**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**

**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

# EFICIÊNCIA DE PRODUTOS BIOLÓGICOS E NATURAL SOBRE FASES DO CICLO BIOLÓGICO DO ÁCARO DA LEPROSE DOS CITROS *Brevipalpus yothersi* EM LABORATÓRIO

**BRUNO RAFAEL DE SOUZA VIANA**

**Jaboticabal - SP**

**2º Semestre de 2022**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

# EFICIÊNCIA DE PRODUTOS BIOLÓGICOS E NATURAL SOBRE FASES DO CICLO BIOLÓGICO DO ÁCARO DA LEPROSE DOS CITROS *Brevipalpus yothersi* EM LABORATÓRIO

**BRUNO RAFAEL DE SOUZA VIANA**

**Orientador: Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade**

**Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, para graduação em ENGENHARIA AGRONÔMICA.**

**Jaboticabal - SP**
**2º Semestre de 2022**

V614e

VIANA, BRUNO RAFAEL DE SOUZA

Eficiência de produtos biológicos e natural sobre fases do ciclo biológico doácaro da leprose dos citros *Brevipalpus yothersi* em laboratório / Bruno Rafael de Souza Viana. -- Jaboticabal, 2022

38 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Engenharia Agronômica) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade deCiências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Daniel Júnior de Andrade

1. Fungos entomopatogênicos. 2.Extratos Vegetais. 3. Citrus leprosis vírus (CiLV). 4. *Beauveriabassiana*. 5. *Isaria javanica*. 6. iS*Metarhizium anisopliae*

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO**

unesp UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL

DEPARTAMENTO: Ciências da produção agrícola

# CERTIFICADO

TRABALHO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

TÍTULO: EFICIÊNCIA DE PRODUTOS BIOLÓGICOS E NATURAL SOBRE FASES DO CICLO BIOLÓGICO DO ÁCARO DA LEPROSE DO CITROS Brevipalpus yothersi EM LABORATÓRIO

ACADÊMICO: BRUNO RAFAEL DE SOUZA VIANA

CURSO: ENGENHARIA AGRONÔMICA

ORIENTADOR: Prof. Dr. DANIEL JÚNIOR DE ANDRADE

BANCA EXAMINADORA:

Presidente Prof. Dr. DANIEL JÚNIOR DE ANDRADE

Membro Profa. Dra. RITA DE CÁSSIA PANIZZI

Membro Dr. PATRICE JACOB SAVI

Jaboticabal 22 / 08 / 2022

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: 24/ 08 / 2022

Chefe do Departamento
Prof. Dr. Leonardo Bianco de Carvalho
Chefe do Depto. de Ciências da Produção Agrícola
FCAV/UNESP

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe Vilma e pai Sebastião, a minha avó Rosalina, as minhas irmãs Patricia e Vilmara e a meu orientador Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade, pois sem eles não teria conseguido desenvolver este trabalho e realizar minha formação acadêmica.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meus pais, Vilma do Nascimento Viana e Sebastião de Souza Viana, por todo apoio, amor, e conselhos durante todo esse período de graduação. As minhas irmãs Patrícia de Souza Viana e Vilma de Souza Lacerda pela confiança e ajuda em todos os momentos difíceis desta jornada.

À banca examinadora, Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade, Dr. Patrice Jacob Savi e Profa. Dra. Rita de Cássia Panizzi, por se dedicarem e contribuírem com o presente trabalho.

À FCAV, aos professores e servidores, por cada ensinamento que contribui diariamente para a educação de todos os estudantes. Aos integrantes do Laboratório de Acarologia (AcaroLab) da FCAV pelas ajudas no laboratório, pela companhia e pelas conversas.

À Dra. Sidnéia Terezinha Soares de Matos por todos os ensinamentos, pelo carinho, incentivo, pelas palavras amigas, pela inspiração e paciência.

Às minhas fiéis companheiras de estudo, Gabriela Almeida, Tatiana Senna e Tauane Guidugli agradeço pela amizade, pelo apoio, por todo carinho e respeito. Aos meus amigos Leonardo Cabrera, Daniel Mandetta, Bruno Zunfrille, Pamela Moraes, Matheus Providello e Leandro Henrique Lieira por proporcionar risadas em momentos difíceis. E um agradecimento mais que especial a família da veterinária Hugo Pontes Gestal e Caroline Plez Pires pelo apoio e carinho em todos os momentos.

Aos amigos e familiares que sempre se fazem presentes na minha vida, apesar da distância física e da correria rotineira. A todos que passaram pela minha vida e contribuíram com a minha jornada até o momento.

# Sumário

RESUMO ..... VII
ABSTRACT ..... VIII
INTRODUÇÃO ..... 1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA ..... 2
**2.1 Citricultura brasileira** ..... 2
**2.2 A leprose dos citros** ..... 3
**2.3 Brevipalpus spp.** ..... 4
**2.4 Manejo biológico do ácaro da leprose dos citros** ..... 5
MATERIAL E MÉTODOS ..... 6
**3.1 Colônia de ácaros Brevipalpus yothersi** ..... 7
**3.2 Feijão-de-porco Canavalia ensiformis (L.) DC** ..... 8
**3.3 Experimentos com adultos, larvas e ninfas de Brevipalpus yothersi** 8
**3.4 Experimento com ovos de Brevipalpus yothersi** ..... 12
**3.5 Análise dos dados** ..... 12
RESULTADOS ..... 13
**4.1 Eficiência dos tratamentos em adultos de Brevipalpus yothersi** ..... 13
**4.2 Eficiência dos tratamentos em ninfas de Brevipalpus yothersi** ..... 16
**4.3 Eficiência dos tratamentos em larvas de Brevipalpus yothersi** ..... 19
**4.4 Eficiência dos tratamentos em ovos de Brevipalpus yothersi** ..... 21
DISCUSSÃO ..... 23
CONCLUSÃO ..... 24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 25

# EFICIÊNCIA DE PRODUTOS BIOLÓGICOS E NATURAL SOBRE FASES DO CICLO BIOLÓGICO DO ÁCARO DA LEPROSE DO CITROS *Brevipalpus yothersi* EM LABORATÓRIO

## RESUMO

A leprose dos citros é uma das principais doenças que afetam a citricultura do país. A doença é causada pelo vírus Citrus leprosis virus (CiLV), que é transmitido e disseminado pelo ácaro da leprose dos citros *Brevipalpus yothersi* Baker. O principal método de controle dessa doença é o controle químico do ácaro-vetor, porém problemas de resistência em pomares são mais frequentes. Portanto, o estudo teve como objetivo avaliar a eficiência de produtos biológicos com base de fungos entomopatogênicos sobre fases de ovos, larva, ninfas e adultos de *Brevipalpus yothersi*. Foram testados 9 tratamentos sendo *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae*; *Isaria javanica* + *Beauveria bassiana*; *Isaria javanica* + *Beauveria bassiana* + RB2022; RB2022; Grupo controle negativo e positivo, água, ciflumetofem e espirodiclofeno. Foram empregados seis repetições por tratamento e avaliações em 1, 3, 5 e 7 dias após aplicação (DAA). Os resultados demonstraram baixa efetividade dos fungos entomopatogênicos na ação sobre os ácaros. O tratamento RB2022 proporcionou o manejo eficiente com altos índices de mortalidade

**Palavras chaves**: Ácaros de plantas; Extratos vegetais; Fungos na agricultura.

# EFFICIENCY OF BIOLOGICAL AND NATURAL PRODUCTS ON THE BIOLOGICAL CYCLE OF THE CITRUS LEPROSIS MITE Brevipalpus yothersi IN THE LABORATORY

## ABSTRACT

Citrus leprosis is one of the main diseases that affect the citrus industry in the country. The disease is caused by the Citrus leprosis virus (CiLV), which is transmitted and spread by the citrus leprosis mite Brevipalpus yothersi Baker. The main method of controlling this disease is the chemical control of the mite-vector, but resistance problems in orchards are more frequent. Therefore, the study aimed to evaluate the efficiency of biological products based on entomopathogenic fungi on the egg, larva, nymph and adult stages of Brevipalpus yothersi. Nine treatments were tested, being Beauveria bassiana + Metarhizium anisopliae; Isaria javanica + Beauveria bassiana; Isaria javanica + Beauveria bassiana + RB2022; RB2022; Negative and positive control groups, water, cyflumetofem and spirodiclofen. Six replications per treatment and evaluations at 1, 3, 5 and 7 days after application (DAA) were used. The results showed low effectiveness of entomopathogenic fungi in the action on mites. The RB2022 treatment provided efficient management with high mortality rates.

## INTRODUÇÃO

Em boletim emitido pelo Fundo de Defesa da Citricultura a estimativa safra de 2022/2023 em São Paulo e triângulo/sudoeste de Minas Gerais será de 316,95 milhões de caixas de 40,8 kg, um aumento da produção de 20,53% em relação a última safra (FUNDECITRUS, 2022a)

Embora a produtividade da citricultura brasileira seja expressiva, alguns fatores interferem em produtividades mais elevadas, tais como pragas e doenças (FERREIRA et al., 2013). Entre as doenças, destaca-se a leprose dos citros, presente em todas as regiões produtoras de citros do País. O agente causal da leprose dos citros no Brasil é o vírus Citrus leprosis virus – tipo citoplasmático (CiLV-C) (BASTIANEL et al., 2010). Os vetores do CiLV- C são ácaros do gênero *Brevipalpus*, pertencentes à família Tenuipalpidae (Acari: Trombidiformes) (MESA et al., 2009).

Ocorreu uma revisão taxonômica do ácaro da leprose dos citros, sendo que a identificação de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes), considerado até 2015 como único vetor da leprose no Brasil, foi revista por Beard et al. (2015), tendo sido agora *Brevipalpus yothersi* Baker (Acari: Tenuipalpidae) reconhecido como o principal vetor do vírus da leprose nos pomares brasileiros (MINEIRO et al., 2015)

O manejo empregado para o controle do ácaro no Brasil é a utilização de acaricidas sintéticos, entretanto, problemas de resistência e redução de eficiência têm sido recorrentes nos pomares brasileiros (ROCHA et al., 2021).

Os ácaros fitófagos em geral possuem diversos inimigos naturais, dos quais se destacam os fungos entomopatogênicos (CHANDLER et al., 2010). Estudos proporcionaram avaliações sobre a efetividade do controle biológico com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill*, Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) para reduzir populações de ácaros (ROSSI-ZALAF 2007). *Beauveria bassiana* e *Metarhizium. anisopliae* em estudos de Rossi-Zalaf (2006) causaram mortalidades do ácaro da leprose de 4 % a 15,7 % respectivamente, demostrando um baixo potencial no manejo desta praga.

É fundamental entender as interações entre o ácaro e os fungos entomopatogênicos para que o manejo destas pragas seja aprimorado evitando aplicações desnecessárias de agrotóxicos, reduzindo resíduos químicos que contaminam o ambiente e aumentam os custos de produção. Dessa forma, o objetivo da pesquisa foi avaliar a eficiência de produtos biológicos e natural sobre fases do ciclo biológico do ácaro da leprose dos citros *Brevipalpus yothersi*.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Citricultura brasileira

O Brasil possui uma área plantada de cerca de 643.996 hectares, enquanto o estado com maior representatividade é São Paulo, responsável por uma área de 412.576 hectares (IBGE, 2021). Na indústria citrícola global, o Brasil é o maior produtor de laranjas com 16,9 milhões de toneladas anualmente (USDA,

2021). O Brasil lidera as exportações mundiais de suco de laranja com 1,2 milhão de toneladas (USDA, 2021). O Norte do Estado de São Paulo e o Triângulo Mineiro são as maiores regiões produtoras de laranja, juntas produziram 262,97 milhões de caixas na safra de 2021/2022 (FUNDECITRUS, 2022b).

Embora o Brasil lidere na produção e exportação de laranja doce, as questões sanitárias também aumentam os custos do manejo sanitário, o que por sua vez limita uma produção ainda maior (BASSANEZI et al., 2019b).

## 2.2 A leprose dos citros

A leprose dos citros ganhou relevância entre as doenças dos citros devido às significativas perdas econômicas e dificuldades no controle do ácaro-vetor (DELLA VECHIA et al., 2018). Segundo Bastianel et al. (2010) a leprose dos citros encontra-se disseminada pelas principais regiões produtoras de citros do Brasil.

O patógeno causador da doença é um vírus, o Citrus leprosis virus, de ação não-sistêmica na planta (PASCON et al., 2006). Nos pomares brasileiros, o vírus prevalente é o Citrus leprosis virus – tipo citoplasmático (CiLV-C), que é o mais agressivo às plantas (BASTIANEL et al., 2010).

Os sintomas de CiLV-C em frutos cítricas são lesões circulares com diâmetros entre 5 a 12 mm, que inicialmente são de cor marrom, mas com o tempo tornam-se necróticas e circundadas por um halo amarelado visível mais facilmente em frutos verdes (BASTIANEL et al., 2006). As lesões nos ramos são incialmente caracterizadas por lesões de coloração marrom e com a

evolução dos sintomas estas lesões tornam-se corticosas, salientes, acinzentadas ou avermelhadas (BASSANEZI, 2018). Em folhas, surgem manchas cloróticas com 2 ou 3 mm de diâmetro, lisas ou salientes, com ou sem centro necrótico (BASTIANEL et al., 2010). A leprose dos citros ainda provoca seca de ramos e causa queda prematura de frutos (ANDRADE et al., 2010). Plantas que apresentam estes sintomas diminuem sua produtividade e sua longevidade (RODRIGUES, 2000)

**2.3 Brevipalpus spp.**

Mais de 300 espécies de ácaros estão incluídas no gênero *Brevipalpus* (Acari: Tenuipalpidae), das quais cinco têm sido associadas à transmissão de vírus da leprose dos citros (MESA et al., 2009). Até 2015, a espécie *Brevipalpus phoenicis* era considerada a única espécie vetora do vírus da leprose dos citros no Brasil. Contudo, após uma reavaliação de suas características moleculares e morfológicas, foi verificado que *Brevipalpus phoenicis* tratava-se de um complexo de espécies crípticas (NAVIA et al., 2013; BEARD et al., 2015). A partir desta revisão e de levantamentos populacionais foi comprovado que na verdade a espécie *B. yothersi* é a responsável pela transmissão do vírus da leprose (CiLV-C) nos pomares de citros do estado de São Paulo (MINEIRO et al., 2015; TASSI et al., 2017).

O ciclo biológico de *Brevipalpus yothersi* é composto pelas fases de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adultos. Entretanto, ocorrem os períodos imóveis ou quiescentes entre as fases denominadas de protocrisálida, deutocrisálida e teliocrisálida entre cada instar (AMARAL et al., 2018). Ainda, segundo Amaral

(2018) o estágio imaturo (ovo a adulto) dura cerca de 23 dias e o tempo de oviposição dura cerca de 16 dias.

O ácaro pode adquirir e disseminar o vírus CiLV-C em qualquer fase móvel, após alimentar-se de áreas infectadas, uma vez que não há transmissão transovariana do vírus (CHIAVEGATO, 1996).

## 2.4 Manejo biológico do ácaro da leprose dos citros

Atualmente, diversos acaricidas sintéticos são registrado junto ao Ministério da Agricultura (MAPA) do Brasil para o controle do ácaro da leprose (AGROFIT, 2021). No entanto, na prática, a maioria dos acaricidas não tem sido utilizada devido à redução de eficiência e/ou presença de populações de ácaros resistentes (ROCHA et al., 2021).

Em busca de métodos alternativos, o controle biológico através de fungos entomopatogênicos é uma estratégia que vem sendo utilizada no manejo integrado de pragas (VAN DER GEEST et al., 2000). Outro benefício é que esses entomopatogênicos não diferenciam ácaros resistentes, ou seja, contribui na eliminação da praga com amplo espectro (ALVES et al., 1998).

Rossi-Zalaf (2006) em seu estudo que analisou dezesseis isolados de *Beauveria bassiana* e dezoito de *Metarhizium anisopliae* com o objetivo de avaliar a mortalidade sobre adultos de *Brevipalpus phoenix*, proporcionou resultados onde os fungos entomopatogênicos não alcançaram grande taxa de mortalidade. No terceiro dia após aplicação (DAA) *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* obtiveram 2 e 10,4 porcento de mortalidade respectivamente. Cenário semelhante ao 6 DAA com 3,9 de mortalidade para

B*eauveria* bassiana e 15,7 para *Metarhizium* anisopliae. Os isolados 1104, 1203 e 1204 de *Metarhizium* anisopliae, assim como o isolado 447 de B. bassiana apresentaram os resultados mais expressivos dentro desta pesquisa.

Albuquerque (et al,. 2008) avaliou a patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* sobre adultos de *B. phoenicis* durante 11 dias após a aplicação dos tratamentos pulverizados em concentração aquosa de 2,27x10^6, os resultados demonstraram uma baixa efetividade na mortalidade do ácaro, sendo 2,25 a maior média de mortalidade dos ácaros, não diferindo da testemunha neste experimento.

Vázquez-Benito realizou avaliações com isolados monospóricos Bb88 (*Beauveria bassiana*), Ma129 (*Metarhizium anisopliae*) em suspensões de conídios ($1 \times 10^8$ conídios mL - 1), para avaliar a ação destes fungos enteropatogênicos em adultos de *Brevipalpus yothersi. Em seu estudo* realizou a pulverização de cinco ml da suspensão e a mortalidade foi registrada a cada 24 h durante sete dias. A maior mortalidade constatada nos adultos foram os isolados Bb88 (*B. bassiana*) e Ma129 (*M. anisopliae*) com 70 e 78 por cento de mortalidade. No estudo realizado por Wei-Bing Shi (2004) com o objetivo de analisar o efeito letal dos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* sobre ovos, foi observado que os isolados de *Metarhizium anisopliae* (Ma759 e Ma2175) e o isolado de *B. bassiana* (Bb2860) proporcionaram maior mortalidade a fase de desenvolvimento estudada.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Acarologia (AcaroLab) do Departamento de Ciências da Produção Agrícola (setor de Fitossanidade), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da FCAV/UNESP.

### 3.1 Colônia de ácaros Brevipalpus yothersi

Os ácaros *Brevipalpus yothersi* utilizados nos experimentos foram provenientes de uma criação-estoque mantida por diversas gerações em laboratório. A criação foi mantida em frutos de laranja doce (*Citrus sinensis* L.), parcialmente parafinados e com uma área desprovida da cera, que foi circundada por cola entomológica (Cola Tatoo®, Isca Tecnologias, Ijuí, RS, Brasil). A criação foi mantida em uma sala climatizada a 25 ± 2°C, umidade relativa de 70 ±10% e fotoperíodo de 12 horas de luz/ escuro.

A manutenção da criação ocorria periodicamente, realizando-se a substituição de frutos velhos por frutos novos. Quando a mudança era necessária realizava-se o contato direto entre as superfícies dos frutos para que o ácaro pudesse migrar do fruto velho para o fruto novo (Figura 1).

**Figura 1:** Contato direto entre as superfícies dos frutos de laranja doce (*Citrus sinensis*) para migração dos ácaros e a substituição de frutos velhos. Fruto novo a esquerda e fruto velho a direita.

### 3.2 Feijão-de-porco Canavalia ensiformis (L.) DC

Para realização do experimento, feijão-de-porco (Canavalia ensiformis)(L.) DC foi cultivado em casa de vegetação. As sementes foram plantadas em vasos de 4 L, sendo depositados 2 sementes por recipiente. O substrato de plantio foi composto por uma mistura de terra, areia e esterco bovino curtido na proporção de 2:1:1 respectivamente. As plantas foram irrigadas diariamente até a sua capacidade de campo.

Para o experimento, foram retiradas folhas da parte basal da planta em estágio fenológico reprodutivo, R5 e R6.

### 3.3 Experimentos com adultos, larvas e ninfas de Brevipalpus yothersi

Foram realizados três experimentos para avaliar a ação dos fungos entomopatogênicos sobre adultos, larvas e ninfas (protoninfas + deutoninfas) de *Brevipalpus yothersi*. Os tratamentos avaliados encontram-se descritos na Tabela 1. Os produtos testados foram: *Beauveria bassiana*, Isolado IBCB 66 e *Metarhizium anisopliae*, Isolado IBCB 425 (Bometil®, Ballagro Agro Tecnologia Ltda.); RB2022 (Ballagro Agro Tecnologia Ltda.); *Beauveria bassiana* $1x10^8$ UFC/g do produto *e Isaria Javanica* $1x10^8$ (Celbit®, Ballagro Agro Tecnologia Ltda.).

**Tabela 1.** Descrição dos tratamentos utilizados nos experimentos com ovos, larvas, ninfas e adultos de *Brevipalpus yothersi* em laboratório. Jaboticabal, 2022.

| **Tratamentos** | **Produtos comerciais ou em desenvolvimento** | **Concentrações (g ou mL /100 L de água)** |
|---|---|---|
| 1. Testemunha (água deionizada) | - | - |
| 2. *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* | Bometil | 15 |
| 3. *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* | Bometil | 30 |
| 4. *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* | Bometil | 100 |
| 5. *Isaria javanica* + *Beauveria bassiana* | Celtic | 15 |
| 6. *Isaria javanica* + *Beauveria bassiana* + RB2022* | Celtic + RB2022* | 15 + 50 |
| 7. *Isaria javanica* + *Beauveria bassiana* | Celtic | 30 |
| RB2022* | RB2022* | 50 |
| Ciflumetofem** e Espirodiclofeno*** | Obny e Envidor | 1 e 2 |

*RB2022: inseticida e acaricida natural + fertilizante mineral misto
**Ciflumetofem (Obny® 200 SC, UPL) utilizado nos experimentos de avaliação do efeito larvicida, ninficida e adulticida.
***Espirodiclofeno (Envidor® 240 SC, Gowan) utilizado no experimento de avaliação do efeito ovicida.

Pra preparação do experimento, folhas de feijão-de-porco *Canavalia ensiformis* (L.) DC foram dispostas com a face abaxial voltada para cima em placas de Petri de 15 cm de diâmetro, cada uma com uma espuma úmida. As folhas foram circundadas de algodão hidrófilo umedecido para formar uma camada protetora que manteve a turgidez do material vegetal. Seis arenas de 5 cm de diâmetro foram demarcadas com cola entomológica com o propósito de evitar a fuga do ácaro para o algodão umedecido (Cola Tatoo®, Isca Tecnologias, Ijuí, Rio Grande do Sul, Brasil) (Figura 2).

**Figura 2:** Modelo de folha de feijão-de-porco utilizada nos experimentos com *Brevipalpus yothersi* contendo seis repetições.

Para a avaliação sobre as fases móveis foi utilizado o método de contato-residual. Os discos foliares foram pulverizados com 2 mL de solução com auxílio de uma torre de Potter calibrada a 4lbf/pol2 (Figura 3). Após a pulverização, foram transferidos 15 ácaros de *Brevipalpus yothersi* da fase de desenvolvimento em estudo para cada repetição, com auxílio de um pincel de um pelo e microscópio estereoscópico (Figura 4).

**Figura 3**: Micropulverizador tipo Torre de Potter utilizado para aplicação dos tratamentos nos experimentos de avaliação de produtos biológicos e naturais no controle do ácaro da leprose dos citros *Brevipalpus yothersi*.

**Figura 4:** Detalhes da transferência de ácaros *Brevipalpus yothersi* para as unidades experimentais em folha de feijão-de-porco.

Foram utilizadas seis repetições para cada tratamento. As avaliações foram realizadas 1, 3, 5 e 7 dias após as aplicações. O número de ácaros mortos, vivos e presos na barreira física (cola) foi contabilizado com auxílio de microscópio estereoscópio.

### 3.4 Experimento com ovos de Brevipalpus yothersi

Nos experimentos de ação sobre ovos, o método utilizado foi o de contato direto. Foram avaliados os tratamentos descritos na Tabela 1 (exceto o tratamento 4). Para cada unidade experimental (arenas em folhas de feijão-de-porco) foram transferidas 15 fêmeas de *Brevipalpus yothersi* que permaneceram durante 48 horas para oviposição. Após este período, as fêmeas foram removidas deixando em média 15 ovos por repetição. Em seguida, os produtos foram aplicados sobre os ovos com auxílio de um micropulverizador tipo Torre de Potter (Figura 3), calibrada a 4lbf/pol2, aplicando-se 2 mL de calda por disco foliar. Após as aplicações, as placas foram mantidas nas mesmas condições descritas anteriormente.

Foram utilizadas seis repetições para cada tratamento. Foi realizada uma avaliação do número de larvas eclodidas aos 10 dias após as aplicações dos tratamentos, e a porcentagem de mortalidade foi calculada a partir do número de ovos não eclodidos.

### 3.5 Análise dos dados

Todos os experimentos foram realizados em delineamento experimental inteiramente casualizado. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de variância (ANOVA), comparando-se as médias pelo teste de Tukey a 5% de significância com o auxílio do programa AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO JÚNIOR, 2015). A redução real ou a eficiência foi calculada pela fórmula de

Abbott (1925) descrita abaixo, tomando-se por base a população de ácaros vivos de cada tratamento e transformados em porcentagem de sobrevivência.

$$\mathbf{Mc(\%) = \frac{\%Mo - \%Mt \times 100}{100 - \%Mt},}$$

Mc = Mortalidade corrigida

Mo = Mortalidade observada

Mt = Mortalidade na testemunha

## RESULTADOS

### 4.1 Eficiência dos tratamentos em adultos de Brevipalpus yothersi

Os ácaros expostos aos tratamentos de *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* nas diferentes dosagens proporcionaram mortalidade inferior a 5% em todos os dias de avaliação, não diferindo entre si (Tabela 2).

Os tratamentos de *Isaria javanica* + *Beauveria* não apresentaram diferença significativa, obtendo sua maior eficiência na avaliação realizado no 7 DAA (dias após aplicação) com 7,6 % e 8,1 %, respectivamente. Porém os mesmos fungos associados com o RB2022 (inseticida e acaricida natural + fertilizante mineral misto) atingiram 97,7 % de eficiência ao final do experimento, não diferindo dos tratamentos RB2022 e ciflumetofem. De forma isolada o RB2022 obteve eficácia total (Figura 5). Ciflumetofem ocasionou

100% no primeiro dia após a aplicação (DAA), diferindo dos demais tratamentos já nas avaliações realizados no 1 DAA.

**Tabela 2**. Eficiência (%) dos tratamentos no controle de adultos de ácaro da leprose dos citros *Brevipalpus yothersi*

| TRATAMENTOS | Concentrações (g ou mL /100 L de água) | Eficiência | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1DAA*** | 3DAA | 5DAA | 7DAA |
| *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* | 15 | 0,0 c | 0,0 c | 1,0 b | 4,2 b |
| *B. bassiana* + *M. anisopliae* | 30 | 2,2 c | 2,2 c | 2,8 b | 3,8 b |
| *B. bassiana* + *M. anisopliae* | 100 | 0,0 c | 2,2 c | 1,8 b | 1,8 b |
| *Isaria javanica* + *Beauveria* | 15 | 2,2 c | 4,4 c | 5,9 b | 7,6 b |
| *Isaria javanica* + *Beauveria* + RB2022* | 15 + 50 | 13,3 b | 80,0 b | 96,0 a | 97,7 a |
| *Isaria javanica* + *Beauveria* | 30 | 3,3 c | 4,4 c | 5,9 b | 8,1 b |
| RB2022* | 50 | 7,6 bc | 100,0 a | 100,0 a | 100,0 a |
| Ciflumetofem** | 1 | 100,0 a | 100,0 a | 100,00 a | 100,0 a |
| TESTE F | | 264,17** | 178,42** | 829,27** | 779,86** |
| C.V. (%) | | 32,0 | 23,6 | 10,7 | 10,5 |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*RB2022: inseticida e acaricida natural + fertilizante mineral misto

**Ciflumetofem (Obny® 200 SC, UPL) utilizado nos experimentos de avaliação do efeito larvicida, ninficida e adulticida.

*** Dias após aplicação (DAA)

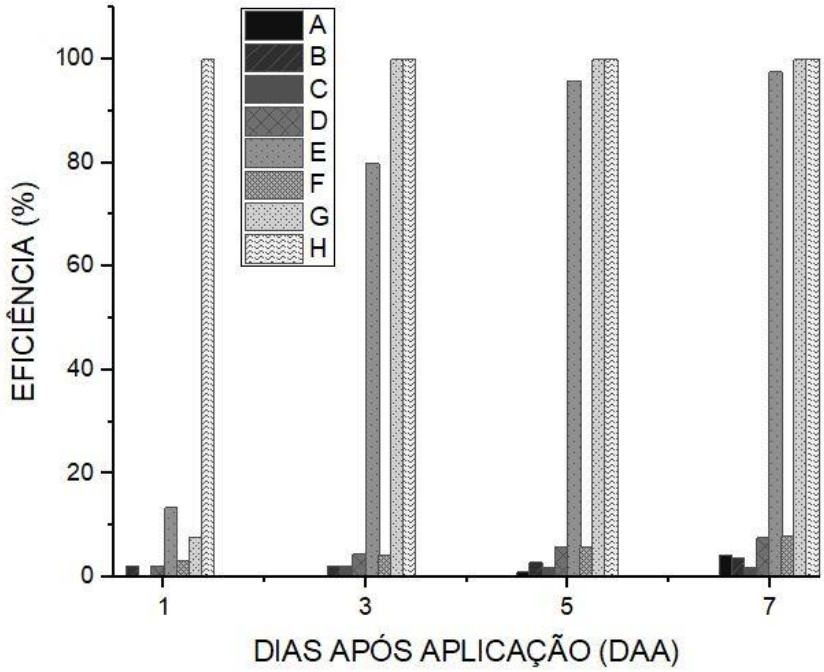


**Figura 5**. Eficiência (%) dos tratamentos no controle de adultos de ácaro da leprose *Brevipalpus yothersi*. **(A)** *Beauveuria. bassiana* + *Metarhizium. anisopliae* **(B)** *Beauveuria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* **(C)** *Beauveuria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* **(D)** *Isaria javanica* + *Beauveria bassiana* **(E)** *Isaria javanica* + *Beauveria bassiana* + RB2022 **(F)** *Isaria javanica* + *Beauveria* bassiana **(G)** RB2022 **(H)** Ciflumetofem

## 4.2 Eficiência dos tratamentos em ninfas de Brevipalpus yothersi

O efeito da combinação de *Isaria javanica* + *Beauveria* + RB2022 (inseticida e acaricida natural + fertilizante mineral misto) atingiu novamente resultados expressivos com 100% de eficiência no terceiro dia de avaliação,

não diferindo do produto químico Ciflumetofem e nem da avaliação do RB2022 de forma isoladamente onde apresentou novamente índices elevados de eficácia (Tabela 3).

As dosagens de *B. bassiana* + *M. anisopliae* apresentaram efeitos insatisfatórios sendo o maior índice de efetividade de 13,0% ao final da avalição. Porém a combinação dos fungos *Isaria javanica* + *Beauveria* neste bioensaio apresentaram níveis de eficiência melhores em comparação com a ação sobre adultos, chegando a mais de 49% de efetividade, diferindo das dosagens de *B. bassiana* + *M. anisopliae* (Figura 6).

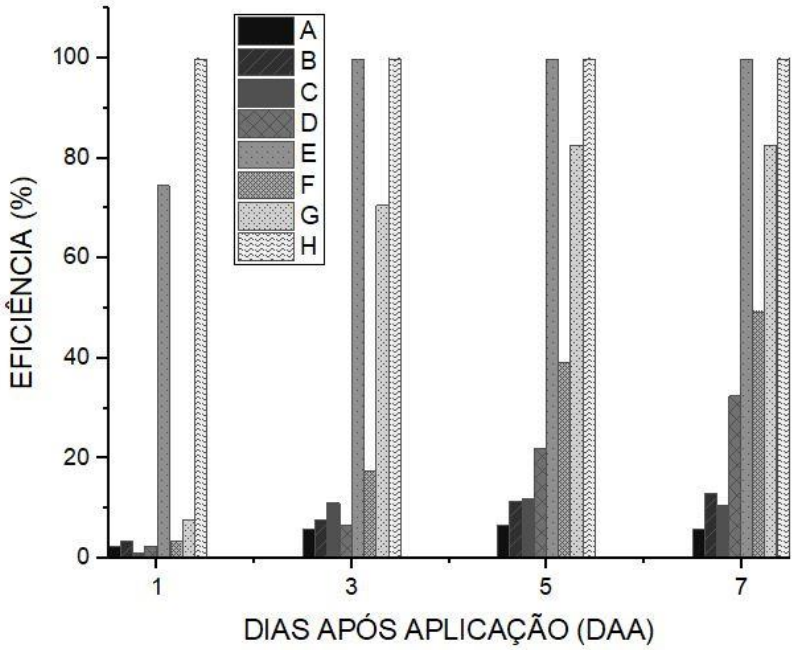


**Figura 6.** Eficiência (%) dos tratamentos no controle de adultos de ácaro da leprose *Brevipalpus yothersi*. **(A)** *Beauveuria. bassiana* + *Metarhizium. anisopliae* **(B)** *Beauveuria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* **(C)** *Beauveuria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* **(D)** *Isaria javanica* + *Beauveria bassiana* **(E)** *Isaria javanica* + *Beauveria bassiana* + RB2022 **(F)** *Isaria javanica* + *Beauveria* bassiana **(G)** RB2022 (H) Ciflumetofem

**Tabela 3**. Eficiência (%) dos tratamentos no controle de ninfas do ácaro da leprose dos citros *Brevipalpus yothersi*.

| TRATAMENTOS | Concentrações (g ou mL /100 L de água) | Eficiência (%) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 DAA*** | 3 DAA | 5 DAA | 7 DAA |
| *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* | 15 | 2,4 c | 5,7 c | 6,6 c | 5,9 d |
| *B. bassiana* + *M. anisopliae* | 30 | 3,4 c | 7,6 c | 11,5 c | 13,0 cd |
| *B. bassiana* + *M. anisopliae* | 100 | 1,1 c | 11,4 c | 11,8 c | 10,7 cd |
| *Isaria javanica* + *Beauveria* | 15 | 2,4 c | 6,5 c | 22,0 bc | 32,4 bc |
| *Isaria javanica* + *Beauveria* + RB2022* | 15 + 50 | 74,6 b | 100,0 a | 100,0 a | 100,0 a |
| *Isaria javanica* + *Beauveria* | 30 | 3,3 c | 17,3 c | 39,3 b | 49,5 b |
| RB2022* | 50 | 7,4 c | 70,6 b | 82,7 a | 82,5 a |
| Ciflumetofem** | 1 | 100,0 a | 100,0 a | 100,00 a | 100,0 a |
| TESTE F | | 151,36** | 92,73** | 81,89** | 57,13** |
| C.V. (%) | | 32,2 | 27,2 | 23,6 | 26,5 |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*RB2022: inseticida e acaricida natural + fertilizante mineral misto

**Ciflumetofem (Obny® 200 SC, UPL) utilizado nos experimentos de avaliação do efeito larvicida, ninficida e adulticida.

*** Dias após aplicação (DAA)

### 4.3 Eficiência dos tratamentos em larvas de Brevipalpus yothersi

No bioensaio realizado para avaliar a ação sobre larvas houve diferença na efetividade entre os produtos Ciflumetofem e RB2022 (inseticida e acaricida natural + fertilizante mineral misto) ao final da avaliação pela primeira vez no estudo, sendo a diferença de 37.1 %, diferindo entre si. Os cinco tratamentos de composição de fungos não proporcionaram os resultados esperados, sendo a que *B. bassiana* + *M. anisopliae* e *Isaria javanica* + *Beauveria* apresentaram 22,4 e 35,6 respectivamente como maiores porcentagem de efetividade (Tablea 4).

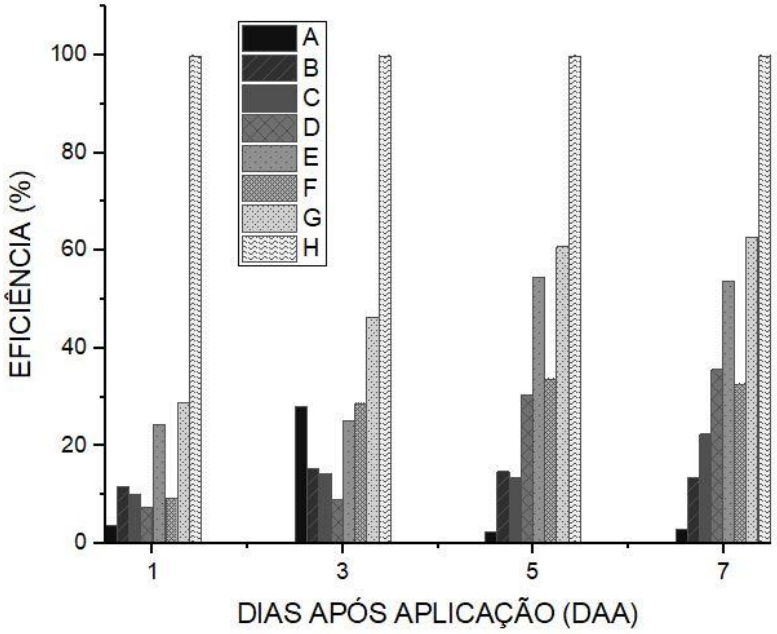


**Figura 7**. Eficiência (%) dos tratamentos no controle de adultos de ácaro da leprose *Brevipalpus yothersi*. **(A)** *Beauveuria. bassiana* + *Metarhizium. anisopliae* **(B)** *Beauveuria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* **(C)** *Beauveuria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* **(D)** *Isaria javanica* + *Beauveria bassiana* **(E)** *Isaria javanica* + *Beauveria bassiana* + RB2022 **(F)** *Isaria javanica* + *Beauveria* bassiana **(G)** RB2022 **(H)** Ciflumetofem

**Tabela 4**. Eficiência (%) dos tratamentos no controle de larvas do ácaro da leprose dos citros *Brevipalpus yothersi*

| TRATAMENTOS | Concentrações (g ou mL /100 L de água) | Eficiência | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1DAA*** | 3DAA | 5DAA | 7DAA |
| *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* | 15 | 3,6 d | 2,8 e | 2,5 e | 2,8 f |
| *B. bassiana* + *M. anisopliae* | 30 | 11,6 bcd | 15,2 cde | 14,7 de | 13,6 ef |
| *B. bassiana* + *M. anisopliae* | 100 | 10,0 bcd | 14,3 cde | 13,6 e | 22,4 def |
| *Isaria javanica* + *Beauveria* | 15 | 7,3 cd | 8,9 de | 30,3 cd | 35,6 cd |
| *Isaria javanica* + *Beauveria* + RB2022* | 15 + 50 | 24,3 bc | 25,1 cd | 54,7 b | 53,9 bc |
| *Isaria javanica* + *Beauveria* | 30 | 9,2 cd | 28,9 c | 34,0 c | 32,9 de |
| RB2022* | 50 | 28,9 b | 46,43 b | 60,9 b | 62,9 b |
| Ciflumetofem** | 1 | 100,0 a | 100,0 a | 100,00 a | 100,0 a |
| TESTE F | | 56,95** | 72,77** | 83,21** | 57,14** |
| C.V. (%) | | 42,1 | 29,6 | 22,0 | 24,8 |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*RB2022: inseticida e acaricida natural + fertilizante mineral misto

**Ciflumetofem (Obny® 200 SC, UPL) utilizado nos experimentos de avaliação do efeito larvicida, ninficida e adulticida.

*** Dias após aplicação (DAA)

.

### 4.4 Eficiência dos tratamentos em ovos de Brevipalpus yothersi

Assim como observados nos demais ensaios o produto químico do grupo de controle proporcionou 100% de eficiência, diferindo dos demais. O fato novo do bioensaio sobre ovos é a ineficácia de todos os tratamentos propostos, sendo que nenhum ultrapassou a efetividade de 10%, sendo assim, nenhum dos tratamentos diferiram entre si (Tabela 5).

**Tabela 5**. Eficiência (%) dos tratamentos no controle de ovos do ácaro da leprose dos citros *Brevipalpus yothersi*

| **TRATAMENTOS** | **Concentrações (g ou mL /100 L de água)** | **Eficiência (10 DAA***)** |
|---|---|---|
| *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* | 300 | 3,7 b |
| *B. bassiana* + *M. anisopliae* | 600 | 0 b |
| *Isaria javanica* + *Beauveria* | 300 | 2,3 b |
| *Isaria javanica* + *Beauveria* + RB2022* | 300 + 1000 | 9,26 b |
| *Isaria javanica* + *Beauveria* | 600 | 0 b |
| RB2022* | 1000 | 2,3 b |
| Espirodiclofeno** | 20 | 100 a |
| TESTE F | | 85,52** |
| C.V (%) | | 57,97 |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*RB2022: inseticida e acaricida natural + fertilizante mineral misto

**Ciflumetofem (Obny® 200 SC, UPL) utilizado nos experimentos de avaliação do efeito larvicida, ninficida e adulticida.

*** Dias após aplicação (DAA)

## DISCUSSÃO

A pesquisa realizada é o primeiro estudo sobre o uso combinado de *Isaria javanica* + *Beauveria bassiana* e agentes fúngicos com RB2022 para o controle biológico de *Brevipalpus yothersi*. Nos resultados, foi demonstrado que todos os microbiológicos avaliados e suas respectivas concentrações não obtiveram a eficiência esperada sobre as fases moveis e a fase imóvel do ácaro, exceto para as testagens envolvendo o RB2022.

Os fungos entomopatogênico *Beauveria bassiana, Isaria javanica e Metarhizium anisopliae* não apresentaram um potencial como agente de controle biológico combinados, porém com a adição do RB2022 a eficácia de controle do ácaro da leprose foi potencializado, chegando a valores relevantes.

Os tratamentos envolvendo *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* apresentaram índices de baixa mortalidade nas concentrações testadas. O efeito negativo sobre o controle de *Brevipalpus. yothersi* provavelmente se deve a mecanismo de resistência ou mecanismos biológicos não identificados. Rossi-Zalaf (2006) observou mortalidades semelhante ao deste estudo, os isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* utilizado em seus estudos apresentaram 4 e 15,7 % de mortalidade na fase adulta do ácaro. Albuquerque (et al 2000) demostrou a baixa efetividade do fungo entomopagênico *Metarhizium anisopliae* em adultos do ácaro, em seu estudo 2,25 foi a maior média de mortalidade dos ácaros.

Bioensaios com *Isaria javanica* + *Beauveria bassiana* apresentaram resultados semelhantes a combinação de *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae*, exceto quando combinada ao RB2022.

Todos os tratamentos realizados para fases moveis do ácaro, o tratamento com RB2022 isoladamente ou em combinação possuiu uma efetividade extremamente alta. Sendo um produto em desenvolvimento as análises de efetividade de mortalidade sobre pragas, devem ser analisadas em amplos aspectos. Isso sugere que, os extratos contidos nesse material devem ser analisados e avaliados isoladamente para a detecção do constituinte que levou a alta eficiência, como demostrado no estudo, além de testes experimentais em casas de vegetação e posteriormente a campo.

Por fim, é essencial que novos estudos sejam realizados para o desenvolvimento de novos produtos biológicos, que surgiram no mercado como uma alternativa de utilização para o manejo integrado de pragas.

## CONCLUSÃO

Em conclusão, os produtos biológicos não ocasionaram a eficiência esperada para o controle de *Brevipalpus yothersi*. O produto RB2022 proporcionou altos índices de mortalidade, apresentando características interessantes para o controle do ácaro da leprose dos citros

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT WS (1925). A method of computing the effectiveness of an inseticide. **Journal Economic Entomology** 18: 265-267.

AGROFIT. (2021) Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/SDA.**

ALBUQUERQUE F A, ARANTES AMVT, CORREIA ACB (2008). Patogenicidade de fungos para o ácaro da leprose (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 22: 969-971.

ALVES SB (1998). Fungos entomopatogênicos. **Controle microbiano de insetos** 4: 289-382.

BASSANEZI RB (2018). Manual de Leprose dos Citros: Medidas essenciais**.** **Fundecitrus** 2:20.

AMARAL I, MORAES GJ, MELVILLE CC, ANDRADE DJ (2018). Factors affecting prevailing populations levels of Brevipalpus yothersi (Acari: Tenuipalpidae) in citrus areas affected by citrus leprosis in the State of São Paulo, Brazil. **Experimental and Applied Acarology** 74:395–402.

ANDRADE DJ, OLIVEIRA CAL, PATTARO FC, SIQUEIRA DS (2010). Acaricidas utilizados na citricultura convencional e orgânica: manejo da leprose e populações de ácaros fitoseídeos. **Revista Brasileira de Fruticultura** 32:1028-1037.

BARBOSA JC, MALDONADO JW (2015). AgroEstat - sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos. **Jaboticabal: FCAV/UNESP**. 396p.

BASSANEZ RB, CZERMAINSKI ABC, LARANJEIRA FF, MOREIRA AS, RIBEIRO PJ, KRAINSKI ET, AMORIM L (2019). Spatial patterns of the Citrus leprosis virus and its associated mite vector in systems without intervention. **Plant Pathology** 68:85-93.

BASTIANEL M, FREITAS-ASTÚA J, KITAJIMA EW, MACHADO MA (2006). The citrus leprosis pathosystem. **Summa Phytopathologica** 32:211-220.

BASTIANEL M, NOVELLI VM, KITAJIMA EW, KUBO KS, BASSANEZI RB, MACHADO MA, FREITAS-ASTÚA J (2010). Citrus Leprosis: Centennial of an Unusual Mite Virus Pathosystem. **Plant Disease** 94: 284- 292.

BEARD JJ, OCHOA R, BRASWELL WE, BAUCHAN GR (2015). Brevipalpus phoenicis (Geijskes) species complex (Acari: Tenuipalpidae) — a closer look. **Zootaxa** 3944: 1-67.

CHANDLER D, DAVIDSON G, PELL KJ, BALL VB, SHAW K, SUNDERLAND DK (2010). Fungal Biocontrol of Acari. **Biocontrol Science and Technology** 10: 357-384.

CHIAVEGATO L G (1996). Aspectos biológicos e transmissão de leprose pelo ácaro Brevipalpus phoenicis (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) em citros. **Laranja** 17: 229-235.

DELLA VECHIA JF, FERREIRA MC, ANDRADE DJ (2018). Interaction of spirodiclofen with insecticides for the control of Brevipalpus yothersi in citrus. **Pest Management Science** 74:2.438-2.443.

FAWCETT HS (1911). Scaly bark or nail-head rust of citrus. **Agricultural Experimental Station Bulletin** 106: 41.

FERREIRA CRRT, CAMARGO MLB, VEGRO CLR (2013). Defensivos Agrícolas: vendas batem novo recorde em 2012 e segue em ritmo forte em 2013. Análises e Indicadores do Agronegócio. **Intituto de Economia Agrícola - IEA**, 8.

FUNDECITRUS (a) (2022). Estimativa da safra de laranja 2022/2023 do parque agrícola de São Paulo e triângulo/soedoeste mineiro. **Fundecitrus**, 2022.

FUNDECITRUS (b) (2022). Reestimativa da safra de laranja 2021/22 do cinturão citrícola de São Paulo e Triangulo/Sudoeste Mineiro. Fundecitrus, 2022.

FREITAS GS, VANESSA AL, LUIS OVJ, FRANCISCO JS, ADRIANO SR, ADENIR VT (2021). The potential of Beauveria bassiana to control Raoiella indica (Acari: Tenuipalpidae) and its compatibility with predatory mites. **Crop Protection** 149

GEEST LPVD (2002). Novos registros de fungos patogênicos em ácaros (Arachnida: Acari) do Brasil. **Entomologia Neotropical** 31: 493-495.

GEIJSKES DC (1939). Beitäge zur kenntnis der europäischen spinnmilben (Acari, Tetranychidae), mit bensonderer berücktigung der Niederländischen arten. **Mededeelingen van de Landbouwboogeschool** 42: 1-68.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2021a) **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**.

MESA NC, OCHOA R, WELBOURN WC, EVANS GA, MORAES GJ (2009). A catalog of the tenuipalpid (Acari) of the world with a key to genera. **Zootaxa** 2098: 1-185

MINEIRO JLC, SATO ME, NOVELLI VM, ANDRADE DJ (2015). Distribuição de Brevipalpus yothersi Baker, 1949 (Acari: Tenuipalpidae) em diferentes hospedeiras e localidades no estado de São Paulo. **28a Reunião Anual do Instituto Biológico**.

NAVIA D, MENDONÇA RS, FERRAGUT F, MIRANDA LC, TRINCADO RC, MICHAUX J, NAVAJAS M (2013). Cryptic diversity in Brevipalpus mites (Tenuipalpidae). **Zoologica Scripta** 42: 406-426.

PASCON RC, KITAJIMA JP, BRETON MC, ASSUMPÇÃO L, GREGGIO C, ZANCA AS, OKURA VK, ALEGRIA MC, CAMARGO ME, SILVA GGC, CARDOZO JC, VALLIM MA, FRANCO SF, SILVA VH, JORDÃO JH, OLIVEIRA F, GIACHETTO PF, FERRARI F, AGUILAR-VILDOSO CI, FRANCHISCINI FJB, SILVA JMF, ARRUDA P, FERRO JA, REINACH F, SILVA ACR (2006). The complete nucleotide sequence and genomic organization of citrus leprosis associated virus, cytoplasmatic type (CiLV-C). **Virus Genes** 32: 289-298.

ROCHA C et al. (2021). Resistance to spirodiclofen in Brevipalpus yothersi (Acari:Tenuipalpidae) from Brazilian citrus groves: detection, monitoring, and population performance. **Pest Management Science** 1-8.

RODRIGUES JCV (2000). Relações patógeno-vetor-planta no sistema leprose dos citros. **Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba**.

ROSSI LS (2002). Seleção de fungos entomopatogênicos e infecção de Hirsutella sp. em Brevipalpus phoenicis (Geijskes, 1939). **Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.**

ROSSI-ZALAF LS, Alves SB (2006). Suscetibilidade de Brevipalpus phoenicis a fungos entomopatogênicos. **Exp Appl Acarol** 40: 37-47.

ROSSI-ZALAF LS (2007). Controle microbiano de Brevipalpus phoenicis (Geijskes, 1939) com Hirsutella thompsonii Fisher. **Dissertação (Doutarado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba**.

ROY A, HARTUNG JS, SCHNEIDER WL, SHAO J, LEÓN MG, MELZER MJ, BEARD JJ, OTERO-COLINA G, BAUCHAN GR, OCHOA R, BRLANSKY RH (2015). Role bending: complex relationships between viruses, host and vectores related to citrus leprosies, an emerging disease. **Phytopathology** 105: 1013-1025.

TASSI AD, GARITA-SALAZAR LC, AMORIM L, NOVELLI VM, FREITAS-ASTÚA J, CHILDERS CC, KITAJIMA EW (2017). Virus vector relationship in the citrus leprosis pathosystem. **Experimental and Applied Acarology** 71: 227-241.

USDA (2021) Citrus: World Markets and trade. **United States Department of Agriculture**. Disponível em: < https://www.fas.usda.gov/data/citrus-world-markets-and-trade>. Acesso em: 27 jun. 2022.

Vázquez-Benito JA, Santillán-Galicia T, Guzmán-Franco AW, Hernández-Domínguez C, Romero-Rosales F, Ortiz-Osuna A, Rodríguez-Maciel JC (2022).Combined application of predatory mites and fungal pathogens for biological control of Brevipalpus yothersi (Acari: Tenuipalpidae) under laboratory conditions. **Biological Control** 167.

WEI-BING SHI, MING-GUANG FENG (2004). Lethal effect of Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae, and Paecilomyces fumosoroseus on the eggs of Tetranychus cinnabarinus (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. **Biological Control** 30: 165-173.