

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 17/04/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**NÍVEIS DE RESISTÊNCIA A ACARICIDAS EM
POPULAÇÕES DE CAMPO DE *Brevipalpus yothersi*
(ACARI: TENUIPALPIDAE) DO CINTURÃO CITRÍCOLA DO
BRASIL: CARACTERIZAÇÃO, MONITORAMENTO,
DESEMPENHO POPULACIONAL E VARIAÇÃO GENÉTICA**

Hector Alonso Escobar Garcia

Mestre em Sanidade e Produção Vegetal

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**NÍVEIS DE RESISTÊNCIA A ACARICIDAS EM
POPULAÇÕES DE CAMPO DE *Brevipalpus yothersi*
(ACARI: TENUIPALPIDAE) DO CINTURÃO CITRÍCOLA DO
BRASIL: CARACTERIZAÇÃO, MONITORAMENTO,
DESEMPENHO POPULACIONAL E VARIAÇÃO GENÉTICA**

Hector Alonso Escobar Garcia

Orientador: Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade

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

E74n

Escobar-Garcia, Hector Alonso

Níveis de resistência a acaricidas em populações de campo de *Brevipalpus yotheri* (Acari: Tenuipalpidae) do cinturão citrícola do Brasil: caracterização, monitoramento, desempenho populacional e variação genética / Hector Alonso Escobar-Garcia. -- Jaboticabal, 2025

256 p. : tabs., fotos, mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Daniel Junior de Andrade

1. Ácaros planos. 2. Concentração diagnóstica. 3. Manejo de resistência. 4. Redução de oviposição. 5. Ovos não viáveis. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: NÍVEIS DE RESISTÊNCIA A ACARICIDAS EM POPULAÇÕES DE CAMPO DE *Brevipalpus yothersi* (ACARI: TENUIPALPIDAE) DO CINTURÃO CITRÍCOLA DO BRASIL: CARACTERIZAÇÃO, MONITORAMENTO, DESEMPENHO POPULACIONAL E VARIAÇÃO GENÉTICA

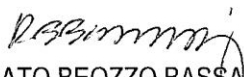
AUTOR: HECTOR ALONSO ESCOBAR GARCIA

ORIENTADOR: DANIEL JUNIOR DE ANDRADE

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Agronomia (Entomologia Agrícola), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. DANIEL JUNIOR DE ANDRADE (Participação Presencial)
Departamento de Fitossanidade / FCAV UNESP Jaboticabal



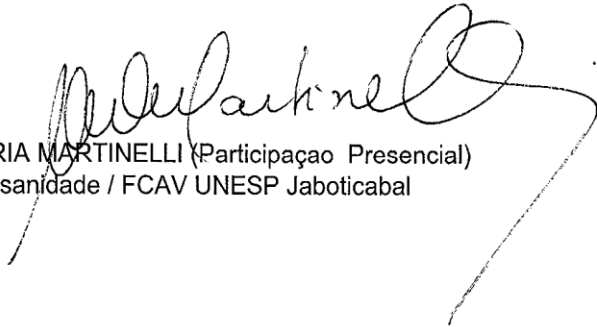
Pesquisador Dr. RENATO BEOZZO BASSANEZI (Participação Presencial)
Fundo de Defesa da Citricultura - FUNDECITRUS / Araraquara/SP



Prof. Dr. GUILHERME DUARTE ROSSI (Participação Presencial)
Departamento de Fitossanidade / FCAV UNESP Jaboticabal



Pesquisador Dr. MÁRIO EIDI SATO (Participação Presencial)
Centro de Programação de Pesquisa / Instituto Biológico - Campinas/SP

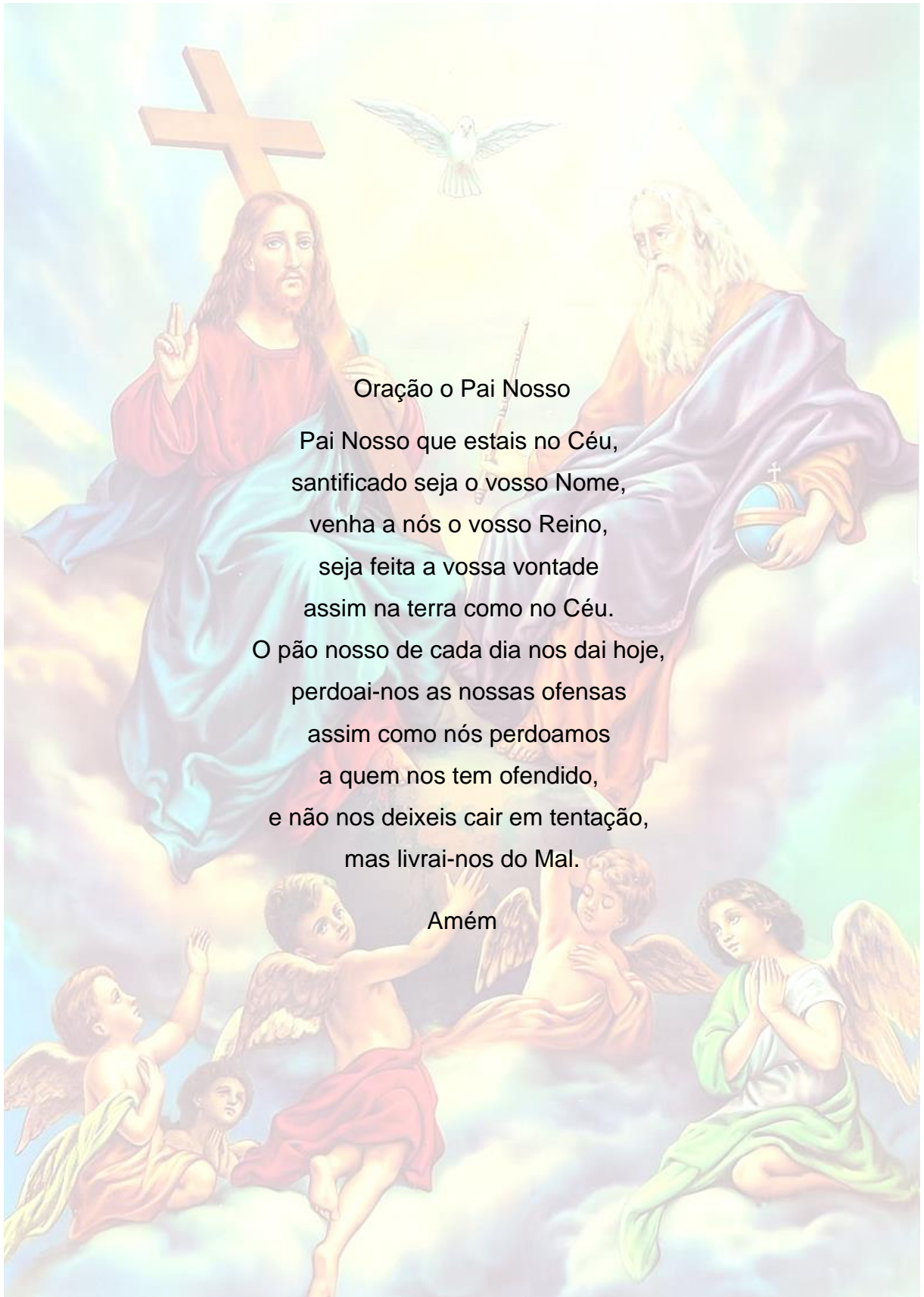


Profa. Dra. NILZA MARIA MARTINELLI (Participação Presencial)
Departamento de Fitossanidade / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 17 de abril de 2025

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

HECTOR ALONSO ESCOBAR GARCIA – nasceu em Piura, Departamento de Piura, República do Perú, em 7 de junho de 1990. Filho de Hector Manuel Escobar Robledo e Maria del Pilar Garcia Colmenares de Escobar. Em março de 2007, iniciou seus estudos de graduação em Agronomia na Universidad Nacional de Piura (UNP), Perú, onde obteve seu diploma de Bacharel em Agronomia em 2 de abril de 2012. Durante a graduação, desenvolveu atividades de pesquisa na área de Entomologia como estágio docência sob a orientação do Prof. Julio Armando Villarreal Palacios, e no manejo integrado do trips da ferrugem da bananeira, *Chaetanaphothrips signipennis* (Bagnall) (Thysanoptera: Thripidae). Posteriormente, recebeu seu título profissional de Engenheiro Agrônomo em 23 de janeiro de 2013. Após se formar no período de 2012 a 2014, obteve estágio profissional na empresa CAMPOSOL S.A., onde trabalhou na área de produção de variedades de pimenta, sendo seu último cargo como Chefe de campo. Posteriormente, através de concurso público do Programa Nacional de Bolsas e Crédito Educacional (PRONABEC), entidade vinculada ao Ministério da Educação do Peru, obteve uma bolsa de estudos de mestrado para o ano acadêmico 2014/2015, na Universidad Politécnica de Valência (UPV), Espanha. Durante seu mestrado, interessou-se pelo estudo de ácaros de importância agrícola, trabalhando com *Brevipalpus ferraguti* Ochoa e Beard (Acari: Tenuipalpidae) sob a orientação do Prof. Dr. Francisco José Ferragut Pérez. Em 27 de outubro de 2015, recebeu seu título de Mestre em Sanidade e Produção Vegetal. Desde seu retorno ao Perú, de 2016 a 2022, trabalhou em diversas instituições como: a Dirección Regional de Agricultura de Piura (DRAP), o Fondo de Cooperación para o Desenvolvimento Social (FONCODES), o Instituto Interamericano de Cooperación para a Agricultura (IICA) e o Instituto Nacional de Inovação Agrária (INIA), sendo seu último cargo o de Diretor da Estação Experimental Agrícola Los Cedros-INIA, Tumbes. Da mesma forma, durante o mesmo período foi professor em duas instituições: a Universidad Nacional de Piura (UNP) e a Universidad Católica Sedes Sapientiae (UCSS). Em março de 2022, recebeu bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) para ingressar no Programa de Doutorado em Agronomia (Entomologia Agrícola) da Universidad Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, Brasil, sob a orientação do Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade. Atualmente, ele tem 15 publicações científicas, incluindo a descrição de 6 novas espécies de ácaros para a ciência e é um pesquisador do RENACYT com código de registro P0048196 Nível III.



Oração o Pai Nosso

Pai Nosso que estais no Céu,
santificado seja o vosso Nome,
venha a nós o vosso Reino,
seja feita a vossa vontade
assim na terra como no Céu.

O pão nosso de cada dia nos dai hoje,
perdoai-nos as nossas ofensas
assim como nós perdoamos
a quem nos tem ofendido,
e não nos deixeis cair em tentação,
mas livrai-nos do Mal.

Amém

Oração à Nossa Senhora Aparecida

Ó incomparável Senhora da Conceição Aparecida,
Mãe de Deus,
Rainha dos Anjos,
Ad vogada dos pecadores,
refúgio e consolação dos aflitos
e atribulados,
Virgem Santíssima,
cheia de poder e de bondade,
lançai sobre nós um olhar favorável,
para que sejamos socorridos por vós,
em todas as necessidades em que nos acharmos.

Lembraí-vos,
ó clementíssima Mãe Aparecida,
que nunca se ouviu dizer que algum daqueles
que têm a vós recorrido,
invocado vosso santíssimo nome
e implorado vossa singular proteção,
fosse por vós abandonado.

Animados com esta confiança,
a vós recorremos.
Tomamo-nos de hoje para sempre por nossa Mãe, nossa
protetora,
consolação e guia,
esperança e luz na hora da morte.

Livrai-nos de tudo o que possa ofender-vos
e a vosso Santíssimo Filho, Jesus.
Preservai-nos de todos os perigos da alma e do corpo;
dirigi-nos em todos os negócios espirituais e temporais.

Livrai-nos da tentação do demônio,
para que, trilhando o caminho da virtude,
possamos um dia ver-vos e amar-vos na eterna glória,
por todos os séculos dos séculos.

Amém.

Ao meu irmão que está no céu, Juan José Escobar Garcia ^(†),

(24-02-2001 a 03-07-2022)

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, sou grato a Deus pela proteção e força para continuar minha vida educacional. À minha família e a todo o corpo docente Professores Doutores: Alessandra Marieli Vacari, Guilherme Duarte Rossi, Jhones Luiz de Oliveira, Marcelo da Costa Ferreira, Nilza Maria Martinelli, Rafael Major Pitta, Raphael de Campos Castilho, Ricardo Antonio Polanczyk, Sérgio Antonio de Bortoli, e meu orientador de tese Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade; que contribuíram para minha formação pessoal e profissional para concluir meu doutorado em Agronomia (Entomologia Agrícola) no período acadêmico de 2022 a 2025 na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Jaboticabal, São Paulo, Brasil. À Patrice Jacob Savi, Claudiane Martins da Rocha, Matheus Cardoso de Castro, Sidneia Terezinha Soares de Matos, e Wèssèou Estelle Omoboni Germaine Dimon, colegas de pós-graduação do Laboratório de AcaroLab (UNESP), pelo apoio e pela camaradagem constante.

Aos pesquisadores: Dr. Jennifer J. Beard (Australia), Dr. Ronald Ochoa (USA), Dr. Andrew Ulsamer (USA), Dr. Edward A. Ueckermann (South Africa), Dr. Henri M. André (Belgium), Dr. André Luis Matioli (Brasil), M.Sc. Francisco Jose Rojas Espinoza (Chile), Dr. Cal Welbourn (USA), Dr. Sérgio Antonio de Bortoli (Brasil), Dr. Mojtaba Mohammad Doustaresharaf (Iran), Dr. Elizeu Barbosa Castro (Brasil), e Dr. Aline Daniele Tassi (USA), pela colaboração nos nove artigos científicos publicados durante meu doutorado.

Agradecimentos especiais aos agricultores dos 19 talhões agrícolas brasileiros, Dr. Guilherme Fernando Frare (Citrosuco), e Marcos Felipe (Faro Agrícola) pela cooperação e permissão para acessar seus campos para coleta do ácaro da leprose dos citros, *Brevipalpus yothersi*. Ao Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus) pelo suporte à pesquisa. Ao Laboratório LCMAP (UNESP, Brasil) pela assistência com as imagens de morfologia de ácaros. A José Eriberto Nizama Nizama (Peru) pela preparação das imagens com o software ArcGIS. A Gerson Ommar La Rosa Lama (UDEP, Peru) pelo suporte estatístico. A Dr. Renato Beozzo Bassanezi (Fundecitrus) e Dr. Mário Eidi Sato (Instituto Biológico) pelos valiosos comentários e sugestões, que contribuíram muito para melhorar a redação da tese. O presente trabalho foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – (CAPES) – Código de Financiamento 001. **Muito obrigado!**

SUMÁRIO

Conteúdo	
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
CAPÍTULO 1- Considerações Gerais	1
INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DE LITERATURA	7
<i>Brevipalpus yothersi</i> Baker, 1949 (Acari: Tenuipalpidae)	7
Resistência.....	13
Propargito	18
Hexitiazoxi.....	26
Isocicloseram.....	37
Ciflumetofem.....	38
Espiroadiclofeno.....	48
Referências.....	58
CAPÍTULO 2 – Níveis de resistência ao propargito em populações de campo de <i>Brevipalpus yothersi</i> (Acari: Tenuipalpidae) do cinturão citrícola do Brasil	83
Resumo.....	83
Introdução.....	84
Material e métodos	86
Populações do ácaro da leprose dos citros.....	86
Identificação morfológica do ácaro da leprose dos citros	88
Criação do ácaro da leprose dos citros.....	89
Bioensaios toxicológicos	90
Monitoramento da suscetibilidade das populações de ácaros da leprose dos citros..	91
Análise de dados	91
Resultados.....	92
Identificação morfológica do ácaro da leprose dos citros	92
Bioensaios toxicológicos com propargito	93
Monitoramento da suscetibilidade das populações de ácaros da leprose dos citros com propargito	96
Discussão	101
Referências.....	107

CAPÍTULO 3 – Níveis de resistência de populações brasileiras de <i>Brevipalpus yothersi</i> (Acari: Tenuipalpidae) ao hexitiazoxi: monitoramento e desempenho populacional.....	114
Resumo.....	114
Introdução.....	115
Material e métodos.....	116
Populações e identificação morfológica de ALC.....	116
Criação de populações de campo de ALC.....	119
Bioensaios toxicológicos e monitoramento da suscetibilidade de populações de ALC.....	120
Parâmetros biológicos e demográficos.....	121
Análise de dados.....	123
Resultados.....	125
Identificação morfológica das populações ALC.....	125
Bioensaios toxicológicos e monitoramento da suscetibilidade de <i>B. yothersi</i>	125
Parâmetros biológicos e demográficos.....	133
Discussão.....	136
Referências.....	143
CAPÍTULO 4 –Suscetibilidade de <i>Brevipalpus yothersi</i> (Acari: Tenuipalpidae) ao isocicloseram: linha de base e monitoramento em pomares cítricos do Brasil.....	148
Resumo.....	148
Introdução.....	149
Material e métodos.....	150
Populações e identificação morfológica.....	150
Criação de populações de <i>Brevipalpus yothersi</i>	152
Bioensaios toxicológicos.....	153
Monitoramento da suscetibilidade das populações de <i>B. yothersi</i>	154
Análise de dados.....	155
Resultados.....	156
Bioensaios toxicológicos.....	156
Monitoramento da suscetibilidade das populações de <i>B. yothersi</i>	160
Discussão.....	165
Referências.....	171
CAPÍTULO 5 – Suscetibilidade de populações brasileiras do ácaro da leprose dos citros (Acari: Tenuipalpidae) ao ciflumetofem em pomares de laranja doce.....	177
Resumo.....	177

Introdução.....	178
Material e métodos.....	179
Aquisição e manutenção de populações de <i>B. yothersi</i>	179
Bioensaios de concentração-resposta.....	181
Concentração diagnóstica para monitoramento da suscetibilidade de populações de campo de <i>B. yothersi</i>	183
Análise estatística.....	183
Resultados.....	184
Bioensaios de concentração-resposta.....	184
Concentração diagnóstica para monitoramento da suscetibilidade de populações de campo de <i>B. yothersi</i>	188
Discussão.....	192
Referências.....	197
CAPÍTULO 6 – Monitoramento da resistência ao espiroclorofeno em fêmeas de <i>Brevipalpus yothersi</i> (Acari: Tenuipalpidae) em pomares cítricos da Região Sudeste do Brasil	202
Resumo.....	202
Introdução.....	203
Material e métodos.....	204
Populações e criação de <i>Brevipalpus yothersi</i>	204
Bioensaios toxicológicos.....	206
Concentração diagnóstica para monitoramento de resistência.....	208
Análise de dados.....	208
Resultados.....	209
Bioensaios toxicológicos.....	209
Concentração diagnóstica para monitoramento de Resistência.....	214
Discussão.....	220
References.....	226
CAPÍTULO 7 – Diversidade genética e estrutura populacional de <i>Brevipalpus yothersi</i> (Acari: Tenuipalpidae) em pomares comerciais de citros com diferentes níveis de resistência a acaricidas	232
Resumo.....	232
Introdução.....	233
Material e Métodos.....	234
Locais de coleta, manutenção e identificação morfológica das populações.....	234
Extração de DNA.....	237

Amplificação da região mitocondrial COI e sequenciamento	237
Análise filogenética	238
Resultados.....	239
Discussão	245
Referências.....	248
CAPÍTULO 8 – CONCLUSÕES.....	253
CAPÍTULO 9 – RECOMENDAÇÕES.....	255

NÍVEIS DE RESISTÊNCIA A ACARICIDAS EM POPULAÇÕES DE CAMPO DE *Brevipalpus yothersi* (ACARI: TENUIPALPIDAE) DO CINTURÃO CITRÍCOLA DO BRASIL: CARACTERIZAÇÃO, MONITORAMENTO, DESEMPENHO POPULACIONAL E VARIAÇÃO GENÉTICA

RESUMO – O ácaro-da-leprose-dos-citros, *Brevipalpus yothersi*, Baker 1949 (Acari: Tenuipalpidae), é o principal vetor do vírus da leprose dos citros C (CiLV-C, *Cilevirus leprosis*), doença viral que afeta pomares de laranja doce no cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro. Seu controle baseia-se no uso de acaricidas sintéticos. Porém, falhas recorrentes no controle em diferentes regiões citrícolas indicam possível evolução de resistência. Ainda há poucas informações atualizadas sobre os níveis de resistência em campo e a base genética envolvida. Assim, torna-se essencial gerar dados que orientem as estratégias eficazes de manejo da resistência, garantindo a eficácia do controle químico e a proteção dos pomares. Este estudo teve como objetivos estimar os níveis de resistência de populações de *B. yothersi* a cinco acaricidas, definir concentrações diagnósticas para monitoramento da resistência, avaliar custo adaptativo à resistência ao hexitiazoxi e investigar a diversidade genética com base em sequências do gene mitocondrial COI. Foram analisadas 20 populações: uma população de referência suscetível mantida em laboratório e 19 coletadas em campo entre fev/2023 e abr/2024 em 14 localidades com histórico de falhas no controle. Os bioensaios com ovos e fêmeas foram realizados por contato direto com torre de Potter sobre discos de 80 mm de folhas de *Canavalia ensiformis* (L.) DC. (Fabaceae). Além disso, o software ArcGIS foi utilizado para representar espacialmente as razões de resistência encontrados. Os níveis de resistência foi baseado nas razões de resistência (RR₅₀ e RR₉₅) e variaram conforme ao acaricida: para propargito foram baixas a moderadas (<2,70x em CL₅₀; <11,16x em CL₉₅); hexitiazoxi variou de baixa a muito alta resistência (<17,15x em CL₅₀; <643,38x em CL₉₅); isocicloseram apresentou níveis baixos a muito altos (<2,78x em CL₅₀; <92,53x em CL₉₅); ciflumetofem teve resistência baixa (<2,79x em CL₅₀; <3,06 em CL₉₅); e espiroclorfenol variou de baixa a muito alta resistência (<80,56x em CL₅₀; <12.124,77x em CL₉₅). As concentrações diagnósticas estabelecidas para cada acaricida variaram para fêmeas: 87,7 mg L⁻¹ para propargito (avaliado após 48 h), 2,86 mg L⁻¹ para isocicloseram (24 h), 1,63 mg L⁻¹ para ciflumetofem (48 h) e 13,20 mg L⁻¹ para espiroclorfenol (7 dias); e para ovos: 2,72 mg L⁻¹ para hexitiazoxi (10 dias). Comparações biológicas entre populações suscetível (Pirajuí-509) e resistente (Matão) ao hexitiazoxi indicaram diferenças no período de incubação dos ovos, duração da deutocrisálida e deutoninfa e o período pré-oviposição, mas não nos parâmetros demográficos (R_0 , r_m , λ , T , Dt). A análise genética de 62 indivíduos revelou seis haplótipos distintos. Populações de Reginópolis, Pirajuí-501 e Pirajuí-509 apresentaram maior diversidade genética. O haplótipo Hap5 foi associado à resistência moderada a alta ao espiroclorfenol, sugerindo correlação entre variabilidade mitocondrial e resistência. Utilizando o ArcGIS, o impacto geográfico do status de resistência foi visualizado. Conclui-se que há variação geográfica nos níveis de resistência, influenciada pela pressão seletiva local. A utilização de concentrações diagnósticas, rotação de acaricidas com diferentes modos de ação e monitoramento genético são estratégias fundamentais para o manejo da resistência em *B. yothersi*.

Palavras-chave: Ácaros planos, concentração diagnóstica, manejo de resistência, redução de oviposição, ovos não viáveis

RESISTANCE LEVELS TO ACARICIDES IN FIELD POPULATIONS OF *Brevipalpus yothersi* (ACARI: TENUIPALPIDAE) FROM BRAZIL'S CITRUS BELT: CHARACTERIZATION, MONITORING, POPULATION PERFORMANCE AND GENETIC VARIATION

ABSTRACT – The citrus leprosis mite, *Brevipalpus yothersi* Baker, 1949 (Acari: Tenuipalpidae), is the main vector of Citrus leprosis virus C (CiLV-C, *Cilevirus leprosis*), a viral disease that affects sweet orange orchards in the citrus belt of São Paulo and the Triângulo/Southwest region of Minas Gerais, Brazil. Its control relies mainly on synthetic acaricides. However, recurrent control failures in different citrus-producing regions suggest the possible development of resistance. Updated information on field resistance levels and the genetic basis of this phenomenon remains scarce. Therefore, generating data to guide effective resistance management strategies is essential to ensure the sustainability of chemical control and protect citrus orchards. This study aimed to estimate resistance levels in *B. yothersi* populations to five acaricides, define diagnostic concentrations for resistance monitoring, evaluate the adaptive cost of resistance to hexythiazox, and investigate genetic diversity based on mitochondrial COI gene sequences. A total of 20 populations were analyzed: one susceptible reference population maintained in the laboratory and 19 collected in the field between Feb/2023 and Apr/2024 from 14 locations with reported control failures. Bioassays with eggs and females were conducted using direct contact via a Potter spray tower on 80 mm leaf discs of *Canavalia ensiformis* (L.) DC. (Fabaceae). Additionally, ArcGIS software was used to spatially map resistance ratios. Resistance levels were based on resistance ratios (RR₅₀ and RR₉₅) and varied by acaricide: for propargite, resistance was low to moderate (<2.70× for LC₅₀; <11.16× for LC₉₅); hexythiazox ranged from low to very high (<17.15× LC₅₀; <643.38× LC₉₅); isocycloseram showed low to very high levels (<2.78× LC₅₀; <92.53× LC₉₅); cyflumetofen had low resistance (<2.79× LC₅₀; <3.06× LC₉₅); and spiroadiclofen resistance ranged from low to very high (<80.56× LC₅₀; <12,124.77× LC₉₅). Diagnostic concentrations established for each acaricide were: 87.7 mg L⁻¹ for propargite (48 h), 2.86 mg L⁻¹ for isocycloseram (24 h), 1.63 mg L⁻¹ for cyflumetofen (48 h), and 13.20 mg L⁻¹ for spiroadiclofen (7 days) in females; and 2.72 mg L⁻¹ for hexythiazox (10 days) in eggs. Biological comparisons between a susceptible population (Pirajuí-509) and a resistant one (Matão) to hexythiazox indicated differences in egg incubation period, deutochrysalis and deutonymphal duration, and pre-oviposition period, but no significant differences in demographic parameters (R_0 , r_m , λ , T , Dt). Genetic analysis of 62 individuals revealed six distinct haplotypes. Populations from Reginópolis, Pirajuí-501, and Pirajuí-509 showed greater genetic diversity. Notably, haplotype Hap5 was associated with moderate to high resistance to spiroadiclofen, suggesting a possible correlation between mitochondrial variability and resistance. Using ArcGIS, the geographic impact of resistance status was visualized. In conclusion, resistance levels varied geographically, influenced by local selective pressure. The use of diagnostic concentrations, acaricide rotation with different modes of action, and genetic monitoring are key strategies for effective resistance management in *B. yothersi*.

Keywords: Flat mites, diagnostic concentration, resistance management, oviposition reduction, non-viable eggs

CAPÍTULO 1- Considerações Gerais

INTRODUÇÃO

O agronegócio do Brasil engloba diversas atividades agrícolas, com destaque para a citricultura, que coloca o país como o maior produtor e exportador mundial de suco de laranja. A citricultura está presente em cerca de 350 municípios do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro do Brasil, abrangendo 325 municípios do estado de São Paulo e 25 municípios de Sudoeste do estado Minas Gerais, sendo uma importante fonte de trabalho e renda para a população nestes municípios (Neves et al., 2010; FAO, 2023; Fundecitrus, 2025). A produção total de laranja na safra 2024/25 foi de 215,78 milhões de caixas de 40,8 kg em uma área plantada de 536.761 hectares (IBGE, 2025; Fundecitrus, 2025). Neste contexto, as 19 populações de campo de *B. yothersi* analisadas neste estudo foram coletadas em pomares comerciais distribuídos de 13 localidades produtoras do estado de São Paulo e uma localidade do sudoeste de Minas Gerais. Embora não incluam todas as regiões citrícolas do Sudeste brasileiro, essas localidades representam áreas de grande relevância econômica, com alta intensidade de cultivo e uso frequente de acaricidas, características predominantes nas zonas mais produtivas do cinturão citrícola. Dessa forma, os dados obtidos oferecem uma visão representativa da realidade das principais regiões produtoras de citros e podem servir como base para o desenvolvimento de estratégias de manejo aplicáveis a outras regiões com características agronômicas semelhantes.

Entretanto, para manter a competitividade, produtividade e sustentabilidade a citricultura no Brasil enfrenta diversos desafios, principalmente quanto à ocorrência de inúmeras pragas e doenças. Entre as doenças, destaca-se a leprose dos citros, causada pelo Citrus leprosis virus C, do tipo citoplasmático (CiLV-C, *Cilevirus leprosis*), cujo vetor do vírus é o ácaro *Brevipalpus yothersi* Baker, 1949 (Acari: Tenuipalpidae), conhecido como ácaro da leprose dos citros (ALC). O CiLV-C não exerce uma ação sistêmica na planta e está situado próximo ao local de alimentação do ácaro. Assim, o vírus depende do ácaro vetor para se propagar de uma planta para outra ou para outros órgãos da mesma planta (Arena et al., 2016). Além disso, são conhecidas duas estirpes de CiLV-C no Brasil: a Cordeirópolis (CRD) e a São José do Rio Preto (SJP). Estudos recentes indicaram que a estirpe SJP é a mais prevalente no Estado de São Paulo e a mais agressiva (Ramos-

González et al., 2016; Chabi-Jesus et al., 2021). A leprose dos citros ocorre em vários outros países da América Latina e recentemente foi relatada um tipo de leprose causada pelo vírus da mancha de orquídea (OFV) em pomares da África do Sul, sendo o primeiro caso confirmado fora das Américas (Bastianel et al., 2010; Cook et al., 2019; EPPO 2025).

A leprose dos citros caracteriza-se pela presença de manchas marrons circulares nos frutos, geralmente circundadas por um halo amarelado. Em folhas, observa-se lesões cloróticas, principalmente próximo às nervuras e nos ramos surgem lesões corticosas e salientes devido a uma hiperplasia no parênquima cortical e floemático (Bastianel et al., 2010; Tassi et al., 2017; Marques et al., 2024). A doença acarreta queda prematura de folhas e frutos, seca de ramos e se não for controlada a tempo causa morte de plantas no pomar, além disso, provoca reduções significativas na produção de cerca de 3,1 milhões de caixas (40,8kg) devido à queda prematura de frutos, gerando um impacto econômico estimado de US\$ 15,6 milhões estimado em cinco safras 2016/2017 a 2020/2021 (Chabi-Jesus et al., 2018; Bassanezi et al., 2019; Moreira et al., 2022).

No Brasil, a pulverização com acaricidas sintéticos específicos para o controle de *B. yothersi* constitui a principal estratégia adotada pelos citricultores, devido à sua eficácia, facilidade de aplicação e viabilidade operacional em áreas de grande extensão (Della Vechia et al., 2018; Della Vechia et al., 2022; Castro et al., 2024). De fato, essas características tornam a pulverização uma solução prática e amplamente utilizada, principalmente em regiões com grandes monocultivos de citros. No entanto, a facilidade e a rapidez da aplicação, embora operativamente vantajosas, também podem contribuir para a intensificação do uso desses acaricidas, muitas vezes sem o devido acompanhamento técnico. Essa prática repetitiva e, por vezes, indiscriminada, pode aumentar consideravelmente a pressão de seleção sobre as populações do ácaro, favorecendo a evolução de resistência (IRAC,2025).

Assim, torna-se imprescindível compreender os impactos dessa estratégia no desenvolvimento da resistência do ácaro da leprose, de modo a fundamentar ações corretivas baseadas em programas de monitoramento e rotação de acaricidas com diferentes modos de ação, dentro de uma abordagem integrada de manejo (Rocha et al., 2021). Normalmente, de acordo com a biogeografia do cinturão citrícola, são realizadas uma a três aplicações anuais para obter um controle eficaz do ácaro da

leprose e prevenir os prejuízos causados pela doença, e estima-se que o custo de controle do vetor atinja US\$ 54 milhões/ano (Amaral et al., 2018; Bassanezi et al., 2019; Della Vechia et al., 2022). Entretanto, a evolução da resistência a acaricidas é um dos principais problemas enfrentados pelos citricultores devido ao uso contínuo dos mesmos acaricidas por longo tempo (Omoto et al., 2000; Casarin, 2010; Sato et al., 2016; Rocha et al., 2021).

A resistência do ácaro da leprose dos citros a acaricidas já foi reportada para alguns ingredientes ativos como dicofol (Omoto et al., 2000), hexitiazoxi (Campos e Omoto, 2002; Campos, 2006), propargito (Franco, 2002; Franco et al., 2007), calda sulfocálcica, enxofre (Casarin, 2010) e espiroclorfenol (Rocha et al., 2021; Mota-Sanchez e Wise, 2025). Além disso, no Brasil, apesar da disponibilidade de diversos acaricidas sintéticos registrados para o controle do ácaro da leprose, apenas quatro ingredientes ativos (propargito, hexitiazoxi, ciflumetofem e espiroclorfenol) são atualmente recomendados pela lista de produtos para proteção da Citricultura-ProteCitrus (Fundecitrus, 2025). Nesse contexto, torna-se essencial reavaliar a eficácia desses acaricidas frente à possível evolução da resistência populacional em *B. yothersi*. A escolha dos acaricidas avaliados neste estudo baseia-se tanto em sua ampla utilização pelos citricultores quanto em seu histórico de eficácia reconhecida no manejo da praga, apesar de alguns deles já terem apresentado casos de resistência em algumas localidades (Rocha et al., 2021, Fundecitrus, 2025).

Devido à escassez de opções de acaricidas sintéticos e específicos para controle de *B. yothersi*, os produtores de citros tendem a utilizar repetidamente acaricidas do mesmo grupo químico, o que pode resultar na seleção de populações de ácaros resistentes (Omoto et al., 2000; Rocha et al., 2021). Assim, este trabalho busca contribuir para o monitoramento da suscetibilidade atual do ácaro a esses ingredientes ativos, fornecendo suportes técnicos para a recomendação mais sustentável e eficaz de acaricidas no campo. O isoclozoxim, uma nova isoxazolina, foi recentemente registrado no Brasil para o controle de diversas pragas, incluindo o ácaro da leprose citros, mas ainda não está na lista da ProteCitrus. Ingredientes ativos com novos modos de ação podem ser integrados em programas de controle para fornecer um manejo eficaz de pragas e reduzir a resistência (IRAC, 2025).

Apesar da grande importância econômica de *B. yothersi* há uma falta de

informações sobre estudos de aspectos básicos de variabilidade genética entre populações de *B. yothersi* em diferentes localidades do cinturão citrícola, devido à alta pressão de seleção com acaricidas sintéticos. Esses estudos poderão fornecer algumas informações sobre as mudanças na região mitocondrial COI, que podem estar ligadas à eficiência mitocondrial e ao metabolismo em diferentes condições ambientais, tais como temperatura, planta hospedeira e estresse químico (Ballard e Whitlock, 2004). A concordância entre as tendências biogeográficas (além do nível de espécie) e filogeográficas (nível populacional) oferece uma estrutura útil para analisar e contrastar padrões de evolução das faunas em todo o mundo (Dawson, 2001; Pepato et al., 2019). Além disso, a estrutura genética populacional é alimentada pelas mesmas causas que impulsionam a especiação por exemplo: seleção natural divergente, genes resistentes, capacidade de dispersão, fecundidade e adaptação local (Pepato et al., 2019).

Portanto, estimar os níveis de resistência de *B. yothersi* em regiões produtoras de citros é essencial para o planejamento e a tomada de decisões dentro dos programas de manejo de resistência. Isso permite a utilização racional de acaricidas sintéticos, contribuindo para a eficácia prolongada dos produtos disponíveis. Neste contexto, é importante distinguir entre resistência cruzada e resistência múltipla. A resistência cruzada ocorre quando a população do ácaro desenvolve resistência a diferentes acaricidas que compartilham o mesmo modo de ação, mesmo que tenha sido exposta apenas a um deles. Já a resistência múltipla refere-se à resistência simultânea a acaricidas com modos de ação distintos (IRAC, 2025). Desta forma, a seleção de acaricidas para rotação deve ser realizada com base em dados de suscetibilidade populacional e na classificação do modo de ação dos ingredientes ativos, evitando o uso repetido de acaricidas com o mesmo modo de ação e reduzindo o risco de seleção de populações resistentes. Com base nisso, recomenda-se a rotação entre acaricidas pertencentes a diferentes grupos químicos e com distintos modos de ação, como, por exemplo, o uso alternado de hexitiazoxi (subgrupo IRAC 10A), propargito (12C), espirodiclofeno (23), ciflumetofem (25A) e isocloseram (30).

Essa abordagem visa minimizar a pressão de seleção sobre uma mesma via metabólica, reduzindo, assim, o risco de resistência cruzada, que ocorre quando uma população resistente a um ingrediente ativo também se torna resistente a outros com o mesmo modo de ação (IRAC,2025). Além disso, essa prática contribui para evitar a

evolução de resistência múltipla, quando há resistência simultânea a compostos com diferentes modos de ação. Por isso, é fundamental evitar aplicações sequenciais do mesmo ingrediente ativo ou de compostos com o mesmo modo de ação, respeitando os intervalos de pulverização recomendados pela bula de cada acaricida e integrando outras práticas de manejo integrado de pragas (MIP).

Embora os bioensaios de contato direto em condições controladas de laboratório sejam essenciais para determinar com precisão os níveis de resistência em populações de *B. yothersi*, é fundamental complementar esses estudos com avaliações em campo para obter uma compreensão mais abrangente da eficácia dos acaricidas em condições reais de cultivo. Estudos de resistência em campo geralmente envolvem a aplicação dos acaricidas nas áreas comerciais seguindo as recomendações de manejo, seguidos de avaliações periódicas da densidade populacional do ácaro e do dano causado às plantas, além do monitoramento da persistência e efeito residual dos acaricidas (IRAC, 2025). O monitoramento contínuo da resistência em campo permite detectar precocemente alterações na suscetibilidade das populações, possibilitando ajustes rápidos nas estratégias de manejo, como a rotação de acaricidas e o uso integrado de métodos culturais e biológicos. Portanto, recomenda-se que futuras pesquisas incluam ensaios de campo para validar os resultados laboratoriais, garantindo que as recomendações de controle sejam eficazes e sustentáveis em condições comerciais. Neste estudo, métodos de bioensaio de contato direto foram empregados para estimar os níveis de resistência em populações de *B. yothersi* aos acaricidas propargito, hexitiazoxi, ciflumetofem, e espiroclorfenol e ao novo inseticida-acaricida isocicloseram. Dezenove populações foram coletadas de regiões agrícolas representativas do cultivo comercial de citros no Brasil e comparadas com uma população de referência do Laboratório-AcaroLab.

População de referência refere-se a uma colônia de *B. yothersi* mantida em condições controladas de laboratório, sem exposição prévia a acaricidas, durante várias gerações consecutivas. Essa população é considerada como uma população padrão suscetível, pois não sofreu pressão de seleção química que pudesse induzir resistência. A criação dessa população foi iniciada com indivíduos coletados de áreas com histórico nulo ou mínimo de aplicação de acaricidas, preferencialmente de plantas não tratadas ou provenientes de cultivos experimentais. Após a coleta, os ácaros foram mantidos desde o ano 2010 no Laboratório AcaroLab sob condições ambientais

controladas (temperatura, umidade e fotoperíodo), sendo alimentados em substrato vegetal apropriado (frutos) e sem qualquer tipo de pulverização química. A suscetibilidade dessa população foi confirmada por meio de bioensaios preliminares com diferentes ingredientes ativos, nos quais foi observada alta mortalidade mesmo em concentrações reduzidas, servindo assim como padrão comparativo para a estimativa dos níveis de resistência das populações de campo. Essa abordagem segue os critérios estabelecidos para estudos de resistência em artrópodes-praga, conforme recomendação do IRAC (IRAC, 2025).

A seleção dos cinco ingredientes ativos testados neste estudo: propargito, hexitiazoxi, ciflumetofem, espiroclorfenol e isocicloseram, baseou-se em critérios técnicos relacionados à sua atual relevância no manejo do ácaro da leprose dos citros no Brasil. Os quatro primeiros são acaricidas sintéticos que constam na lista de recomendação da ProteCitrus por apresentarem eficácia comprovada no controle de *B. yothersi* em pomares comerciais (Fundecitrus, 2025). Além disso, relatos anteriores de resistência para alguns desses ingredientes ativos como propargito, hexythiazox e espiroclorfenol, reforçam a necessidade de monitoramento contínuo de sua eficácia. O isocicloseram, por sua vez, foi incluído por se tratar de um produto recentemente registrado no Brasil com potencial de uso no manejo do ácaro, representando uma nova opção com possível modo de ação distinto dos produtos atualmente utilizados. Assim, a inclusão desses ingredientes ativos permite avaliar tanto o status atual da resistência quanto o potencial de inserção de novas moléculas nos programas de manejo.

Desta forma, os objetivos para este trabalho foram: (1) Estimar os níveis de resistência aos acaricidas propargito, hexitiazoxi, isocicloseram, ciflumetofem, e espiroclorfenol em diferentes populações *B. yothersi* oriundas de pomares cítricos comerciais do cinturão citrícola do Brasil; (2) Estimar uma concentração diagnóstica para cada acaricida a ser utilizada em programas de monitoramento de resistência; (3) Verificar a existência de custo adaptativo associado à resistência ao acaricida hexitiazoxi; e (4) Determinar a variação genética entre populações de *B. yothersi* com base em sequências de um fragmento do gene mitocondrial citocromo oxidase subunidade I (COI), a fim de avaliar a possível relação dos níveis de resistência a acaricidas sobre a variabilidade genética da espécie.

CAPÍTULO 8 – CONCLUSÕES

O presente estudo abordou de forma integrada aspectos genéticos, toxicológicos e biológicos de populações de *Brevipalpus yothersi* coletadas em pomares comerciais de laranja doce no Brasil. A caracterização da resistência aos acaricidas, aliada à análise da diversidade genética e à avaliação de parâmetros biológicos, permitiu uma compreensão mais abrangente dos mecanismos envolvidos na resistência e de sua distribuição nas diferentes regiões produtoras. Com base nesses resultados, é possível propor estratégias mais sustentáveis e eficazes para o manejo da praga. As principais conclusões obtidas neste trabalho são:

1. As populações de *B. yothersi* coletadas em pomares comerciais de laranja doce apresentam, em geral, baixos níveis de resistência (com base na RR_{50}) aos acaricidas propargito, isocicloseram e ciflumetofem. No caso do hexitiazoxi, foram observados níveis de resistência baixos a moderados, enquanto para o espirodiclofeno os níveis variaram de baixos a muito altos. Uma população com níveis muito altos de resistência (com base na RR_{95}) ao hexitiazoxi apresentou resistência múltipla ao isocicloseram e ao espirodiclofeno. Esses resultados indicam que, embora a eficácia da maioria dos acaricidas ainda esteja preservada, o espirodiclofeno já apresenta sinais de comprometimento em algumas populações, evidenciando a necessidade de estratégias de manejo que considerem a rotação de acaricidas com diferentes modos de ação e o monitoramento contínuo da resistência.
2. As concentrações diagnósticas estabelecidas neste estudo representam uma ferramenta importante para o monitoramento da resistência de *B. yothersi* aos principais acaricidas utilizados no manejo desta praga. Os valores determinados para fêmeas: 87,7 mg L⁻¹ para propargito (avaliado após 48 h), 2,86 mg L⁻¹ para isocicloseram (24 h), 1,63 mg L⁻¹ para ciflumetofem (48 h) e 13,20 mg L⁻¹ para espirodiclofeno (7 dias); e para ovos: 2,72 mg L⁻¹ para hexitiazoxi (10 dias), podem ser utilizados como referência em programas de vigilância da resistência em campo. A adoção dessas concentrações permite detectar precocemente alterações na suscetibilidade das populações, contribuindo para uma tomada de decisão mais eficiente no manejo integrado da praga.

3. As análises dos parâmetros biológicos e demográficos indicam que a resistência ao hexitiazoxi pode estar associada a alterações no desenvolvimento de *B. yothersi*, evidenciadas pelo maior período de incubação dos ovos e maior duração da fase de deutocrisálida, bem como pela redução da duração da fase de deutoninfa e do período de pré-oviposição na população resistente. No entanto, a ausência de diferenças significativas nos parâmetros demográficos (R_0 , r_m , λ , T e Dt) entre as populações resistente e suscetível sugere que a resistência não impõe um custo biológico expressivo ao ácaro, o que pode favorecer a manutenção e disseminação de alelos de resistência nas populações de campo.

4. A análise de haplótipos identificou seis variantes genéticas em *B. yothersi*, com destaque para o Hap5, associado à resistência moderada a muito alta ao acaricida espirodiclofeno. Esse resultado reforça a importância do monitoramento genético das populações para programas de manejo da resistência. A detecção de haplótipos relacionados à resistência permite orientar o uso racional de acaricidas, evitar aplicações ineficazes e adotar estratégias sustentáveis, como a rotação de acaricidas com diferentes modos de ação. Assim, a incorporação de ferramentas moleculares ao manejo integrado de pragas é recomendada como suporte à tomada de decisões baseadas em evidências genéticas.

Referências

Alves JL dos S, Ferragut F, Mendonça RS, Tassi AD, Navia D (2019) A new species of *Brevipalpus* (Acari: Tenuipalpidae) from the Azores Islands, with remarks on the *B. cuneatus* species group. **Systematic and Applied Acarology** 24:2184-2208. <https://doi.org/10.11158/saa.24.11.10>

Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology** 215(3):403-410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)

Ballard JW, Whitlock MC (2004) The incomplete natural history of mitochondria. **Molecular ecology** 13(4):729-744. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2003.02063.x>

Beard JJ, Ochoa R, Braswell WE, Bauchan GR (2015) *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) species complex (Acari: Tenuipalpidae) a closer look. **Zootaxa** 3944(1):1-67. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3944.1.1>

Castro EB, Mesa NC, Feres RJF, Moraes GJ, Ochoa R, Beard JJ, Demite PR (2025) Tenuipalpidae Database. Disponível em: <http://www.tenuipalpidae.ibilce.unesp.br> [acessado em Janeiro 2025].

De Rouck S, İnak E, Dermauw W, Van Leeuwen T (2023) A review of the molecular mechanisms of acaricide resistance in mites and ticks. **Insect biochemistry and Molecular Biology** 159:103981. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2023.103981>

Dowling APG, Ochoa R, Beard JJ, Welbourn WC, Ueckermann EA (2012) Phylogenetic investigation of the genus *Raoiella* (Prostigmata: Tenuipalpidae): Diversity, distribution, and world invasions. **Experimental and Applied Acarology** 57:257-269. <https://doi.org/10.1007/s10493-011-11419483-z>

Edgar RC (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research** 32(5):1792-1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>

Escobar-Garcia H A, Ferragut F (2022) Damage and spatiotemporal dynamics of the Ngaio flat mite, *Brevipalpus ferraguti* (Trombidiformes: Tenuipalpidae), with observations on the development of the female insemination system. **Experimental an applied acarology** 86(1):73-90. <https://doi.org/10.1007/s10493-021-00670-y>

Ewing B, Green P (1998) Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. **Genome research** 8(3):186-194.

Ferreira LM, Nunes MA, Sinico TE, Soares AJ, Novelli VM (2020) *Brevipalpus* species vectoring citrus leprosis virus (Cilevirus and Dichorhavirus). *Journal of Economic Entomology* 113(4):1628-1634. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa070>

Fukami J, Uesugi Y, Ishizuka K (1983) Pest resistance to pesticides. Soft Science Inc., Tokyo, Japan.

Fundecitrus- Fundo de Defesa da Citricultura (2025). Disponível em: <https://www.fundecitrus.com.br/protectitrus> [acessado em Janeiro 2025]

Freitas-Astúa J, Ramos-González PL, Arena GD, Tassi AD, Kitajima EW (2018) *Brevipalpus*-transmitted viruses: parallelism beyond a common vector or convergent evolution of distantly related pathogens? *Current Opinion in Virology* 33:66–73. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.07.010>

Gordon D, Abajian C, Green P (1998) Consed: a graphical tool for sequence finishing. **Genome research** 8(3):195-202. <https://doi.org/10.1101/gr.8.3.195>

Green P. PHRAD documentation (1996) Disponível em: <http://bozeman.mbt.washington.edu/phrap.docs/phrap.html> [Acesso em Fevereiro 2025]

Guzman-Valencia S, Santillán-Galicia MT, Guzmán-Franco AW, González-Hernández H, Carrillo-Benítez MG, Suárez-Espinoza J (2014) Contrasting effects of geographical separation on the genetic population structure of sympatric species of mites in avocado orchards. **Bulletin of Entomological Research** 104(5):610-621. <https://doi.org/10.1017/S0007485314000388>

Guzman-Valencia S, Santillán-Galicia MT, Guzmán-Franco AW, Vega-Muñoz R (2017) Differential host plant-associated genetic variation between sympatric mite species of the genus *Oligonychus* (Acari: Tetranychidae). **Environmental Entomology** 46:274-283. <https://doi.org/10.1093/ee/nvw166>

Hada H, Hinomoto N, Gotoh T (2016) Genetic structure of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) populations under acaricide selection pressure assessed using microsatellite markers. **Systematic and Applied Acarology** 21:878-888. <https://doi.org/10.11158/saa.21.7.3>

Hudson RR, Slatkin M, Maddison WP (1992) Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. **Genetics** 132(2):583-589. <https://doi.org/10.1093/genetics/132.2.583>

Huson DH, Scornavacca C (2012) Dendroscope 3: an interactive tool for rooted phylogenetic trees and networks. **Systematic Biology** 61(6):1061-1067. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys062>

Kitajima EW, Groot TV, Novelli VM, Freitas-Astúa J, Alberti G, de Moraes GJ (2007) In situ observation of the Cardinium symbionts of *Brevipalpus* (Acari: Tenuipalpidae) by electron microscopy. *Experimental and Applied Acarology* 42(4): 263-271. <https://doi.org/10.1007/s10493-007-9090-1>

Lynch M, Crease TJ (1990) The analysis of population survey data on DNA sequence variation. **Molecular Biology and Evolution** 7(4):377-394. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040607>

Mendonça RS, Ferragut F, Oliveira ICSDe, Tassi AD, Fileni F, Ochoa R, Navia D (2025) Revisiting the systematics of flat mites in the genus *Brevipalpus* (Tenuipalpidae): phylogenetic relationships, species groups, taxon delimitation, and cryptic diversity. Disponível em: <https://hal-04907421> . [Acesso em: 18 fev. 2025]

Mineiro JLdeC, Sato ME, Ochoa R, Beard J, Bauchan G (2018) Revisão taxonômica do ácaro da leprose dos citros e sua distribuição no Brasil. **Citrus Research & Technology** 39:1-11. <https://doi.org/10.4322/crt.17147>

Navajas M, Gutierrez J, Lagnel J, Boursot P (1996) Mitochondrial cytochrome oxidase I in tetranychid mites: a comparison between molecular phylogeny and changes of morphological and life history traits. **Bulletin of Entomological Research** 86:407-417. <https://doi.org/10.1017/S0007485300034994>

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. <https://doi.org/10.1111/zsc.12013>

Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 70(12), 3321–3323. <https://doi.org/10.1073/pnas.70.12.3321>

Posada D, Crandall KA (1998) MODELTEST: testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics** 14(9):817-818. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/14.9.817>

Posada D, Buckley TR (2004) Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of akaike information criterion and bayesian approaches over likelihood ratio tests. **Systematic Biology** 53(5):793-808. <https://doi.org/10.1080/10635150490522304>

Robertson JL, Preisler HK (1992) **Pesticide bioassay with arthropods**. Boca Ranton, CRC Press, pp.35–48.

Rocha CM, Della Vechia JF, Savi PJ, Omoto C, Andrade DJ (2021) Resistance to spirodiclofen in *Brevipalpus yothersi* (Acari: Tenuipalpidae) from Brazilian citrus groves: detection, monitoring, and population performance. **Pest Management Science** 77(7):3099-3106. <https://doi.org/10.1002/ps.6341>

Rodrigues JCV, Gallo-Meagher M, Ochoa R, Childers CC, Adams BJ (2004) Mitochondrial DNA and RAPD polymorphisms in the haploid mite *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae). **Experimental and Applied Acarology** 34:275-290. <https://doi.org/10.1007/s10493-004-0571-1>

Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics** 19(12):1572-1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>

Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A (2017) DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Data Sets. **Molecular Biology and Evolution** 34(12): 3299-3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>

Salinas-Vargas D, Santillán-Galicia MT, Guzmán-Franco AW, Hernández-López A, Ortega-Arenas LD, Mora-Aguilera G (2016) Analysis of genetic variation in *Brevipalpus yothersi* (Acari: Tenuipalpidae) populations from four species of citrus host plants (WJ Etges, Ed.). **PLOS ONE** 11:e0164552. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164552>

Sánchez-Velázquez EJ, Santillán-Galicia MT, Novelli VM, Nunes MA, Mora-Aguilera G, Valdez-Carrasco JM, Otero-Colina G, Freitas-Astúa J (2015) Diversity and genetic variation among *Brevipalpus* populations from Brazil and Mexico (WJ Etges, Ed.). **PLOS ONE** 10:e0133861. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133861>

Swofford DL (2002) PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and Other Methods), Version 4.0 Beta 10. Sinauer Associates, Sunderland.

Thierry M, Becker N, Hajri A, Reynaud B, Lett JM, Delatte H (2011) Symbiont diversity and non-random hybridization among indigenous (Ms) and invasive (B) biotypes of *Bemisia tabaci*. **Molecular Ecology** 20(10):2172-2187. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05087.x>

Van Leeuwen T, Vontas J, Tsagkarakou A, Dermauw W, Tirry L (2010) Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: a review. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** 40(8):563-572. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2010.05.008>

Van Leeuwen T, Tirry L, Yamamoto A, Nauen R, Dermauw W (2015) The economic importance of acaricides in the control of phytophagous mites and an update on recent acaricide mode of action research. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 121:12-21. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.12.009>

Wright, S. (1978) *Evolution and the Genetics of Populations*. Vol. 4. Variability within and among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago.