto de Cobre			X
10/12/2014	Imidacloprido, Óleo Mineral			
	Trifloxistrobina			X
26/12/2014	Dimetoato, Abamectina		X	