

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DETECÇÃO E MONITORAMENTO DA RESISTÊNCIA
DO ÁCARO DA LEPROSE DOS CITROS *Brevipalpus
yothersi* (ACARI: TENUIPALPIDAE) AO
ESPIRODICLOFENO**

**Claudiane Martins da Rocha
Engenheira Agrônoma**

2020

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DETECÇÃO E MONITORAMENTO DA RESISTÊNCIA
DO ÁCARO DA LEPROSE DOS CITROS *Brevipalpus
yothersi* (ACARI: TENUIPALPIDAE) AO
ESPIRODICLOFENO**

Claudiane Martins da Rocha

Orientador: Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade

Coorientador: Prof. Dr. Celso Omoto

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

2020

R672d

Rocha, Claudiane Martins da

Detecção e monitoramento da resistência do ácaro da leprose dos citros *Brevipalpus yothersi* (Acari: Tenuipalpidae) ao espiroclorfenol / Claudiane Martins da Rocha. -- Jaboticabal, 2020

45 p. : tabs., mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Daniel Junior de Andrade

Coorientador: Celso Omoto

1. Ácaro. 2. *Brevipalpus phoenicis*. 3. Cetoenol. 4. *Citrus leprosis* virus - CiLV. 5. *Citrus sinensis*. I. Título.

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 DE APROVAÇÃO

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DETECÇÃO E MONITORAMENTO DA RESISTÊNCIA DO ÁCARO DA
LEPROSE DOS CITROS *Brevipalpus yothersi* (ACARI: TENUIPALPIDAE) AO
ESPIRODICLOFENO**

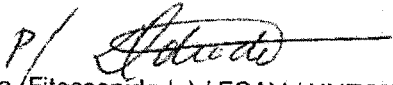
AUTORA: CLAUDIANE MARTINS DA ROCHA

ORIENTADOR: DANIEL JUNIOR DE ANDRADE

COORIENTADOR: CELSO OMOTO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA
(ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. DANIEL JUNIOR DE ANDRADE 
Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade) / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK p/ 
Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade) / FCAV / UNESP - Jaboticabal
(VIDEOCONFERÊNCIA)

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

Jaboticabal, 30 de julho de 2020

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

CLAUDIANE MARTINS DA ROCHA – Nasceu em 26 de junho de 1995, em São Gabriel da Palha, Estado do Espírito Santo, filha de Rozangela Martins de Oliveira Rocha e José Claudio da Rocha. Em agosto de 2013, ingressou no curso de Engenharia Agrônoma, no Instituto Federal do Espírito Santo (IFES) – Câmpus Itapina, em Colatina, Espírito Santo. Recebeu o título de Engenheira Agrônoma em agosto de 2018. Durante a graduação, desenvolveu atividades de pesquisa na área de Entomologia, com ênfase em extratos botânicos para o controle de ácaros-praga, sendo bolsista de Iniciação Científica do IFES, no período de 2017 a 2018, sob a orientação do Prof. Dr. Anderson Mathias Holtz e da Profa. Dra. Grazielle Furtado Moreira. Em agosto de 2018, iniciou o curso de Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola, da Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – (FCAV-Unesp), Câmpus de Jaboticabal, Estado de São Paulo. Durante o Mestrado, foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil - CAPES, sob orientação dos Professores Daniel Júnior de Andrade e Celso Omoto. Foi aprovada no processo seletivo do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para cursar o doutorado a partir de agosto de 2020.

Aos meus pais, José Claudio da Rocha e Rozangela Martins de Oliveira Rocha e minhas irmãs Rosália Martins da Rocha e Jayane Martins da Rocha, por todo amor, incentivo e apoio em minha formação pessoal e profissional.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, pela proteção, força e por me manter firme durante minha caminhada.

À minha família, por todo incentivo na busca de meus sonhos e objetivos. Gratidão imensa aos meus pais José Claudio da Rocha e Rozangela Martins de Oliveira Rocha, por todo amor e cuidado dedicado a mim e à nossa família. Por sempre terem me apoiado em minhas decisões e me ensinado valores muito importantes para o meu crescimento pessoal. Às minhas irmãs Rosália Martins da Rocha e Jayane Martins da Rocha, por todo amor e companheirismo.

Ao Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade, pela orientação, confiança, ensinamentos, oportunidade para a realização deste trabalho e por contribuir com meu crescimento pessoal e profissional.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Celso Omoto, pela orientação, atenção, disponibilidade e ajuda na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Raphael de Campos Castilho e Prof. Dr. Ricardo Antônio Polanczyk, pela valiosa contribuição durante o Exame Geral de Qualificação do Mestrado.

Aos meus orientadores da graduação, Prof. Dr. Anderson Mathias Holtz e Profa. Dra. Grazielle Furtado Moreira, por acreditarem em mim, por toda ajuda e oportunidades proporcionadas, pela amizade e valiosas contribuições para o meu crescimento pessoal e intelectual.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – (FCAV-Unesp), juntamente ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Entomologia Agrícola, pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado, por toda infraestrutura e pelos recursos recebidos.

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), pela amizade e por todo conhecimento compartilhado. Agradeço imensamente pela contribuição de cada um em minha formação.

A todos os amigos e colegas do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Etomologia Agrícola) FCAV-Unesp, pelo convívio e companheirismo.

À Ávylla Régia Albuquerque de Barros, pela amizade, por todo apoio, muitos conselhos e momentos alegres compartilhados. Sou muito grata a Deus por tê-la em minha vida.

A todos os amigos e colegas do Grupo de Estratégias e Manejo de Ácaros Neotropicais (GEMAN), Jaqueline Franciosi Della Vechia, Sidneia Terezinha Soares de Matos, Leilane Martins Lacerda, Patrice Jacob Savi, Daiana Paixão Nogueira Silva e Ana Beatriz Piai Kapp, pela amizade e pelo auxílio durante a condução deste trabalho.

Ao Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus), pelo apoio à pesquisa.

Agradecimentos especiais às empresas Cutrale e Fazenda Cambuhy, pelo fornecimento das populações de ácaro da leprose.

Ao Prof. Vitório Barato Neto, pela revisão gramatical da dissertação.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho.

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

Muito obrigada!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ii
ABSTRACT	iii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Citricultura	2
2.2 A leprose dos citros.....	3
2.3 <i>Brevipalpus</i> spp.....	4
2.4 Manejo da leprose e a resistência de <i>Brevipalpus</i> aos acaricidas	5
2.5 Resistência de ácaros aos acaricidas derivados do ácido tetrônico	7
2.6 Custo adaptativo associado à resistência	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1 Populações de <i>Brevipalpus yothersi</i>	11
3.2 Acaricida	15
3.3 Bioensaios.....	15
3.4 Determinação da concentração diagnóstica	16
3.5 Monitoramento da resistência	16
3.6 Caracterização da resistência	17
3.7 Avaliação do custo adaptativo.....	17
4. RESULTADOS	20
4.1 Dose diagnóstica e monitoramento da resistência.....	20
4.2 Caracterização da resistência	22
4.3 Custo adaptativo	23
5. DISCUSSÃO	28
6. CONCLUSÕES	35
7. REFERÊNCIAS.....	36

DETECÇÃO E MONITORAMENTO DA RESISTÊNCIA DO ÁCARO DA LEPROSE DOS CITROS *Brevipalpus yothersi* (ACARI: TENUIPALPIDAE) AO ESPIRODICLOFENO

RESUMO - O ácaro *Brevipalpus yothersi* é vetor do vírus *Citrus leprosis virus* (CiLV-C), agente causal da doença leprose dos citros. Esta doença causa queda precoce de frutos, desfolha e seca de ramos, podendo levar à morte das plantas. O acaricida espirodiclofeno tem sido amplamente utilizado para o controle deste ácaro. Porém, falhas no controle com este acaricida vêm sendo relatadas frequentemente pelos citricultores. Portanto, o objetivo do trabalho foi monitorar e caracterizar a resistência de populações de *B. yothersi* ao espirodiclofeno e avaliar a existência de custo adaptativo associado à resistência a este acaricida. Nove populações de *B. yothersi* foram coletadas em pomares comerciais de laranja no Estado de São Paulo. Uma população de *B. yothersi*, coletada em pomar sem aplicação de agrotóxicos e mantida por mais de dez anos em laboratório, foi utilizada com linhagem suscetível de referência (S). O método utilizado nos experimentos foi o de contato direto com as aplicações realizadas em torre de Potter. Foram utilizados ovos de *B. yothersi* para a avaliação da mortalidade e folhas de feijão-de-porco *Canavalia ensiformis* em placas de Petri como substrato. Fêmeas provenientes das populações permaneceram por 72 horas para ovipositarem em arenas de folhas de feijão-de-porco. Após este período, as fêmeas foram removidas, e o número de ovos por arena foi contabilizado. Para o monitoramento da resistência, avaliou-se o efeito da concentração diagnóstica de 16,4 ppm de espirodiclofeno (Envidor 240 SC), previamente determinada para a população S. A população que apresentou a menor mortalidade de ovos foi utilizada para caracterização da resistência. A população R foi submetida à pressão de seleção com uma concentração de 9,9 ppm, por uma geração, correspondente a CL_{95} da população S, para a obtenção da linhagem R. Ovos das linhagens S e R foram submetidos a diferentes concentrações de espirodiclofeno para a obtenção de uma curva de concentração-resposta. A Razão de Resistência foi obtida pela divisão da CL_{50} da linhagem R pela CL_{50} da linhagem S. Parâmetros biológicos e demográficos das linhagens foram comparados para verificar a existência, ou não, de custo adaptativo. Além disso, foi calculada uma Tabela de Vida de Fertilidade. Houve elevada variabilidade entre as populações quanto à suscetibilidade ao espirodiclofeno. A frequência de ovos resistentes variou de 0,7 a 85,8%, sendo que as maiores taxas de sobrevivência (>79%) foram observadas nas populações P8 e P9. A razão de resistência encontrada foi de 10,6 vezes. A comparação dos parâmetros biológicos entre as linhagens R e S indicou a existência de custo adaptativo associado à resistência ao espirodiclofeno. A linhagem R apresentou as menores taxas de sobrevivência do estágio imaturo, longevidade total de adultos, dias de oviposição e fecundidade de fêmeas. Além disso, a linhagem R também apresentou os menores valores da taxa líquida de reprodução (R_0) da taxa intrínseca de aumento populacional (rm) da razão finita de aumento (λ) e maior tempo médio entre gerações. A existência de custo adaptativo, associado à resistência de *B. yothersi* ao espirodiclofeno, pode ser explorada em Programas de Manejo da Resistência aos acaricidas.

Palavras-chave: *Brevipalpus phoenicis*, cetoenol, *Citrus leprosis virus* - CiLV-C, *Citrus sinensis*, custo adaptativo

**DETECTION AND MONITORING OF CITRUS LEPROSY MITE
RESISTANCE *Brevipalpus yothersi* (ACARI: TENUIPALPIDAE) TO
SPIRODICLOFEN**

ABSTRACT - *Brevipalpus yothersi* mite is the vector of the *Citrus leprosis virus* (CiLV-C), the causal agent of citrus leprosis disease. This disease causes early fall of fruits, defoliation and branches die back, which can lead to the death of plants. The acaricide spirodiclofen has been widely used to control this mite. However, failures in the control with this acaricide have been frequently reported by citrus growers. Therefore, the objective of the study was to monitor and characterize the resistance of populations of *B. yothersi* to spirodiclofen and also to evaluate the possible existence of an adaptive cost associated with resistance to this acaricide. Nine populations of *B. yothersi* were collected from commercial orange groves in the State of São Paulo. A population of *B. yothersi*, collected in an orchard without the application of pesticides and maintained for more than ten years in the laboratory, was used as susceptible population of reference (S). The method used in the experiments was that of direct contact with applications carried out in Potter's tower. *B. yothersi* eggs were used to assess mortality and *Canavalia ensiformis* bean leaves in Petri dishes as substrate. Females from the populations remained for 72 hours to oviposit in arenas of leaves of beans. After this period, the females were removed, and the number of eggs per arena was counted. For the monitoring of resistance, the effect of the diagnostic concentration of 16.4 ppm of spirodiclofen (Envidor 240 SC), previously determined for population S, was evaluated. The population with the lowest egg mortality was used to characterize resistance. The R population was subjected to selection pressure with a concentration of 9.9 ppm, for one generation, corresponding to CL95 of the S population, to obtain the R strain. Eggs of the S and R strains were submitted to different concentrations of spirodiclofen to obtain a concentration-response curve. The Resistance Ratio was obtained by dividing the LC₅₀ of the R strain by the LC₅₀ of the S strain. Biological and demographic parameters of the strains were compared to verify the existence, or not, of adaptive cost. In addition, a Fertility Life Table was calculated. There was high variability between populations in terms of susceptibility to spirodiclofen. The frequency of resistant eggs ranged from 0.7 to 85.8%, with the highest survival rates (> 79%) observed in populations P8 and P9. The comparison of biological parameters between strains R and S indicated the existence of an adaptive cost associated with resistance to spirodiclofen. The R strain had the lowest survival rates of the immature stage, total adult longevity, oviposition days and female fertility. In addition, the R strain also had the lowest values of the net reproduction rate (R_0) of the intrinsic rate of population increase (rm) of the finite rate of increase (λ) and the longest average time between generations. The existence of an adaptive cost, associated with the resistance of *B. yothersi* to spirodiclofen, can be explored in acaricides Resistance Management Programs.

Keywords: *Brevipalpus phoenicis*, ketoenol, *Citrus leprosis virus* – CiLV-C, *Citrus sinensis*, fitness cost

1. INTRODUÇÃO

O ácaro *Brevipalpus yothersi* Baker (Acari: Tenuipalpidae) é uma das principais pragas dos citros. Este ácaro é vetor do vírus *Citrus leprosis virus* (CiLV-C), agente causal da leprose dos citros, uma das doenças mais importantes da citricultura (Bastianel et al., 2010; Tassi et al., 2017). A leprose dos citros causa depreciação e queda prematura de frutos, desfolha e seca de ramos. Todos esses fatores afetam substancialmente a produtividade, podendo inclusive causar a morte de plantas (Bastianel et al., 2010). A doença está presente nas principais regiões produtoras de citros do Brasil e, no Estado de São Paulo as maiores severidades são observadas nas regiões norte e noroeste (Bassanezi, 2018a; Amaral et al., 2018).

O uso de acaricidas sintéticos para o controle do ácaro-vetor é praticamente o único método utilizado no manejo da leprose dos citros (Bastianel et al., 2010; Miranda et al., 2017), por ser um método mais barato, fácil aplicação e de ação mais rápida. No entanto, falhas de controle do vetor e, conseqüentemente, da doença têm sido cada vez mais comuns nos pomares, acarretando elevados prejuízos econômicos (Andrade et al., 2018). Diversos fatores podem comprometer o controle do vetor; entretanto, o desenvolvimento de populações de ácaros resistentes aos acaricidas é apontado como um dos principais fatores que resultam em falhas no manejo da leprose (Omoto et al., 2000; Casarin, 2010; Bassanezi, 2018b).

Na citricultura, devido à alta pressão de seleção com produtos químicos, a resistência de ácaros *Brevipalpus* spp. aos acaricidas já foi reportada para vários ingredientes ativos, como dicofol, hexythiazox, propargite e calda sulfocálcica (Omoto et al., 2000; Campos e Omoto, 2002; Franco, 2002; Casarin, 2010). Além da pressão de seleção, alguns fatores bioecológicos de *Brevipalpus* spp. aceleram a evolução da resistência, destacando-se a reprodução predominantemente por partenogênese telítoca, em que ovos não fertilizados originam fêmeas, possuindo constituição genética idêntica a progenitora (Helle et al., 1980; Pijnacker et al., 1980; Weeks et al., 2001). Portanto, se em uma população houver indivíduos resistentes, seus descendentes também serão. E a baixa capacidade de dispersão que dificulta

a mistura entre populações resistentes e suscetíveis nos pomares (Alves et al., 2005).

O acaricida espirodiclofeno tem sido utilizado em larga escala na citricultura brasileira para o controle do ácaro *B. yothersi* (Miranda et al., 2017) Esse ingrediente ativo foi desenvolvido para o controle de ácaros de importância agrícola dos gêneros *Tetranychus*, *Panonychus*, *Brevipalpus*, *Phyllocoptruta* e *Aculops* (Van Leeuwen et al., 2015). Foi lançado no ano de 2002, sendo o ingrediente ativo derivado do ácido tetrônico do grupo químico dos cetoenóis cíclicos (Dekeyser, 2005; Nauen et al., 2003). É um dos acaricidas desenvolvidos mais recentemente para a agricultura, atuando como inibidor da enzima acetil-CoA carboxilase e na biossíntese de lipídeos (Bretschneider et al., 2012).

A resistência de populações a esse acaricida já foi reportada em espécies de ácaros da família Tetranychidae (Hu et al., 2010; Kramer e Nauen, 2011; Ullah et al., 2011; Doker e Kazac, 2012; Farahani et al., 2018; Wu et al., 2019). No entanto, a resistência de populações de ácaros do gênero *Brevipalpus* ao espirodiclofeno nunca foi relatada na literatura científica, e falhas no controle ou mesmo redução do período de controle com esse acaricida vêm sendo relatadas com frequência pelos citricultores. Portanto, o estudo objetivou detectar possíveis populações de *B. yothersi* resistentes ao espirodiclofeno provenientes das principais regiões citrícolas do Estado de São Paulo e, caso detectadas, realizar a caracterização e o monitoramento da resistência, bem como verificar a existência, ou não, de custo adaptativo associado à resistência a esse acaricida.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Citricultura

A citricultura está entre as principais atividades agrícolas do agronegócio brasileiro, sendo que o País é o maior produtor mundial de laranja-doce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] com a produção de 18.345.737 toneladas e uma área plantada de 648.800 hectares (IBGE, 2020). O Brasil também é o maior exportador de suco de laranja do mundo (56%), seguido por China, Estados Unidos, União Europeia e

México (USDA, 2020). O Estado de São Paulo é o principal produtor brasileiro, sendo responsável por, aproximadamente, 14.491.376 toneladas, o que corresponde a, aproximadamente, 79% da produção nacional (IBGE, 2020).

O setor citrícola gera, aproximadamente, 200 mil empregos diretos e indiretos, pois é uma atividade que necessita de muita mão de obra, principalmente durante a colheita, tendo grande importância para a economia dos municípios inseridos nas regiões produtoras do Estado de São Paulo e do Triângulo Mineiro (Neves e Trombin, 2017).

2.2 A leprose dos citros

A leprose dos citros foi descrita pela primeira vez em 1901 na Flórida, Estados Unidos (Fawcett, 1911) e detectada pela primeira vez no Brasil em Sorocaba, São Paulo, onde recebeu o nome de varíola (Bitancourt, 1934). A presença da doença também foi confirmada no Paraguai (Spegazzini, 1920), Argentina (Frezzi, 1940), Costa Rica (Araya-González, 2000), Panamá (Dominguez et al., 2001), Guatemala (Mejia et al., 2002), Bolívia (Gómez et al., 2005), Colômbia (Leon et al., 2006) e México (Izquierdo-Castillo et al., 2011; Beltran-Beltran et al., 2020). Recentemente, pela primeira vez, a presença da doença foi confirmada no continente africano, na África do Sul (Cook et al., 2019). No Brasil, a leprose está presente em todas as regiões produtoras de citros (Bastianel et al., 2010).

Kitajima et al. (1972) observaram, com auxílio de um microscópio eletrônico de transmissão, partículas baciliformes em associação com as lesões de leprose. Estudos envolvendo inoculação mecânica (Colariccio et al., 1995) e, posteriormente, o sequenciamento genômico confirmaram que o agente causal da leprose se trata de um vírus (Locali-Fabris et al., 2006; Pascon et al., 2006).

A primeira associação de ácaros do gênero *Brevipalpus* (Acari: Tenuipalpidae) com a doença foi realizada por pesquisadores na Argentina (Frezzi, 1940). Nesta época, o vetor foi identificado como *Tenuipalpus pseudocuneatus* Blanch (Acari: Tenuipalpidae) que, posteriormente, foi identificado como *Brevipalpus obovatus* Donnadieu (Acari: Tenuipalpidae). Anos depois, na Flórida, EUA, a

associação de ácaros com a leprose foi confirmada, e *Brevipalpus californicus* Banks (Acari: Tenuipalpidae) foi identificado como sendo o vetor (Knorr, 1950, 1968).

Os vírus causadores de sintomas de leprose estão divididos em dois grupos, o citoplasmático e o nuclear, dependendo do local de replicação do vírus nas células infectadas das plantas. O *Citrus leprosis virus - C* (CiLV-C) é o predominante nos pomares do Brasil, sendo este, também, o mais agressivo às plantas (Bastianel et al., 2010).

A leprose dos citros do tipo nuclear (CiLV-N) que ocorre no Brasil é um dichorhavirus (Rhabdoviridae), porém é diferente do tipo encontrado no México e na Colômbia (Ramos-González et al., 2017). Roy et al. (2013) encontraram na Colômbia um vírus citoplasmático relacionado, porém distinto de CiLV-C e causando sintomas nas plantas afetadas, tendo sido denominado de “vírus da leprose cítrica” - C2 (CiLV-C2). O vetor desse vírus também é o ácaro *B. yothersi* (Roy et al., 2013). São conhecidas duas estirpes de CiLV-C, a Cordeirópolis (CRD) e a São José do Rio Preto (SJP) (Ramos-González et al., 2016).

Todos os estágios móveis de *B. yothersi* são capazes de adquirir e de transmitir o CiLV-C, contudo não ocorre transmissão transovariana do vírus no vetor (Chiavegato, 1995; Bastianel et al., 2010). O CiLV-C é não sistêmico, estando presente somente nas lesões ou muito próximo destas (Bastianel et al., 2010), sendo adquirido pelos ácaros durante a alimentação em locais da planta contaminados pelo vírus (Tassi et al., 2017).

2.3 *Brevipalpus* spp.

O gênero *Brevipalpus* (Acari: Tenuipalpidae) compreende mais de 300 espécies, das quais, até o momento, cinco foram relacionadas à transmissão de vírus causadores da leprose dos citros (Mesa et al., 2009; Kitajima et al., 2014). Mais de 40 espécies de plantas têm sido relatadas como hospedeiras de *Brevipalpus* spp. vetores de vírus (VTBs) (Kitajima et al., 2010). Dentre as doenças causadas pelos VTBs que afetam culturas de importância agrícola destacam-se a leprose dos citros, a mancha anular do cafeeiro (*Coffee ringspot virus - CorSV*), a pinta verde do

maracujá (*Passion fruit green spot virus* - PFGSV) e a mancha da orquídea (*Orchid fleck dichorhavirus*) (Kitajima et al., 2003).

A espécie *B. phoenicis*, lato sensu, foi por muito tempo associada à transmissão do CiLV-C. Porém, Beard et al. (2015) verificaram que o ácaro *B. phoenicis*, na verdade, trata-se de um complexo de espécies e, com base em caracteres morfológicos, como padrão de estrias cuticulares, placas ventrais e genitais, e o formato da espermateca, separaram a espécie em oito tipos morfológicos, sendo quatro espécies novas [*Brevipalpus azores* Beard e Ochoa, *Brevipalpus feresi* Ochoa e Beard, *Brevipalpus ferraguti* Ochoa e Beard e *Brevipalpus tucuman* Beard e Ochoa (Acari: Tenuipalpidae)] e outras quatro espécies recuperadas e redescritas [*Brevipalpus hondurani* Evans, *Brevipalpus papayensis* Baker, *B. phoenicis* e *B. yothersi* (Acari: Tenuipalpidae)]. Com base neste trabalho, foram realizados levantamentos por Mineiro et al. (2015), constatando que *B. yothersi* é a espécie predominante nos cultivos comerciais de citros no Estado de São Paulo e não a espécie *B. phoenicis*, como se acreditava. Com isso, Ramos-Gonzalez et al. (2016) e Tassi et al. (2017) confirmaram o ácaro *B. yothersi* como vetor de vírus causadores da leprose dos citros (CiLV-C e CiLV-N).

O ciclo biológico do ácaro da leprose é constituído pelas fases de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto. Entre cada instar, ocorrem os períodos quiescentes de protocrisálida, deutocrisálida e teliocrisálida, nos quais os ácaros permanecem imóveis (Amaral et al., 2018). A duração do estágio imaturo é cerca de 26 dias, período de oviposição de 18,5 dias, fecundidade de 20,8 ovos por fêmea e longevidade de 24,8 dias a 23 ± 1 °C, $60 \pm 10\%$ UR e 14 horas de fotoperíodo (Amaral et al., 2018).

2.4 Manejo da leprose e a resistência de *Brevipalpus* aos acaricidas

A principal medida adotada para o controle do ácaro da leprose é o controle químico, por meio de pulverizações de acaricidas sintéticos (Bazzo, 2016). A poda de partes de plantas afetadas pela doença também pode contribuir com o manejo, visto que reduz fontes de inóculo do vírus (Andrade et al. 2013). O plantio com mudas saudáveis, a retirada de frutos caídos no solo e a eliminação de plantas

daninhas hospedeiras do vírus e do ácaro são medidas complementares recomendadas no manejo da leprose (Bassanezi, 2018a).

Com relação ao controle químico, a escolha do acaricida deve seguir as recomendações do Ministério da Agricultura (MAPA). Além disso, para os citricultores que destinam sua produção para exportação, os produtos a serem utilizados devem seguir as recomendações da Lista Protecitrus (Produtos para Proteção da Citricultura). Nesta lista, os citricultores encontram os produtos autorizados para aplicação, com os LMRs (Limite Máximo de Resíduo) definidos pelos principais países consumidores do suco de laranja brasileiro, com destaque para os países da Comunidade Europeia (Fundecitrus, 2020).

Embora seja um método de controle rápido, o uso contínuo de acaricidas com mesmo o modo de ação, pode levar à evolução da resistência em populações de ácaros aos produtos utilizados. Segundo o Comitê de Ação de Resistência a Inseticidas (IRAC), a resistência pode ser definida como uma mudança herdável na sensibilidade de uma população, resultando em falhas repetidas de um produto em atingir o nível de controle esperado, quando usado de acordo com a recomendação do fabricante. Portanto, ocorre a seleção de indivíduos que estão predispostos geneticamente a sobreviver a doses que são letais para a maioria da população suscetível (Li et al., 2007).

Casos de evolução da resistência de populações de *B. phoenicis* lato sensu a acaricidas já foram reportados em alguns estudos. Omoto et al. (2000) monitoraram a resistência de populações de *B. phoenicis* provenientes de onze pomares comerciais de citros do Estado de São Paulo ao dicofol. Estes autores verificaram elevada variabilidade na suscetibilidade entre as populações, tendo sido encontrada Razão de Resistência de até 57 vezes a esse acaricida para a linhagem resistente. Alves et al. (2000) constataram maior suscetibilidade ao fenpiroximato para a linhagem resistente ao dicofol em comparação com a linhagem suscetível, indicando resistência cruzada negativa entre esses dois acaricidas. Ainda foi demonstrada ausência de resistência cruzada entre dicofol e óxido de fembutatina e propargite (Alves et al., 2000). No entanto, a linhagem resistente ao dicofol também se mostrou resistente ao bromopropilato, evidenciando resistência cruzada positiva entre esses acaricidas (Alves et al., 2000).

A suscetibilidade de *B. phoenicis* aos acaricidas organoestânicos óxido de fembutatina e cihexatina foi estudada por Konno et al. (2001). Todas as populações coletadas por estes autores apresentaram suscetibilidade semelhante ao da linhagem suscetível de referência, com exceção de uma população que apresentou porcentagem de sobrevivência a cihexatina de 10,7%. Por outro lado, Campos e Omoto (2002) verificaram alta variabilidade na resposta das populações de *B. phoenicis* ao acaricida hexythiazox, nos quais a frequência de resistência nas populações variou de 30 a 94%, tendo sido encontrada Razão de Resistência superior a 10.000 vezes para a linhagem resistente.

Franco (2002) conduziu trabalhos de caracterização e monitoramento da resistência de *B. phoenicis* ao propargite em populações coletadas em diferentes pomares de citros do Estado de São Paulo. O autor encontrou diferenças significativas na suscetibilidade das populações a este acaricida com porcentagens de sobrevivência variando de 9,7 a 88,3% e de 0,0 a 63,8% nas concentrações diagnósticas de 320 e 720 mg de propargite L⁻¹, respectivamente. Casarin (2010) avaliou a evolução da resistência de populações do ácaro da leprose provenientes de pomares com sistemas de manejo orgânico e convencional à calda sulfocálcica. Diferenças significativas na suscetibilidade foram detectadas entre populações, mas não entre os sistemas de manejo. A Razão de Resistência encontrada foi de 5,69 vezes, e essa resistência mostrou-se estável em laboratório. Além disso, foi detectada resistência cruzada positiva entre a calda sulfocálcica e o enxofre.

2.5 Resistência de ácaros aos acaricidas derivados do ácido tetrônico

Entre as novas moléculas químicas introduzidas nos últimos anos, estão os derivados do ácido tetrônico/tetrâmico ou cetoenóis cíclicos. Esse grupo contém três compostos disponíveis no mercado mundial: espirodiclofeno, espiromesifeno e espirotetramato, este último não registrado no Brasil (Agrofit, 2020). Esses compostos atuam inibindo a ação da enzima acetil-CoA carboxilase (ACCase) e interferindo na biossíntese de lipídeos (Nauen, 2005; Bretschneider et al., 2012). No ano de 2010 as vendas foram de 114 milhões de euros, totalizando

aproximadamente 22% do mercado total de acaricidas (espiroclorfenol + espiromesifeno) (Van Leeuwen et al., 2015).

O espiroclorfenol tem sido amplamente utilizado no controle de ácaros de importância agrícola, tendo alcançado 79 milhões de euros em vendas em todo o mundo em 2010, o que correspondeu a aproximadamente 15% do valor total de acaricidas comercializados nesse ano (Van Leeuwen et al., 2015). Possui eficácia contra todos os estágios de desenvolvimento de ácaros dos gêneros *Tetranychus*, *Panonychus* e *Brevipalpus* (Wachendorff et al., 2000). É bastante efetivo no controle de ovos e de fêmeas adultas (Nauen, 2005). Fêmeas de ácaros *Brevipalpus* spp. expostas ao espiroclorfenol têm sua fecundidade altamente afetada, pois não conseguem ovipositar normalmente, e os ovos ficam acumulados em seu corpo, levando-as à morte (Nauen, 2005; Amaral et al., 2019). Embora o espiroclorfenol seja um acaricida bastante eficiente no controle de ácaros, no mundo já foram relatadas populações resistentes a este ingrediente ativo.

Hu et al. (2010) detectaram resistência de 50 e 90,8 vezes ao espiroclorfenol em duas das populações de *Panonychus citri* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), coletadas em plantas cítricas na China, bem como demonstraram haver resistência cruzada positiva entre espiroclorfenol e espirotetramato. Doker e Kazac (2012) estudaram a suscetibilidade ao espiroclorfenol em populações de *P. citri* provenientes de plantas cítricas da Turquia e verificaram a existência de ovos e de fêmeas adultas resistentes. Kramer e Nauen (2011) realizaram seleção contínua com espiroclorfenol em condições de laboratório, expondo uma população de *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae), coletada a campo, a aplicações sucessivas de concentrações gradualmente crescentes de espiroclorfenol. Após seis meses, esses autores verificaram alta resistência em larvas (>7.000 vezes). Linhagens de *Tetranychus merganser* Boudreaux e *Tetranychus kanzawai* Kishida (Acari: Tetranychidae) também apresentaram resistência a esse acaricida em estudos realizados no Japão (Ullah et al., 2011).

Populações de *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae), resistentes ao espiroclorfenol, foram encontradas nos EUA, em plantas de lúpulo *Humulus lupulus* L., com razões de resistência que variaram de 3,16 a 44,11 (Wu et al., 2018). Farahani et al. (2018) estudaram a suscetibilidade de populações iranianas de *T.*

urticae ao espiroclorfenol e obtiveram uma Razão de Resistência de 22,19 para uma das populações avaliadas. Populações brasileiras de *T. urticae* apresentaram variabilidade na suscetibilidade ao espiromesifeno, com frequência de ácaros resistentes variando de 0,0% a 81,5%, quando submetidos à concentração diagnóstica (Sato et al., 2016). Esses autores observaram ainda que, após 20 seleções de resistência, os valores de CL₅₀ de espiromesifeno para ovos de *T. urticae* aumentaram 35,5 vezes. Resultado semelhante foi relatado por Nauen e Konanz (2005) em trabalhos realizados com larvas de *T. urticae*, nos quais observaram fator de resistência de 32 vezes para espiromesifeno após 15 gerações de seleção em laboratório.

Estudos de seleção de resistência de ácaros predadores a acaricidas derivados do ácido tetrônico foram conduzidos em laboratório. Salman e Keskin (2019) estudaram a seleção em condições laboratoriais do ácaro predador *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) ao espiroclorfenol e verificaram resistência de 108,47 vezes após cinco ciclos de seleção. Uma linhagem suscetível de *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) apresentou resistência de 52,08 vezes ao espiromesifeno após 13 ciclos de seleção (Salman e Ay, 2014).

2.6 Custo adaptativo associado à resistência

No início da evolução da resistência em uma população, os indivíduos resistentes estão em frequência menor, comparados aos indivíduos suscetíveis (Roush e McKenzie, 1987). Com aplicações sucessivas de um mesmo produto ou de produtos diferentes com o mesmo mecanismo de ação, os indivíduos suscetíveis são desfavorecidos, enquanto os resistentes sobrevivem e reproduzem-se aumentando sua frequência na população. No entanto, com a redução de pressão de seleção, desvantagens adaptativas relacionadas principalmente aos parâmetros biológicos, podem ser observadas em indivíduos resistentes, proporcionando assim o restabelecimento da suscetibilidade com a diminuição do número de indivíduos resistentes na população (Georghiou, 1972; Roush e McKenzie, 1987). A desvantagem adaptativa de indivíduos resistentes, em relação aos suscetíveis a um

determinado produto, tem sido bastante explorada em Programas de Manejo da Resistência de pragas (Alves, 2004). Segundo Kliot e Ghanim (2012), quanto maior o custo de condicionamento, mais tempo será necessário para que o número de indivíduos resistentes aumente na população.

Estudos com algumas espécies de ácaros têm apontado diferenças no valor adaptativo entre os ácaros resistentes e suscetíveis aos acaricidas. Alves (1999) estudou a biologia de linhagens de *B. phoenicis* suscetível e resistente ao dicofol e verificou menor fecundidade e longevidade na linhagem resistente em comparação com a linhagem suscetível. Campos e Omoto (2002), em estudos da dinâmica da resistência ao hexythiazox, verificaram que esta mostrou-se muito estável em condições de laboratório, visto que a frequência de resistência não declinou com o passar do tempo na ausência de pressão de seleção. Diferenças significativas quanto aos parâmetros biológicos entre as linhagens suscetível e resistente ao hexythiazox também não foram verificadas (Campos e Omoto, 2006). Contudo, a resistência ao hexythiazox se mostrou instável em condições de campo, havendo reduções significativas na frequência de resistência, na ausência de pressão de seleção (Campos e Omoto, 2006).

Estudos sobre a existência de custo adaptativo, associado à resistência do ácaro da leprose ao propargite, foram conduzidos por Franco et al. (2007) mediante comparação de parâmetros biológicos das linhagens suscetível e resistente a este acaricida. Esses autores não observaram diferenças significativas entre as linhagens suscetíveis e resistentes ao propargite, quanto à duração dos estágios de desenvolvimento. Na fase adulta, também não foram observadas diferenças quanto à duração do período de pré-oviposição, oviposição, longevidade e fecundidade, porém o período de pós-oviposição da linhagem resistente foi maior do que o da linhagem suscetível, e os autores concluíram que não há custo adaptativo associado à resistência de *B. phoenicis* ao propargite. Casarin (2010) não observou diferenças significativas quanto ao crescimento populacional de linhagens de *B. phoenicis* suscetível e resistente à calda sulfocálcica. Os valores da taxa instantânea de crescimento (r_t) foram positivos e próximos para todas as populações de *B. phoenicis*, indicando um comportamento semelhante em relação ao crescimento

populacional e não havendo, portanto, custo adaptativo nos parâmetros biológicos associados ao crescimento populacional.

A resistência de *T. urticae* ao espiroclorfenol mostrouse instável em condições de laboratório na ausência de pressão de seleção. Estudos conduzidos por Rauch e Nauen (2002) mostraram que a resistência ao espiroclorfenol, na linhagem selecionada em laboratório, diminuiu de 13 a 3,6 vezes após 9 gerações (18 semanas) sem pressão de seleção. Resultados semelhantes foram encontrados por Van Polttelberge et al. (2009). Os autores verificaram que a CL₅₀ da linhagem resistente ao espiroclorfenol diminuiu 3,4 vezes após seis meses, sem tratamento, em comparação com a linhagem resistente sob pressão de seleção; no entanto, ainda 80 vezes maior que o da linhagem suscetível de referência. A resistência de *T. urticae* também se mostrou instável ao espiromesifeno na ausência de pressão de seleção em laboratório, havendo diminuição significativa na porcentagem de ácaros resistentes ao longo do tempo, variando de 75,0 a 0,15% em seis meses (Sato et al., 2016).

Ejaz e Shad (2017) estudaram a estabilidade da resistência de *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) ao espirotetramato. Alguns parâmetros da população resistente, como taxa de sobrevivência, peso de pupas, fecundidade, viabilidade de ovos, tempo de geração, taxa intrínseca de aumento populacional, potencial biótico e taxa de crescimento relativo, apresentaram redução significativa em comparação à população suscetível. Na ausência de pressão de seleção, a resistência ao espirotetramato diminuiu significativamente, indicando instabilidade na resistência (Ejaz e Shad 2017).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Populações de *Brevipalpus yothersi*

Uma população de *B. yothersi* suscetível (S) ao espiroclorfenol, coletada em um pomar cítrico não comercial (sem aplicação de agrotóxicos), localizado no Câmpus da Universidade Estadual Paulista (FCAV-Unesp), Jaboticabal, São Paulo,

foi utilizada como linhagem suscetível de referência. Esta população foi mantida em laboratório por mais de 10 anos.

Entre os meses de agosto de 2018 e novembro de 2019, foram coletadas nove populações de *B. yothersi* em pomares comerciais localizados no Estado de São Paulo (Figura 1 e Tabela 1). As populações foram mantidas em laboratório por cinco gerações e identificadas de acordo com a cidade de origem, sendo Taquaral (P1), Tambaú (P2), Ibaté (P3), Botucatu (P4), Matão (P5), Gavião Peixoto (P6 e P8), Barretos (P7) e Araraquara (P9).



Figura 1. Municípios de coleta das populações de *Brevipalpus yothersi* no Estado de São Paulo.

Em cada pomar, coletaram-se amostras compostas por frutos, folhas e ramos infestados por ácaros, que foram acondicionadas em caixas de isopor contendo gelo, e transportados para o laboratório. Os ácaros foram retirados do material vegetal com auxílio de um pincel de um pelo, sob microscópio estereoscópico. Posteriormente, os ácaros foram transferidos para frutos de laranja-doce *C. sinensis*, isentos de produtos químicos, para serem multiplicados.

Antes da transferência dos ácaros, os frutos foram lavados em água corrente e parcialmente parafinados, deixando-se uma arena de 10 cm² sem parafina para a

colonização dos ácaros. A arena foi circundada por uma fina camada de cola entomológica (Cola Tatoon®, Isca Tecnologias, Ijuí, Rio Grande do Sul, Brasil) para confinar os ácaros. Dada a preferência de *B. yothersi* por superfícies irregulares para oviposição, uma mistura de areia fina, gesso, farinha de trigo e água, na proporção de 4:1:1:3, foi pincelada em parte da arena (Della Vecchia et al., 2018).

Tabela 1. Identificação das populações de *Brevipalpus yothersi*, local, data de coleta, variedade e porta-enxerto, idade do pomar e número de pulverizações com espiroclorfenol, referente ao último ano antes das coletas, em pomares citrícolas do Estado de São Paulo.

Identificação	Local	Data de coleta	Variedade/Porta enxerto	Idade (anos)	Nº de pulverizações
P1	Taquaral	14-06-19	<i>dni</i> ¹	<i>dni</i> ¹	<i>dni</i> ¹
P2	Tambaú	08-10-18	Valência/Cleópatra	17	2
P3	Ibaté	29-03-19	Pera/Swingle	5	1
P4	Botucatu	15-03-19	Natal/Limão-Cravo	26	2
P5	Matão	01-11-19	Valência/Swingle	2	3
P6	Gavião Peixoto	25-10-19	Folha-Murcha/Swingle	6	1
P7	Barretos	10-09-19	Valência/Swingle	11	1
P8	Gavião Peixoto	25-10-19	Folha-Murcha/Swingle	6	2
P9	Araraquara	17-09-19	Valência/Swingle	9	2

*dni*¹ - Dados não informados pelo produtor.

Os frutos foram colocados em bandejas mantidas em câmara climatizada a 25 ± 1 °C, umidade relativa (U.R.) de $60 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 horas (12 luz: 12 escuro). Os frutos foram substituídos conforme necessário, encostando-se o fruto velho ao fruto novo para a migração dos ácaros.

3.2 Acaricida

O acaricida utilizado foi o espirodiclofeno (Envidor® 240 g L⁻¹ SC, Bayer CropScience AG, Dormagen, Alemanha), registrado para a cultura dos citros junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA) (Agrofit, 2020).

3.3 Bioensaios

O método utilizado nos experimentos foi de contato direto com ovos de *B. yothersi*. De acordo com Nauen (2005) o espirodiclofeno é bastante efetivo contra ovos de *Brevipalpus*. Foram utilizadas folhas de plantas de feijão-de-porco *Canavalia ensiformis* (L.) DC como substrato para os ácaros, conforme metodologia proposta por Sato et al. (2016), com algumas modificações. Para isso, folhas foram dispostas com a superfície abaxial voltada para cima em placas de Petri de 15 cm de diâmetro, contendo espuma umedecida de 1 cm de espessura, sendo uma folha por placa. Para manter a turgidez das folhas, elas foram circundadas com uma camada de algodão hidrófilo umedecido. Em cada folha foram delimitadas duas arenas de 5 cm de diâmetro com cola entomológica (Cola Tattoo®, Isca Tecnologias, Ijuí, Rio Grande do Sul, Brasil).

Para cada arena, foram transferidas entre 15 e 20 fêmeas de *B. yothersi* que permaneceram ovipositando por 72 horas. Após esse período, as fêmeas foram retiradas e, em seguida, efetuou-se a contagem do número de ovos presentes em cada arena. Cada placa de Petri recebeu a pulverização de 2 mL de cada concentração do acaricida, obtendo-se a deposição média de $1,56 \text{ mg/cm}^2$, com o auxílio de uma torre de Potter (Burkard Manufacturing, Rickmansworth, Inglaterra), calibrada à pressão de 68,95 kPa (10 lb/pol²). O controle foi pulverizado somente

com água deionizada. Após a pulverização, as placas foram mantidas em câmara climatizada com as mesmas condições mencionadas anteriormente.

Foram utilizadas seis repetições para cada concentração. A eclosão das larvas foi avaliada após dez dias, e a porcentagem de mortalidade foi calculada a partir do número de ovos não eclodidos por arena.

3.4 Determinação da concentração diagnóstica

Para a obtenção da curva de concentração-resposta, oito concentrações de espiroclorfenolato foram testadas para a linhagem S, sendo elas: 0,0; 1,0; 1,8; 3,2; 4,2; 5,6; 10 e 18 ppm. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis repetições para cada tratamento. Foram testados 720 ovos. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit, com auxílio do programa SAS (SAS Institute, 2015). A CL_{99} foi definida como concentração diagnóstica para o monitoramento da resistência.

3.5 Monitoramento da resistência

O monitoramento da suscetibilidade de populações de *B. yothersi* ao espiroclorfenolato foi realizado em nove pomares comerciais do Estado de São Paulo, comparando-as com a linhagem suscetível (S) (Figura 1). Os ovos oriundos das populações foram submetidos à concentração diagnóstica de 16,4 mg de espiroclorfenolato por litro de água [i.a. (ppm)], para estimar a frequência de indivíduos resistentes em cada pomar. Essa concentração foi escolhida por ocasionar mortalidade de 99,0% dos ovos da linhagem suscetível (S) de referência (CL_{99}).

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições para cada população. Foram testados de 73 a 178 ovos para cada população. Os dados de porcentagem de mortalidade na concentração diagnóstica, para cada localidade, foram submetidos à análise de variância. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$) com o auxílio do programa SAS (SAS Institute, 2015).

3.6 Caracterização da resistência

A população P9 foi submetida à pressão de seleção, utilizando-se da concentração de 9,9 ppm de espiroclorfenol por uma geração, correspondente a CL_{95} da linhagem S, para a obtenção da linhagem resistente (R) (Omoto et al., 2000; Franco et al., 2002). Essa população foi escolhida por apresentar a menor mortalidade com a concentração diagnóstica no monitoramento da resistência. Para a obtenção da curva de concentração-resposta, seis concentrações para a população P9, tida como linhagem R, sendo elas: 0,0; 10,0; 30,0; 50,0; 70,0 e 90 ppm. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis repetições para cada tratamento. Foram testados 971 ovos. Os dados de mortalidade de ambas as linhagens foram submetidos à análise de Probit, com auxílio do programa SAS (SAS Institute, 2015). A Razão de Resistência (RR) foi obtida pela divisão da CL_{50} da linhagem R pela CL_{50} da linhagem S, com intervalo de confiança de 95%. Valores de RR <10, 10-40, 40-60 e > 60 indicam resistência baixa, moderada, alta e muito alta, respectivamente (Fukami et al., 1983).

3.7 Avaliação do custo adaptativo

A linhagem suscetível de *B. yothersi* foi obtida a partir de uma população mantida em laboratório por 200 gerações. A população P9, oriunda de Araraquara, foi utilizada como linhagem resistente por apresentar a menor mortalidade no monitoramento da resistência. Os parâmetros biológicos e demográficos das linhagens suscetível e resistente foram comparados para verificar a existência, ou não, de custo adaptativo associado à resistência de *B. yothersi* ao acaricida. Para isso, frutos de laranja-doce *C. sinensis*, variedade Pera, isentos de produtos químicos foram lavados em água corrente e parcialmente parafinados, deixando-se a arena de 4 cm de diâmetro sem parafina. A arena foi circundada por uma fina camada de cola entomológica (Cola Tatoon®, Isca Tecnologias, Ijuí, Rio Grande do Sul, Brasil) para confinar os ácaros. Uma mistura de areia fina, gesso, farinha de trigo e água, na proporção de 4:1:1:3, foi pincelada em parte da arena. Para cada fruto, foi transferida uma fêmea adulta da população correspondente que

permaneceu ovipositando por 24 horas. Após esse período, as fêmeas foram retiradas, deixando-se apenas um ovo por fruto para acompanhamento do ciclo biológico. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 42 e 44 repetições, para a população suscetível e resistente, respectivamente. Os frutos permaneceram em câmara climatizada (25 ± 2 °C; U.R. de $60 \pm 10\%$ e 12 horas de fotofase: 12 luz: 12 escuro).

As unidades experimentais foram observadas diariamente, às 8 horas e às 16 horas, sob estereomicroscópio, para a determinação da duração e sobrevivência dos estágios de desenvolvimento. Após a emergência das fêmeas, os dados de sobrevivência e oviposição foram registrados diariamente, até à morte de cada indivíduo, para a determinação dos períodos de pré-oviposição (APOP: período entre a emergência do adulto e a primeira oviposição), pré-oviposição total (TPOP: período de ovo à primeira oviposição), fecundidade, longevidade, longevidade total (do dia da oviposição até à morte do adulto) e dias de oviposição (O_d). O_d indica o número médio real de dias em que *B. yothersi* ovipositou (Chen et al., 2018), sendo calculado pela seguinte fórmula:

$$O_d = \frac{\sum_{x=1}^{N_{fr}} D_x}{N_{fr}}$$

Em que: N_{fr} é o número de fêmeas reprodutoras, e D_x é o número de dias de oviposição de cada fêmea.

Os parâmetros biológicos e demográficos de *B. yothersi* foram estimados usando todos os indivíduos avaliados, incluindo aqueles que morreram antes de completar o desenvolvimento biológico, como proposto por Chi (1988). Os seguintes parâmetros foram estimados conforme metodologia de Chi e Liu (1985): taxa de sobrevivência para cada idade-estágio específica (S_{xj}) (em que: x é a idade e j é o estágio de desenvolvimento), taxa de sobrevivência na idade específica (l_x), fecundidade na idade específica (m_x), expectativa de sobrevivência na idade-estágio específica (e_{xj}) e valor da reprodução na idade-estágio específica (V_{xj}). Além disso, foram calculadas a taxa líquida de reprodução (R_0), a taxa intrínseca de crescimento (rm), a razão finita de aumento (λ) e o tempo médio entre gerações (T) para a

construção de uma Tabela de Vida de Fertilidade. Os dados originais de todos os indivíduos foram analisados com o auxílio do programa computacional TWOSEXMSChart (Chi, 2020). Os parâmetros foram determinados de acordo com os seguintes cálculos:

Taxa de sobrevivência específica por idade-estágio:

$$S_{xj} = \frac{n_{xj}}{n_{01}}$$

Em que n_{01} é o número total de indivíduos utilizados como início do estudo da Tabela de Vida de Fertilidade, e n_{xj} é o número de indivíduos que sobrevivem até à idade x e estágio j .

Taxa de sobrevivência específica por idade:

$$l_x = \sum_{j=1}^k S_{xj}$$

Fecundidade específica por idade:

$$m_x = \frac{\sum_{j=1}^k S_{xj} f_{xj}}{\sum_{j=1}^k S_{xj}}$$

Taxa líquida de reprodução, definida como o número total de descendentes que um indivíduo pode produzir durante sua vida:

$$R_0 = \sum_{x=0}^{\infty} l_x m_x$$

A taxa intrínseca de crescimento foi estimada usando o método de bissecção iterativa, pela equação de Euler-Lotka:

$$\sum_{i=x}^{\infty} e^{-r(i+1)} l_x m_x = 1$$

com a idade indexada a 0 (Godman, 1982).

Razão finita de aumento:

$$\lambda = e^r$$

Tempo médio entre gerações:

$$T = \frac{\ln R_0}{r}$$

Expectativa de vida específica por idade-estágio refere-se à expectativa de vida de um indivíduo com idade x e estágio y :

$$e_{xj} = \sum_{i=x}^{\infty} \sum_{y=1}^k S'_{iy}$$

Em que S'_{iy} é a probabilidade de indivíduos com idade x sobreviverem até à idade i e estágio y . A e_{xj} foi calculada de acordo com o método proposto por Chi e Su (2006).

O valor reprodutivo específico por idade-estágio é a contribuição de indivíduos com idade x e estágio y para a população futura (Huang e Chi, 2011; Tuan et al., 2014) e foi calculado como:

$$v_{xj} = \frac{e^{r(x+1)}}{S_{xj}} \sum_{i=x}^{\infty} e^{-r(i+1)} \sum_{y=1}^k S'_{iy} f_{iy}$$

As médias e os erros-padrão de cada parâmetro foram estimados pelo método de bootstrap, seguindo o procedimento proposto por Huang e Chi (2012). Durante o procedimento de bootstrap, os dados de cada um dos parâmetros analisados foram reamostrados 100.000 vezes. As médias de cada população foram comparadas pelo teste de bootstrap pareado (Efron e Tibshirani, 1993).

4. RESULTADOS

4.1 Dose diagnóstica e monitoramento da resistência

A dose diagnóstica utilizada foi 16,4 mg de espiroclorfenol por litro de água [i.a. (ppm)] que ocasionou mortalidade de 99,0% dos ovos da linhagem suscetível (S) de referência (CL₉₉).

As populações diferiram entre si quanto à suscetibilidade ao espirodiclofeno ($F=71,34$; $g.l.= 9,59$; $p<0,0001$) (Figura 2 e Tabela 2). A frequência de ovos resistentes à concentração diagnóstica variou de 0,7 a 85,8% (Tabela 2). As maiores taxas de sobrevivência (>79%) foram observadas nas populações oriundas dos municípios de Araraquara (P9) e Gavião Peixoto (P8), seguidas pelas populações de Barretos (P7) e Gavião Peixoto (P6). As demais populações mostraram frequência de resistência inferior a 15,3% e não diferiram da população suscetível de referência (Tabela 2).

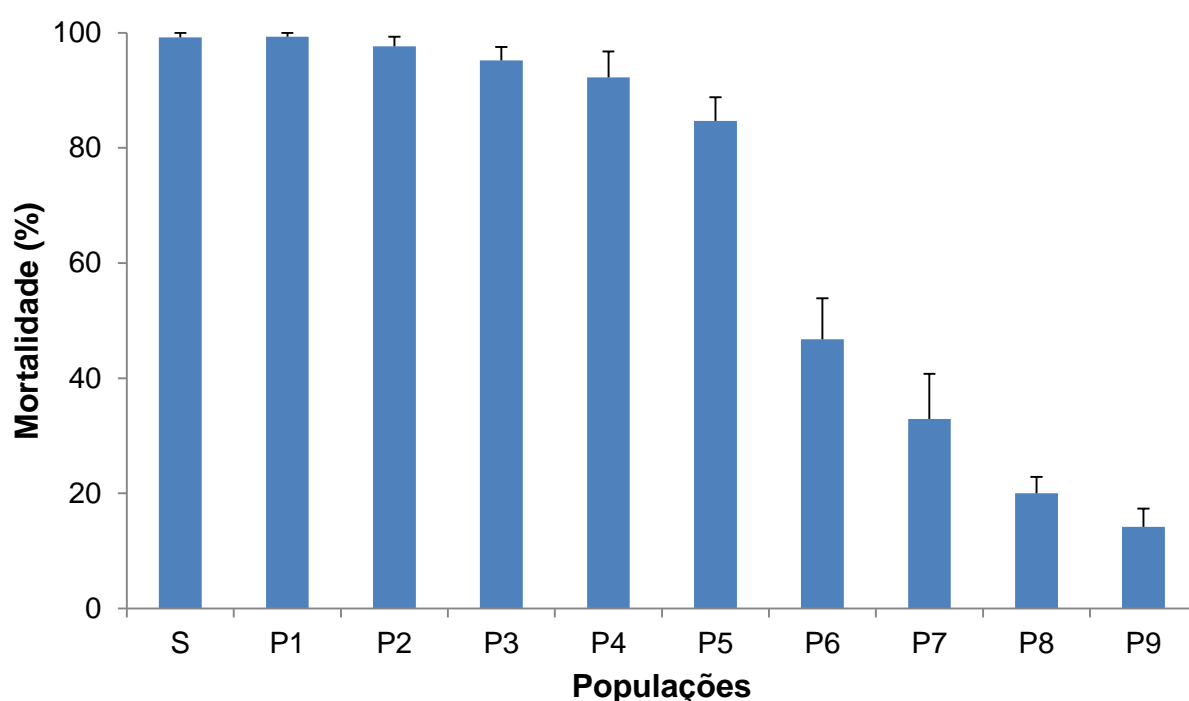


Figura 2. Mortalidade (\pm erro padrão) de ovos de *Brevipalpus yothersi* submetidos ao acaricida espirodiclofeno de populações oriundas de pomares comerciais de citros do Estado de São Paulo, na concentração diagnóstica de 16,4 mg de espirodiclofeno L^{-1} de água [i.a. (ppm)]. Temperatura de 25 ± 1 °C, UR 70 ± 10 % e fotoperíodo de 12 L: 12 E horas. [S – linhagem suscetível de referência e de P1 a P9 populações denominadas de acordo com a cidade de origem, sendo Taquaral (P1), Tambaú (P2), Ibaté (P3), Botucatu (P4), Matão (P5), Gavião Peixoto (P6 e P8), Barretos (P7) e Araraquara (P9)].

Tabela 2. Porcentagem média (\pm erro padrão da média de mortalidade de populações de *Brevipalpus yothersi* coletadas em diferentes pomares comerciais do Estado de São Paulo, na concentração diagnóstica de 16,4 mg de espiroclorfenol L⁻¹ [i.a. (ppm)]. Temperatura de 25 \pm 1 °C, UR 70 \pm 10% e fotoperíodo de 12 L: 12 E horas.

Populações	n ¹	% Mortalidade \pm EPM
Suscetível	95	99,2 \pm 0,79 a ²
P1	95	99,3 \pm 0,67 a
P2	108	97,7 \pm 1,67 a
P3	84	95,2 \pm 2,30 a
P4	112	92,3 \pm 4,50 a
P5	102	84,7 \pm 4,10 a
P6	72	46,7 \pm 7,15 b
P7	86	32,9 \pm 7,82 c
P8	142	20,0 \pm 2,83 d
P9	97	14,2 \pm 3,17 d

¹Número de ovos testados

²Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%.

4.2 Caracterização da resistência

A população P9, proveniente do município de Araraquara, foi utilizada para a caracterização da resistência, visto que apresentou a menor mortalidade no monitoramento da resistência (linhagem R) (Figura 2). Observou-se que não houve sobreposição entre os intervalos de confiança das CL₅₀s para as duas populações, indicando respostas distintas quanto à suscetibilidade ao espiroclorfenol (Tabela 3). A Razão de Resistência (RR) estimada para a população R foi de 10,6 vezes, portanto essa população apresenta resistência baixa a moderada ao espiroclorfenol, segundo Fukami et al. (1983).

Tabela 3. Resultados da análise de Probit para a caracterização toxicológica das linhagens suscetível (S) e resistente (R) de *Brevipalpus yothersi* ao espiroclifeno. Temperatura de 25 ± 1 °C, UR 70 ± 10 % e fotoperíodo de 12 L: 12 E horas.

Linhagens	n ¹	Coefficiente angular \pm E.P. ²	CL ₅₀ (g i.a./L) (95% IC)	χ^2	g.l. ³	RR ⁴
S	840	3,1 \pm 0,31	2,9 (2,70 – 3,17)	8,7	5	-
R	971	1,4 \pm 0,18	31,0 (24,92 - 37,40)	5,9	3	10,6

¹Número de ovos testados

²Erro padrão da média

³Graus de liberdade

⁴Razão de Resistência

4.3 Custo adaptativo

Constatou-se que não houve diferenças significativas entre as linhagens resistente e suscetível quanto à duração dos estágios de desenvolvimento de *B. yothersi*. No entanto, a taxa de sobrevivência do estágio imaturo foi significativamente menor na linhagem resistente, com destaque para a menor viabilidade de ovos nesta linhagem (Tabela 4).

A duração dos períodos de pré-oviposição, pré-oviposição total e longevidade não diferiu entre as linhagens (Tabela 5). Contudo, a longevidade total de adultos, os dias de oviposição (O_d) e a fecundidade foram significativamente menores na linhagem resistente (Tabela 5).

Tabela 4. Duração (dias) e sobrevivência dos estágios imaturos de linhagens *Brevipalpus yothersi* suscetível e resistente ao espiroclorofeno. Temperatura de 25 ± 1 °C, UR 70 ± 10 % e fotoperíodo de 12 L: 12 E horas.

Parâmetro	Linhagem suscetível (S)		Linhagem resistente (R)	
	n	Média \pm EP ¹	n	Média \pm EP
Ovo	42	9,0 \pm 0,64 a ²	33	8,8 \pm 0,14 a
Larva	39	2,6 \pm 0,07 a	33	2,7 \pm 0,10 a
Protocrisálida	39	2,2 \pm 0,07 a	33	2,1 \pm 0,08 a
Protoninfa	39	2,1 \pm 0,06 a	33	2,3 \pm 0,07 a
Deutocrisálida	39	2,1 \pm 0,06 a	33	2,2 \pm 0,06 a
Deutoninfa	39	2,6 \pm 0,09 a	33	2,6 \pm 0,10 a
Teliocrisálida	39	2,8 \pm 0,07 a	33	2,9 \pm 0,07 a
Estágio imaturo	39	23,4 \pm 0,66 a	33	23,5 \pm 0,21 a
Sobrevivência do estágio imaturo (%)	42	0,9 \pm 0,03 a	44	0,75 \pm 0,06 b

¹Os erros-padrão (EP) foram estimados usando 100.000 bootstraps e comparados pelo teste de bootstrap pareado com nível de significância de 5%.

²Médias seguidas pelas mesmas letras nas linhas não diferem entre si.

As curvas de sobrevivência específica por idade-estágio (S_{xj}) demonstraram a probabilidade de um ovo recém-ovipositado das linhagens suscetível e resistente sobreviver até à idade x e estágio j . Foram constatadas sobreposições entre os estágios de desenvolvimento dos ácaros devido às variações nas taxas de desenvolvimento dos indivíduos (Figura 3). A taxa de sobrevivência específica na idade-estágio de fêmeas foi afetada nos ácaros resistentes, em comparação com os suscetíveis. A probabilidade de um ovo recém-ovipositado passar para o estágio de larva foi menor na linhagem resistente (0,8) do que na linhagem suscetível (0,9) (Figura 3). A partir da fase de protoninfa, não houve variação na taxa de sobrevivência até à fase adulta, em ambas as linhagens. O tempo de sobrevivência na linhagem resistente foi menor que na linhagem suscetível (Figura 3).

Tabela 5. Períodos de pré-oviposição (APOP), pré-oviposição total (TPOP), longevidade, dias de oviposição (O_d) e fecundidade de linhagens de *Brevipalpus yothersi* suscetível e resistente ao espiroclorfenol. Temperatura de 25 ± 1 °C, UR 70 ± 10 % e fotoperíodo de 12 L: 12 E horas.

Parâmetro	Linhagem suscetível (S)		Linhagem resistente (R)	
	n	Média \pm EP ¹	n	Média \pm EP
APOP	39	2,9 \pm 0,17 a ²	33	3,4 \pm 0,23 a
TPOP	39	26,3 \pm 0,66 a	33	26,9 \pm 0,32 a
Longevidade	39	36,8 \pm 1,21 a	33	35,0 \pm 1,10 a
Longevidade total	42	56,9 \pm 2,2 a	44	48,6 \pm 2,73 b
Dias de oviposição (O_d)	39	13,3 \pm 0,66 a	33	11,2 \pm 0,66 b
Fecundidade total (ovos/fêmea)	39	27,7 \pm 1,48 a	33	23,2 \pm 1,41 b

¹Os erros-padrão (EP) foram estimados usando 100.000 bootstraps e comparados pelo teste de bootstrap pareado com nível de significância de 5%.

²Médias seguidas pelas mesmas letras nas linhas não diferem.

A taxa de sobrevivência específica por idade (l_x) evidencia a probabilidade de um ácaro sobreviver até a idade x considerando todos os estágios de desenvolvimento juntos (Figura 4). A curva de l_x demonstrou que 73,0% dos indivíduos da linhagem resistente morreram antes de 60 dias, enquanto para a linhagem suscetível esse valor foi de 50,0% (Figura 4). Com relação à fecundidade específica por idade (m_x), os maiores picos de oviposição de fêmeas ocorreram nos 70º e no 72,5º dia na linhagem resistente com um (1) descendente por fêmea, enquanto na linhagem suscetível o maior pico ocorreu no 35º dia, com 0,67 descendente por fêmea (Figura 4).

Os dados de expectativa de vida por idade-estágio específica indicaram que o tempo de vida esperado para um ácaro recém-eclodido (e_1) foi menor para a linhagem resistente (48,6 dias) comparado à linhagem suscetível (56,9 dias) (Figura 5). Exceto entre os estágios de ovo para larva na linhagem resistente, a expectativa

de vida diminuiu gradativamente com o aumento da idade dos indivíduos, em ambas as linhagens (Figura 5).

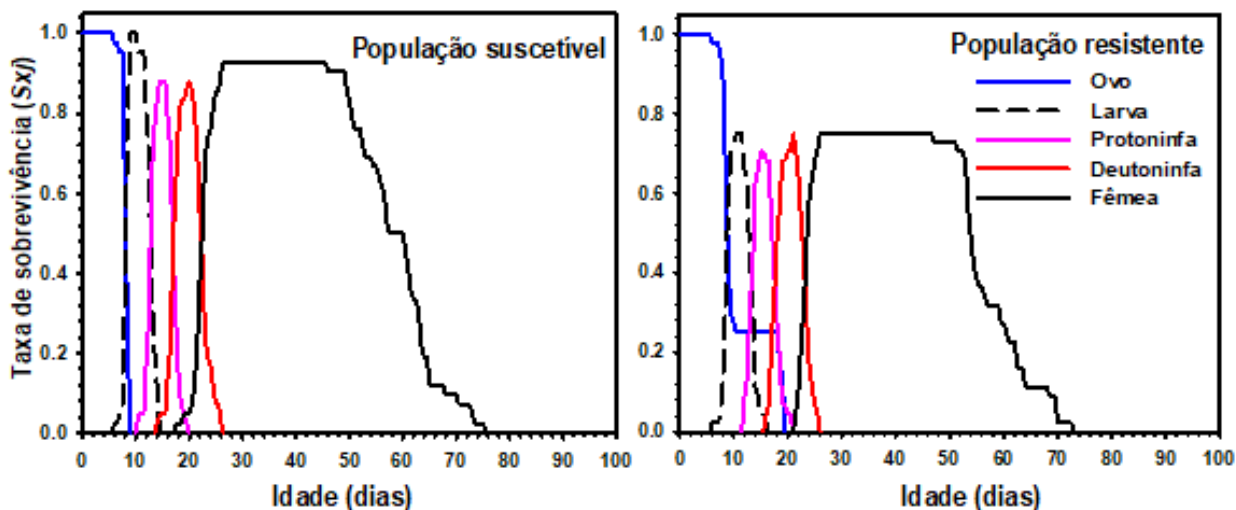


Figura 3. Taxas de sobrevivência específica por estágio-idade (S_{xj}) de linhagens de *Brevipalpus yothersi* suscetível e resistente ao espiroclorofeno. Temperatura de 25 ± 1 °C, UR 70 ± 10 % e fotoperíodo de 12 L: 12 E horas.

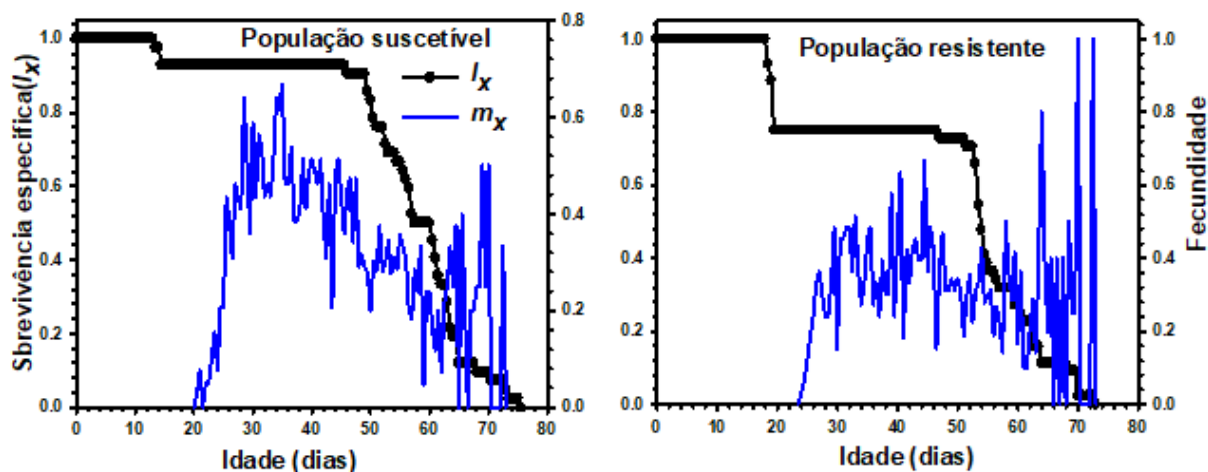


Figura 4. Taxa de sobrevivência específica por idade (l_x) e fecundidade específica por idade (m_x) de linhagens de *Brevipalpus yothersi* suscetível e resistente ao espiroclorofeno. Temperatura de 25 ± 1 °C, UR 70 ± 10 % e fotoperíodo de 12 L: 12 E horas.

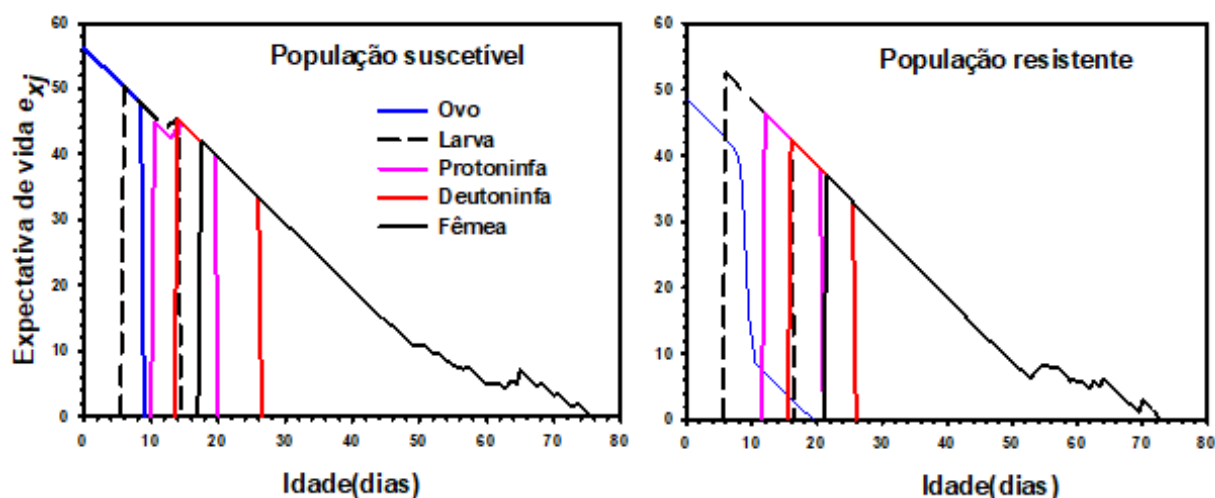


Figura 5. Expectativa de vida específica por idade-estágio (e_{xj}) de linhagens de *Brevipalpus yothersi* suscetível e resistente ao espiroclifeno. Temperatura de 25 ± 1 °C, UR 70 ± 10 % e fotoperíodo de 12 L: 12 E horas.

O valor reprodutivo V_{xj} é a contribuição dos indivíduos de idade x e estágio j para a futura linhagem (Figura 6). Esse valor aumentou com as mudanças de estágios de desenvolvimento. A fase adulta foi a que mais contribuiu para o aumento populacional, em ambas as linhagens. O maior pico do valor reprodutivo foi observado aos 27,0 dias (9,9) e aos 30,5 dias (9,2), em fêmeas da linhagem suscetível e resistente, respectivamente (Figura 6).

A estimativa dos parâmetros de Tabela de Vida de Fertilidade demonstrou que a taxa líquida de reprodução (R_0), a taxa intrínseca de aumento populacional (rm) e a razão finita de aumento (λ) foram significativamente menores na linhagem resistente (Tabela 6). A linhagem resistente também apresentou o maior tempo médio entre gerações (T) (Tabela 6).

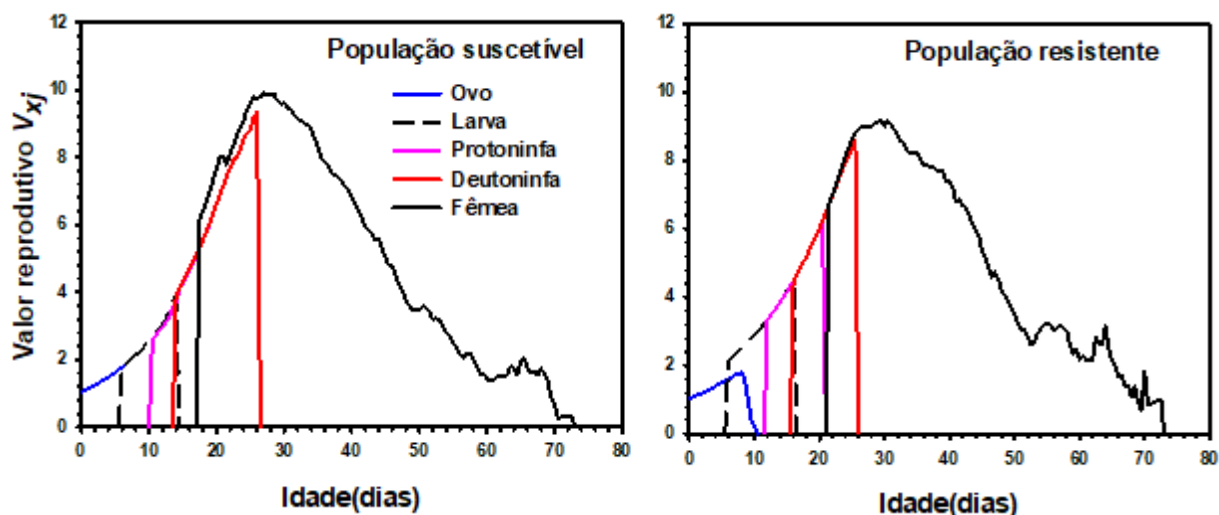


Figura 6. Valor reprodutivo por estágio-idade (V_{xj}) das linhagens de *Brevipalpus yothersi* suscetível e resistente ao espiroclorofeno. Temperatura de 25 ± 1 °C, UR 70 ± 10 % e fotoperíodo de 12 L: 12 E horas.

Tabela 6. Tabela de Vida de Fertilidade de linhagens de *Brevipalpus yothersi* suscetível e resistente ao espiroclorofeno. Temperatura de 25 ± 1 °C, UR 70 ± 10 % e fotoperíodo de 12 L: 12 E horas.

Parâmetro	Linhagem suscetível	Linhagem resistente
	(S)	(R)
R_0	$25,738 \pm 1,746$ a ¹	$17,409 \pm 1,835$ b
rm (dia ⁻¹)	$0,088 \pm 0,002$ a	$0,073 \pm 0,003$ b
λ (dia ⁻¹)	$1,092 \pm 0,025$ a	$1,076 \pm 0,003$ b
T (dias ⁻¹)	$37,035 \pm 0,590$ b	$38,877 \pm 0,563$ a

¹Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes, são significativamente diferentes (teste de bootstrap pareado: $P < 0,05$). Os dados para cada parâmetro foram calculados usando o procedimento de bootstrap com 100.000 amostras.

R_0 = taxa líquida de reprodução (descendentes por indivíduo); rm = Taxa intrínseca de aumento populacional (dia⁻¹); λ = razão finita de aumento (dia⁻¹); T = tempo médio entre geração (dia⁻¹).

5. DISCUSSÃO

Acaricidas sintéticos derivados do ácido tetrônico, como o espiroclorofeno, têm alta atividade sobre imaturos de ácaros e têm sido amplamente utilizados no

controle de ácaros de importância agrícola (Nauen, 2005; Van Leeuwen et al., 2015). No entanto, a evolução de populações resistentes aos acaricidas é um dos principais desafios enfrentados no manejo de pragas (Van Leeuwen et al., 2010). No mundo, já existem relatos de populações de ácaros resistentes ao espirodiclofeno, especialmente de populações de *T. urticae* (Lee et al., 2004; Demaeght et al., 2013; Ferreira et al., 2015; Herron et al., 2018; Van Leeuwen e Dermauw, 2016; Wu et al., 2019). Entretanto, até o presente trabalho, nunca haviam sido detectadas populações de *Brevipalpus* spp. resistentes ao espirodiclofeno.

Os resultados do presente trabalho indicaram diferentes níveis de sensibilidade de populações de *B. yothersi* ao espirodiclofeno, variando de acordo com o local/talhão de coleta das populações. Nas populações P1, P2, P3, P4 e P5, a frequência de ácaros resistentes foi inferior a 20,0%, e, nas demais, P6, P7, P8 e P9, a porcentagem de ácaros resistentes foi superior a 50,0%. A variação no nível de resistência, em função do local de coleta, pode estar relacionada ao manejo praticado em cada área, por exemplo, diferenças quanto à frequência de aplicações de acaricidas e a realização, ou não, de rotação entre agrotóxicos. A seleção de populações resistentes aos acaricidas geralmente é consequência direta de aplicações frequentes de acaricidas por um longo período, sem o manejo adequado da resistência (Van Leeuwen et al., 2010).

Populações resistentes de ácaro da leprose aos acaricidas dicofol, hexythiazox, propargite, enxofre e calda sulfocálcica já foram relatadas anteriormente (Omoto et al., 2000; Campos e Omoto, 2002; Franco, 2002; Casarin, 2010). Com isso, o espirodiclofeno tem sido muito utilizado para o controle de *B. yothersi* (Miranda et al., 2017). A CL_{95} da população R foi de 451,8 ppm, aproximadamente 9,4 vezes maior do que a concentração recomendada de campo para o controle de *B. yothersi* (48,0 ppm), o que pode ter sido ocasionado pelo uso frequente desse acaricida no pomar.

Estudos anteriores verificaram a resistência de outras populações de ácaros ao espirodiclofeno, como *P. citri* com razão de resistência de até 90,8 vezes (Hu et al., 2010) e *P. ulmi* com taxa de resistência superior a 7.000 vezes (Kramer e Nauen, 2011). Doker e Kazak (2012) estudaram a resistência de populações de *P. citri* coletadas na Turquia ao espirodiclofeno e verificaram Razões de Resistência de até

19,0 vezes para ovos e de 70,3 vezes para fêmeas adultas. Salman e Keskin (2019) estudaram a seleção do ácaro predador *P. persimilis* ao espiroclorfenol e verificaram resistência de 108,5 vezes após cinco ciclos de seleção. Bielza et al. (2019) estudaram a suscetibilidade de mosca-branca *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) ao espiromesifeno e ao espirotetramato, também pertencentes ao grupo químico dos cetoenóis. Todas as populações de *B. tabaci* estudadas foram mais resistentes ao espiromesifeno comparadas à população suscetível de referência. Destas, seis populações apresentaram resistência ao espiromesifeno com Razões de Resistência superior a 10.000 vezes. O mesmo ocorreu para o espirotetramato com razões de resistência superior a 71 vezes.

Alguns fatores podem favorecer a evolução de resistência em populações de *B. yothersi*, como, por exemplo, o tipo de células reprodutivas, o tipo de reprodução e a capacidade de dispersão dos ácaros. As células reprodutivas nesses ácaros são haploides com apenas dois cromossomos não homólogos, e a reprodução dá-se por meio da partenogênese telítica, em que ovos não fertilizados originam fêmeas, possuindo constituição genética idêntica a progenitora (Helle et al., 1980; Pijnacker et al., 1980; Weeks et al., 2001). Portanto, se em uma população houver indivíduos resistentes, seus descendentes também serão, aumentando assim a proporção de indivíduos resistentes na população, sob condições de pressão de seleção (Omoto, 1998). Outro fator a ser considerado é a baixa capacidade de dispersão das populações do ácaro da leprose no campo, tanto por caminamento como pela ação do vento, dificultando a mistura entre populações resistentes e suscetíveis nos pomares. Assim, a evolução da resistência aos acaricidas pode ocorrer rapidamente, com a seleção de indivíduos resistentes, em um pomar (Alves et al., 2005).

Vários fatores contribuem para falhas no controle do ácaro da leprose, o que acarretará em períodos de controle menores e na necessidade de reaplicação de acaricidas. Quanto maior a frequência de aplicação de acaricidas, maiores as chances de selecionar indivíduos resistentes ao acaricida na população do ácaro. Como o erro da amostragem do ácaro da leprose é grande, quando se diminui a quantidade de plantas e órgãos da planta amostrados e se aumenta o intervalo entre amostragens, a infestação do ácaro poderá ser alta no momento da detecção, contribuindo para falhas no controle (Bassanezi, 2018b). Todos esses fatores podem

diminuir o período de controle do ácaro, levando o citricultor a aumentar a frequência de pulverização do acaricida, contribuindo assim para a evolução da resistência.

O uso inadequado da tecnologia de aplicação também é um dos fatores responsáveis pelas falhas no controle do ácaro da leprose (Bassanezi, 2018b), o que pode acelerar a evolução da resistência. Por exemplo, misturas de produtos em tanque de pulverização, como forma de reduzir custos, também podem interferir na eficácia do acaricida. Della Vechia et al. (2018) demonstraram que a mistura entre espiroclifeno e os inseticidas fosmete e imidacloprido reduziu a eficiência do acaricida no controle de *B. yothersi* em condições de laboratório.

Embora a duração dos estágios de desenvolvimento de *B. yothersi* não tenha diferido entre as linhagens resistente (R) e suscetível (S), verificou-se que a taxa de sobrevivência do estágio imaturo (com destaque para a fase de ovo), a longevidade total de adultos, os dias de oviposição e a fecundidade foram significativamente menores para a linhagem R. Os gráficos da taxa de sobrevivência específica, fecundidade específica, expectativa de vida e valor reprodutivo específico demonstraram uma dinâmica populacional lenta dos ácaros na linhagem R, em relação à linhagem S. A presença de custo adaptativo a um determinado acaricida é um dos fatores responsáveis pela instabilidade da resistência, já que na ausência do acaricida, espera-se que indivíduos resistentes com custos associados à aptidão sejam menos competitivos do que os suscetíveis (Dennehy et al., 1990).

A linhagem resistente apresentou os menores valores de rm e λ , indicando que, no tempo, haveria menor geração de novos indivíduos. Dessa forma, genes de resistência podem ter efeitos negativos sobre os parâmetros demográficos, refletindo em aumento populacional mais lento da linhagem resistente, comparada à linhagem suscetível (Carriere et al., 1994). Essa redução na taxa de crescimento populacional pode estar associada a um declínio na fecundidade e na viabilidade dos ovos apresentados pela linhagem resistente. Importante destacar que a taxa intrínseca de aumento (rm) e a taxa finita de aumento (λ) são parâmetros demográficos de suma importância, pois refletem efeitos combinados de características biológicas, como sobrevivência, desenvolvimento e reprodução. Sendo assim, esses parâmetros são aqueles que melhor descrevem e avaliam o crescimento de uma determinada população (Rostami et al., 2018; Savi et al., 2019).

Estudos para verificar o custo adaptativo de artrópodes associados à resistência a espiroclorfenol são escassos. Foi identificado custo adaptativo em uma população de *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae), resistente a espirotetramato, um acaricida que também inibe a síntese de lipídeos (Ejaz e Shad, 2017). A taxa de sobrevivência, peso de pupas, fecundidade, viabilidade de ovos, tempo de geração, taxa intrínseca de aumento populacional, potencial biótico e taxa de crescimento relativo da população resistente ao espirotetramato apresentaram redução significativa em comparação à população suscetível (Ejaz e Shad, 2017).

Estudos sobre custo adaptativo foram realizados para linhagens de *B. phoenicis* resistentes a dicofol, propargite, hexythiazox e calda sulfocálcica. Custo adaptativo, associado à resistência de *B. phoenicis* ao dicofol, foi verificado por Alves (1999), o qual verificou menor fecundidade e longevidade em uma linhagem resistente. No entanto, não foi encontrado custo adaptativo associado à resistência de *B. phoenicis* ao propargite e ao hexythiazox (Campos e Omoto, 2006; Franco et al., 2007). Casarin (2010) também não observou diferenças significativas quanto ao crescimento populacional de linhagens de *B. phoenicis* suscetível e resistente à calda sulfocálcica.

Alguns trabalhos foram realizados a fim de entender os mecanismos fisiológicos associados à resistência de espiroclorfenol em ácaros e insetos (Demaeght et al., 2013; Karatolos et al., 2012; Wybouw et al., 2019; Wei et al., 2019; Pan et al., 2018). Geralmente, a resistência a agrotóxicos está associada à elevada atividade de enzimas detoxificadoras (Bajda et al., 2018). Segundo Rauch e Nauen (2002), as três principais enzimas: esterase, mono-oxigenase e glutathione-S-transferase, podem estar envolvidas na resistência ao espiroclorfenol. No entanto, as monooxigenases dependentes do citocromo P450 parecem ter o maior impacto (Van Pottelberge et al., 2009; Rauch e Nauen, 2002).

Em populações de *T. urticae* e *P. ulmi*, resistentes ao espiroclorfenol, foi verificado um aumento da atividade de monooxigenases P450, esterases, glutathione-S-transferases e carboxil/colinesterases (Van Pottelberge et al., 2009; Demaeght et al., 2013; Badieinia et al., 2020). Assim, a linhagem resistente pode necessitar alocar maior quantidade de energia para produção de enzimas desintoxicantes para a

metabolização do acaricida (Nicastro et al., 2010). Em detrimento ao aumento da produção destas enzimas nas populações resistentes, alguns parâmetros biológicos, como, por exemplo, fecundidade e fertilidade, podem ser afetados negativamente (Nicastro et al., 2011), podendo ter ocorrido em razão da menor síntese de lipídeos das fêmeas da linhagem resistente e, conseqüentemente, da menor quantidade de reserva transferida para os ovos durante a vitelogênese. Portanto, os resultados da presente pesquisa indicaram que há custo adaptativo envolvido na resistência de populações de *B. yothersi* ao espirodiclofeno.

Por outro lado, o custo adaptativo a um determinado ingrediente ativo, além de afetar os parâmetros biológicos, também pode influenciar os parâmetros comportamentais dos indivíduos, fundamentais para a sobrevivência e a reprodução da espécie (Franco et al., 2007). O estudo do custo adaptativo, associado à resistência a acaricidas e inseticidas em populações, é de grande importância no contexto do manejo da resistência aos acaricidas e inseticidas (Crow, 1957; Georghiou e Taylor, 1977). A resistência aos agrotóxicos pode resultar em custos de condicionamento físico na ausência de pressão de seleção, e reduzir o uso desses produtos pode resultar em uma menor frequência de indivíduos resistentes e, por sua vez, em menor nível de resistência da população (Crow, 1957; Georghiou e Taylor, 1977).

O monitoramento da resistência de *B. yothersi* ao espirodiclofeno é fundamental para orientar as aplicações de acaricidas a campo e, conseqüentemente, para sustentar e prolongar a vida efetiva desse acaricida. Seu uso deve ser monitorado regularmente para determinar os níveis de resistência aos ácaros e para promover o manejo bem-sucedido localmente. As estratégias adotadas para o manejo da resistência devem basear-se nos resultados locais dos dados de monitoramento, visto que podem existir diferenças devido à localização geográfica da população. Nos pomares que apresentaram baixa mortalidade com a concentração diagnóstica, P9, P8, P7 e P6, a rotação com outros acaricidas com mecanismos de ação distinto de espirodiclofeno é fortemente recomendada.

Devido à verificação de custo adaptativo, associado à resistência de *B. yothersi* ao espirodiclofeno, a rotação com acaricidas que não apresentem resistência cruzada com o espirodiclofeno é uma estratégia fundamental em

Programas de Manejo da Resistência (Nauen et al., 2001). A seleção de ingredientes ativos para rotação deverá ser realizada com base em dados de monitoramento e de classificação do mecanismo de ação. Van Pottelberge et al. (2009) relataram resistência cruzada entre espirodiclofeno e espiromesifeno em uma população de *T. urticae* resistente ao espirodiclofeno selecionada em laboratório. Foi encontrada na China resistência cruzada entre espirodiclofeno e espirotetramato em duas populações de campo resistentes ao espirodiclofeno e em uma linhagem de *P. citri* resistente ao espirodiclofeno selecionada em laboratório (Hu et al., 2010; Yu et al., 2011).

Dessa forma, é essencial a realização de novas pesquisas para a avaliação de resistência cruzada entre espirodiclofeno e os demais acaricidas. Além disso, é fundamental avaliar a estabilidade da resistência de espirodiclofeno a campo. Assim, possibilitará inferir um período mínimo entre as pulverizações deste acaricida que favoreçam o retorno da suscetibilidade com a implementação de estratégias efetivas de manejo da resistência. Há poucos produtos disponíveis no mercado para o controle do ácaro da leprose e que são aceitos pelos países importadores de suco de laranja do Brasil, principalmente a Comunidade Europeia (Fundecitrus, 2020). Tendo em vista que o desenvolvimento de novos produtos é um processo oneroso e complexo, é vital a conscientização dos citricultores e dos técnicos sobre a necessidade de adotar estratégias de manejo da resistência para que as ferramentas atuais sejam utilizadas de maneira racional a fim de garantir a eficiência e sua utilidade a longo prazo.

6. CONCLUSÕES

- A Razão de Resistência de *B. yothersi* ao espiroclorfenol foi de baixa a moderada.
- As populações P6, P7, P8 e P9 apresentaram baixa mortalidade com a concentração diagnóstica.
- Há custo adaptativo associado à resistência de *B. yothersi* ao espiroclorfenol, com base nos parâmetros de taxa de sobrevivência do estágio imaturo, longevidade total de adultos, dias de oviposição, fecundidade, taxa líquida de reprodução, taxa intrínseca de aumento populacional, razão finita de aumento e aumento do tempo médio entre gerações.

7. REFERÊNCIAS

Agrofit - **Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/SDA. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 20 jun. 2020.

Alves EB (1999) **Manejo da resistência do ácaro da leprose *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) ao acaricida dicofol**. 91p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Esalq, Piracicaba.

Alves EB (2004) **Dinâmica da resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) ao acaricida dicofol**. 91p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Esalq, Piracicaba.

Alves EB, Casarin NFB, Omoto C (2005) Mecanismos de dispersão de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) em pomares de citros. **Neotropical Entomology** 34:89-96.

Alves EB, Omoto C, Franco CR (2000) Resistência cruzada entre o dicofol e outros acaricidas em *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 29:765-771.

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.

Amaral I, Melville CC, Rocha CM, Della Vechia JF, Prado TJ, Andrade DJ (2019) Sublethal effects of spiroticlofen on biological and demographic parameters of the citrus leprosis mite. **Pest Management Science** 76:1.874-1.880.

Andrade DJ, Pattaro FC, Morais MR, Barbosa CL, Oliveira CAL (2013) Aspectos técnicos e econômicos da poda e do controle químico de *Brevipalpus phoenicis* no manejo da leprose dos citros. **Revista Brasileira de Fruticultura** 35:409-424.

Andrade DJ, Loreçon JR, Siqueira DS, Novelli VM, Bassanezi RB (2018) Space–time variability of citrus leprosis as strategic planning for crop management. **Pest Management Science** 74:1.798–1803.

Araya-González J (2000) **Informe sobre la prospección de la "leprosis de los cítricos" en la zona fronteriza sur (Costa Rica – Panamá)**. Ministério de Agricultura y Ganadería, 2000, 5.

Badieinia F, Khajehali J, Nauen R, Dermauw W, Van Leeuwen T (2020) Metabolic mechanisms of resistance to spiroticlofen and spiromesifen in Iranian populations of *Panonychus ulmi*. **Crop Protection** 134:105166.

Bajda S, Riga M, Wybouw N, Papadaki S, Ouranou E, Fotoukii SM, Vontas J, Van Leeuwen T (2018) Fitness costs of key point mutations that underlie acaricide target-site resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. **Evolutionary Applications** 11:1.540-1.553.

Bassanezi RB (2018a) **Manual de leprose dos citros**: medidas essenciais de controle. Araraquara: Fundecitrus, 20p.

Bassanezi RB (2018b). **Fatores que dificultam o controle do ácaro da leprose**. Fundecitrus. Disponível em: <<https://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias/integra/fatores-que-dificultam-o-controle-do-acaro-da-leprose/645>>. Acesso em: 25 abri. 2020.

Bastianel M, Novelli VM, Kitajima EW, Kubo KS, Bassanezi RB, Machado MA, Freitas-Astúa JF (2010) Citrus leprosis: centennial of an unusual mite virus pathosystem. **Plant Disease** 94:284-292.

Bazzo AM (2016) **Distribuição intraplanta do ácaro da leprose dos citros e adequação do volume de calda de acaricida para o seu controle**. 49p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Fundecitrus, Araraquara.

Beard JJ, Ochoa R, Braswell WE, Bauchan GR (2015) *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) species complex (Acari: Tenuipalpidae) - a closer look. **Zootaxa** 3944:1-67.

Beltran-Beltran AK, Santillán-Galicia MT, Guzmán-Franco AW, Teliz-Ortiz D, Gutiérrez-Espinosa MA, Romero-Rosales F, Robles-García PL (2020) Incidence of *Citrus leprosis virus C* and *Orchid fleck dichorhavirus citrus strain* in mites of the genus *Brevipalpus* in Mexico. **Journal of Economic Entomology** 113:1576-1581.

Bielza P, Moreno I, Belando A, Grávalos C, Izquierdo J, Nauen R (2019) Spiromesifen and spirotetramat resistance in field populations of *Bemisia tabaci* Gennadius in Spain. **Pest Management Science** 75:45–52.

Bitancourt AA (1934) Relação das doenças e fungos parasitas observados na secção de Fitopatologia durante os anos de 1931 e 1932. **Arquivos do Instituto Biológico** 5:185-196.

Bretschneider T, Fischer R, Nauen R, Ag, C (2012) Tetric acid insecticides and acaricides inhibiting acetyl-CoA carboxylase. In.: Lamberth C, Dinges J (Eds.) **Bioactive Heterocyclic Compound Classes: Agrochemicals**. Weinheim: Wiley VCH, p. 265-278.

Campos F, Omoto C (2002) Resistance to hexythiazox in *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) from Brazilian citrus. **Experimental and Applied Acarology** 26:243-251.

Campos FJ, Omoto C (2006) Estabilidade da resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) a hexythiazox em pomares de citros. **Neotropical Entomology** 35:840-848.

Carriere Y, Deland JP, Rolf D, Vicent C (1994) Life-history cost associated with the evolution of insecticide resistance. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences** 258:35-40.

Casarin NFB (2010) **Calda sulfocálcica em pomares de citros: evolução da resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) e impacto sobre *Iphiseiodes zuluagai* (Acari: Phytoseiidae)**. 95f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Esalq, Piracicaba.

Chen GM, Chi H, Wang RC, Wang YP, Xu YY, Li XD, Yin P, Zheng F-Q (2018) Demography and uncertainty of population growth of *Conogethes punctiferalis* (Lepidoptera: Crambidae) reared on five host plants with discussion on some life history statistics. **Journal of Economic Entomology** 111:2143-2152.

Chiavegato LG (1995) Transmissão da leprose pelo ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) em citros. In.: Oliveira CAL, (Ed.) **Leprose dos citros**. Jaboticabal: Funep, p. 49-56.

Chi H (1988) Life-table analysis incorporating both sexes and variable development rates among individuals. **Environmental Entomology** 17:26-34.

Chi H, Liu H (1985) Two new methods for the study of insect population ecology. **Bulletin of the Institute Zoology Academia Sinica** 24:225-240.

Chi H (2020) TWSEX-MSCHART: A computer program for the age-stage two-sex life table analysis. Disponível em: <<http://140.120.197.173/ecology/Download/TWSEXMSChart.rar>>. Acesso em: 3 jun. 2020.

Chi H, Su HY (2006) Age-stage, two-sex life tables of *Aphidius gifuensis* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) and its host *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) with mathematical proof of the relationship between female fecundity and the net reproductive rate. **Environmental Entomology** 35:10-21.

Colariccio A, Lovisollo O, Chagas CM, Galetti SR, Rossetti VV, Kitajima EW (1995) Mechanical transmission and ultrastructural aspects of citrus leprosis virus. **Fitopatologia Brasileira** 20:208-213.

Cook G et al. (2019) *Orchid fleck virus* associated with the first case of citrus leprosis-N in South Africa. **European Journal of Plant Pathology** 155: p. 1.373-1.379.

Crow JF (1957) Genetics of insect resistance to chemicals. **Annual Review of Entomology** 2:227-246.

Dekeyser MA (2005) Acaricide mode of action. **Pest Management Science** 61:103-110.

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.

Demaeght P, Dermauw W, Tsakireli D, Khajehali J, Nauen R, Tirry L, Vontas J, Lümmer P, Van Leeuwen T (2013) Molecular analysis of resistance to acaricidal spirocyclic tetrone acids in *Tetranychus urticae*: CYP392E10 metabolizes spirodiclofen, but not its corresponding enol. **Insect Biochemistry Molecular Biology** 43:544-554.

Dennehy TJ, Nyrop JP, Martinson TE (1990) Characterization and exploitation of instability of spider mite resistance to acaricides. In.: Green MB, Le Baron H, Moberg WK (Eds.) **Managing Resistance to Agrochemicals: from Fundamental Research to Practical Strategies**. Washington: American Chemical Society, p. 77-91.

Doker I, Kazak C (2012) Detecting acaricide resistance in Turkish populations of *Panonychus citri* McGregor (Acari: Tetranychidae). **Systematic and Applied Acarology** 17:368-377.

Dominguez FS, Bernal A, Childers CC, Kitajima EW (2001) First report of citrus leprosis on Panama. **Plant Disease** 85:228-228.

Efron B, Tibshirani RJA (1993) **An introduction to the bootstrap**. London: Springer

Ejaz M, Shad AS (2017) Spirotetramat resistance select in the *Phenacoccus solenopsis* (Homoptera: Pseudococcidae): cross-resistance patterns, stability and fitness costs analysis. **Journal of Economic Entomology** 110:1.226-1.234.

Farahani S, Bandani A, Eslami S (2018) Comparison of susceptibility of two Iranian populations of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) to spirodiclofen. **Persian Journal of Acarology** 7:279-287.

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

Ferreira CBS, Andrad FHN, Rodrigues ARS, Siqueira HAA, Gondim Jr MGC, (2015) Resistance in field populations of *Tetranychus urticae* to acaricides and characterization of the inheritance of abamectin resistance. **Crop Protection** 67:77-83.

Franco CR (2002) **Detecção e caracterização da resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) a acaricida propargite**. 78 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Esalq, Piracicaba.

Franco CR, Casarin NFB, Domingues FA, Omoto C (2007) Resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) a acaricidas inibidores da respiração celular em citros: resistência cruzada e custo adaptativo. **Neotropical Entomology** 36:565-576.

Frezzi MS (1940) La lepra explosiva del naranjo. **Boletín Frutas y Hortalizas** 5:16.

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

Fundecitrus (2020) Produtos para proteção da citricultura. Disponível em: <<https://www.fundecitrus.com.br/protectitrus>>. Acesso em: 20 fev. 2020.

Georghiou GP (1972) The evolution of resistance to pesticides. **Annual Review of Ecology and Systematics** 3:133-168.

Georghiou GP, Taylor CE (1977) Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology** 70:319-323.

Goodman D (1982) Optimal life histories, optimal notation, and the value of reproductive value. **The American Naturalist** 119:803-823.

Gómez EC, Vargas MR, Rivadameira C, Locali EC, Freitas-Astúa J, Astúa-Monge G, Rodrigues JCV, Mesa-Cobo NC, Kitajima EW (2005) First report of citrus leprosis virus on citrus in Santa Cruz, Bolivia. **Plant Disease** 89:686-686.

Helle W, Bolland HR, Heitmans WRB (1980) Chromosomes and types of parthenogenesis in false spider mites (Acari: Tenuipalpidae). **Genetica** 54:45-50.

Herron GA, Woolley LK, Langfield KL, Chen Y (2018) First detection of etoxazole resistance in Australian two-spotted mite *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae) via bioassay and DNA methods. **Australian Entomology** 57:365-368.

Huang YB, Chi H (2011) The age-stage, two-sex life table with an offspring sex ratio dependent on female age. **Journal of Agriculture and Forestry** 60:337-345

Huang YB, Chi H (2012) Age-stage, two-sex life tables of *Bactrocera curcubitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) with a discussion on the problem of applying female age-specific life tables to insect populations. **Insect Science** 19:263-273.

Hu JF, Wang CF, Wang J, You Y, Chen F (2010) Monitoring of resistance to spirodiclofen and five other acaricides in *Panonychus citri* collected from Chinese citrus orchards. **Pest Management Science** 66:1.025-1.030.

IBGE – **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618>>. Acesso em: 12 jun. 2020.

Izquierdo-Castillo I, Zermeño-Díaz LF, Méndez W, Otero-Colina G, Freitas-Astúa J, Locali-Fabris EC, de Moraes GJ, Faier-Calegario R, Tassi AD, Kitajima EW (2011) Confirmation of the presence of the *Citrus leprosis virus C* (CiLV-C) in Southern Mexico. **Tropical Plant Pathology** 36:400-403.

Karatolos N, Williamson MS, Denholm I, Gorman K, French-Constant R, Nauen R (2012) Resistance to spiromesifen in *Trialeurodes vaporariorum* is associated with a single amino acid replacement in its target enzyme acetyl-coenzyme A carboxylase. **Insect Molecular Biology** 21:327-334.

Kitajima EW, Müller GW, Costa AS, Yuki W (1972) Short, rodlike particles associated with citrus leprosis. **Virology** 50:254-258.

Kitajima EW, Chagas CM, Rodrigues JCV (2003) *Brevipalpus*-transmitted plant virus and virus-like diseases: cytopathology and some recent cases. **Experimental and Applied Acarology** 30:135-160.

Kitajima EW, Rodrigues JCV, Freitas-Astua J (2010) An annotated list of ornamentals naturally found infected by *Brevipalpus* mite-transmitted viruses. **Scientia Agricola** 67:348-371.

Kitajima EW, Novelli VM, Alberti G (2014) Anatomy and fine structure of *Brevipalpus* mites (Tenuipalpidae) - economically important plant-virus vectors-part 1: an update on the biology and economical importance of *Brevipalpus* mites. **Zoologica** 160:1-10.

Kliot A, Ghanim M (2012) Fitness costs associated with insecticide resistance. **Pest management science** 68:1.431-1.437.

Knorr LC (1950) Etiological association of a *Brevipalpus* mite with Florida scaly bark of citrus. **Phytopathology** 40:15.

Knorr LC (1968) Studies on the etiology of leprosis in citrus. In.: **International Organization of Citrus Virologists Conference Proceedings (1957-2010)** 4:332-340.

Konno RH, Franco CR, Omoto C (2001) Suscetibilidade de populações de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) a acaricidas organoestânicos em citros. **Scientia Agricola** 58:703-709.

Kramer T, Nauen R (2011) Monitoring of spirodiclofen susceptibility in field populations of European red mites, *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae), and the cross resistance pattern of a laboratory-selected strain. **Pest Management Science** 67:1.285-1.293.

Lee SY, Kim GH, Ahn KS, Kim CS, Shin SC (2004) Inheritance and stability of etoxazole resistance in twospotted spider mite, *Tetranychus urticae*, and its cross resistance. **Korean Journal of Applied Entomology** 43:43-48.

Leon GA et al. (2006) Occurrence of citrus leprosis virus in Llanos Orientales, Colombia. **Plant Disease** 90:682-682.

Li X, Schuler MA, Berenbaum MR (2007) Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. **Annual Review of Entomology** 52:231-253.

Locali-Fabris EC, Freitas-Astúa J, Souza AA, Takita MA, Astúamonge G, Antonioli-Luizon R, Rodrigues V, Targon MLPN, Machado MA (2006) Complete nucleotide sequence, genomic organization and phylogenetic analysis of *Citrus leprosis virus* cytoplasmic type (CiLV-C). **Journal of General Virology** 87:2.721-2.729.

Mejia L, Paniagua A, Cruz N, Porras M, Palmieri M (2002) Citrus leprosis, disease that endangers plantations in Guatemala. In.: **Proceedings os the 42nd Annual Meeting of the American Phytopathological Society, Caribbean Division**, Antigua, Guatemala, p.17-19.

Mesa NC, Ochoa R, Welbourn WC, Evans GA, Moraes GJ (2009) A catalog of the Tenuipalpidae (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. In.: Reunião Anual Do Instituto Biológico. **Resumos...** São Paulo: O Biológico 77:84.

Miranda MP, Volpe HXL, Veiga ACP, Zanardi OZ, Bassanezi RB, Andrade DJ, Carmo-Sousa M (2017) Manejo de insetos e ácaros vetores fitopatógenos nos citros. **Informe Agropecuário** 38:1-25.

Nauen R, Stumpf N, Elbert A, Zebitz CPW, Kraus W (2001) Acaricide toxicity and resistance in larvae of different strains of *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae). **Pest Management Science** 57:253-261.

Nauen R, Bretschneider T, Elbert A, Fischer R, Tieman R (2003) Spirodiclofen and Spiromesifen. **Pesticide Outlook** 14:243-246.

Nauen R (2005) Spirodiclofen: mode of action and resistance risk assessment in tetranychid pest mites. **Pesticide Science** 30:272-274.

Nauen R, Konanz S (2005) Spiromesifen as a new chemical option for resistance management in whiteflies and spider mites. **Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer** 58:485-502.

Neves MF, Trombin VG (2017) **Anuário da citricultura**. São Paulo: CitrusBR. 60p.

Nicastro RL, Sato ME, Silva MZ (2010) Milbectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): seleção, stability and cross-resistance to abamectin. **Experimental and applied Acarology** 50: 231-241.

Nicastro RL, Sato ME, Silva MZ (2011) Fitness costs associated with milbemectin resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. **International Journal of Pest Management** 57: 223-228.

Omoto C (1998) Acaricide resistance management of leprosis mite (*Brevipalpus phoenicis*) in Brazilian citrus. **Pesticide Science** 52:189-198.

Omoto C, Alves EB, Ribeiro PC (2000) Detecção e monitoramento da resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) ao dicofol. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 29:757-764.

Pan Y, Chai P, Zheng C, Xu H, Wu Y, Gao X, Xi J, Shang Q (2018) Contribution of cytochrome P450 monooxygenase CYP380C6 to spirotetramat resistance in *Aphis gossypii* Glover. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 148:182-189.

Pascon RC et al. (2006) The complete nucleotide sequence and genomic organization of Citrus Leprosis associated Virus, Cytoplasmatic type (CiLVC). **Virus Genes** 32:289-298.

Pijnacker LP, Ferwerda MA, Bolland HR, Helle, W (1980) Haploid female parthenogenesis in the false spider mite *Brevipalpus obovatus* (Acari: Tenuipalpidae). **Genetica** 51:211-214.

Ramos-González PL, Chabi-Jesus C, Guerra-Peraza O, Breton MC, Arena GD, Nunes MA, Kitajima EW, Machado MA, Freitas-Astúa J (2016) Phylogenetic and molecular variability studies reveal a new genetic clade of *Citrus leprosis virus C*. **Viruses** 8:153.

Ramos-González PL, Chabi-Jesus C, Guerra-Peraza O, Tassi AD, Kitajima EW, Harakava R, Salaroli RB, Freitas-Astúa J (2017) *Citrus leprosis virus N*: a new species of dichorhavirus causing citrus leprosis symptoms. **Phytopathology** 107:963-976.

Rauch N, Nauen R (2002) Spirodiclofen resistance risk assessment in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): a biochemical approach. **Pesticide Biochemistry Physiology** 74:91-101.

Rostami N, Maroufpoor M, Sadeghi A, Ghazi MM, Atlihan R (2018) Demographic characteristics and population projection of *Phytonemus pallidus fragariae* reared on different strawberry cultivars. **Experimental and Applied Acarology** 23:224-2236.

Roush RT, Mckenzie JA (1987) Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. **Annual Review of Entomology** 32:361-380.

Roy A et al. (2013) A novel virus of the genus *Cilevirus* causing symptoms similar to citrus leprosis. **Phytopathology** 103:488-500.

Salman SY, Ay R (2014) Determination of the inheritance, cross-resistance and detoxifying enzyme levels of a laboratory-selected, spiromesifen-resistente population of the predatory mite *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). **Pest management Science** 70:819-826.

Salman SY, Keskin C (2019) The effects of milbectin and Spirodiclofen resistance on *Phytoseiulus persimilis* AH (Acari: Phytoseiidae) life table parameters. **Crop Protection** 124:104751

SAS Intitute Inc. (2015) SAS/IML® 14.1 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Sato ME, Veronez B, Stocco RS, Queiroz MCV, Gallego R (2016) Spiromesifen resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): Selection, stability and monitoring. **Crop Protection** 89:278-283.

Savi PJ, Moraes GJ, Melville CC, Andrade DJ (2019) Population performance of *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae) on African tomato varieties and wild tomato genotypes. **Experimental and Applied Acarology** 77:555-570.

Spegazzini C (1920) Sobre algunas enfermedades y hongos que afectan las plantas de "agrios" en el Paraguay. **Annales de la Sociedad Científica Argentina** 90:155-188.

Tassi AD, Garita-Salazar LC, Amorim L, Novelli VM, Freitas-Astua J, Childers CC, Kitajima EW (2017) Virus-vector relationship in the citrus leprosis pathosystem. **Experimental and Applied Acarology** 71:227-241.

Tuan SJ, Lee CC, Chi H (2014) Population and damage projection of *Spodoptera litura* (F) on peanuts (*Arachis hypogaea* L) under diferent conditions using the age-stage, two-sex life table. **Pest Management Science** 70: 805-813.

Ullah MS, Moriya D, Kongchuensin M, Konvipasruang P, Gotoh T (2011) Comparative toxicity of acaricides to *Tetranychus merganser* Boudreaux and *Tetranychus kanzawai* Kishida (Acari: Tetranychidae). **International Journal Acarology** 37:535-543.

USDA – **United States Department of Agriculture**. Disponível em: <<https://usda.library.cornell.edu/concern/publications/w66343603?locale=en>>. Acesso em: 12 jun. 2020.

Van Leeuwen T, Dermauw W (2016) The Molecular Evolution of Xenobiotic Metabolism and Resistance in Chelicerate Mites. **Annual Review of Entomology** 61:475-498.

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** 40:563-572.

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.

Van Pottelberge S, Van Leeuwen T, Khajehali J, Tirry L (2009) Genetic and biochemical analysis of a laboratory-selected spiroadiclofen resistant strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Pest Management Science** 65:358-366.

Wachendorff U, Brück R, Elbert A, Fischer R, Nauen R, Stumpf N, Tiemann R (2000) BAJ 2740: A novel broad spectrum acaricide. **Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference - Pests and Diseases** 2:53-58.

Weeks AR, Marec F, Breeuwer JAJ (2001) A mite species that consists entirely of haploid females. **Science** 292:2.479-2.482.

Wei P et al. (2019) Overexpression of an alternative allele of carboxyl/choline esterase 4 (CCE04) of *Tetranychus urticae* is associated with high levels of resistance to the keto-enol acaricide spiroadiclofen. **Pest Management Science** 76:1.142-1.153.

Wybouw N et al. (2019) Long-Term population studies uncover the genome structure and genetic basis of xenobiotic and host plant adaptation in the herbivore *Tetranychus urticae*. **Genetics** 211:1.409-1.427.

Wu M, Adesanya AW, Morales MA, Walsh DB, Lavine LC, Lavine MD, Zhu F (2019) Multiple acaricide resistance and underlying mechanisms in *Tetranychus urticae* on hops. **Journal of Pest Science** 92:543-555.

Yu DY, Wang CF, Yu Y, Huang YQ, Yao JA, Hu J.F (2011) Laboratory selection for spiroadiclofen resistance and cross-resistance in *Panonychus citri*. **African Journal of Biotechnology** 10:3.424-3.429.