**AÇÃO DE BIOFERTILIZANTES LÍQUIDOS SOBRE A
BIOECOLOGIA DO ÁCARO *Brevipalpus phoenicis***

MARCOS BARROS DE MEDEIROS

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura
“Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em Ciências, Área de
Concentração: Entomologia.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Julho - 2002

**AÇÃO DE BIOFERTILIZANTES LÍQUIDOS SOBRE A
BIOECOLOGIA DO ÁCARO *Brevipalpus phoenicis***

MARCOS BARROS DE MEDEIROS

Licenciado em Técnicas Agropecuárias

Orientador: Prof. Dr. **SÉRGIO BATISTA ALVES**

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura
“Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em Ciências, Área de
Concentração: Entomologia.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Julho - 2002

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Medeiros, Marcos Barros de
Ação de biofertilizantes líquidos sobre a bioecologia do ácaro *Brevipalpus phoenicis* /
Marcos Barros de Medeiros. - - Piracicaba, 2002.
110 p. : il.

Tese (doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2002.
Bibliografia.

1. Ácaro-vetor-de-doença-em-planta 2. Bioecologia 3. Fertilizantes biológicos 4.
Planta hospedeira I. Título

CDD 632.3

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

A Deus,

Ofereço

COM AMOR

A minha esposa, Diana Karla Targino dos Santos Lima Barros de Medeiros

COM CARINHO

Aos meus filhos Tâmara Marjorie, Marcos Filho e Camila Yasmini

COM RESPEITO

Aos meus pais, Nivaldo Medeiros e Maria Josefa Barros de Medeiros.

Ao meu sogro Amauri dos Santos Lima (*in memorian*)

COM ADMIRAÇÃO

A nossa família, em especial a minha sogra Elba.

Aos meus irmãos Maria José, Assis, Adolfo Zárur, Aristótales,

Aristófalis, Nivaldo Filho, Arquimedes, Moisés e Vanusa.

Aos meus amigos

Dedico esta obra

A verdadeira, a mais profunda
ESPIRITUALIDADE
consiste em sentir-nos parte integrante deste
MARAVILHOSO E MISTERIOSO PROCESSO
que caracteriza
GAIA¹
nosso planeta vivo:
A FANTÁSTICA SINFONIA DA EVOLUÇÃO ORGÂNICA
que nos deu origem junto com milhões de outras espécies.
É sentir-nos responsáveis pela sua continuação e desdobramento

J. A. Lutzenberger
(1926 – 2002)

¹ GAIA é o nome poético dado pelos antigos gregos à Deusa da Terra e James Lovelock, pesquisador britânico, reintroduziu esse nome nos anos 70 na apresentação de sua Hipótese Gaia. Segundo essa hipótese, a Terra é um sistema vivo, dispondo de mecanismos de auto-regulação, ou seja, homeostase: mecanismos gerados e regulados pelos processos vitais, que propiciam a manutenção das condições ambientais necessárias à Vida. Esse modo holístico de se olhar para o nosso planeta, enquadra a nós, humanos, como parte integrante de um todo, onde tudo age interligado a tudo.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Paraíba, e em especial para a Coordenação Geral de Pós-Graduação, o Centro de Formação de Tecnólogos – CFT e o Departamento de Agropecuária – DAP, “Campus de Bananeiras”, por terem nos concedido essa oportunidade.

À Fundação Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo que possibilitou a execução desse trabalho.

Aos orientadores Professores Dr. Sérgio Batista Alves e Dr. Sinval Silveira Neto pela orientação e amizade demonstrada durante nosso convívio.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Entomologia (ESALQ/USP) pelos valiosos ensinamentos e colaborações.

Ao Engenheiro Agrônomo Paulo Antônio D’Andréa (Trofolabo) pela cooperação, ensinamentos e amizade proporcionadas ao longo do curso.

À Microbiol Industria e Comércio Ltda que via convênio tecnológico com a FEALQ/ESALQ/USP concedeu aporte financeiro para a realização desta pesquisa.

A Pesquisadora Aline de Holanda Nunes Maia (EMBRAPA - Meio Ambiente) pelas orientações, análises estatísticas, contribuições na redação e pela amizade sincera.

A todos os colegas do curso de Pós-Graduação em Entomologia pela amizade, compreensão, cooperação e incentivos durante este tempo de convivência, em especial aos amigos do Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos: Rogério B. Lopes, Dr. Marco Antônio Tamai, Dr. Marcel R. Tanzini, Daniella Macedo, Ricardo A. Polanczyk, Luciana S. Rossi, Elizabeth Q. Ramos (Bolívia), Solange Vieira (Pesquisadora), Leonardo Berzaghi (Menção Honrosa), Marcelo Garcia, Adriana Setten, Melissa Faion, Luiz Padulla, Michelle Rodrigues e Dennis L. Sinisgalli (*in memoriam*).

Aos funcionários do Setor de Entomologia da ESALQ/USP.

Aos funcionários da biblioteca da ESALQ/USP, especialmente às bibliotecárias Eliana Maria Garcia e Silvia Maria Zinsly, pela revisão das normas e editoração.

Ao amigo e ex-orientador Prof. Dr. Luiz Aristides Campos Guevara pela atenção dispensada em apoio à minha família em Piracicaba.

Aos amigos: Mário L. Roque (CENA), Dori e Gabriela (afilhados), Geni sodré, Jerson Guedes, A. Pancrácio, Fernando Campos, Everaldo “Di Cáprio”, Roberto Konno, Clarice Alvarenga, Marcelo Polleti, Dr. Enrique Castiglioni (Uruguai), Hércio Abreu Jr. (Mr. Nim), Heloísa Prates (CDA/SAA-SP), Prof. Sebastião Pinheiro (UFRGS), Prof. Adoniel Amparo, Guto (Suppia Citrus), Dr. Marcelo Azevedo (Advogado), Dr. José Álisson Araújo e Dr. Luciano Pacelli (Contemporâneos CAVN 1988), Juan Amate Salmerón (Espanha), Agricultor Klaus Boiullon, Elza Guimarães (Procuradora), Prof. Genival Azerêdo (Procurador), Prof. Dr. Giancarlos Xavier e Dr. Luis Humberto Gomes “Beto” (Genética), Prof. Gilberto Moraes (Zoologia), Prof. Djair, Érica, Paulo Kardeal, Soraya França e Dr. Raf de Vis (Bélgica) e Maria Aparecida Garcia Ferraz (secretária) pela colaboração, amizade, companheirismo e incentivo.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

SUMARIO

	Página
RESUMO	ix
SUMMARY.....	xii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Taxonomia de <i>Brevipalpus phoenicis</i>	3
2.2 Bioecologia de <i>Brevipalpus phoenicis</i>	5
2.3 Impactos do controle químico e o manejo ecológico de ácaros.....	10
2.4 Trofobiose: as causas do desequilíbrio nos agroecossistemas.....	12
2.5 Biofertilizantes líquidos e aplicação no manejo de pragas.....	13
2.5.1 Caracterização e biotecnologia de obtenção.....	13
2.5.2 Composição do biofertilizante.....	17
2.5.3 Uso no controle de pragas e doenças em plantas.....	19
2.6 A aplicação de tabelas de vida na avaliação de produtos biológicos.....	20
3 EFEITO DE BIOFERTILIZANTES APLICADOS EM <i>Canavalia ensiformis</i> SOBRE A BIOECOLOGIA DO ÁCARO <i>Brevipalpus phoenicis</i>	23
Resumo.....	23
Summary.....	24
3.1 Introdução	25
3.2 Material e Métodos	27
3.2.1 Criação do ácaro.....	27
3.2.2 Produção do biofertilizante.....	28
3.2.3 Planta hospedeira.....	30

3.2.4	Efeito residual de biofertilizante.....	30
3.2.5	Efeito sistêmico de biofertilizante.....	35
3.2.6	Análise estatística.....	36
3.3	Resultados e Discussão.....	37
3.3.1	Efeito residual de biofertilizante.....	37
3.3.2	Efeito sistêmico de biofertilizante.....	52
3.4	Conclusões.....	60
4	INTERAÇÕES ENTRE PLANTA HOSPEDEIRA E AÇÃO DELETÉRIA DO BIOFERTILIZANTE SOBRE O ÁCARO <i>Brevipalpus phoenicis</i> : EFEITO DE CONTATO SOBRE PARÂMETROS BIOLÓGICOS.....	61
	Resumo	61
	Summary	62
4.1	Introdução	63
4.2	Material e Métodos	65
4.2.1	Ação de contato em folhas de ligustre (<i>Ligustrum lucidum</i>).....	65
4.2.2	Ação de contato em plantas de feijão-de-porco (<i>Canavalia ensiformis</i>)..	67
4.2.3	Ação patogênica do biofertilizante sobre <i>B. phoenicis</i>	68
4.3	Resultados e Discussão	69
4.3.1	Ação de contato em folhas de ligustre (<i>Ligustrum lucidum</i>).....	69
4.3.2	Ação de contato em plantas de feijão-de-porco (<i>Canavalia ensiformis</i>)....	74
4.3.3	Ação patogênica do biofertilizante sobre <i>B. phoenicis</i>	83
4.4	Conclusões	88
7	CONCLUSÕES GERAIS	89
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

AÇÃO DE BIOFERTILIZANTES LÍQUIDOS NA BIOECOLOGIA DO ÁCARO *Brevipalpus phoenicis*

Autor: MARCOS BARROS DE MEDEIROS

Orientador: PROF. DR. SÉRGIO BATISTA ALVES

RESUMO

Esta pesquisa foi conduzida para avaliar os efeitos de interações entre a planta hospedeira e um biofertilizante líquido sobre o ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes). Primeiramente avaliaram-se os efeitos residual e sistêmico de biofertilizantes aplicados a plantas de *Canavalia ensiformis* (L.) DC. sobre parâmetros bioecológicos de uma população de *B. phoenicis*. Para o efeito residual foram testados os seguintes tratamentos: a) Água destilada (Controle); b) Biofert – biofertilizante produzido em um único bioreactor; c) Biomix - uma mistura com biofertilizantes produzidos em quatro bioreatores; e d) Bio+VL - Biofert + *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas. Para o efeito sistêmico somente dois tratamentos foram avaliados: a) Biofert e b) Água destilada (Controle). A seguida avaliou-se a interação tópica e residual entre concentrações do biofertilizante nas plantas hospedeiras: *C. ensiformis* e *Ligustrum lucindum* Aiton. Utilizando-se microscopia eletrônica de varredura (MEV), caracterizaram-se as manifestações patológicas sobre os cadáveres de *B. phoenicis*. Foram observados efeitos adversos do biofertilizante sobre os parâmetros de sobrevivência e de oviposição. A taxa líquida de reprodução (R_0)

foi de 18,1; 12,9; 12,5 e 10,5 fêmea/fêmea (efeito residual) e 19,4 e 13,0 fêmea/fêmea (efeito sistêmico), respectivamente para os tratamentos nas ordens supra mencionadas. Tanto na ação residual quanto via sistêmica houve redução significativa do potencial de crescimento populacional de *B. phoenicis*. Nas duas plantas hospedeiras a sobrevivência e oviposição do ácaro foram significativamente reduzidas com o aumento de concentração do biofertilizante, sendo mais severo em *C. ensiformis*. Evidenciou-se uma colonização microbiana nos ácaros mortos pela ação do biofertilizante e também verificou-se que um composto coloidal do biofertilizante causou imobilização e obstrução do sistema digestivo do ácaro. A interação entre a planta hospedeira e o biofertilizante, numa relação de equilíbrio trofobiótico, contribui para um melhor manejo desse ácaro.

BIOFERTILIZER ACTION IN THE *Brevipalpus phoenicis* BIOECOLOGY

Author: MARCOS BARROS DE MEDEIROS

Adviser: PROF. DR. SÉRGIO BATISTA ALVES

SUMMARY

This study was conducted to evaluate interactions between host plants and the effect of biofertilizers on *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) bioecology. The residual and systemic effects of biofertilizer mixtures sprayed on *Canavalia ensiformis* (L.) DC. plants on the bioecology parameters were firstly evaluated. For the residual effect bioassay the following treatments were tested: a) Distilled water (Control); b) Biofert - biofertilizer produced in a single bioreactor; c) Biomix – a mix of biofertilizers produced in four bioreactors; and d) Bio+VL - Biofert + *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas. For the systemic effect bioassay two suspensions were tested: a) Biofert and b) Distilled water (Control). Thereafter the topical and residual interaction effects between concentrations of the biofertilizer and *C. ensiformis* and *Ligustrum lucidum* Aiton. host plants were evaluated. Were also characterized pathological manifestations in the dead mites by using scanning electronic microscopy images. Adverse effects of biofertilizers on both survival and oviposition parameters were verified. The net reproduction rates (R_0) were 18.09; 12.92; 12.52 and 10.52 female/female (residual effect) and 19.42 and 13.00 female/female (systemic effect), respectively, for the treatments in the above

mentioned orders. The results showed that the biofertilizers reduced the potential population growth of *B. phoenicis* in the residual and in the systemic effect assays. The biofertilizer demonstrated deleterious effect on fertility and survival of *B. phoenicis* on both host plants, mostly on *C. ensiformis*. The mites dead by biofertilizer action showed evidences of microbial colonization. A colloidal compound of biofertilizer induced mite immobilization and obstruction in its digestive tract. The interaction between host plant and biofertilizer deleterious effects will contribute to enhance mite management based on trophobiotic relationships.

1 INTRODUÇÃO

Em função da forte demanda da sociedade por alimentos mais saudáveis, isto é, livres dos resíduos químicos provenientes dos agrotóxicos utilizados no controle de pragas, doenças e plantas invasoras, e da preocupação permanente com a contaminação do meio ambiente e do manuseio desse tipo de produto pelo homem, tem sido priorizado pelas empresas e órgãos governamentais o uso de substâncias naturais ou de moléculas mais específicas, que sejam de menor impacto ambiental.

O uso de produtos químicos, sem a observação da complexidade dos fatores que interagem nos agroecossistemas e a conseqüente eliminação de inimigos naturais (entomopatógenos, parasitóides e predadores), é responsável pelos desequilíbrios biológicos e ecológicos ocorridos nesses ambientes. Uma teoria, chamada trofobiose, propõe que a erupção de pragas e de fitopatógenos está fortemente associada ao estado de proteólise dominante nos tecidos das plantas, provocada pelo uso continuado de agrotóxicos e de adubos minerais solúveis. Segundo esta teoria estas substâncias interferem no metabolismo da proteossíntese, provocando o acúmulo de aminoácidos livres e açúcares redutores nos tecidos, fatores que são responsáveis pela queda da capacidade de resistência da planta ao ataque de pragas e doenças (Chaboussou, 1980; Medeiros, 1998; Tokeshi, 2002).

Entre as diversas práticas de manejo inadequado existentes na agricultura, destacam-se as utilizadas para o controle do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijsks) (Acari: Tenuipalpidae), praga de hábito polífago e de importância econômica cosmopolita. No Brasil esse ácaro ocorre durante todo o ano nos agroecossistemas citrícolas, atingindo altos níveis populacionais (Oliveira, 1986). Seu controle, que é feito

somente com produtos químicos, é indicado quando 2% a 10% dos frutos ou ramos amostrados apresentam um ou mais ácaros (Fundecitrus, 1999; Sato et al., 1994; Raga et al., 1997; Scarpellini & Santos, 1999). Entretanto, problemas relacionados com o desenvolvimento e evolução de linhagens resistentes, devido a constante pressão seletiva dos acaricidas e com a eliminação de inimigos naturais, têm comprometido a eficácia desse método de controle (Gravena, 1998a; Omoto, 1998; Alves, 1999).

Na citricultura as aplicações fitossanitárias representam aproximadamente 52% do custeio anual da cultura. Somente no Estado de São Paulo, os gastos com o uso de acaricidas já ultrapassam os US\$ 105 milhões/ano, sendo que esse uso representa cerca de 60% dos produtos fitossanitários utilizados na cultura e corresponde a 90% do total de acaricidas comercializados no Brasil (Neves, 2000; Boteon & Vidal, 2001) Estes números preocupantes colocam a citricultura brasileira numa situação econômica insustentável.

Na agricultura orgânica o uso de biofertilizantes líquidos, na forma de fermentados microbianos enriquecidos, têm sido uma das principais estratégias trofobióticas empregadas no manejo ecológico de pragas e doenças. Nesse processo, a resistência da planta é gerada pelo melhor equilíbrio energético e metabólico do vegetal, estabelecida por um ótimo de trofobiose. Ações promotoras de crescimento e elicitoras de resistência sistêmica, induzidas na planta, bem como ações repelente, fagodeterrente e antixenótica contra pragas e a antibiose no controle de doenças, são benefícios reportadas como os principais efeitos fitossanitários dos biofertilizantes (Pinheiro & Barreto, 1996; Bettiol et al., 1998; Alves et al., 1999).

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar os efeitos de interações entre a planta hospedeira e a ação deletéria do biofertilizante líquido sobre parâmetros bioecológicos e comportamentais do ácaro *B. phoenicis*; determinar seus principais modos de ação sobre o ácaro e contribuir com informações que resultem num melhor entendimento de suas características trofobióticas e fitossanitárias para sua utilização no manejo de populações dessa praga.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Taxonomia de *Brevipalpus phoenicis*

De acordo com Gonzáles (1975) e Flechtmann (1989), *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) pertence à classe Arachnida; Subclasse Acari; Ordem Acariformes; Subordem Prostigmata; Superfamília Tetranychioidea e Família Tenuipalpidae. Essa família se caracteriza por apresentar “pêlos terentes” nas unhas laterais e empodio dos tarsos nas pernas e por não apresentar o “processo unha-dedos” (seta robusta situada na porção distal da tíbia do tarso) e nem setas duplicas nos tarsos das pernas I e II (Jeppson et al., 1975; Smith Meyer, 1979). O gênero *Brevipalpus* Donnadieu tem sido separado em dois grupos (*californicus* e *phoenicis*) de acordo com o número de setas marginais no histerossoma. O maior grupo tem seis pares de setas e contém 46 espécies, incluindo *Brevipalpus californicus* (Banks). O outro grupo apresenta apenas cinco pares de setas marginais no histerossoma e contém nove espécies, incluindo *B. phoenicis* e *Brevipalpus obovatus* Donnadieu (Gonzáles, 1975). Este grupo também pode ser dividido pelo número de setas sensoriais (solenídia) na parte distal do tarso II das fêmeas (Evans et al., 1998). Gonzáles (1975) e Oomen (1982) documentaram que apenas as fêmeas de *B. phoenicis* possuem a combinação de cinco pares de setas histerossomais marginais e dois solenídios no tarso II. Porém em 1975, Gonzáles descreveu mais quatro novas espécies com esses mesmos caracteres (*B. phoenicides*, *B. cortesi*, *B. araucanus* e *B. taurus*), passando então a serem utilizados outros caracteres para a diferenciação de *B. phoenicis* das novas espécies, como a reticulação da área propodossomal dorso-mediana e o comprimento das setas propodossomais.

Mais recentemente Evans et al. (1998) elaboraram uma chave para a família Tenuipalpidae para as ilhas Bermudas. Nesse trabalho o gênero *Brevipalpus* aparece dividido em três grupos (*californicus*, *obovatus* e *phoenicis*). Sendo que os dois últimos são separados principalmente em função do número de setas sensoriais (solenidia) presentes no tarso II. O grupo *obovatus* compreende uma única espécie que ocorre nas Bermudas, *B. obovatus* Donnadieu, caracterizada pela presença de apenas um solenidium enquanto que no outro grupo, *phoenicis*, que apresentam duas solenidia, as espécies *Brevipalpus hondurani* Evans, com alargamento da seta do femur-palpal e região intercoxal reticulada and *B. phoenicis*, com seta do femur-palpal lanceolada e pontilhamento na região intercoxal, são as únicas duas representantes naquele país.

Somente na citricultura, além de *B. phoenicis*, *B. californicus* e *B. obovatus* bastante conhecidas, Childers et al. (2001a) menciona outras 7 espécies de *Brevipalpus* associadas à plantas cítricas, em todo o mundo: *B. amicus* Chaudhri, *B. chilensis* Baker, *B. karachiensis* Chaudhri, Akbar e Rasool, *B. lewisi* (McGregor), *B. mcgregori* Baker, *B. rugulosus* Chaudhri, Akbar e Rasool e *B. tinsukiaensis* Sadena e Gupta.

2.2 Bioecologia de *Brevipalpus phoenicis*

B. phoenicis é um ácaro fitófago encontrado em regiões tropicais e subtropicais, observado pela primeira vez na Holanda, em 1939, atacando plantas de *Phoenix* sp. (Palmaceae). Sua ampla distribuição geográfica, em grande parte, é explicada pela capacidade de colonizar eficientemente um grande número de espécies vegetais (Rodrigues, 1995a). Pode ocorrer em mais de 100 espécies de plantas hospedeiras (Guirado, 1999). Esse comportamento está relacionado a uma grande variabilidade genética assegurada entre as distintas populações (Rodrigues et. al., 1996), e até mesmo dentro de uma mesma população (Rodrigues, 2000), o que certamente garante o seu sucesso em adversidades. Este ácaro é considerado uma das principais pragas de culturas de importância econômica, tais como café, chá, palmeiras, ornamentais, citros, mamão e outras fruteiras (Kennedy et al., 1996).

Diversos pesquisadores estudaram a biologia de *B. phoenicis* (Haramoto, 1969; Lal, 1978; Chiavegato, 1986; Kennedy et al., 1996). Seu ciclo evolutivo, segundo Haramoto (1969) e Chiavegato (1986) compreendem os estágios de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto. O ovo é elíptico e mede cerca de 0,1 a 0,116 mm de comprimento e de 0,06 a 0,08 mm de largura. Sua coloração é alaranjada brilhante sendo pegajoso logo após a postura. Chiavegato (1986) relatou que o período de incubação variou de 5,29 dias à temperatura de 30°C e 16,37 dias à temperatura de 20°C. A larva apresenta três pares de pernas, e quando recém nascida é de coloração alaranjada viva. Esta quando completamente desenvolvida, apresenta uma coloração alaranjada opaca, com dois pares de manchas oculares e nesta fase everte totalmente o estilóforo e insere as quelíceras no tecido vegetal. Após um período de tempo, entra em repouso e ocorre o rompimento da cutícula surgindo a protoninfa, que é maior e apresenta quatro pares de pernas; esta se alimenta e após algum tempo entra em repouso, novamente, e sofre a segunda ecdise dando origem a deutoninfa, de coloração que se assemelha à protoninfa. Após mais um período de alimentação, passa por uma fase imóvel e ocorre a terceira ecdise, emergindo os adultos. De acordo com Haramoto (1969) o tamanho e a coloração da fêmea variam de acordo com a idade, tipo de alimentação e condições de temperatura. Os machos são semelhantes às fêmeas, não apresentam manchas escuras sobre o corpo e possuem, no dorso, dois sulcos transversais que demarcam as regiões denominadas prodossoma, metapodossoma e o opistossoma.

O tempo de desenvolvimento varia com a temperatura, umidade relativa e plantas hospedeiras. Por exemplo, a duração do estágio imaturo (ovo-adulto) foi de $47,7 \pm 2,5$; $29,3 \pm 1,2$ e $18,1 \pm 0,2$ dias, respectivamente para as temperaturas e 20, 25 e 30° C, em frutos de mamão (Haramoto, 1969). A duração do ciclo de vida de *B. phoenicis* criados em folhas de chá (*Camellia sinensis* L.), a 26° C, foi de $9,53 \pm 1,7$ dia para os ovos, $19,13 \pm 1,73$ dias para a fase imatura e $41,68 \pm 5,92$ dias para o ciclo de vida completo (Kennedy et al., 1996).

A fecundidade média de *B. phoenicis*, em folhas de *C. sinensis* a 26° C, foi de $71 \pm 0,67$ ovos por fêmea, com 0,95 ovos por dia. A taxa líquida de reprodução (R_o) foi

de 33,19 ovos por ácaro, sendo o tempo de uma geração (T) de 27,57 dias e com a população duplicada (DT) a cada 5,5 dias (Kennedy et al., 1996). Por outro lado, Haramoto (1969) observou que a fecundidade média, em frutos de mamão, foi de $12,4 \pm 5,6$; $53,3 \pm 7,5$ e $7,5 \pm 1,7$ ovos por fêmea para as temperaturas de 20, 25 e 30, respectivamente.

Alves (1999) observou que, em folhas de *Citrus sinensis* (Osborne) a 25° C, uma linhagem de *B. phoenicis*, susceptível ao acaricida dicofol, apresentou os valores T = 36,33 dias e Ro = 26,83 ovos por fêmea foram maiores que os que obtidos na população resistente, T = 32,72 e Ro = 12,80. A linhagem resistente ao acaricida dicofol possui menor valor adaptativo. Neste caso, o custo adaptativo da resistência de *B. phoenicis* foi devido principalmente à menor fecundidade e longevidade alcançadas pela linhagem resistente, em relação à susceptível de referência. Esses fatores são determinantes na redução do potencial biótico e contribuem para diminuir a evolução da resistência dessa espécie.

Uma característica singular é que as fêmeas de *B. phoenicis* possuem somente dois cromossomos (Helle et al., 1980), reproduzindo-se, principalmente, por partenogênese telítica e originando possivelmente uma descendência geneticamente similar (Rodrigues, 2000). Também existe a reprodução sexuada, quando surgem os machos, que não ultrapassam 1% da população, nas condições ambientais onde se encontra (Helle et al., 1980). A haploidia das fêmeas é uma outra característica incomum, considerada um fenômeno inédito no reino animal (Pijnacker et al., 1981). Um estudo recente feito por Weeks et al. (2001) demonstrou, com técnicas moleculares sofisticadas e utilizando ácaros provenientes da fauna brasileira, que na verdade o ácaro encontra-se na natureza exclusivamente na forma haplóide, contendo apenas dois cromossomos não homólogos. Neste estudo o autor atribui que uma bactéria endossimbionte, isolada dos ácaros, seria a responsável pela feminização genética de seus machos.

Pelo menos o patossistema¹ de quatro doenças de plantas estão associadas ao ácaro *B. phoenicis*: leprose dos citros, ocasionada pelo “citrus leprosis virus” (CiLV), Rhabdoviridae (Musumeci & Rossetti, 1963, Rossetti et al., 1997; Rodrigues, 2000; Childers et al., 2001a); clorose zonada dos citros (Rossetti et al., 1969); mancha-anular do cafeeiro, causada pelo “coffee ringspot virus” (CoRSV) (Chagas, 1973 e 1988; Reis et al., 2001) e mancha anelar do ligustre (*Ligustrum lucidum* Aiton.) (Rodrigues et al., 1995b). Estudando o patossistema da leprose dos citros Rodrigues (2000), ressaltou que, além da plasticidade² desse ácaro em transmitir esse fitovírus e colonizar uma ampla gama de hospedeiros, sua ocorrência vem sendo especulada em outros biótipos virais, de natureza genética distinta. Kitajima et al. (1997), por exemplo, apontaram o ácaro *B. phoenicis* como possível vetor do “green spot of passion fruit”, vírus que causa uma doença semelhante à leprose, em maracujazeiro.

No caso da cultura dos citros, o ácaro *B. phoenicis* é considerado uma praga-chave, ocorrendo durante todo o ano, causando preocupação permanente ao citricultor (Oliveira, 1986; CATI, 1997). A doença ocorre principalmente em laranja doce onde causa lesões em folhas, ramos e frutos, que são desfigurados e caem, reduzindo a produtividade e o valor comercial da fruta (Chiavegato, 1987; Rossetti et al., 1997). Rossetti et al. (1969) verificaram que somente *B. phoenicis*, provenientes de plantas afetadas pela leprose ou de pomares sadios, mas alimentados experimentalmente nas lesões, eram capazes de lesionar as plantas infestadas. Atualmente, aceita-se a afirmação de que o ácaro é vetor de um vírus, Rhabdoviridae, responsável pelas lesões (Rodrigues 1995a). De acordo com Paliwal (1980) o vírus é circulativo³ no corpo do ácaro, sendo transmitido de maneira persistente⁴ pelo vetor, via secreção salivar durante o processo de

¹ **Patossistema** - subsistema do ecossistema definido pelo fenômeno do parasitismo. Ex.: Fitopatossistema é aquele no qual o hospedeiro é uma planta (Begamim Filho & Amorim, 1996).

² **Plasticidade** - Mudanças morfológicas e/ou fisiológicas em um organismo resultantes da influência de fatores ambientais sobre a expressão do genótipo deste indivíduo.

³ **Vírus Circulativo** – Quando a partícula viral passa do tubo digestivo para a hemocele ou outra rota interna (por exemplo: sistema endócrino).

⁴ **Persistência da transmissão** – É dada em razão do tempo em que o vetor mantém a habilidade de transmitir o patógeno. Não-persistente (horas) Semi-persistente (dias) e Persistente (durante todo o ciclo).

alimentação. A transmissão transestadial⁵ do vírus em *B. phoenicis* é relatada por Rodrigues (2000) e Childers (2001a), porém não há evidência da passagem transovariana⁶ neste ácaro. Seu controle, com produtos químicos, é indicado quando 2% a 10% dos frutos ou 1 a 2% das plantas do talhão, com ramos examinados, apresentam um ou mais ácaros, nas inspeções realizadas a cada 10 dias (Fundecitrus, 1999; Sato et al., 1994; Raga et al., 1997; Scarpellini & Santos, 1999). Entretanto, problemas relacionados com o desenvolvimento e evolução de linhagens resistentes, devido a constante pressão seletiva dos acaricidas (Omoto, 1998; Alves, 1999) e eliminação de inimigos naturais (Gravena, 1984), têm reduzido a eficácia desse método de controle.

Ainda não existe um produto químico eficiente para o controle da leprose, sendo necessário a eliminação de seu vetor. Acredita-se porém, que substâncias que estressem ou alterem o metabolismo do ácaro vetor podem influir na sua relação com o patógeno. Os acaricidas podem apresentar efeito contrário ao desejado, debilitando o sistema imunológico do ácaro e também afetando a resposta de defesa da planta, favorecendo, ainda mais, o estabelecimento do vírus pelo vetor. Por isso, considerando que: a transmissão da leprose se dá apenas pelo vetor, o que torna a disseminação do vírus totalmente dependente da ação do ácaro; a relação vírus-vetor é persistente e propagativa, isto é, após a aquisição do vírus pelo ácaro da leprose o vetor pode transmitir o vírus por toda sua vida (Chiavegato, 1995); e todos os estádios de desenvolvimento do ácaro (larva, ninfa e adulto) são capazes de adquirir o vírus e transmiti-lo com uma eficiência que varia de 8,6 a 52% (Chagas et al., 1984), o controle da leprose dos citros pode ser obtido evitando-se a introdução ou a disseminação do ácaro no pomar, mediante o uso de medidas de proteção que desfavoreçam seu aumento populacional ou que reduzam sua relação com a transmissão do vírus.

⁵ **Transmissão transestadial** - O agente persiste no vetor a medida que ele passa por diferentes estádios de desenvolvimento

⁶ **Transmissão transovariana** - O agente passa verticalmente do vector infectado para a sua descendência via ovário.

Caldas fertiprotetoras como a sulfocálcica, a viçosa e também as caldas biofertilizantes têm sido utilizadas como práticas trofobióticas no manejo ecológico de ácaros em pomares citrícolas. Diversas receitas desses produtos, que constituem alternativas de baixo custo e de baixo impacto ambiental, vêm sendo testadas e aprovadas por agricultores. Porém seus possíveis modos de ação direta e indireta sobre os insetos e ácaros fitófagos ainda não são plenamente conhecidos (Abreu Jr., 1998; Alves et al, 1999a; D'Andréa, 1999; Gallo et al., 2002).

2.3 Impactos do controle químico e o manejo ecológico de ácaros

Nos países desenvolvidos e em vários outros em desenvolvimento, como o Brasil, os organoclorados foram proibidos para o uso agrícola. Porém, essa foi apenas uma medida isolada, uma vez que tais produtos circulam hoje por toda a biosfera (Paschoal, 1995). O uso de produtos químicos sem a observação da complexidade de fatores que interagem nos agroecossistemas tem sido a maior causa de desequilíbrio nesses sistemas, tais como o desenvolvimento de resistência ao pesticida, ressurgimento e desencadeamento de pragas secundárias e quebra de cadeias alimentares a partir da eliminação de seus inimigos naturais (Medeiros, 1998).

Até 1945, os ácaros fitófagos eram tidos como pragas secundárias da agricultura. No entanto, o desenvolvimento destas espécies nocivas vêm atingindo, cada vez mais, uma elevada significação econômica, ao mesmo tempo em que sua lista não para de crescer. Antes de 1946, haviam apenas 10 espécies de insetos e carrapatos resistentes, todas a produtos inorgânicos minerais. Em 1969 a resistência foi confirmada para 424 espécies, sendo 97 de importância médica ou veterinária e 127 de importância agrícola e florestal e de produtos armazenados (Paschoal, 1979; Chaboussou 1980). Na década de 90, pelo menos 504 espécies de insetos e ácaros foram dadas como resistentes a pelo menos um pesticida. Destas, 23 espécies são benéficas e 481 são nocivas, sendo 283 de

importância agrícola e 198 de importância médico-veterinária (Georghiou & Lagunes-Tejeda, 1991).

O Brasil gasta anualmente cerca de US\$ 2 bilhões com aplicações de agrotóxicos na agricultura. Somente na cultura dos citros são gastos US\$ 137/hectare/ano, figurando como uma das recordistas no consumo destes produtos (Novaes, 1998). Dentre as frutíferas, os citros são os que consomem mais agrotóxicos, mais de 60% dos produtos aplicados são acaricidas (Conceição, 1997; Neves, 2000) e atualmente consome 90% do total de acaricidas comercializados no Brasil (Neves, 2000).

Por outro lado, o uso de produtos químicos na agricultura tem agravado os problemas ambientais em todo o mundo, sobretudo pelo impacto de seus resíduos na saúde humana marcados internacionalmente pelos manifestos nos livros “primavera silenciosa”; “manifesto ecológico brasileiro” “pragas, praguicidas e a crise ambiental” e “o futuro roubado” (Carson, 1962; Lutzemberger, 1978; Paschoal, 1979; Colborn et al., 1996).

Atualmente, as recomendações de uso de agrotóxicos na agricultura têm como base o MIP (Manejo Integrado de Pragas). Seus conceitos, princípios e táticas sempre foram calcados nos efeitos colaterais e indesejáveis dos agrotóxicos sobre inimigos naturais (insetos, ácaros e patógenos benéficos). Mas, na prática, o MIP freqüentemente não vai além de um “Manejo Inteligente de Pesticidas”.

A eficiência de um produto químico depende de sua interação com a planta, praga alvo e o ambiente assim como do seu modo de ação no metabolismo do artrópode. No caso dos acaricidas, a planta quando pulverizada sofre interferência e tem seu metabolismo alterado, o que pode limitar seus mecanismos de defesa (Chaboussou, 1999). Do mesmo modo, interações ocorrem entre o acaricida e a praga. No caso dos ácaros, os indivíduos sofrem continuamente pressão seletiva dos acaricidas químicos. O ácaro *B. phoenicis* destaca-se pela sua alta plasticidade genética, apesar de possuírem apenas dois cromossomos, e o seu tipo de reprodução, que é partenogenética telítica do tipo automítica, onde fêmeas haplóides geram descendentes geneticamente idênticos. Estas características parecem favorecer a evolução de gerações resistentes. Isto é, a

pressão de seleção de um determinado produto tende a aumentar a proporção genótipos resistentes de modo que quanto maior é essa a pressão mais rapidamente se dá o desenvolvimento da resistência (Omoto, 1998; Campos, 2001), podendo ocorrer organismos com dois ou mais mecanismos de resistência (resistência múltipla) (Helle, 1980; Omoto, 1998; Alves, 1999; Campos, 2001). Esses fatores geralmente não são considerados nos programas de controle químico e desse modo resultam, quase sempre, no aumento do custo de produção devido a resistência dessa praga.

Paschoal (1995) propõe medidas naturais de controle de pragas, utilizando um esquema apoiado em sólidos princípios ecológicos, que integre todos os meios conhecidos e possíveis capazes de reduzir as populações das pragas a níveis sub econômicos ou que sejam capazes de erradicá-las localmente. Aprimorando esse conceito, visando a minimizar os efeitos adversos do uso sistemático dos agroquímicos na citricultura, Gravena (1998b) idealizou um novo sistema, baseado em ecologia aplicada, o qual denominou-se Manejo Ecológico de Pragas ou MEP, em citros. O autor estabeleceu os seguintes princípios do MEP, para a cultura dos citros: I) “Toda praga tem inimigos naturais que a atacam”; II) “Toda planta pode tolerar pragas e danos até certos limites sem afetar a produção e a qualidade das frutas cítricas”; III) Toda prática de controle de pragas dos citros pode ser seletiva aos inimigos naturais”; IV) “Todo sistema citrícola pode ser melhorado quanto à sua estabilidade ecológica”. Assim, o autor definiu o MEP como sendo um sistema operacional harmônico com o sistema ecológico agrícola, cujas práticas, economicamente compatíveis, visam a regulação de populações de pragas através da preservação e aumento dos inimigos naturais, e aproveitando os limites de tolerância das plantas a danos para evitar o controle químico.

2.4 Trofobiose: as causas do desequilíbrio nos agroecossistemas.

Segundo Primavesi (1998), três condições são necessárias para que uma planta seja atacada por pragas e doenças: 1) a planta deve estar deficientemente nutrida,

oferecendo alguma substância utilizável para o agente; 2) o agente pode se multiplicar livremente sem controle biológico, o que ocorre mais facilmente em monoculturas; 3) o sistema de autodefesa da planta deve estar desequilibrado, o que depende tanto da nutrição da planta como do uso de agrotóxicos. Estes princípios convergem com os fundamentados por Francis Chaboussou, então diretor do “Institut National de la Recherche Agronomique” (INRA) na França, que em 1979 formulou a Teoria da Trofobiose. Segundo essa teoria, todo processo vital está na dependência da satisfação das necessidades dos organismos vivos, sejam eles vegetais ou animais. Dessa forma, a planta, ou mais precisamente o órgão vegetal, será atacado somente quando seu estado bioquímico, determinado pela natureza e pelo teor de substâncias nutritivas solúveis, corresponder às exigências tróficas (de alimentação) da praga ou do patógeno em questão. Comprovou-se que a ação dos agrotóxicos na planta resulta na inibição da proteossíntese, resultando num aumento de ácaros, pulgões e lepidópteros e de fitopatógenos (Chaboussou, 1999; Tokeshi, 2002). Espécies de pulgões, cochonilhas, cigarrinhas, cigarras, tripes, outros insetos sugadores e várias espécies de ácaros fitófagos, não são capazes de desdobrar proteínas em aminoácidos para serem posteriormente recombinados à conveniência de cada um; por isso, eles dependem de aminoácidos livres existentes na seiva das plantas ou suco celular e de microrganismos simbioses (Chaboussou, 1980; Panizzi & Parra, 1991; Pinheiro & Barreto, 1996; Gallo et al., 2002). Os adubos minerais solúveis, especialmente os nitrogenados, e os agrotóxicos orgânicos sintéticos, que quando absorvidos pelas plantas e translocados em seu interior, são capazes de interferir com a fisiologia vegetal, reduzem a proteossíntese, desencadeando processo de acúmulo de aminoácidos livres e açúcares redutores, substâncias prontamente utilizáveis por artrópodos e agentes fitopatogênicos, relacionado positivamente com o aumento populacional desses organismos sobre as plantas estudadas (Chaboussou, 1999; Tokeshi, 2002).

2.5 Biofertilizantes líquidos e aplicação no manejo de pragas

2.5.1 Caracterização e biotecnologia de obtenção.

Diversos compostos fermentados à base de aminoácidos e de outros elementos vem sendo industrializados e comercializados por empresas no Estado de São Paulo, para uso no tratamento de plantas na agricultura orgânica. O Ministério da Agricultura e do Abastecimento vem registrando inoculantes, bioativadores, biofertilizantes, compostos antiestresse, micronutrientes e inseticidas biológicos (Penteado, 2000; Anvisa 2002).

Os biofertilizantes são efluentes pastosos resultantes da fermentação metanogênica e anaeróbica da matéria orgânica por um determinado tempo (Santos, 1992). Também podem ser definidos como sendo compostos biodinâmicos e biologicamente ativos, produzidos em biodigestores por meio de compostagem aeróbica e anaeróbica da matéria orgânica. Sztern & Pravia (1999) definem compostagem como sendo uma técnica em que se exerce o controle dos processos de biodegradação da matéria orgânica, como consequência da atividade dos microrganismos que crescem e se reproduzem no meio de cultivo em decomposição. Os produtos finais da degradação dependem dos tipos de metabolismo e dos grupos fisiológicos envolvidos. Na composição de biofertilizantes são utilizados basicamente esterco fresco de animais ruminantes, de preferência gado bovino de leite, por possuir um hábito alimentar mais balanceado e por suas fezes conterem grande diversidade de microrganismos, que vão acelerar e facilitar o processo de fermentação (Santos & Akiba, 1996).

Não existe uma fórmula padrão para produção de biofertilizantes. Receitas variadas vêm sendo testadas e utilizadas por pesquisadores para fins diversos. Segundo Seixas et al. (1980), a China e a Índia são os maiores produtores e consumidores dessa biotecnologia, com mais de 150 mil unidades instaladas, abrangendo a produção do biogás ou gás metano. Santos (1992) e Magro (1994) desenvolveram fórmulas de produção de biofertilizante enriquecido. O Supermagro desenvolvido e patenteado por Magro (1994) no Centro de Agricultura Ecológica do Ipê, Rio Grande do Sul, é um

biofertilizante foliar enriquecido com micronutrientes e vem sendo utilizado com sucesso em culturas como maçã, pêssego, uva, tomate, batata e hortaliças em geral. A obtenção do Supermagro custa cerca de R\$ 28,00 para cada 200 litros de biofertilizante .

Segundo Meirelles et al. (1997), um dos fatores importantes para a fermentação é a temperatura. Para o biofertilizante feito com esterco, a melhor temperatura é 38° C, semelhante a temperatura do rúmen dos animais. No Nordeste, há regiões que permitem ter o produto em 14 dias. Quando fermentados à temperatura média de 18° C, pode levar até 90 dias. Meirelles et al. (1997) relatam que a fermentação pode ser afetada pela contaminação ou alteração brusca do composto, ou quando o esterco é oriundo de animais tratados com antibióticos. A adição dos micronutrientes deve ser feita da forma mais lenta possível, de preferência a conta-gotas, para não afetar a fermentação porém, devido ao tempo e ao custo, essa prática pode se tornar inviável.

A decomposição bacteriana da matéria orgânica sob condições anaeróbicas é feita em três fases: 1) fase de hidrólise; 2) fase ácida; 3) fase metanogênica. Na fase de hidrólise, as bactérias (ex.: *Clostridium ticklandii*, *Peptostreptococcus anaerobicus*, *Clostridium aminophilum*, *Acetivibrio cellulolyticus*, *Bacteroides succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Eubacterium cellulosolvens*, *Bacillus* sp, *Selenomonas* sp, *Megasphaera* sp, *Lachnospira multiparus*, *Peptococcus anaerobicus*, *Bifidobacterium* sp, *Staphylococcus* sp) liberam no meio as chamadas enzimas extracelulares, que promovem a hidrólise das partículas de elevado peso molecular, isto é, transformam moléculas maiores em moléculas menores e solúveis no meio. A duração desta fase é muito variada e depende de numerosos fatores, principalmente a relação C/N, o pH, concentração de oxigênio, temperatura e fundamentalmente a carga de biomassa microbiana que contém o meio de cultivo. Na fase ácida, as bactérias produtoras de ácidos (ex.: *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus* spp., *Selenomonas ruminantium*) transformam moléculas de proteínas, gorduras e carboidratos em ácidos orgânicos (ácido láctico, ácido butílico), etanol, amônia, hidrogênio, dióxido de carbono e outros. E finalmente, na terceira fase, as bactérias metanogênicas (*Methanobacterium* sp., *Methanobrevibacter* sp., *Methanospirillum* sp.) atuam sobre o hidrogênio e o dióxido de

carbono transformando-os em gás metano (CH_4). Esta fase limita a velocidade da cadeia de reações, devido principalmente à formação de microbolhas de metano e dióxido de carbono em torno da bactéria, isolando-a do contato direto com a mistura em digestão. Por esta razão, a agitação no digestor é prática sempre recomendável, efetuando-se movimentos giratórios do recipiente ou do gasômetro (Seixas, et al., 1980; Sztern & Pravia, 1999).

Contudo, num processo de compostagem, onde a fermentação é freqüente em determinadas etapas e sob certas condições, é desejável que prevaleçam os metabolismos respiratórios do tipo aeróbio, tratando-se de minimizar os processos fermentativos e as respirações anaeróbias. Os produtos finais destes tipos de metabolismo não são adequados para sua aplicação agrônômica e conduzem a perda de nutrientes (Sztern & Pravia, 1999).

Por outro lado, Crueger & Crueger (1989) explicam que depois da inoculação dos microrganismos em uma solução nutritiva (biomassa com fontes de carbono e de nitrogênio), o processo fermentativo, em condições ótimas, ocorre em quatro fases do crescimento ou cinética do crescimento celular: 1) fase de latência 2) fase de crescimento exponencial, 3) fase estacionária e 4) morte celular. A etapa de latência compreende o período de adaptação dos microrganismos, após o qual as células dão início à fermentação. A segunda etapa é a de crescimento exponencial ou logarítmico, onde ocorre intenso processo de divisão celular, ocorrendo a produção de biomassa e metabólitos primários como: carboidratos, aminoácidos, lipídeos, nucleotídeos, vitaminas e proteínas. Essa fase raramente se mantém durante muito tempo, sendo interrompida geralmente pelo esgotamento de nutrientes ou por acumulação de produtos metabólicos tóxicos liberados no meio de crescimento. Por falta de espaço as células param de se dividir e entram em diferenciação celular, produzindo metabólitos secundários como forma de defesa. A partir desse momento a comunidade microbiana para de crescer e a taxa de reprodução tende a se igualar a morte celular. Esta fase é conhecida como estacionária e tem duração maior que a de crescimento exponencial. Estes metabólitos são antibióticos, toxinas, fenóis, ácidos orgânicos e proteínas de

cadeias longas, de alto interesse biotecnológico. Para Sztern & Pravia (1999), esgotadas todas as reservas de energia da célula, há um atraso no crescimento e estas começam a morrer numa velocidade exponencial. Condições desfavoráveis de temperatura e oxigênio, nutrientes, substâncias inibidoras de crescimento ou um inóculo procedente de um cultivo velho determinam o início e a duração dessa fase que é chamada fase de morte. Nessa cinética de morte celular a população viável diminui exponencialmente, indicando um processo fermentativo descontínuo ou em desequilíbrio.

Existem basicamente três tipos de metabolismos produtores de energia: fotossíntese, respiração e fermentação, sendo estes dois últimos relacionados com a degradação de compostos orgânicos. Na fermentação os compostos orgânicos atuam como doadores e receptores de elétrons, envolvendo mecanismos de oxido-redução. Os carboidratos são os principais substratos fermentáveis e são os compostos predominantes nos tecidos vegetais. Outros compostos como ácidos orgânicos, aminoácidos, purinas e pirimidinas, são fermentados por alguns grupos específicos de bactérias (Ex.: *Clostridium* sp.). A respiração ocorre quando os doadores de elétrons são compostos orgânicos ou inorgânicos reduzidos. Se o receptor final de elétrons ou agente oxidante for um oxigênio denomina-se respiração aeróbica, mas se esse agente for um composto inorgânico, diferente do oxigênio, denomina-se respiração anaeróbica (Sztern & Pravia, 1999).

Depois da passagem pelo biodigestor os resíduos oriundos das diferentes etapas de fermentação apresentam alta qualidade para uso como fertilizante agrícola, devido aos seguintes aspectos: diminuição do teor de carbono do material, pois a matéria orgânica, ao ser digerida, perde exclusivamente carbono na forma de CH_4 e CO_2 , aumentando o teor de nitrogênio e demais nutrientes e diminuindo a relação C/N, o que melhora as condições do material para fins agrícolas; maiores facilidades de imobilização do biofertilizante pelos microrganismos do solo, devido ao material já se encontrar em grau avançado de decomposição, o que vem aumentar a eficiência do biofertilizante e solubilidade parcial de alguns nutrientes (Seixas et al., 1980).

2.5.2 Composição do biofertilizante

No processo de fermentação, os microrganismos transformam o material orgânico e mineral, produzindo vitaminas, ácidos e sais complexos (entropia ou energia biossintética) importantes para o metabolismo secundário, terciário e quaternário das plantas e poupando muita “energia livre”, ao serem absorvidos pelas folhas. Isto impede o desenvolvimento de pragas e doenças, regulando e tonificando o metabolismo das plantas em sua desorganização (Pinheiro & Barreto, 1996). Os oligoelementos, que fazem parte do processo fermentativo dos microrganismos, como enzimas, coenzimas, cofatores (metaloporfirinas, citocromos, vitaminas etc.), mesmo diluídos, ativam e catalisam as oxidações e reações biológicas nas plantas superiores, principalmente no Ciclo de Krebs (Pinheiro et al., 1998).

Existem poucos estudos sobre a composição do biofertilizante. Entretanto, sabe-se que os biofertilizantes líquidos possuem em sua composição básica todos os 12 elementos essenciais e os oligoelementos necessários para fornecer ao vegetal e favorecer a estimulação da proteossíntese, com conseqüente aumento de sua resistência às fitomoléstias, inclusive às de causa virótica (Santos & Akiba, 1996). O seu efeito é eminente, desde que sejam observadas as condições de estresse que o vegetal possa estar submetido, para se obter melhores resultados.

Na composição microbiológica constatou-se um número elevado de bactérias e leveduras. Elas são responsáveis pela produção de substâncias bacteriostáticas e fungistáticas, tornando assim o biofertilizante ativo quando colocado em ambiente aeróbico (Santos, 1992). Além disso, Vargas (1990) relatou, na composição do biofertilizante líquido, a presença de fito-hormônios (ácido indol-acético e giberelinas) e cofatores (tiamina, riboflavina e piridoxina). Essas substâncias agem como precursores fitoestimulantes no metabolismo da planta.

No Bukman Laboratories International – Technical Service Laboratory Report, Memphis, Tennessee, U.S.A., analisaram-se amostras de biofertilizante, de diferentes idades, à base de esterco fresco de curral de gado leiteiro, utilizando o sistema de espectrofotometria de absorção atômica. Determinaram-se variações dos valores de

CaCO₃, SO₃ (sulfito), PO₄(ortofosfato), Si, Fe (total), Cl, Na, K, Mo/litro, B, Zn, Cu, Mn e Mg em função do pH e do tempo de fermentação. O pH ideal variou entre 7 e 8, sendo inferior quando a fermentação foi imperfeita (Santos, 1992).

A potência biológica do biofertilizante é expressa pela grande quantidade de microrganismos ali existentes, responsáveis pela liberação de metabólitos, entre eles antibióticos e hormônios. Castro et al. (1992) isolaram de um biofertilizante várias leveduras e bactérias, destacando *Bacillus subtilis*, um reconhecido produtor de antibióticos. Mais recentemente, Bettiol et al. (1998) verificaram a presença de diferentes espécies de fungos filamentosos, leveduriformes e bactérias, entre elas *Bacillus* spp., em amostras de biofertilizantes.

Não há relatos de microrganismos patogênicos à saúde humana presentes nos biofertilizantes. Análises realizadas no Laboratório de Patologia de Insetos⁷ para detecção de *Escherichia coli* utilizando meio Mac-Conkey em amostras de biofertilizantes não detectaram a presença destes microrganismos. Contudo, foram encontradas, em diversas amostras de biofertilizantes, estruturas leveduriformes do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*⁸.

Acredita-se que as maiorias dos microrganismos presentes sejam provenientes do trato digestivo do ruminante. Experiência realizadas em Brotas – SP pela Microbiol, empresa produtora do composto orgânico Microgeo[®], utilizando o bolo alimentar proveniente do rúmen bovino como inoculante, resultou no aumento significativo da fermentação (D'andrea, 1999).

⁷ Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola – ESALQ/USP – Piracicaba – SP.

⁸ Observação efetuada por Alves et al.(ainda não publicada) no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos – ESALQ/USP.

2.5.3 Uso no controle de pragas e doenças em plantas.

Santos (1991) constatou efeito fungistático, bacteriostático e repelente do biofertilizante “Vairo”, um composto anaeróbico feito somente com esterco bovino e água, sobre diversos agentes fitopatogênicos e insetos em lavouras comerciais no Estado do Rio de Janeiro. Santos & Sampaio (1993) relataram uma propriedade adesiva do biofertilizante. Este quando pulverizado sobre os insetos provocava a sua aderência sobre a superfície do tecido vegetal, impedindo-o de se locomover e se alimentar e em consequência morrendo por inanição. Posteriormente, Santos & Akiba (1996) relataram efeitos inseticidas, acaricidas e repelentes do biofertilizante líquido. Os autores destacaram o efeito repelente e deterrente do biofertilizante contra pulgões e moscas-das-frutas. Avaliando-se os efeitos em diferentes formas de estágio de desenvolvimento de insetos, constataram um controle eficaz, das posturas e larvas, e efeito de repelência para as formas adultas. Na medida em que se aumentou a concentração, o efeito inseticida sobre as formas adultas foi mais evidente, chegando a reduzi-las em níveis baixos de infestação. Concluíram que o biofertilizante “Vairo”, aplicado em concentrações acima de 50%, possui efeito inseticida e acaricida, controlando pulgão, ácaro vermelho, ácaro branco, mosca-das-frutas, lagartas, vaquinhas, percevejos e cochonilhas. A utilização do produto puro não ocasionou efeito sobre formigas, abelhas, marimbondos e gafanhotos.

O efeito de biofertilizante sobre o ácaro *B. phoenicis* ainda não é conhecido. Porém, sua ação sobre a fecundidade foi observada no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos, quando fêmeas adultas foram pulverizadas com diferentes concentrações de um biofertilizante. O número de ovos foi significativamente menor na medida em que se aumentou a concentração do produto (Medeiros et al, 2000b). Este fato evidencia uma possibilidade do biofertilizante possuir substâncias hormonais ou inibidores enzimáticos que afetam a reprodução e o metabolismo do ácaro.

Efeitos na nutrição da planta e sobre outros ácaros têm sido observados (Cannon Jr. & Terrieri, 1966; Wermelinger et al., 1985 e Andrade et al., 1997). Todas as informações convergem com a teoria de Chaboussou (1985), quanto aos efeitos

desequilibradores dos adubos minerais solúveis no metabolismo da planta. É certo que o biofertilizante, em contato com a planta, fornece nutrientes e compostos químicos em pequenas quantidades, o que além de atender as necessidades fisiológicas e nutricionais da planta estimula reações metabólicas. Uma hipótese é a de que o biofertilizante atue como agente elicitor de defesas naturais da planta, induzindo resistência sistêmica (Deffune, 2001). Isso pode ser explicado estudando-se os teores de fitoalexinas expressos pela planta. É possível que o biofertilizante funcione também como antibiótico, agindo diretamente sobre a praga ou o microrganismo fitopatogênico, através de seus compostos tóxicos e imunossupressores.

2.6 A aplicação de tabelas de vida na avaliação de produtos biológicos.

O potencial de crescimento de populações de insetos é uma informação de interesse em muitos estudos sobre dinâmica populacional, manejo de pragas e avaliação de riscos de agentes de controle químico e biológico. Dados relacionados com sobrevivência e fertilidade, utilizados para estimar o crescimento de populações são usualmente condensados em tabelas de vida e fertilidade. As tabelas de vida, foram desenvolvidas a princípio para uso estudos demográficos, visando sua aplicação em companhias de seguro de vida. Atualmente vêm sendo empregadas com sucesso em estudos de ecologia de populações. Sua aplicação se baseia no estudo de um grupo de indivíduos de mesma idade cronológica através do acompanhamento, ao longo do tempo, do destino dos organismos que nasceram na mesma época (Maia, 1997).

Na agricultura a avaliação da eficiência de produtos químicos no controle de pragas, baseada principalmente em modelos dose-resposta, restringe-se apenas aos efeitos dos produtos sobre a mortalidade. Porém, esse sistema nem sempre é apropriado para produtos biológicos (Nardo et al., 1995). Neste caso o uso de tabelas de vida e fertilidade representa uma alternativa, por meio da qual é possível a detecção de efeitos sub-letais crônicos durante o desenvolvimento e a reprodução do organismo alvo. Além

disso, essas tabelas e os parâmetros delas derivados constituem importantes instrumentos de avaliação de aspectos bioecológicos de insetos e ácaros, como por exemplo, o potencial de crescimento populacional, (Silveira Neto et al., 1976; Southwood, 1978). A partir desse método, são analisados dados essenciais de uma população, sob condições ambientais preestabelecidas, permitindo-se uma visão holística de parâmetros biológicos e comportamentais (Coppel & Mertins, 1977), o que tem sido empregado com sucesso para avaliar o efeito de inseticidas microbianos sobre organismos alvo e não-alvo (Nascimento et al., 1998; Nardo et al., 2001).

Segundo Silveira Neto et al. (1976), cada indivíduo na tabela de vida e fertilidade apresenta sua própria velocidade de desenvolvimento, longevidade e fecundidade, sendo tais fatores comumente expressos em termos médios da população. Ao combinar as funções de sobrevivência e fecundidade específica por idade, pode-se calcular parâmetros populacionais que são de grande utilidade na caracterização de uma população de indivíduos.

As informações necessárias para construção de uma tabela de vida e fertilidade são: início da fase adulta e longevidade de cada fêmea ou médias da população (dias, semanas); número de ovos postos por fêmea, por dia; proporção de fêmeas na descendência; porcentagem de descendentes (fêmeas) que sobrevivem até a fase adulta; número de fêmeas vivas a cada dia, desde o início da fase adulta da fêmea mais precoce até a morte da última fêmea (Maia, 1997).

De acordo com Southwood (1978) os principais parâmetros associados à tabela de vida e fertilidade são: taxa líquida de reprodução (R_0) - total de descendentes fêmeas produzidas por cada fêmea, durante todo o período de oviposição, que chegam à geração seguinte; intervalo médio entre gerações (T ou Mgt): duração média do período entre o nascimento dos indivíduos de uma geração e da seguinte. tempo de duplicação (DT) – período de tempo necessário para duplicar a população. taxa intrínseca de crescimento (r_m) – parâmetro da curva de crescimento da população (suposta exponencial), relacionado com a velocidade de crescimento (ou decréscimo) populacional; e a razão

finita de crescimento (λ) – fator de multiplicação da população original a cada intervalo unitário de tempo.

Usualmente, nos experimentos para construção de tabelas de vida, cada tratamento é aplicado a um grupo de insetos, sem réplica de grupo (o inseto constitui a unidade experimental). Assim, informação sobre a variância de estimativas de parâmetros independentes, tais como longevidade, fecundidade e duração da fase imatura, são facilmente obtidas a partir da variabilidade dos valores observados nos insetos de um mesmo tratamento (variância interna). O mesmo procedimento não pode ser aplicado aos parâmetros de tabela de vida, para os quais não existem valores observados para cada inseto. Para os primeiros caso, a estimativa da variância interna é obtida através de análise de variância (quadrado médio do resíduo) e as médias dos tratamentos são comparadas através de procedimentos de comparações múltiplas (Testes de Tukey, Duncan, Dunnet entre outros) (Maia, 1997). Para estimar a variância da estimativa do rm Meyer et al. (1986) propuseram o uso de técnicas computacionais intensivas conhecidas como “jackknife” e “bootstrap” que podem ser estendidas aos demais parâmetros-resumo da tabela de vida, métodos que têm sido comumente utilizados por ecologistas. Recentemente, Maia et al. (2000) desenvolveram um software (LIFETABLE.SAS) capaz de estimar e comparar diferentes parâmetros populacionais associados à tabela de vida e fertilidade.

3 EFEITO DE BIOFERTILIZANTES APLICADOS EM *Canavalia ensiformis* SOBRE A BIOECOLOGIA DO ÁCARO *Brevipalpus phoenicis*

RESUMO

Realizaram-se dois bioensaios para avaliar o efeito de um biofertilizante, aplicado em plantas de *Canavalia ensiformis* (L.) DC., sobre a bioecologia do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes). No primeiro ensaio (efeito residual), foram testados os seguintes tratamentos: a) Água destilada (Controle); b) Biofert - Biofertilizante produzido em um único bioreator; c) Biomix - mistura de biofertilizantes produzidos em quatro bioreatores; e d) Bio+VL - Biofert + *Verticillium lecanii*. No segundo ensaio (efeito sistêmico) somente dois tratamentos foram testados: a) Biofert e b) Água destilada (Controle). No primeiro ensaio, o biofertilizante foi aplicado numa única vez, pulverizando-se toda a planta e os ácaros acondicionados nas folhas cotiledonares. No segundo ensaio, as plantas foram pulverizadas semanalmente sobre uma das folhas cotiledonares, sendo os ácaros acondicionados na folha não-pulverizada. Nos dois bioensaios, foram avaliados parâmetros bioecológicos relacionados a sobrevivência e oviposição. Os efeitos sobre o potencial de crescimento da população durante a primeira geração foi medido através de parâmetros tabelas de vida e fertilidade: taxa líquida de reprodução (R_0), tempo médio de uma geração (T), tempo de duplicação (DT), taxa intrínseca de aumento (r_m) e taxa finita de aumento (λ). Foram observados efeitos adversos dos biofertilizantes sobre os parâmetros de sobrevivência e de oviposição. A taxa líquida de reprodução (R_0) foi de 18,09; 12,92; 12,52 e 10,52 fêmea/fêmea (1º ensaio) e de 19,42 e 13,00 fêmea/fêmea (2º ensaio), respectivamente, para os tratamentos nas ordens supra mencionadas. O biofertilizante reduziu o potencial de

crescimento populacional de *B. phoenicis* nos dois bioensaios avaliados.

SUMMARY

EFFECT OF BIOFERTILIZERS APPLIED IN *Canavalia ensiformis* ON THE BIOECOLOGY OF *Brevipalpus phoenicis*

Two assays were conducted to evaluate the effect of biofertilizer suspensions sprayed on *Canavalia ensiformis* plants on *Brevipalpus phoenicis* bioecology. In the first assay (residual effect), the following treatments were tested: a) Distilled water (Control); b) Biofert - biofertilizer produced in a single bioreactor; c) Biomix – a mix of biofertilizers produced in four bioreactors; and d) Bio+VL - Biofert + *Verticillium lecanii*. In the second assay (systemic effect) only two suspensions were tested: a) Biofert and b) Distilled water (control). In the first assay, the biofertilizer was applied once on the whole plant and mites were confined in arenas on both leaflets. In the second assay, the plants were sprayed weekly only in one leaflet and the mites were confined in arenas on the non-sprayed leaflet. In both bioassays, bioecological parameters related to survival and oviposition were evaluated. The biofertilizer effects on potential population growth during the first generation were measured by fertility life table parameters (net reproductive rate (R_o), mean generation time (T), doubling time (DT), intrinsic rate of increase (R_m) and finite rate of increase (λ). There were found adverse effects of biofertilizers on both survival and oviposition parameters. The net reproduction rates (R_o) were of 18.09; 12.92; 12.52 and 10.52 female/female (assay I) and 19.42 and 13.00 female/female (assay II), respectively for the treatments in the above-mentioned orders. These results show that the biofertilizer reduced the potential population growth of *B. phoenicis* in either residual or systemic effect assays.

3.1 INTRODUÇÃO

O ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijsks) (Acari: Tenuipalpidae), também conhecido como o ácaro-da-leprose ou ácaro-plano, é uma praga encontrada em mais de 100 espécies de plantas (Guirado, 1999). Esta praga tem distribuição cosmopolita e ataca várias culturas de grande importância econômica (Jeppson et al., 1975), também é vetora de vírus da família Rhabdoviridae, a exemplo do “citrus leprosis virus” (CiLV) causador da doença leprose-dos-citros (Chiavegato, 1991; Rodrigues, 2000; Childers et al., 2001a; Childers et al., 2001b) e do “coffee ringspot virus” (CoRSV), da mancha-anular do café (Chagas, 1973; Reis & Chagas, 2001), doenças responsáveis por severos danos a essas culturas.

O controle dessa praga, feito quase que exclusivamente com uso de agrotóxicos, tem sido indicado quando 5% a 10% dos frutos ou ramos examinados apresentam um ou mais ácaros (Fundecitrus, 1999; Sato et al., 1994; Raga et al., 1997; Scarpellini & Santos, 1999). Entretanto, problemas relacionados com o desenvolvimento e evolução de linhagens resistentes (Omoto, 1998; Alves, 1999) e com a eliminação de inimigos naturais (Gravena, 1984) têm comprometido seu controle. Mas recentemente, o controle microbiano tem se mostrado uma alternativa muito promissora, em razão de suas vantagens ambientais e econômicas, destacando-se o emprego do fungo *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas como um dos principais agentes de controle de ácaros em Cuba (Alves, 1998; Rojas, 2001).

Contudo, com o desenvolvimento da agricultura orgânica outros métodos de manejo ou processos de produção vêm sendo empregados para substituir ou reduzir o emprego de produtos químicos. Entre outros produtos naturais destacam-se os biofertilizantes líquidos, compostos fermentados à base de diversos microorganismos, esterco bovino, efluentes orgânicos e água (Pinheiro & Barreto, 1996; Bettiol et al., 1998; D’Andréa, 2001; D’Andréa, 2001b; D’Andréa & Medeiros, 2002). Alguns trabalhos têm demonstrado o uso desses produtos como uma alternativa ecológica e econômica para o controle de diversas pragas e doenças (Santos & Akiba, 1996; Abreu Júnior., 1998; Picanço et al. 1999; Cunha et al. 2000; Nunes & Leal, 2001). Seus

fundamentos estão na antibiose dos microrganismos (Alves et al., 2001) e nos mecanismos de indução de resistência sistêmica na planta. Neste segundo caso, a resposta de defesa da planta pode ser resultante de uma menor relação trofobiótica entre planta e herbívoro (Chaboussou, 1985; Pinheiro & Barreto, 1996; Chaboussou, 1999; Alves et al., 2001), provavelmente induzida por elicitores bióticos e abióticos existentes no biofertilizante (Deffune, 2001).

Observações em pomares cítricos onde se aplicaram biofertilizantes evidenciaram efeitos deletérios sobre populações do ácaro-da-leprose (Santos & Sampaio, 1993). Ainda não se atribuiu propriedade acaricida aos biofertilizantes, porém, constatou-se recentemente uma correlação negativa entre concentrações crescentes do biofertilizante e a oviposição do ácaro *B. phoenicis* (Medeiros et al. 2000b), evidenciando-se a necessidade de se conhecer o potencial de impacto desses compostos sobre os demais parâmetros biológicos e populacionais dessa praga.

Normalmente, a avaliação da eficiência de produtos químicos, baseada principalmente em modelos dose-resposta, restringe-se apenas aos efeitos dos produtos sobre a mortalidade. Porém, esse sistema nem sempre é apropriado para produtos biológicos (Nardo et al., 1995). Neste caso tabelas de vida e fertilidade tem sido indicadas para se detectar de forma mais completa o efeito de fatores diversos sobre um dado organismo, por meio das quais é possível a detecção de efeitos crônicos durante o desenvolvimento e a reprodução do organismo considerado. Os parâmetros delas derivados constituem importantes instrumentos de avaliação de aspectos bioecológicos de insetos e ácaros, como por exemplo, o potencial de crescimento populacional (Silveira Neto et al., 1976; Coppel & Mertins, 1977; Southwood, 1978; Maia et al., 2000).

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar o efeito residual e sistêmico de misturas de um biofertilizante líquido, associado ou não ao fungo *V. lecanii*, aplicadas em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC) (Fabaceae), sobre parâmetros bioecológicos do ácaro *B. phoenicis*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ USP), Piracicaba – SP.

Para avaliar os efeitos da interação de um biofertilizante com plantas de feijão-de-porco sobre o desenvolvimento do ácaro *B. phoenicis* foram realizados dois bioensaios. No primeiro, avaliaram-se os efeitos da ação residual dos tratamentos sobre a mortalidade e a oviposição de fêmeas adultas e sobre a bioecologia de seus descendentes. No segundo, avaliaram-se os efeitos da ação sistêmica do biofertilizante sobre a bioecologia do ácaro.

Detalhes sobre a criação dos ácaros, produção do biofertilizante e cultivo da planta hospedeira são descritos a seguir:

3.2.1 Criação do ácaro

A população de *B. phoenicis* utilizada nos bioensaios foi obtida de uma colônia de manutenção do Laboratório de Resistência de Artrópodos a Pesticidas da ESALQ/USP. Esta população foi iniciada com ácaros coletados em local com mais de 5 anos sem aplicação de acaricidas (Alves, 1999; Omoto et al., 2000). Para criação utilizaram-se frutos de laranja Pêra-Rio ou Valência coletados em pomares sem aplicação de agrotóxicos. Adaptando-se a técnica descrita por Alves (1999), os frutos após lavados com água foram parafinados. Em seguida foram confeccionadas sobre os frutos, arenas de aproximadamente 4 cm de diâmetro, circundadas com cola adesiva (Tanglefoot® Grand Rapids, MI, EUA), para confinar os ácaros. Estas arenas foram infestadas com ácaros adultos, sendo os frutos então acondicionados em bandejas plásticas e mantidos em prateleira numa sala climatizados à 25±3° C, umidade relativa de 70±10 % e fotofase de 14 horas (Figura 1). Para manutenção da população, os frutos eram substituídos a cada 30 - 40 dias, colocando-se os frutos velhos sobre os novos, em

posições invertidas, para permitir a passagem dos ácaros da arena velha para a arena do novo fruto.

Figura 1 - Criação do ácaro *Brevipalpus phoenicis* sobre frutos de laranja.

3.2.2 Produção do biofertilizante

As amostras dos biofertilizantes utilizadas estavam com 35 dias de fermentação e foram produzidas em quatro tanques a partir das seguintes matérias primas: 5 Kg do composto orgânico Microgeo MCO[®] (Produzido pela Microbiol Ind. e Com. Ltda. – Limeira – SP), 20 litros de esterco fresco bovino e 10 litros de conteúdo de rúmen bovino provenientes de abatedouro industrial (fornecido pelo Frigorífico Rajá - Piracicaba – SP) e completados com água (não clorada) até o volume de 100 litros.

Utilizaram-se como bioreatores da fermentação recipientes de plástico, com 80 cm de diâmetro e capacidade para 100 litros (Figura 2). Os biofertilizantes foram produzidos em lugar ensolarado a céu aberto, durante os meses de fevereiro e março de 2001 (Quadro 1). O processo utilizado foi o método de compostagem líquida contínua

(CLC), descrita por D'Andréa (2001), que envolve simultaneamente a digestão aeróbica e anaeróbica, e fermentação. O conteúdo, após acondicionado nos bioreatores para biodigestão, era agitado duas vezes ao dia para promover a oxigenação do composto e manter o equilíbrio microbiano (relação aeróbios/anaeróbios) presentes nas diferentes fases químicas da compostagem líquida.

Evento Climático	Fevereiro/2001	Março/2001
Radiação global (Cal.cm-1.dia-1)	457,0	450,0
Insolação (h/dia)	6,2	7,0
Precipitação (mm)	187,9	164,2
Umidade Relativa (%)	82	77
Temp. Média (°C) + min-max	26,0 (20,4 – 31,7)	25,4 (19,3 – 31,5)

Quadro 1 - Súmula meteorológica de Piracicaba-SP ocorrida durante os meses de fevereiro e março do ano 2001 (Departamento de Física e Meteorologia (ESALQ/USP), Piracicaba – SP).

Figura 2 - Produção do biofertilizante pelo sistema de compostagem líquida contínua, a céu aberto, em recipientes de plástico.

3.2.3 Planta hospedeira

Plantas de feijão-de-porco foram utilizadas como indicadoras da ação do biofertilizante. As plantas foram cultivadas em vasos de polietileno contendo 500g do substrato agrícola PLANTEMAX[®]. A semeadura foi feita colocando-se duas sementes por vaso. Um desbaste foi realizado 15 dias após a emergência das plântulas, mantendo-se a planta mais vigorosa. As regas foram diárias (aproximadamente 100 ml.vaso⁻¹ dia⁻¹), sendo os vasos mantidos em casa-de-vegetação durante a fase de crescimento. Decorridos 25 dias da semeadura, quando as plantas atingiram o estágio de folhas cotiledonares, foram selecionadas visando a obtenção de tamanho padronizado, e em seguida foram submetidas aos experimentos.

3.2.4 Efeito residual de biofertilizante.

Procedimento - Foram avaliados quatro tratamentos: a) Água destilada (Testemunha); b) Biofertilizante líquido procedente de um único reator, a 10% (definido como Biofert); c) Mistura do biofertilizante (Biofert), oriunda de partes iguais dos quatro diferentes reatores, a 10% (Definida como Biomix); e d) Biofertilizante (Biofert) a 10% + fungo *Verticillium lecanii*, isolado 972 da ESALQ/USP, na concentração de 3×10^5 conídios/mL da mistura (Definido como Bio+VL). Os tratamentos foram definidos com base em concentrações utilizadas em campo na citricultura (D'Andréa, 2001). O tratamento Biomix foi adotado apenas para verificar se há perda ou ganho de eficiência quando se misturam biofertilizantes provenientes de diferentes reatores, em condições de campo.

Cada suspensão foi pulverizada uma única vez, com uma dose de 20 mL de suspensão por planta, aplicada a uma pressão de 5 libras pol⁻², sobre grupos de 10 plantas de feijão-de-porco como repetição. O conteúdo foi distribuído por toda a planta e o seu excedente foi pulverizado sobre o solo (Substrato agrícola Plantemax[®]). Logo após a secagem, foram confeccionadas arenas de 3,0 cm de diâmetro, sobre cada folha cotiledonar, delimitada com cola adesiva (Tanglefoot[®]), perfazendo-se um total de duas

arenas por planta (Figura 3). Após um intervalo de três dias, para maior absorção e metabolização do biofertilizante, cada arena foi infestada, em média, com 15 fêmeas adultas de *B. phoenicis*, provenientes da criação de manutenção. As plantas foram mantidas em sala climatizada com temperatura média de $25\pm 3^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 5\%$ e fotofase de 14 horas, durante todo o experimento.

O efeito residual dos tratamentos foi avaliado sobre as fêmeas adultas e sobre seus descendentes:

Efeito sobre fêmeas adultas – Cinco dias após a infestação das fêmeas adultas, que ficaram expostas nas arenas, avaliaram-se o número total de ovos por fêmea e o número de fêmeas vivas em cada arena, para estimativa dos efeitos dos tratamentos sobre a fecundidade e sobrevivência dos adultos.

Efeito sobre os descendentes - Após a remoção de todos os ovos produzidos durante a etapa anterior, as fêmeas de *B. phoenicis* foram deixadas sobre as plantas por mais 24 horas em oviposição para obtenção de ovos de mesma idade. e, logo em seguida, removidas das arenas. Após a eclosão, realizaram-se observações diárias sobre cada superfície foliar contendo os ácaros quantificando-se a sobrevivência na fase imatura e sobrevivência e oviposição na fase adulta.

Figura 3 - Folha cotiledonar de *Canavalia ensiformis* contendo a arena de contenção e adulto de *B. phoenicis*.

Em cada observação realização, os vasos, contendo as plantas, foram colocadas ao lado de um microscópio estereoscópio. A folha cotiledonar a ser observada foi posicionada e fixada com fita adesiva sobre uma tampa de placa de Petri de vidro, com 15 cm de diâmetro, para permitir a sua movimentação, sem danificá-la, sobre a base do microscópio. Após ajustado o foco de visão, deram-se início às leituras. Os ovos quantificados e os possíveis predadores encontrados foram retirados da arena ao final de cada observação. Após isso, as folhas eram liberadas da placa e as plantas devolvidas à sala ambiente climatizada.

A partir dos números de ovos e de sobreviventes obtidos em cada arena, foram estimados parâmetros biológicos e bioecológicos, utilizando-se tabelas de vida e fertilidade, conforme descritos a seguir:

Parâmetros biológicos avaliados – Foram estimados os seguintes parâmetros do ciclo biológico do ácaro: viabilidade dos ovos, duração e sobrevivência total da fase imatura e oviposição, fecundidade e longevidade na fase adulta.

A viabilidade dos ovos foi avaliada no décimo dia após o início da oviposição, dividindo-se o número de larvas e ninfas presentes na arena pelo número de ovos inicial.

Para o cálculo da duração da fase imatura considerou-se a média ponderada dos períodos transcorridos entre a data da oviposição e as datas de emergência de cada adulto na arena.

Para o cálculo da fecundidade (número total de ovos/fêmea), e da razão de oviposição (número médio de ovos/dia), considerou-se o período de oviposição o transcorrido entre a primeira e a última postura detectada na arena. Em cada avaliação foram quantificados os números de fêmeas vivas (sobrevivência) e mortas (mortalidade) e o número médio de ovos produzidos por fêmea em cada arena. Após cada contagem, os ovos eram removidos das arenas. Para determinação das curvas de sobrevivência durante a fase adulta (longevidade), correlacionaram-se os valores de mortalidade média diária e os tempos, transcorridos entre o início e o encerramento da oviposição, momento em que o bioensaio foi encerrado.

Parâmetros ecológicos avaliados - A partir dos dados de sobrevivência e oviposição obtidos em cada arena, nos diferentes tratamentos, foram elaboradas tabelas de vida e fertilidade para cada tratamento. As seguintes informações foram utilizadas:

- a) Número de fêmeas adultas por arena e número de arenas em cada tratamento;
- b) Data de início da oviposição em cada arena;
- c) Duração do período de oviposição;
- d) Número médio de ovos postos por fêmea em cada arena, em cada data de oviposição;

Posteriormente, calculou-se o número médio de ovos postos por fêmea (M_x) em cada data de oviposição (x), considerando o total de fêmeas de cada tratamento; o índice de sobrevivência acumulado das fêmeas adultas (L_x), durante o período de oviposição; e o número de descendentes que atingirão a idade x na geração seguinte ($L_x M_x$).

Estes valores constituíram as colunas das tabelas de vida. Com base na informação condensada nas tabelas de vida, foram estimados os seguintes parâmetros bioecológicos para cada tratamento, conforme descritos em Maia et al (2000):

Taxa líquida de reprodução (R_0): estimativa do número médio de fêmeas gerado por cada fêmea ao longo de todo o período de oviposição, que chegarão a geração seguinte. Esta parâmetro indica quantas vezes cresceu a população no intervalo de uma geração ;

Intervalo entre gerações (T): tempo médio entre a postura de ovos de uma geração e a postura da geração seguinte (intervalo ovo a ovo);

Tempo de duplicação da população (TD): tempo necessário para que a população inicial seja duplicada;

Taxa intrínseca de crescimento (R_m): fator relacionado com a velocidade de crescimento da população; Se maior que 1, indica um crescimento populacional, e quanto maior seu valor mais rápido é o crescimento da população. Se menor que 1, indica que houve decréscimo da população. Sendo igual a 1, revela que a população não sofreu alteração.

Taxa finita de crescimento (λ): fator de multiplicação de crescimento diário da população. Indica o número de indivíduos adultos, fêmeas, adicionados por cada fêmea, ao dia, ao longo de uma geração, isto é, a taxa de crescimento diário da população.

A partir do “método aproximado”, descrito em Silveira Neto et al. (1976), obtiveram-se as estimativas aproximadas do intervalo entre gerações (t) e da taxa intrínseca de crescimento populacional (R). Em seguida, estes valores foram utilizados no método iterativo (Southwood, 1978) para obtenção das taxa intrínseca de crescimento (R_m) e do intervalo entre gerações (T).

De acordo com Maia et al. (2000) os algoritmos utilizados para estimar os parâmetros de tabela de vida são descritos a seguir:

Taxa líquida de reprodução (R_o): somatório para todo o período de oviposição, do número médio de ovos produzidos por fêmea em cada dia multiplicado pela correspondente sobrevivência acumulada em cada data. Considera-se que a sobrevivência dos filhos será a mesma das mães.

$$R_o = \sum L_x \times M_x$$

Estimativa aproximada do intervalo entre gerações (t): corresponde a uma média das idades de oviposição (x - que representam intervalos entre gerações), ponderada pelo número líquido de descendentes ($L_x.M_x$) produzidos na data x.

$$t = \frac{\sum M_x \times L_x \times X}{\sum L_x \times M_x}$$

Estimativa aproximada da taxa intrínseca de crescimento (R): é obtida pela razão entre o logaritmo neperiano da taxa líquida de reprodução (R_o) e a estimativa aproximada do intervalo entre gerações (t).

$$R = \frac{\ln(R_o)}{t}$$

Taxa intrínseca de crescimento (R_m): obtida através de um método iterativo utilizando a estimativa aproximada da taxa intrínseca de crescimento (R), considerando a expressão abaixo:

$$\sum e^{-R \cdot X} \cdot L_x \cdot M_x = 1$$

Estimativa do intervalo entre gerações (T): razão entre o logaritmo neperiano do R_o e a taxa intrínseca de crescimento (R_m):

$$T = \frac{\ln(R_o)}{R_m}$$

Tempo de duplicação da população (TD): razão entre o logaritmo neperiano do algarismo adimensional “2” e a taxa intrínseca de crescimento (R_m):

$$TD = \frac{\ln(2)}{R_m}$$

Taxa finita de crescimento (λ): calculado a partir da expressão abaixo:

$$\lambda = e^{R_m}$$

3.2.5 Efeito sistêmico de biofertilizante.

Procedimento - Foram testados dois tratamentos: 1) Biofertilizante a 5% de concentração em água destilada (Biofert) e 2) somente água destilada (testemunha). Os tratamentos foram pulverizados semanalmente sobre plantas de *C. ensiformis*, tendo como alvo somente uma de suas folhas cotiledonares. Os ácaros considerados foram criados sobre a folha cotiledonar não-pulverizada, delimitados por uma arena de contenção de cola adesiva Tangelfoot (Figura 01). O delineamento foi inteiramente casualizado num total de 10 plantas (repetições) por tratamento.

Antes da primeira pulverização cada arena foi infestada, em média, com 15 fêmeas adultas do ácaro *B. phoenicis*. As fêmeas foram mantidas em oviposição por 24 horas, para obtenção de ovos com a mesma idade, em seguida foram retiradas das arenas. As plantas, após infestadas, em média, com uma população inicial 15 ovos, foram mantidas numa sala climatizada a $25 \pm 3^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. As avaliações foram realizadas aos 28, 37, 41, 45 e 55 dias após a

data da oviposição, razão pela qual não se determinou os parâmetros biológicos dos estádios imaturos. Os parâmetros biológicos e ecológicos estimados foram os mesmos do bioensaio anterior.

3.2.6 Análise estatística

Nos dois bioensaios, foram realizadas análise de variância da fecundidade (número médio de ovos por fêmea/dia), utilizando-se o procedimento ANOVA do “Statistical Analysis System” (SAS Institute, 1998) sendo as fecundidades médias comparadas por meio de testes “F” para contrastes (Montgomery, 1991).

A mortalidade observada na fase imatura foi corrigida pelo método de Abbott (1925). Para avaliar o efeito dos tratamentos sobre a viabilidade dos ovos e os índices de mortalidade na fase imatura, foram utilizados modelos lineares ajustados pelo método de quadrados mínimos ponderados (Grizzle et al., 1969), sendo as médias dos tratamentos comparadas entre si pelo teste de χ^2 de Wald (1943). Para estas análises, utilizou-se o módulo “CATMOD Procedure” do sistema computacional “SAS System” (SAS Institute, 1998).

As curvas que descrevem os padrões de emergência dos adultos (duração da fase imatura) e de sobrevivência da fase adulta (longevidade), ao longo do tempo, no bioensaio de efeito residual, foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier (1958). Para a comparação das curvas entre os tratamentos foi utilizado o teste estatístico não paramétrico de Log Rank (Mantel, 1966). Para estas análises utilizou-se o módulo “LIFETEST Procedure” (SAS Institute, 1998).

No bioensaio II, pelo fato de não se conhecer a data exata da morte, mas somente o intervalo de sua ocorrência (censura intervalar), utilizou-se o método de modelos lineares generalizados para estimar as curvas de sobrevivência (Allison, 1997), através do módulo “GENMOD Procedure” do “SAS System”, considerando a distribuição binomial e a transformação (função de ligação) logito, como descritos em Forthofer & Lehnen (1981). As curvas foram comparadas por um teste de razão de verossimilhança.

Os parâmetros da tabela de vida e respectivos erros padrão foram estimados pela técnica “jackknife” (Meyer et al., 1986) e as médias comparadas por testes “t”

unilaterais, utilizando-se o software LIFETABLE.SAS desenvolvido por Maia et al. (2000) no ambiente “SAS System”.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Efeito residual de biofertilizante

Efeito residual sobre fêmeas adultas - Não ocorreu mortalidade de fêmeas na primeira geração, durante a primeira etapa, quando fêmeas adultas foram mantidas por um período de cinco dias de alimentação sobre as folhas de feijão-de-porco contendo componentes residuais ativos do biofertilizante. Isso evidencia que os compostos utilizados não possuem atividade tóxica residual sobre os ácaros, para o intervalo de tempo estudado.

Os números médios de ovos de *B. phoenicis* após 5 dias de oviposição, nos quatro tratamentos, constam da Tabela 1. A fecundidade do ácaro foi nitidamente afetada pelos tratamentos Biofert e Bio+VL, ocorrendo uma redução significativa da razão de oviposição, em relação à testemunha (Teste F, $p < 0,05$).

O biofertilizante funcionou como supressor de oviposição durante o período em que as fêmeas estiveram sobre a planta pulverizada. Os tratamentos Biofert e Bio+VL foram os que produziram menor razão de oviposição por cada fêmea. Este comportamento pode estar relacionado a um conjunto de reações do organismo, provavelmente resultante de perturbações metabólicas. Um estresse físico e/ou infeccioso, produzidos pelo biofertilizante, pode ter alterado o comportamento de oviposição dos ácaros. Esses efeitos podem ter um significado prático se esse resultado vir a ser confirmado em campo. Considerando-se os cultivos onde o ácaro já se encontra instalado, uma ação desse tipo sobre a oviposição pode resultar, a curto prazo, num controle significativo da população.

Tabela 1. Número médio de ovos fêmea⁻¹ dia⁻¹ $\pm$ erro padrão de *Brevipalpus phoenicis*, sob o efeito residual de biofertilizantes sobre plantas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis*), após 5 dias de oviposição. Temperatura = 25 $\pm$ 3° C, U.R. = 70 $\pm$ 5%; Fotofase = 14 h.

Tratamento	Número de fêmeas	Número ovos por fêmea	EP
Testemunha	124	0,71 a	0,05
Biomix	145	0,61 a	0,06
Bio+VL	125	0,44 b	0,05
Biofert	131	0,22 c	0,06

* Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de “F para contrastes” (p < 0,05).

Embora tenha sido observada uma tendência de redução na oviposição nas planas pulverizadas com os biofertilizantes, as misturas de um biofertilizante, com amostras provenientes de diferentes reatores de fermentação (Biomix) e do biofertilizante associado ao fungo *V. lecanii* (Bio+VL) não foram mais eficientes que o tratamento biofertilizante (Biofert) aplicado isoladamente. A mistura tipo Biomix parece não ser tão eficiente para este fim. É possível que tenha ocorrido uma alteração do equilíbrio trófico, tendo em vista que reações compatíveis e incompatíveis podem ocorrer na mistura entre os diferentes componentes bióticos e abióticos existentes em cada amostra. A mistura do biofertilizante com o fungo *V. lecanii* (Bio+VL), por exemplo, não resultou em mortalidade das fêmeas adultas e não incrementou a ação de inibição à oviposição. Esse fungo, apesar de ser considerado epizootico e até empregado em escala comercial (Faria & Magalhães, 2001), é um patógeno de ação e reprodução lenta e muito dependente de condições de temperatura e umidade (Alves, 1998). Segundo Macedo et al. (2001) o processo de colonização de *V. lecanii* ao ácaro *B. phoenicis* ocorreu entre 72 e 120 horas, sendo a mortalidade observada somente a partir desse período. Segundo Alves (1998) a morte pela ação de fungos ocorre depois da fase de colonização, que dura até 5 dias, sendo que em insetos a morte é constatada depois de oito dias. Assim, cinco dias de

avaliação aos efeitos do fungo pode ter sido insuficiente para a manifestação dos sintomas de infectividade sobre os adultos de *B. phoenicis*, na concentração utilizada. No caso de danos ao sistema reprodutivo (por exemplo: oviposição), trata-se de uma característica de patógenos sistêmicos, o que possivelmente não é o caso do fungo *V. lecanii*. Por outro lado, também é provável que os compostos do biofertilizante possam ter afetado a viabilidade do fungo e a sua infectividade ao ácaro hospedeiro.

Contudo, admitindo-se que o ácaro adulto tenha sofrido algum tipo de agressão fisiológica, durante sua fase reprodutiva, pergunta-se: quais consequências negativas podem repercutir sobre o crescimento e desenvolvimento de seus descendentes? Para responder essa interrogação estudaram-se os efeitos indiretos dos tratamentos sobre os indivíduos da geração seguinte, partindo-se dos ovos obtidos e criados sobre as mesmas plantas pulverizadas.

Efeito residual sobre descendentes - A Viabilidade da fase de ovo foi afetada significativamente (teste χ^2 de Wald, $p < 0,01$) em todos os tratamentos com biofertilizante em relação à testemunha (Tabela 2). Neste tratamento a viabilidade foi de 89,1%, enquanto que no tratamento biofertilizante + fungo *V. lecanii* (Bio+VL), onde o efeito foi maior, a viabilidade foi reduzida para 64,7%, portanto uma diferença de 24,4% em relação à testemunha. Embora a mistura do biofertilizante (Biomix) não tenham produzido efeito deletério significativamente diferente da testemunha, por sua vez não foi diferente do biofertilizante isoladamente (Biofert) que causou uma redução significativa de 18,3% em relação à testemunha. Dessa forma, evidencia-se uma tendência de ação negativa do biofertilizante utilizado sobre viabilidade da fase de ovo em relação à testemunha.

Deve-se ressaltar que devido ao fato de os ovos terem pouco ou nenhum contato com o resíduo do biofertilizante e considerando o efeito sobre a razão de oviposição (Tabela 1), este resultado sugere a possibilidade, também, de uma resposta de defesa sistêmica de natureza antixenótica (Vendramim & Castiglioni, 2000; Ayedh, 2002). Essa

característica faz com que seja atribuída à planta a expressão de alguma defesa química. Uma substância diferente na dieta do ácaro pode ter afetado seu metabolismo que repercutiu sobre a sua fertilidade e também sobre a viabilidade de seus ovos. Esse tipo de evidência parece elucidar uma resposta de natureza trofobiótica da planta. Chaboussou (1985) constatou que o aumento e a diminuição da fecundidade do ácaro *Panonychus ulmi* (Koch) estava intimamente correlacionado de forma negativa com o teor de aminoácidos livres no conteúdo celular da planta. O autor postula que a correção de carências e a estimulação da proteossíntese podem aumentar a resposta de defesa da planta, o que foi responsável pela redução da fecundidade do ácaro.

Tabela 2. Viabilidade de ovos de *Brevipalpus phoenicis* para cada tratamento com respectivos erros-padrão.

Tratamento	Número de ovos	Viabilidade média (%) *	EP (%)	Valor p **		
				Testemunha	Biomix	Biofert
Testemunha	119	89,10 a	2,85	-	-	-
Biomix	102	76,69 b	4,16	0,0143	-	-
Biofert	108	70,80 bc	4,20	0,0004	0,3229	-
Bio+VL	122	64,70 c	4,73	<0,0001	0,0571	0,3397

* Tratamentos com médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de χ^2 de Wald

** Probabilidade de erro tipo I associada ao teste χ^2 de Wald para contrastes entre cada par de tratamentos.

Estudos conduzidos por Medeiros et al. (2000a e 2001), também com plantas de feijão-de-porco, revelaram um impacto semelhante produzido pelo biofertilizante e de suas interações com o fungo *B. bassiana* sobre a fecundidade do ácaro polífago *Tetranychus urticae* (Koch).

Apenas o tratamento Biofert aumentou a duração da fase imatura dos indivíduos gerados a partir dos ovos avaliados anteriormente (Tabela 3). No tratamento testemunha

75% dos indivíduos atingiu a fase adulta no 26º dia de idade, 50% (mediana) aos 25 dias e 25% aos 24 dias, os quais somaram uma duração média da fase imatura de 24,79 dias. Enquanto que no tratamento Biofertilizante, que produziu duração média maior (25,82 dias), 75% dos indivíduos atingiram a fase adulta somente aos 27 dias, 50% (mediana) aos 26 dias e 25% aos 25 dias de idade. Os outros dois tratamentos não influíram sobre a duração dessa fase.

De acordo com os padrões de emergência dos adultos, os ácaros dos tratamentos Biomix e Bio+VL atingiram mais precocemente a fase adulta, enquanto que os do Biofertilizante atingiram esta fase mais tardiamente (Figura 4). Pôde-se constatar que todos os tratamentos diferiram da testemunha, quanto aos padrões de emergência de adultos ao longo do tempo, e também entre si, exceto para os tratamentos Biomix e Bio+VL, que apresentaram um comportamento semelhante (Tabela 4).

Os tratamentos Biofert, Biomix e Bio+VL afetaram significativamente ($p < 0,05$) a sobrevivência do ácaro, causando mortalidade (corrigida) de 12,37, 15,93 e 35,32%, respectivamente (Tabela 5). Neste caso, pode-se verificar que a adição do fungo fez diminuir ainda mais a sobrevivência do ácaro. Esse efeito, observado após 25 dias da aplicação, sugere que de alguma forma o fungo prevaleceu infectivo por longo tempo, atingindo indivíduos de diferentes fases (larva e ninfa) dentro de uma mesma geração. Porém, somente um teste de esporulação dos ácaros mortos poderia confirmar essa indicação. Muito pouco se conhece sobre a epizootiologia do fungo *V. lecanii* infectando ácaros. Mesmo assim, Poinar & Poinar (1998) citam esse gênero como um dos mais importantes patógenos de ácaros. Mais recentemente um estudo de microscopia eletrônica demonstrou a infectividade e características morfológicas de diferentes fases do ciclo de infecção de *V. lecanii* sobre adultos de *B. phoenicis* (Macedo et al., 2001). Também Albuquerque et al. (2000) testaram a patogenicidade de diversos fungos, entre eles *V. lecanii* sobre o ácaro *B. phoenicis* em frutos de laranja. O fungo não diferiu, quanto aos demais, na mortalidade do ácaro, mas todos apresentaram mortalidade superior à testemunha. Esse fungo também vem sendo empregado no controle de ácaros e afídeos em diversos cultivos em Cuba (Rojas, 2001).

Tabela 3. Percentis 25, 50 e 75 da distribuição da duração da fase imatura (ovo – adulto), com intervalos de confiança, e duração média $\pm$ erro padrão de *Brevipalpus phoenicis* criados em plantas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis*) submetidas a pulverizações com biofertilizantes. Temperatura $26\pm 3^\circ\text{C}$, 70% de U.R. e Fotofase de 14 horas.

Tratamento	No. de Indivíduos emergidos	Percentil (%)	Estimativa (dias)	Intervalo de Confiança de 95%	
				Limite inferior	Limite Superior
Testemunha	86	75	26,00	-	-
		50	25,00	-	-
		25	24,00	23,00	24,00
		Média $\pm$ EP	24,79 $\pm$ 0,18		
Biofert	73	75	27,00	26,00	28,00
		50	26,00	-	-
		25	25,00	24	26
		Média $\pm$ EP	25,82 $\pm$ 0,21		
Biomix	76	75	25,00	25,00	26,00
		50	24,00	23,00	25,00
		25	23,00	22,00	23,00
		Média $\pm$ EP	24,11 $\pm$ 0,18		
Bio+VL	47	75	25,00	-	-
		50	25,00	24,00	25,00
		25	24,00	-	-
		Média $\pm$ EP	24,31 $\pm$ 0,15

Figura 4 - Padrão de emergência de adultos, ao longo do tempo, de *Brevipalpus phoenicis* em plantas de feijão-de-porco pulverizadas com os seguintes tratamentos: 1-Testemunha, 2-Biofertilizante, 3 - Biomix e 4 - Biofertilizante + *V. lecanii* (Bio+VL).

Tabela 4. Valores p associados ao teste Log-Rank utilizado na comparação das curvas de emergência de adultos de *Brevipalpus phoenicis*.

Tratamento	Numero de Fêmeas	Duração Mediana (%)	Valor p		
			Testemunha	Biofert	Biomix
Testemunha	86	25,00	-	-	-
Biofert	73	26,00	0,0001	-	-
Biomix	76	24,00	0,0109	0,0001	-
Bio+VL	47	25,00	0,0020	0,0001	0,9607

Independentemente de *V. lecanii*, foi possível observar que o biofertilizante, que já aumentou a duração da fase imatura, também reduziu a sobrevivência do ácaro, fatores que contribuem sobremaneira para a redução da velocidade de crescimento populacional da praga. É possível que a ação do biofertilizante sobre a planta seja prolongada, induzindo uma resposta negativa da planta, por antibiose, ou que tenha alterado a dieta nutricional da praga (ex.: redução de aminoácidos livres). Esse mecanismo seria responsável por mudanças no desenvolvimento e sobrevivência do ácaro (Chaboussou, 1985; Chaboussou, 1999).

Há uma evidência de efeito de tratamento, embora pouco significativa, sobre a fecundidade total dos ácaros descendentes ($p < 0,1100$), quando criados sobre as plantas pulverizadas (Tabela 6). Possivelmente, durante o intervalo de tempo entre a data da pulverização das plantas com os tratamentos e a data de início da postura dos ácaros da geração seguinte, cerca de 28 - 29 dias após, o biofertilizante tenha sido completamente metabolizado e eliminado da planta, tendo repercutido pouco sobre a fase reprodutiva dos ácaros descendentes. Essa evidência pode ser importante para o estudo da resistência de plantas, pois segundo Cordeiro & Sá (1999), na ausência de seu agente elicitador, desaparece a resposta de defesa da planta. Também deve ser útil para o estabelecimento de estratégias de manejo de *B. phoenicis*. Neste caso a pulverização do biofertilizante deve ser preconizada no início das infestações e deve ser repetida inicialmente a curtos intervalos de tempo (dias), de modo a atingir indivíduos de diferentes gerações e de diferentes idades reprodutivas. Essa estratégia poderá reduzir rapidamente o crescimento da população e deve ser continuada até que a população atinja os níveis de equilíbrio. A partir desse ponto o biofertilizantes poderá ser aplicado em intervalo maior (meses), mantendo o equilíbrio trofobiótico entre a cultura e o ácaro fitófago.

De modo diferente da fase imatura, não houve efeito de tratamento sobre a longevidade dos adultos ($p < 0,39$). A longevidade média de *B. phoenicis* no grupo testemunha foi de 17,25 dias, seguida de 16,86 dias no tratamentos Biofert, 17,60 dias no Biomix e 15,61 dias no Bio+VL (Tabela 7). O comportamento das curvas de longevidade pode ser visualizado na Figura 6 e a comparação de curvas na Tabela 8. Nos quatro tratamentos haviam observações censuradas, isto é, ácaros que ainda estavam

vivos (4,28%) e não tinham sido mortos até a data final das observações, em cada arena, não se podendo, portanto, estimar a data da morte destes indivíduos. Por essa razão a longevidade foi calculada somente para os dados considerados não censurados (95,72% do total).

Tabela 5. Mortalidade final, observada e corrigida (Abbott, 1925), de imaturos de *Brevipalpus phoenicis*, com respectivos erros-padrão para diferentes tratamentos com biofertilizantes.

Tratamento	No. total	Adultos	Mortalidade	Mort. Corrigida		Valor-p *		
	larvas	emergidos	(%)	EP	(%)	Testemunha	Biofert	Biomix
Testemunha	97	86	11,37	3,40	-	-	-	-
Biofert	94	74	22,34	4,29	12,37	0,0405		
Biomix	102	76	25,49	4,31	15,93	0,0086	0,6050	
Bio+VL	82	47	42,68	5,46	35,32	< 0,0001	0,0034	0,0135

* Valores p associados aos teste χ^2 de Wald para contrastes entre pares de tratamentos.

Tabela 6. Número médio ovos.fêmea⁻¹ ± erros-padrão produzidos numa geração de *Brevipalpus phoenicis* criados em plantas de feijão de porco, sob efeito residual de biofertilizantes. Temperatura = 25±3° C; U.R. = 70±5%; Fotofase = 14 h.

Tratamento	Número			Valor p *		
	Ovos/fêmea	EP	Controle	Biofert	Biomix	
Testemunha	32,81	2,34	-	-	-	
Biofert	25,52	2,34	-	-	-	
Biomix	27,48	2,09	-	-	-	
Bio+VL	25,48	2,34	-	-	-	

* Probabilidade de erro tipo I associada teste “F” (p = 0,11)

Tabela 7. Longevidade média e percentis 25, 50 (mediana) e 75 da distribuição da longevidade, na fase adulta, do ácaro *Brevipalpus phoenicis* com respectivos intervalos de confiança.

Tratamento	Longevidade	Percentil*	Estimativa	Intervalo de Confiança 95%	
	Média±EP (dias)			Limite inferior	Limite superior
Testemunha	17,25 ± 0,68	75	23,00	19,00	25,00
		50	17,00	13,00	18,00
		25	12,00	11,00	13,00
Biofert	16,86 ± 0,78	75	23,00	21,00	25,00
		50	17,00	14,00	20,00
		25	12,00	10,00	13,00
Biomix	17,60 ± 0,81	75	24,00	21,00	26,00
		50	18,00	15,00	20,00
		25	12,00	9,00	14,00
Bio+VL	15,61 ± 1,04	75	22,00	18,00	27,00
		50	14,00	13,00	18,00
		25	9,00	8,00	13,00

* Percentil = Proporção em (%) de indivíduos sobreviventes na idade estimada (dias).

Tabela 8. Valores p associados ao teste Log-Rank utilizado na comparação das curvas de longevidade da fase adulta de *Brevipalpus phoenicis* ilustradas na Figura 6.

Tratamento	Numero de	Duração	Valor p		
	Fêmeas	Mediana (%)	Testemunha	Biofert	Biomix
Testemunha	86	16,00	-	-	-
Biofert	73	15,00	0,4911	-	-
Biomix	76	17,00	0,4957	0,1330	-
Bio+VL	47	13,00	0,3192	0,9995	0,1685

Figura 6 - Curvas de longevidade de adultos de *Brevipalpus phoenicis* criados plantas de feijão-de-porco submetidas aos tratamentos: 1- Testemunha, 2-Biofertilizante (Biofert), 3 – Biomix e 4 – Biofertilizante + *V. lecanii* (Bio+VL).

Tabela de vida e fertilidade - A partir dos parâmetros da tabela de vida e fertilidade (Tabela 9) pode-se visualizar de uma forma mais abrangente o impacto dos tratamentos sobre o ácaro *B. phoenicis*.

Os valores de R_0 revelam que em uma geração a população da testemunha cresceu 18,09 vezes enquanto que nos demais tratamentos esse crescimento foi de 12,91, 12,53 e 10,52, respectivamente para biofertilizante, Biomix e Bio+VL. O tratamento biofertilizante + *V. lecanii* destacou-se, sendo estatisticamente diferente dos demais tratamentos (teste t, $p < 0,01$).

Todos os valores da taxa infinita de aumento (R_m) foram positivos nos três tratamentos e na testemunha, indicando um aumento populacional na geração avaliada. Os valores de λ revelaram que numa geração a população do tratamento testemunha teve um aumento diário de 12,04% ao dia, enquanto que as taxas de crescimento populacional foram 9,51, 9,70 e 9,38% ao dia, respectivamente, para os tratamentos Biofertilizante, Biomix e Bio+VL. Nesse parâmetro, todos os tratamentos foram estatisticamente inferiores à testemunha (teste t, $p < 0,01$). Como exemplo, tomando-se as razões finitas de aumento (λ) dos quatro tratamento: 1,1204; 1,0951; 1,0970 e 1,0938, fêmeas adultas geradas por fêmea por dia, teríamos ao final de 60 dias um número de descendentes de 917, 232, 258, 216 fêmeas adultas geradas por cada fêmea, respectivamente para os tratamentos Testemunha, Biofert, Biomix e Bio+VL.

Os tratamentos Biofert e Biomix não diferiram entre si (teste t, $p < 0,3388$), respondendo que, no conjunto, a mistura de biofertilizantes provenientes de diferentes reatores de fermentação (Biomix) não causou perda ou ganho de qualidade de ação, mantendo a mesma tendência de interação com a planta e mesmo efeito deletério sobre o potencial de crescimento do ácaro (λ), quando comparado aos produzidos pelo biofertilizante (Biofert) isoladamente.

Tabela 9. Estimativas dos parâmetros associados às tabela de vida e fertilidade com respectivos erros-padrão e valores p correspondentes aos testes t para comparação entre pares de tratamentos utilizando variâncias estimadas pelo método ‘jackknife’.

Parâmetro	Tratamento	Ro ± EP (fêmea/fêmea)	Valor p*		
			Controle	Biofert	Biomix
Ro (fêmea/fêmea)	Testemunha	18,09±0,92	-	-	-
	Biofert	12,91±0,89	0,0006 ^b	-	-
	Biomix	12,53±0,57	0,0001 ^b	0,3609 ^b	-
	Bio+VL	10,52±0,65	< 0,0001 ^b	0,0252 ^b	0,0177 ^b
Rm	Testemunha	0,1137±0,0025			
	Biofert	0,0909±0,0038	0,0001 ^b		
	Biomix	0,0926±0,0020	< 0,0001 ^b	0,3493 ^a	
	Bio+VL	0,0897±0,0017	< 0,0001 ^b	0,3870 ^b	0,1450 ^b
λ	Testemunha	1,1204±0,0028			
	Biofert	1,0951±0,0041	0,0001 ^b		
	Biomix	1,0970±0,0022	< 0,0001 ^b	0,3488 ^a	
	Bio+VL	1,0938±0,0018	< 0,0001 ^b	0,3876 ^b	0,1451 ^b
T (dias)	Testemunha	25,47±0,40	-	-	-
	Biofert	28,16±0,43	<0,0002 ^a	-	-
	Biomix	27,30±0,44	0,0038 ^a	0,0936 ^a	-
	Bio+VL	26,27±0,42	0,0980 ^a	0,0038 ^a	0,0557 ^a
DT (dias)	Testemunha	6,09±0,13	-	-	-
	Biofert	7,61±0,32	0,0008 ^a	-	-
	Biomix	7,48±0,16	< 0,0001 ^a	0,6386 ^a	-
	Bio+VL	7,72±0,14	< 0,0001 ^a	0,3756 ^a	0,1420 ^a

a) Teste unilateral à direita; b) Teste unilateral à esquerda.

Os valores de intervalo médio de uma geração (T) nos três tratamentos foram significativamente (teste t, $p < 0,01$) maiores que o da testemunha. O mesmo ocorreu para o tempo necessário para duplicação da população (DT). O tratamento biofertilizante provocou a maior duração de uma geração (ovo a ovo), fator importante na redução populacional do ácaro, visto que reduz o número de geração da praga ao longo do tempo, diminuindo seu crescimento populacional.

Esses resultados indicam portanto que as plantas tratadas com o biofertilizante ou com o biofertilizante em mistura de diferentes tanques (Biomix) e em associação com o fungo *V. lecanii* afetaram, afetaram de forma crônica a dinâmica populacional da praga, reduzindo seu crescimento. Levando-se em consideração a taxa finita de crescimento (λ), pode-se afirmar que, de modo geral, a adição do fungo ao biofertilizante (Bio+VL) resultou numa interação positiva no controle da população. Esse fato certamente trará implicações plausíveis, podendo contribuir com maior rapidez para o controle de *B. phoenicis*.

Contudo, é necessário que seja avaliado o impacto sobre gerações sucessivas dessa praga. Por isso, estudos mais aprofundados devem ser realizados para verificar os efeitos desses biocompostos sobre *B. phoenicis* em diferentes espécies vegetais. Abre-se para este fim a necessidade de continuidade dessa pesquisa e a realização de estudos sobre outras espécies de artrópodos.

3.3.2 Efeito sistêmico de biofertilizante

A mortalidade de *B. phoenicis* durante a fase imatura (ovo-adulto) nas plantas tratadas com o biofertilizante foi de 15,27 % (Abbott, 1925) maior que a da testemunha (Teste de Wald, $p = 0,07$) (Tabela 10).

Os números médios de ovos por fêmea, produzidos nas plantas pulverizadas e não pulverizadas com o biofertilizante, ao final da oviposição, foram de 35,58 ($\pm 2,82$) e 35,13 ($\pm 2,97$), respectivamente. Estes valores não diferiram entre si (Teste F, $p = 0,9136$), indicando claramente que a ação sistêmica do biofertilizante não afetou a fecundidade do ácaro.

Tabela 10. Mortalidade observada e corrigida (Abbott, 1925) de indivíduos imaturos de *Brevipalpus phoenicis* sob efeito sistêmico do biofertilizante líquido em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*).

Tratamento	Mortalidade (%)	Erro-Padrão (%)	Mortalidade corrigida (%)	Valor p*
Testemunha	28	4,05		
Biofertilizante	39	4,58	15,27	0,0707

* Valores p associados aos teste χ^2 de Wald para contrastes entre o par de tratamentos.

O tratamento com biofertilizante afetou o padrão de sobrevivência do ácaro (Teste χ^2 , $p = 0,0165$) (Tabela 11). No grupo testemunha a longevidade média foi de 17,96 dias enquanto que nas plantas que foram pulverizadas semanalmente com o biofertilizante, essa longevidade foi reduzida para 14,83 dias, isto é, uma diferença de 3,13 dias (redução de 17,42%). A longevidade mediana foi de 21,30 e 17,77 dias, respectivamente para os dois tratamentos, indicando que 50% dos adultos do tratamento biofertilizante morreram mais rapidamente. Comparando-se as curvas de longevidade observa-se que os ácaros do tratamento biofertilizante também encerraram mais cedo a fase reprodutiva (Teste Log Rank $p = 0,0001$) (Figura 7), contrariando o que ocorreu com o efeito residual, onde esse parâmetro não foi afetado. Esse resultado concorre, teoricamente, para o aumento do número de gerações da população, ao longo do tempo, mas, na prática, implica na redução do tempo de oviposição. A longevidade da testemunha foi semelhante à obtida por Trindade & Chiavegato (1994) em discos foliares da planta hospedeira *Azaleia* sp.

Tabela 11. Média e percentis 25, 50 (mediana) e 75 da distribuição da longevidade da fase adulta de *Brevipalpus phoenicis* sob o efeito sistêmico de um biofertilizante líquido.

Tratamento	Média (dias)	Percentil** (%)	Estimativa (dias)
Testemunha	17,96	75	26,83
		50 (mediana)	21,30
		25	15,78
Biofert	14,83 *	75	23,29
		50 (mediana)	17,77
		25	12,25

* Diferiu da testemunha pelo teste F ($p=0,0165$).

** Percentil = Proporção em (%) de indivíduos sobreviventes na idade estimada (dias).

Figura 7 - Padrões de sobrevivência de *Brevipalpus phoenicis* criados em plantas não-pulverizadas (Trat1) e pulverizadas (Trat2) com biofertilizante líquido.

Tabela de vida e fertilidade - Os parâmetros da tabela de vida e fertilidade do Bioensaio II estão dispostos na Tabela 12. Analisando-se os valores da taxa líquida de reprodução (R_0) verifica-se que, para o intervalo de uma geração, a população do ácaro aumentou em 19 vezes nas plantas não-pulverizadas (testemunha) e em 13 vezes nas pulverizadas com o biofertilizante (tratamento). Essa redução significativa foi decorrente dos efeitos deletérios produzidos pela ação sistêmica do biofertilizante sobre a sobrevivência e a longevidade do ácaro.

O intervalo de tempo de uma geração (T) também foi significativamente menor para os ácaros criados nas plantas pulverizadas. O tempo estimado para duplicação da população (TD) foi de 8,28 dias na testemunha e 9,00 dias no biofertilizante. Os valores de R_m foram positivos, indicando que houve um crescimento da população. Os valores da taxa finita de crescimento (λ), oriundos da R_m , revelam que houve um aumento populacional diário de 1,0872 e 1,0796 (fêmeas adicionadas por fêmeas) de *B. phoenicis*, nos grupos testemunha e biofertilizante, respectivamente. Esses valores elevados ao intervalo de uma geração (T) resultam na taxa líquida de reprodução (R_0), ou seja, o número de fêmeas adultas geradas por cada fêmea ao final do ciclo reprodutivo.

Os resultados, como um todo, evidenciam uma resposta sistêmica da planta, causando um efeito deletério, crônico, sobre o ácaro *B. phoenicis*. Entretanto entende-se que, para uma comprovação mais eficaz dessa constatação, é necessário um estudo bioquímico em que se avalie o aparecimento e/ou a variação dos compostos envolvidos na resposta de defesa da planta.

Considerando-se que se os efeitos da ação residual do biofertilizante sobre a praga foram bem evidentes, principalmente sobre a sobrevivência e a oviposição, é possível que o biofertilizante agiu como fagodeterrente e/ou como deterrente de oviposição, quando as fêmeas adultas se alimentaram das plantas ainda contendo os resíduos ativos do biofertilizante. Acredita-se porém, que esse impacto pode também estar relacionado, de forma indireta, à uma resposta de defesa da planta.

Tabela 12. Estimativas dos parâmetros associados às tabela de vida e fertilidade de *Brevipalpus phoenicis* com respectivos erros-padrão e valores p correspondentes aos testes t para comparação entre pares de tratamentos utilizando variâncias estimadas pelo método ‘jackknife’.

Parâmetro	Tratamento	Ro $\pm$ EP *	Valor p**
		(fêmea/fêmea)	
Ro (fêmea/fêmea)	Testemunha	19,42 $\pm$ 0,87 a	< 0,0001 a
	Biofert	13,00 $\pm$ 1,35 b	
T (dias)	Testemunha	35,46 $\pm$ 0,10 a	<0,0001 a
	Biofert	33,46 $\pm$ 0,23 b	
TD (dias)	Testemunha	8,28 $\pm$ 0,13 a	0,0520 b
	Biofert	9,00 $\pm$ 0,38 b	
R _m	Testemunha	0,0837 $\pm$ 0,001 a	0,0368 a
	Biofert	0,0768 $\pm$ 0,003 b	
λ	Testemunha	1,0872 $\pm$ 0,001 a	0,0363 a
	Biofert	1,0796 $\pm$ 0,003 b	

* Médias seguidas de letras (a e b), em cada parâmetro, diferem entre si pelo teste “t”

** a) valor p comparado pelo teste-t, unilateral à direita b) valor p comparado pelo teste t, unilateral à esquerda.

Todo estresse sofrido pela planta provoca alterações em seus padrões fisiológicos e adaptativos normais e induzem reações celulares. Os mecanismos de interação planta-herbívoros são poucos conhecidos. Porém, considerando que a interação biofertilizante-planta se dá de modo semelhante a planta-patógeno, isto é, são microorganismos e metabólitos agindo sobre a planta, como uma agressão. Segundo Cordeiro & Sá (1999), as principais fases envolvidas no processo de resposta de defesa da planta são: reconhecimento genético entre a planta e o microorganismo; processo de transdução de sinal (identificação da molécula por sítios ativos); ativação de genes e ativação do mecanismo de resistência (emissão de anti-metabólitos como defesa). As alterações que constituem a resposta de defesa das plantas, por causa do estresse causado por agentes, patogênicos ou não, têm sido intensamente estudadas com o objetivo de aprimorar a resistência das plantas e promover o melhoramento vegetal (Dempsey et al., 1998; Gatehouse & Gatehouse, 1998, 2002).

Por outro lado Grewal (1993) sugere que a resistência e a susceptibilidade de diferentes plantas ao ácaro *B. phoenicis* estaria associada a fatores bioquímicos. A presença/ausência de alguns aminoácidos livres foram correlacionadas com a resistência e susceptibilidade de diferentes espécies vegetais ao ataque do ácaro. Segundo Gravena (1998b) em plantas cítricas a população do ácaro aumenta com a presença de frutas maduras na árvore. Isso pode estar relacionado ao alto teor de aminoácidos existentes na planta, nesta fase fisiológica (proteólise). Também em citros, Rodrigues et al. (1998) descrevem que um maior número de ácaros foi encontrado em folhas lesionadas por larva minadora (*Phyllocnistis citrella* Stainton.). Embora existam abrigo para ovos, a proteólise nessas folhas deve ser elevada devido a destruição do tecido parenquimatoso, o que repercute com maior fragilidade no sistema e defesa da planta.

Outros fatores bioquímicos podem influenciar o mecanismo de defesa da planta. Diferentes nutrientes em plantas de chá (*Camelia sinensis* L.) (sulfato de zinco, óxido e zinco, uréia e sulfato e amônia) afetaram a oviposição de *B. phoenicis* (Sudo, 1993). Ao longo de vários anos, constatou-se que as perdas de rendimento da cultura de chá provocadas pelo ácaro *B. phoenicis* estariam associadas a excessiva nutrição das plantas com nitrogênio inorgânico. Altas aplicações de nitrogênio inorgânico no solo

aumentaram a população de *B. phoenicis* e também os sintomas de necrose do limbo foliar provocadas pelo ácaro em plantas de chá no Quênia. Entretanto, doses variando entre 100 e 200 Kg de N ha⁻¹ induziram tolerância às plantas e reduziram as perdas provocadas pelo ácaro, sem afetar o rendimento da cultura (Sudoj et al., 1996; Sudoj et al., 2001). Trabalho dessa natureza também foi conduzido por Wermelinger et al. (1985) com o ácaro *T. urticae*. Os autores constataram que teores crescentes de N reduziram os componentes fenólicos da planta e aumentaram a fecundidade, razão de oviposição e peso fresco do ácaro. Além disso, houve aumento nos teores de aminoácidos, açúcares e potássio na planta. Também constatou-se correlação negativa entre o teor de componentes fenólicos e os parâmetros de crescimento Ro, Rm e fecundidade e positiva com a duração da geração (T).

Devido a amplitude de componentes bióticos e abióticos em sua composição, os biofertilizantes, além do fator nutricional, podem ser considerados fortes candidatos a elicitores de mecanismos de resistência em plantas. A probabilidade de ativação simultânea de diferentes sítios ativos é elevada, considerando a complexidade do biofertilizante e da planta. Uma ação desse tipo resultaria na expressão de vários genes, possibilitando a indução ou amplificação de mecanismos de resistência sistêmica, independentemente da presença ou não do herbívoro, seja ácaro ou inseto fitófago. Essa característica pode ser útil para solução de problemas relacionados ao controle da expressão de genes de resistência, quando existe dificuldade de ativação da resistência adquirida, em condições naturais (Azevedo et al., 2000; Silva Filho et al., 2000).

Outro aspecto importante desse estudo seria questionar se a planta hospedeira utilizada teve alguma influência negativa sobre a bioecologia do ácaro. Comparando-se os valores de Ro, T, DT e λ da testemunha com os obtidos por outros autores em diferentes hospedeiros, não se constata grandes variações. Os valores de parâmetros bioecológicos encontrados por Kennedy & Hance (1995) e Kennedy et al. (1996), quando estudaram na Índia a resistência de cultivares de chá (*C. sinensis*) ao ácaro *B. phoenicis*, não estão longe dos alcançados neste estudo. Também são aproximados aos obtidos por Haramoto (1969) em frutos de mamão e aos de Trindade & Chiavegato (1994) em discos foliares de *Azaleia* sp. Porém, de modo diferente à estes autores, que

estudaram a bioecologia dos ácaros de modo individualizado, ressalta-se que neste estudo estão implícitas as reações homotípicas, resultantes das interações entre os indivíduos de uma mesma espécie. Na medida em que os indivíduos foram estudados em grupo, os efeitos de grupo (modificações e estímulos recebidos pelo estado de agrupamento), de massa (superpopulação, elevação da temperatura, redução de oxigênio, aumento da respiração etc.), de densidade (crescimento da população) e a influência intra-específica (luta por território, luta hierárquica) descritos por Silveira Neto et al. (1978), foram simultaneamente e indiretamente avaliados pelo modelo experimental desenvolvido. Estes fatores estão interrelacionados e são determinantes dos padrões de comportamento, crescimento, reprodução e mudanças fisiológicas dos indivíduos de uma mesma espécie.

3.1 CONCLUSÕES

Com base nas condições em que os ensaios foram conduzidos, os resultados dessa pesquisa permitem concluir que:

- 1) Os bioensaios de efeito residual e sistêmico e a utilização de tabela de vida são adequados para avaliação de parâmetros bioecológicos de *B. phoenicis*.
- 2) Há efeito residual do biofertilizante na diminuição da sobrevivência e reprodução de *B. phoenicis*,
- 3) O biofertilizante reduz indiretamente o potencial de crescimento populacional e o tempo de desenvolvimento de descendentes de *B. phoenicis*;
- 4) A mistura de *V. lecanii* com biofertilizante produz efeito aditivo na redução da sobrevivência de *B. phoenicis*.
- 5) A mistura de biofertilizante de diferentes bioreatores não alterou seu efeito deletério sobre o crescimento populacional de *B. phoenicis*.
- 6) O biofertilizante interage de modo sistêmico com a planta afetando o potencial de crescimento populacional do ácaro *B. phoenicis*.

4 INTERAÇÕES ENTES PLANTA HOSPEDEIRA E AÇÃO DELETÉRIA DO BIOFERTILIZANTE SOBRE O ÁCARO *Brevipalpus phoenicis*: EFEITO DE CONTATO SOBRE PARÂMETROS BIOLÓGICOS

RESUMO

Para quantificar o efeito de concentrações crescentes de um biofertilizante na sobrevivência e fecundidade do ácaro *Brevipalpus phoenicis* foram realizados dois bioensaios, num delineamento inteiramente casualizado. No primeiro bioensaio, utilizaram-se cinco concentrações do biofertilizante: 0% (Controle); 5%; 15%; 30% e 50% em água destilada. Sobre folhas jovens da planta *Ligustrum lucidum* (Oleaceae) foram liberadas 15 fêmeas adultas do ácaro. Em cada tratamento pulverizaram-se seis folhas com 2 ml da suspensão, que em seguida foram mantidas $26 \pm 0,5$ °C, U. R.= 70% e fotofase =14h. O segundo bioensaio foi realizado sobre plantas de *Canavalia ensiformis* (Fabaceae) com 20 dias de idade, sendo dez plantas por tratamento. Foram transferidos dez ácaros adultos para arenas em cada folha cotiledonar da planta. Cinco concentrações foram testadas: 0%, 5%; 10%; 20% e 30%. Cada planta foi pulverizada com 10 ml da suspensão biofertilizante. Depois de secas ao ar livre, as plantas foram mantidas em laboratório a 26 ± 3 ° C; $70 \pm 5\%$ de U. R. e 14:00 de fotofase. Por meio de imagens de microscopia eletrônica foram caracterizadas as manifestações patológicas sobre os cadáveres de *B. phoenicis*. Diariamente foram quantificados a mortalidade e o número de ovos/fêmea ovipositados em cada arena durante 72 horas no primeiro ensaio e 120 h no segundo. No primeiro ensaio, modelos de regressão logística foram ajustados para

descrever o efeito das concentrações na mortalidade a cada data de avaliação. Um modelo exponencial negativo foi usado para caracterizar as diferenças de oviposição em função das concentrações do biofertilizante. No segundo bioensaio, foram empregados os mesmos métodos estatísticos, com exceção de mortalidade às 72, 96 e 120 h onde foram ajustados modelos não lineares. A sobrevivência e oviposição do ácaro foram significativamente reduzidas com o aumento de concentração de biofertilizante em ambas as experiências. A CL_{25} calculada para os períodos 24, 48 e 72 h foi respectivamente 50,04 %s; 15,70 e 4,95% em *L. lucidum* e 8,15; 7,78; 0,63; 0,68 e 0,63 em *C. ensiformis*. A CL_{50} calculada em *C. ensiformis* foi de respectivamente 19,64; 19,03; 2,38; 2,60 e 2,67 para os intervalos de 24, 48, 72, 96 e 120 h depois da aplicação de biofertilizante. Nenhuma estimativa de CL_{50} foi obtida em *L. lucidum*, devido as baixas taxas de mortalidade. O biofertilizante apresentou ação deletéria na fertilidade e sobrevivência de *B. phoenicis* em ambas as plantas hospedeiras, sendo mais severo em *C. ensiformis*. Os ácaros mortos pela ação do biofertilizante mostraram evidências de colonização microbiana. Uma combinação coloidal do biofertilizante causou imobilização e obstrução do trato digestivo do ácaro. O melhor entendimento da interação trofobiótica entre planta hospedeira e os efeitos deletérios do biofertilizante contribuem para melhorar o manejo de populações de *B. phoenicis* em campo.

SUMMARY

INTERACTIONS BETWEEN HOST PLANTS AND DELETERIOUS ACTION OF BIOFERTILIZERS ON *Brevipalpus phoenicis*: CONTACT EFFECT ON BIOLOGICAL PARAMETERS.

This study was conducted aiming to evaluate interactions between deleterious action of biofertilizers on *B. phoenicis* and host plants. Two bioassays were accomplished to quantify the effect of increasing biofertilizer concentrations on mite survival and fecundity, using completely randomized designs. Pathological

manifestations in the dead mites were also characterized using electronic microscopy images. In the first bioassay the following concentrations were tested: 0% (control), 5%, 15%, 30% and 50%. The experimental unit was a leaf of *Ligustrum lucidum* (Oleaceae) plant (six leaves per treatment). Twelve mites were liberated in arenas on each leaf. They were sprayed with 2 mL of the biofertilizer suspension and maintained in laboratory ($26 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 70% R.H. and 14:10 L:D photoperiod). The second bioassay was run on 20 days old *Canavalia ensiformis* plants, using ten plants per treatment. Ten mites were transferred for arenas on each host plant cotyledonal leaf. Five concentrations were also tested: 0%, 5%; 10%; 20% and 30%. Each plant was sprayed with 10 ml of the biofertilizer suspension. After being dried outdoors, the plants were maintained at laboratory ($26 \pm 3^\circ\text{C}$; $70 \pm 5\%$ R.H. 14:10 L:D photoperiod). The adult female mortality and the number of eggs laid in each arena were quantified daily during 72 h in the first assay and 120 h in the second one. In the first assay, logistic regression models were fitted to describe the effect of concentrations on mortality at each evaluation date. A negative exponential model was used to characterize changes in oviposition as function of biofertilizer concentrations. In the second bioassay, the same statistical methods were employed, except for mortality at 72, 96 and 120 h, where non-linear models were adjusted. The mite survivorship and oviposition were significantly reduced with the increase of biofertilizer concentration in both experiments. The CL_{25} estimates for the periods 24, 48 and 72 h were respectively 50,04; 15,70 and 4,95% in *L. lucidum* and 8,15; 7,78; 0,63; 0,68 and 0,63 in *C. ensiformis*. The CL_{50} estimates in *C. ensiformis* were respectively 19,64; 19,03; 2,38; 2,60 and 2,67 for the intervals of 24, 48, 72, 96 and 120 h after the biofertilizer application. No CL_{50} estimates were obtained in *L. lucidum*, due the low mortality rates. The biofertilizer had deleterious action on fertility and survival of *B. phoenicis* on both host plants, being more severe on *C. ensiformis*. The mites dead by the biofertilizer action showed evidences of microbial colonization. A colloidal compound of the biofertilizer induced mite immobilization and obstruction in its digestive tract. The better understanding of interaction between host plant and biofertilizer deleterious effects contributes to enhance the mite management based on trophobiotic relationships.

4.1 INTRODUÇÃO

Na agricultura orgânica, atividade regulamentada pela Instrução Normativa 07/99 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAA), é crescente a utilização de compostos denominados de ação fertiprotetora (D'Andréa, 2000; Polito, 2001). Os mais utilizados são os biofertilizantes líquidos, de composição molecular dinâmica, formada a partir de componentes bioativos em processo de fermentação. Devido às características de sua composição, os biofertilizantes possuem atividade nutricional sobre a planta e, por trofobiose, funcionam também como reguladores e estimulantes de seus processos vitais (Pinheiro & Barreto, 1996; Chaboussou, 1999). Alguns autores têm demonstrado que além desses efeitos, os biofertilizantes também possuem ações secundárias, tais como fungistática, antibiótica e inseticida (Santos, 1991; Santos & Akiba, 1996; Bettiol et al., 1998; Alves et al., 2001).

Observações efetuadas em campo apontam a existência de efeito deletério do biofertilizante sobre populações de pragas em cultivos hortícolas (Santos, 1991; Santos, 1992; Cunha et al., 2000; Nunes & Leal, 2001). O uso de calda biofertilizante tem sido empregada por citricultores (D'Andréa, 1999; Alves et al., 2001) e também por cafeicultores (INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO, 1999) com o propósito de controlar populações de pragas nesses cultivos. Porém, não existem dados científicos sobre a ação direta desses produtos e de sua interação com as plantas sobre o controle de ácaros fitófagos. Santos & Sampaio (1993) mencionaram a ação do biofertilizante no controle do ácaro *Brevipalpus phoenicis* em pomares de citros. Embora os mecanismos de ação envolvidos ainda não sejam conhecidos, experimentos, realizados no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos da ESALQ/USP, Piracicaba – SP, têm evidenciado redução na oviposição dos ácaros *B. phoenicis* e *Tetranychus urticae*, quando submetidos ao contato com biofertilizantes líquidos (Medeiros et al., 2000ab; Medeiros et al., 2001). Todavia, esses fatores geralmente não são considerados nos estudos de controle biológico ou químico e desse modo seus efeitos, quase sempre, passam despercebidos pelo produtor. É necessário, contudo, que para aprofundamento

dessas pesquisas se determinem os efeitos da interação biofertilizante e planta, bem como a caracterização de seu modo de ação sobre *B. phoenicis*.

Esta pesquisa teve como objetivo caracterizar a ação de contato de um biofertilizante sobre a oviposição e sobrevivência de *B. phoenicis*, em dois substratos alimentares *Ligustrum lucidum* (Oleaceae) e *Canavalia ensiformes* (Fabaceae).

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos três bioensaios no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, entre janeiro e junho de 2001.

Criação dos ácaros – Exemplares de *B. phoenicis* foram coletados em local livre de aplicação de pesticidas e criados, confinados em arenas de Tanglefoot[®], sobre frutos parafinados de laranja (*Citrus sinensis* L.) Osbeck (Omoto et al., 2000). A população foi mantida numa sala climatizada à temperatura de 25±3o C, umidade relativa de 70±10 % e fotofase de 14 horas (Detalhes no Capítulo 3).

Biofertilizante – Foram utilizadas amostras com 30 dias de fermentação, pH 6,8 de um biofertilizante produzido à base do composto orgânico Microgeo MCO[®], conforme metodologia descrita no Capítulo 3. O conteúdo foi filtrado antes da sua diluição para pulverização.

4.2.1 Ação de contato em folhas de ligustre (*Ligustrum lucidum*).

O bioensaio foi realizado sobre folhas jovens retiradas da planta *L. lucidum* (Oleaceae) (Rodrigues & Nogueira, 1996), em placas de Petri de vidro, tamanho 150 mm x 15 mm. As folhas, depois de lavadas com água, foram colocadas, em número de duas por placa, com a superfície abaxial voltada para cima, sobre uma espuma de poliuretano de 0,8 cm de espessura, encharcada com água destilada. Sobre a borda da folha circundou-se uma fina camada de algodão umedecido com água para mantê-la

túrgida. Confeccionou-se sobre cada folha uma arena de Tanglefoot[®], com 3 cm de diâmetro, para o confinamento dos ácaros. (Campos, 2001). Em cada arena foram liberadas 12 fêmeas adultas do ácaro provenientes da colônia estoque (criação).

O método de bioensaio utilizado foi o de aplicação tópica e residual do tratamento sobre os alvos de *B. phoenicis*, distribuídos em 6 arenas por tratamento. Utilizaram-se quatro concentrações do biofertilizante, diluídas em água destilada: 5%; 15%; 30% e 50%. Para concentração zero somente água (testemunha). As suspensões foram pulverizadas, numa razão de 2 mL por placa, utilizando-se um mini-pulverizador, com pressão de 5 libras. pol⁻² e com bico em leque. As placas, após secas ao ar livre, foram mantidas numa câmara climatizada (B.O.D.), à temperatura de 26±0,5 °C, 70% de umidade relativa e 14 horas de fotofase.

Realizaram-se três avaliações, nos intervalos de 24, 48 e 72 horas após a pulverização, anotando-se a sobrevivência dos adultos e o número de ovos por arena.

Foram ajustadas curvas de concentração-resposta para cada data de avaliação, de acordo com o seguinte modelo de regressão logística:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 \cdot (\log(x_i + 1)) + \varepsilon_{ij}$$

Onde Y_{ij} é o logito (logaritmo da razão entre a proporção de mortos e a proporção de vivos) correspondente à concentração i na arena j ; β_0 é o intercepto do modelo, β_1 o coeficiente angular, x_i a concentração i e ε_{ij} o erro aleatório associado a cada observação (Soares & Colosimo, 1995). Para obtenção das estimativas dos parâmetros dos modelos, foi utilizado o módulo PROC GENMOD do SAS System (SAS Institute, 1998). A significância dos parâmetros foi avaliada por testes da razão de verossimilhança (Allison, 1997). Em seguida, foi calculada a concentração letal CL_{25} , para cada intervalo de avaliação.

Para avaliar o efeito dos tratamentos sobre a oviposição do ácaro, foi ajustado um modelo exponencial negativo, a seguir descrito em sua forma linearizada:

$$\text{Ln}(Y_{ij}) = \beta_0 + \beta_1 \cdot x_i + \varepsilon_{ij}$$

Onde Y_{ij} é o logaritmo do número médio de ovos por fêmea por dia durante o período de avaliação, correspondente à concentração i na arena j ; β_0 é o intercepto do modelo,

β_1 o coeficiente angular, x_i a concentração i e ε_{ij} o erro aleatório associado a cada observação. Os parâmetros foram estimados pelo método de quadrados mínimos, utilizando o módulo PROC REG do SAS System (SAS institute, 1998). A significância dos parâmetros foi avaliada por testes “t” unilaterais (Montgomery, 1991).

4.2.2 Ação de contato em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*).

O ensaio foi conduzido sobre plantas de feijão-de-porco (*C. ensiformis*) (Fabaceae) com 20 dias de idade, cultivadas em vasos de 300mL contendo substrato agrícola Plantemax[®], num total de 10 plantas por tratamento. Os ácaros, em número de 10, foram transferidos para arenas circulares de Tanglefoot[®], com 3,0 cm de diâmetro, feitas sobre a superfície adaxial das folhas cotiledonares de cada planta.

O método de bioensaio utilizado foi, também, pelo contato tópico e residual do biofertilizante com as fêmeas adultas de *B. phoenicis*. Utilizaram-se como tratamentos quatro concentrações do biofertilizante, diluídas em água destilada: 5%; 10%; 20% e 30% e somente água para a concentração zero (testemunha). Cada planta foi pulverizada com 10ml do tratamento e, após serem secas ao ar livre, foram mantidas numa sala climatizada à temperatura de 26 ± 3 °C, 70 ± 5 % de umidade relativa e 14 horas de fotofase.

Nos intervalos de 24, 48, 72, 96 e 120 horas, após a pulverização, foram quantificados, diretamente sobre a planta, o número de sobreviventes e o número de ovos colocados por arena. Ao final de cada observação os ovos eram removidos das arenas.

Para os tempos de avaliação de 24 e 48 h, os métodos para ajuste das curvas de concentração-resposta e os modelos propostos foram os mesmos adotados para o bioensaio anterior. Para os demais tempos de avaliação (72, 96 e 120 h) foram ajustados modelos não lineares, que descrevem a relação entre mortalidade e concentração, conforme descrito abaixo:

$$p_{ij} = \beta_0 + \beta_1 \cdot (1 - \exp(-\beta_2 \cdot x_i)) + \varepsilon_{ij}$$

Onde p_{ij} é a proporção de mortos, correspondente à concentração i na arena j ; β_0 é o intercepto do modelo, que corresponde à proporção de morte na testemunha, β_1 a diferença entre a mortalidade na testemunha e a mortalidade máxima, β_2 é um parâmetro relacionado com o acréscimo da mortalidade em função da concentração x_i , e ε_{ij} o erro aleatório associado a cada observação. Os parâmetros foram estimados pelo método de quadrados mínimos não lineares, utilizando o módulo PROC NLIN do SAS System (SAS Institute, 1998). A significância dos parâmetros foi avaliada por meio de intervalos de confiança assintóticos de 95 % (Soares & Colosimo, 1995).

A análise do efeito das concentrações sobre a oviposição foi feita utilizando-se os mesmos métodos descritos no bioensaio anterior.

4.2.3 Ação patogênica do biofertilizante sobre *B. phoenicis*.

Para investigação e entendimento de quais fatores do biofertilizante poderiam estar envolvidos com a causa morte de *B. phoenicis*, foram realizadas observações, durante o bioensaio anterior, das características de danos e/ou manifestações patológicas sobre os cadáveres por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para isso, amostras de cadáveres de *B. phoenicis* foram coletadas 24 horas após a morte em folhas de *C. ensiformes*, com e sem ação do biofertilizante, e foram submetidas às observações junto ao Núcleo de Apoio à Pesquisa / Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária, NAP/MEPA. Os exemplares mortos foram dispostos em suportes metálicos (“stubs”), aderidos por uma fita de policarbonato dupla-face e, posteriormente, fixados por um período de 48 horas em vapor de Tetróxido de Ósmio (OsO_4) a 2%. Para isso, os “stubs” receberam os vapores de ósmio em uma câmara, gerada a partir de um recipiente plástico fechado (tamanho 10cm x 20cm x 4cm), coberta externa e internamente com um filme de papel alumínio. Posteriormente, as amostras foram mantidas em dessecador de vidro com sílica por mais 48h. Antes da observação em MEV, o material foi metalizado com ouro, durante 180 segundos, no evaporador Balzers, MED-010. As imagens foram geradas em MEV de alto vácuo (LEO 435 VP), sob voltagem de 20 Kw.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Ação de contato em folhas de ligustre (*Ligustrum lucidum*).

Ocorreu efeito significativo das concentrações do biofertilizante sobre a sobrevivência dos adultos do ácaro *B. phoenicis* ($p < 0,01$) em todos os tempos de avaliação. O ajuste dos modelos propostos foi adequado, com coeficientes de determinação (R^2) entre os valores observados e preditos de 97; 98; e 99 %; para os tempos de avaliação 24, 48 e 72 h, respectivamente (Tabela 1).

Em todos os tempos de avaliação as curvas apresentaram um padrão de crescimento logístico, com taxas de variação decrescentes. Isto indica que a mortalidade do ácaro aumentou com o aumento da concentração, contudo, esse aumento foi rápido, nas concentrações baixas, e lento nas concentrações mais altas (Figura 1).

Os parâmetros dos modelos ajustados (β_0 e β_1) com seus respectivos erros padrão são apresentados na Tabela 1. β_0 é a mortalidade ocorrida com a concentração zero (testemunha) e β_1 é o fator que determina a velocidade de aumento da mortalidade em função do aumento da concentração. Dessa forma, quanto maior o valor de β_0 , maior é a proporção de mortos na concentração zero e quanto maior for o β_1 , mais rápido é o aumento da mortalidade com o aumento da concentração do biofertilizante. Pode-se verificar que os valores de β_0 aumentam com o tempo (-3,6331; -1,9737; -1,6483), indicando que $e^{\beta_0} = 2,57$; 12,20 e 16,13% do biofertilizante, enquanto que os valores de β_1 diminuem (1,4562, 0,7157, 0,7096) (Tabela 1), ou seja, taxas de variação decrescentes. Também houve um aumento de mortalidade com o passar do tempo.

Em relação a β_1 , conclui-se que houve um efeito de concentrações do biofertilizante, embora, tenham sido menos intensos com o passar do tempo, sobre a mortalidade de *B. phoenicis*.

As concentrações letais (CL_{25}) estimadas foram de 50,04 %, 15,70 % e 4,95%, respectivamente, para os períodos de 24, 48 e 72 horas após a pulverização (Tabela 2). Com base nestes valores pode-se inferir que para matar 25% da população em 72 horas

foi necessária uma quantidade de biofertilizante 10 vezes menor que a utilizada para causar a mesma mortalidade em 24 horas (CL_{25} 72h / CL_{25} 24 h).

Os dados revelam que o biofertilizante apresentou baixa toxicidade aguda, uma vez que não ocasionou morte rápida. Contudo, um efeito crônico foi evidenciado sobre a população. Isso sugere menor impacto sobre organismos não-alvo. Acredita-se que com a redução lenta e gradual da população, com concentrações do biofertilizer, consideradas sub-letais para esse tipo de composto, ocorra pouca interferência na relação trófica existente entre o ácaro fitófago e seus inimigos naturais.

Como não houve mortalidade superior a 50% neste bioensaio, os modelos ajustados não permitiram o cálculo da CL_{50} .

As curvas de concentração-oviposição de *B. phoenicis* em folhas de ligustre estão expressas na Figura 2. O número de ovos produzidos pelas fêmeas, após 72 horas de oviposição, decresceu exponencialmente com o aumento da concentração do biofertilizante. Após as estimativas dos parâmetros de regressão pode-se verificar nitidamente que o número diário de ovos por fêmea reduziu com o aumento da concentração do biofertilizante, ($\beta_1 = -0,0162$; $p = 0,0437$), evidenciando-se, assim, a existência de uma interferência do biofertilizante sobre a taxa de reprodução dessa espécie (Tabelas 3 e 4).

Figura 1 - Efeito de concentrações do biofertilizante líquido sobre a sobrevivência do ácaro *Brevipalpus phoenicis* em folhas de *Ligustrum lucidum*, 24, 48 e 72 h após a pulverização.

Tabela 1. Estimativas dos parâmetros β_0 e β_1 e coeficientes de determinação (R^2) das curvas que descrevem o efeito de concentrações do biofertilizante na mortalidade de *Brevipalpus phoenicis* em folhas de *Ligustrum lucidum*, respectivos erros-padrão e probabilidades (valor p) associadas ao teste da razão de verossimilhança (x^2).

Períodos (h)	Parâmetros	GL	estimado	Erro-Padrão	x^2	Valor p
24	β_0	1	-3,6331	0,5344	46,21	0,0001
	β_1	1	1,4562	0,3822	14,51	0,0001
	R^2	-	0,9752	-	-	-
48	β_0	1	-1,9737	0,3025	42,57	0,0001
	β_1	1	0,7157	0,2363	9,17	0,0025
	R^2	-	0,9868	-	-	-
72	β_0	1	-1,6483	0,2721	36,69	0,0001
	β_1	1	0,7096	0,2156	10,83	0,0010
	R^2	-	0,9929	-	-	-

Tabela 2. Concentrações letais (CL_{25}) do biofertilizante líquido sobre *Brevipalpus phoenicis* em folhas de *Ligustrum lucidum*.

Período (h)	n *	CL_{25} (%)
24	352	50,04
48	352	15,70
72	352	4,95

* Número de ácaros

Figura 2 – Oviposição de fêmeas de *Brevipalpus phoenicis* submetidos a diferentes concentrações de um biofertilizante líquido em folhas de *Ligustrum lucidum*.

Tabela 3. Oviposição média diária de *Brevipalpus phoenicis* após pulverizados à diferentes concentrações de biofertilizante em folhas de *Ligustrum lucidum*

Concentração	n *	N. ovos. fêmea. Dia ⁻¹
0	69	0,48
5	72	0,44
15	70	0,37
30	73	0,29
50	66	0,21

* Número inicial de ácaros no tratamento

Tabela 4. Valores estimados dos parâmetros β_0 e β_1 e coeficiente de determinação (R^2) do modelo que descreve o efeito do biofertilizante sobre a oviposição do ácaro *Brevipalpus phoenicis* em folhas de *Ligustrum lucidum*, respectivos erros-padrão e probabilidades (valor p) associadas ao teste ‘t’ unilateral (t).

Parâmetros	GL	estimado	Erro-Padrão	t	Valor p
β_0	1	-0,6724	0,1309	-5,136	0,0143
β_1	1	-0,0162	0,0048	-3,360	0,0437
R^2	-	0,8900	-	-	-

4.3.2 Ação de contato em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*).

A mortalidade de *B. phoenicis* em resposta às concentrações do biofertilizante em *C. ensiformis* seguiu dois padrões distintos. Nas avaliações de 24 e 48 h (Figura 3), a mortalidade aumentou com a concentração do biofertilizante ($\beta_1 = 3,1123$ (24h) e $\beta_1 = 33,0691$ (48h); $p = 0,0001$) seguindo um modelo exponencial, com taxas de variação decrescentes (Tabela 5). Nos demais tempos de avaliação a mortalidade também aumentou com a concentração [$(\beta_1=0,5638$ (72h), $\beta_1=0,5771$ (96h) e $\beta_1=0,5871$ (120h); $p<0,05$)], mas estabilizou rapidamente (Tabela 6). Neste caso, observa-se um crescimento mais rápido da mortalidade no intervalo entre 0 e 5% de concentração e uma desaceleração brusca entre as concentrações de 5 e 10%. Não houve efeito de aumento de mortalidade com o aumento das concentrações entre 10 e 30%, sendo ilustrados a partir dos períodos de 72 e 120 horas, quando a curva de mortalidade foi linearizada (Figura 4). É possível que não tenha ocorrido absorção do biofertilizante pelo ácaro, por exemplo via transcuticular (Omoto, 2000). O elevado grau de ionização da calda, juntamente com a maior proporção de metabólitos, de elevado peso molecular,

tende a aumentar o espessamento e a tensão superficial da calda (Kissmann, 2002). Além disso, ocorreu cristalização dos sais e outros compostos moleculares, como foi facilmente percebido pelas manchas deixadas sobre o limbo foliar. Fatos que contribuem para a diminuição da penetração cuticular dos componentes ativos do biofertilizante no ácaro, principalmente os de maior peso molecular, quando aplicado em altas concentrações. Efeitos semelhantes também foram observados por Alves (1999) e Campos (2001), quando utilizaram caldas com elevadas concentrações de acaricidas químicos.

Tabela 5. Estimativas dos parâmetros β_0 e β_1 e coeficientes de determinação (R^2) das curvas que descrevem o efeito de concentrações do biofertilizante sobre a mortalidade do ácaro *Brevipalpus phoenicis* em plantas de *Canavalia ensiformis*, respectivos erros-padrão e probabilidades (valor p) associadas ao teste χ^2 da razão de verossimilhança.

Períodos (h)	Parâmetros	GL	estimado	Erro-Padrão	χ^2	Valor p
24	β_0	1	-4,0917	0,5440	56,5644	0,0001
	β_1	1	3,1123	0,4486	48,1403	0,0001
	R^2	-	0,9867	-	-	-
48	β_0	1	-3,9955	0,5281	57,2442	0,0001
	β_1	1	3,0691	0,4376	49,1884	0,0001
	R^2	-	0,9852	-	-	-

Tabela 6. Estimativas dos parâmetros β_0 , β_1 e β_2 , e coeficiente de determinação (R^2) que descrevem os efeitos de concentrações do biofertilizante na sobrevivência do ácaro *Brevipalpus phoenicis* em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), respectivos erros-padrão e intervalos de confiança assintóticos (95%).

Períodos (h)	Parâmetros	Valor estimado	Erro-Padrão Assintótico	Intervalo de Confiança Assintótico (95%)	
				Inferior	Superior
72	β_0	0,0717	0,0713	-0,0766	0,2201
	β_1	0,5637	0,0933	0,3696	0,7579
	β_2	0,5985	0,8376	1,1434	2,3405
	R^2	0,9767	-	-	-
96	β_0	0,0873	0,0680	0,0540	0,2288
	β_1	0,5770	0,0887	0,3924	0,7616
	β_2	0,4818	0,5607	-0,6842	1,6479
	R^2	0,9805	-	-	-
120	β_0	0,1241	0,0690	-0,0194	0,2676
	β_1	0,5871	0,0909	0,3979	0,7762
	β_2	0,3827	0,3141	-0,2706	1,0359
	R^2	0,9863	-	-	-

Figura 3 - Efeito da concentração do biofertilizante na mortalidade de *Brevipalpus phoenicis* em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), 24 e 48 h após a pulverização.

Figura 4 – Efeito da concentração do biofertilizante na mortalidade de *Brevipalpus phoenicis* em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), 72, 96 e 120 h após a pulverização.

De modo semelhante aos resultados do bioensaio anterior (item 3.3.1), houve efeito significativo das concentrações do biofertilizante sobre a oviposição durante o período de avaliação sobre plantas de feijão-de-porco. O ajuste do modelo proposto foi devidamente apropriado ($R^2 = 97,97\%$). Verificou-se que o número diário de ovos produzidos por fêmeas reduz com o aumento da concentração do biofertilizante ($\beta_1 = -0,014$; $p = 0,0035$) quando ovipositados sobre as plantas de feijão-de-porco (Tabela 7). Esse decréscimo exponencial da oviposição com o aumento da concentração do biofertilizante (Figura 5), segue um padrão semelhante ao ocorrido no teste feito sobre as folhas de ligustre (Figura 2). No entanto, neste bioensaio, observa-se um efeito mais pronunciado (Tabela 8).

Tabela 7. Valores estimados dos parâmetros β_0 e β_1 e coeficientes de determinação (R^2) dos modelos que descrevem os efeitos do biofertilizante sobre a oviposição do ácaro *Brevipalpus phoenicis* em *Canavalia ensiformis*, respectivos erros-padrão e probabilidades (valor p) associadas ao teste ‘t’ unilateral (t).

Parâmetros	GL	estimado	Erro-Padrão	t	Valor p
β_0	1	-0,6008	0,0279	-21.489	0,0002
β_1	1	-0,0140	0,0016	-8.471	0,0035
R^2	-	0,9797	-	-	-

Tabela 8. Oviposição média diária de *B. phoenicis* após pulverizados com diferentes concentrações de biofertilizante em plantas de *Canavalia ensiformis*

Concentração	n *	N. ovos. Fêmea. Dia ⁻¹
0	96	0,62
5	93	0,45
10	90	0,32
20	94	0,16
30	98	0,08

Figura 5 – Oviposição de *Brevipalpus phoenicis* em plantas de *Canavalia ensiformis* submetidas a diferentes concentrações de um biofertilizante líquido.

As concentrações de 0,63 e 2,67 % do biofertilizante, respectivamente para CL_{25} e CL_{50} , foram suficientes para ocasionar a morte de 25 e 50% da população de *B. phoenicis*, em 72 horas (Tabela 9). Essas concentrações se aproximam das utilizadas com produtos acaricidas.

As concentrações letais CL_{25} em plantas de feijão-de-porco assemelham-se àquelas obtidas, em folhas de ligustre, no bioensaio anterior. Todavia, considerando-se que a CL_{25} (72 horas) tenha sido 7,85 vezes menor que a obtida sobre folhas de ligustre, numa condição de laboratório, pode-se sugerir, neste caso, a existência de alguma interferência positiva da planta, aumentando o poder de ação letal dos componentes do biofertilizante. Um exemplo claro de trofobiose (Chaboussou, 1999). Outro fator importante foi que os valores de CL_{25} e CL_{50} estabilizaram após 72 h.

Diversos fatores podem explicar os efeitos do biofertilizante obtidos sobre a sobrevivência do ácaro *B. phoenicis*. Dentre estes se destacam fatores intrínsecos do acaro e da planta, bem como de fatores da interação planta - ácaro - biofertilizante.

Tabela 9. Concentrações letais CL₂₅ e CL₅₀ do biofertilizante líquido sobre *Brevipalpus phoenicis* ao em plantas de feijão de porco.

Período (h)	CL ₂₅ (%)	CL ₅₀ (%)
24	8,15	19,64
48	7,78	19,03
72	0,63	2,38
96	0,68	2,60
120	0,63	2,67

B. phoenicis tem apresentado problemas de controle relacionado ao seu elevado grau de resistência à acaricidas. Segundo Helle (1980), este ácaro apresenta um reduzido número de cromossomos ($n = 2$), favorecendo assim a seleção de genótipos resistentes, quando submetidos à pressão de seleção de um ou mais produtos químicos. Dessa forma *B. phoenicis* é uma espécie que tem grande probabilidade de ocorrência de resistência a acaricidas, sobretudo na sua forma múltipla (Omoto, 2000; Omoto et al., 2000; Campos, 2001). Diversos fatores bioecológicos podem influenciar o desenvolvimento de resistência numa população. Segundo Omoto (1998) o aspecto mais importante é o seu modo de reprodução. De acordo com Helle (1980) e Weeks et al. (2001) *B. phoenicis* é o único animal haplóide encontrado na natureza, que se reproduz, principalmente, por partenogênese telítica do tipo automítica, sendo seus descendentes originados de ovos não fertilizados, e portanto, cópias geneticamente idênticas à sua progenitora. Dessa forma, se a progenitora for resistente, todos os seus descendentes também o serão. Esse fenômeno contribui significativamente para a evolução da resistência de uma população (Omoto, 1998). Considerando a complexidade da composição de um biofertilizante (Santos, 2001) e os fatores relacionados com os mecanismos e com a evolução da resistência (Gallo et al. 2002), pode-se afirmar a probabilidade de ocorrer resistência cruzada e/ou múltipla dos ácaros aos componentes químicos ativos do biofertilizante é muito pequena.

A eficácia do biofertilizante sobre a mortalidade pode estar associada, conjuntamente, a uma resposta de defesa da planta, impulsionada pelo mesmo. Essa

afirmação deve-se ao fato de que a planta também reage simultaneamente à ação do biofertilizante (Deffune, 2001), não se sabendo portanto qual intensidade, mecanismos e/ou compostos envolvidos. Alterações que constituem a resposta de defesa de plantas, por causa de estresse, causado por patógenos ou herbívoros, têm sido intensamente estudadas visando melhorar a resistência vegetal (Kombrink & Somssich, 1995; Dempsey et al., 1998; Gatehouse & Gatehouse, 1998). Neste sentido, Santos (2001) propõe duas hipóteses para explicar a ação dos biofertilizantes, em interação com a planta, sobre as pragas: A primeira seria que o biofertilizante, por ser um fermentado de tecidos vegetais, contém substâncias químicas secundárias que simulam semioquímicos, isto é, produzem odores que interferem na comunicação química entre o herbívoro e a planta. Estes funcionam como repelente ou dificultam a localização da hospedeira. A segunda hipótese seria que os hábitos alimentares destes herbívoros estariam sendo afetados por mudanças bruscas na qualidade alimentar da planta hospedeira, induzidas pelo biofertilizante. Atribui que, em geral, plantas que estão sobre estresse, fora de seu ótimo de desenvolvimento são as mais susceptíveis ao ataque, independentemente de sua resistência genética.

O efeito sobre a fecundidade foi uma reação explicitamente notável, indicando que uma alteração fisiológica foi desencadeada alterando o funcionamento normal do sistema reprodutor de *B. phoenicis*. Num curto intervalo de tempo de exposição, houve algum tipo de interação entre componentes do biofertilizante e o metabolismo do ácaro. Contudo, não se pode afirmar como se deu a entrada desses componentes no organismo alvo, se foi por absorção transcuticular e/ou por ingestão. Uma redução da fecundidade, em decorrência da presença de componentes do biofertilizante, pode também estar relacionada à inibição da oviposição, mediante interferência de sinais químicos emitidos pela própria planta e/ou oriundos do biofertilizante. Essa hipótese é improvável nesta pesquisa, porém, pode ser útil em pesquisas posteriores visando aperfeiçoar os mecanismos de indução de resistência sistêmica.

Por outro lado, como o modo de exposição dos ácaros foi simultaneamente de tópico e residual, em razão dos ácaros terem recebido à pulverização na própria arena, não sendo possível se distinguir que modo de exposição seria o mais eficiente. Ao

testarem uma toxina purificada do fungo *Hirsutella tompsonii* sobre o ácaro da falsa-ferrugem dos citros (*Phyllocoptruta oleivora* Ash.), verificou-se um efeito de concentração sobre a sua fecundidade, sendo que este foi mais pronunciado quando a toxina foi exposta somente de forma residual (Omoto & McCoy 1998). Embora, seja difícil a inexistência do ácaro numa condição natural, esse tipo de informação pode ter um significado importante para determinação do poder residual do produto, indicando quanto tempo de proteção pode conferir sobre a planta. Futuros estudos poderão comprovar se o biofertilizante tem maior ou menor ação residual, do que de contato, quando aplicado sobre a planta.

Ha necessidade de se isolar e quantificar os efeitos da resposta de defesa da planta na sobrevivência e reprodução do ácaro. Segundo Mareggiani (2001) alguns aspectos fisiológicos importantes, oriundos dos mecanismos de coevolução, especialmente aqueles relacionados com a presença de quimiorreceptores adequados e os aspectos bioquímicos vinculados, podem reprimir a capacidade dos herbívoros de excretar, biodegradar e seqüestrar metabólitos tóxicos, destinados a evitar o ataque de predadores e defesa dos herbívoros contra a ação de patógenos. Trabalhos nesse sentido comprovam que a atividade química dos metabólitos secundários da planta é variada e que muitos deles possuem atividade biológica sobre os insetos, alterando sua alimentação, desenvolvimento e reprodução ou comportamento (Schoonhoven et al., 1998). Os compostos moleculares presentes no biofertilizante são de origem metabólica primária e secundária de diferentes classes de microrganismos, com funções que são variáveis sobre a planta, podendo funcionar como fagodeterrentes, regulador de crescimento e inibidor de oviposição de insetos e ácaros (Santos & Akiba, 1996).

4.3.3 Ação patogênica do biofertilizante sobre *B. phoenicis*

Nas plantas tratadas verificou-se que alguns ácaros caminharam, de forma desgovernada, para dentro da cola de contenção, uma evidência de que, provavelmente, tiveram seu sistema nervoso alterado, impossibilitando-os de se protegerem da cola, o que não foi observado nas plantas testemunhas. Comportamento semelhante foi

constatado por Guirado (1999) quando avaliou diferentes extratos vegetais como agente de controle. Na ocasião, sugeriu que as substâncias possuíam efeito repelente, quando afugentava os ácaros para o meio da cola de contenção.

Os cadáveres provenientes do tratamento testemunha não apresentaram alterações morfológicas 24 horas após a morte (Figura 6a). Os ácaros provenientes das plantas tratadas com o biofertilizante morriam virados, com o dorso para baixo, conforme posição do cadáver ilustrada na Figura 6b. Esse comportamento é considerado incomum, visto que isso não ocorre quando são mortos por ação de acaricidas. Isso pode ser explicado pelas constantes tentativas do ácaro em se desfazer do complexo coloidal proveniente do biofertilizante. Durante o experimento observou-se ainda que, horas após submetidos ao biofertilizante, os ácaros tornaram-se agitados e aparentemente não se alimentaram.

Além da posição do cadáver, verificou-se indício de colonização microbiana, com focos de crescimento micelial externo, sobre os ácaros mortos por ação do biofertilizante. Visualizou-se estruturas afetadas tais como gnatossoma e pernas (anteriores e posteriores). Estes apêndices apresentaram-se grudados e danificados por uma substância coloidal, além da presença de estruturas de crescimento microbiano na região metapodossomal ventral, nos tarsos e na placa genital (Figura 7).

A substância que aderiu as estruturas do gnatossoma e as pernas do ácaro, é de natureza mucilagínosa, provavelmente uma goma de origem metabólica secundária. As gomas são de consistência espessa, a maioria polissacarídios de elevado peso molecular. De composição ainda não conhecida esse colóide agiu mecanicamente, provocando a adesão das pernas e partes do gnatossoma e obstruindo a região inicial do trato digestivo e outras aberturas funcionais do ácaro, imobilizando-o, sobre a superfície foliar, impossibilitando a alimentação (Figura 8). Guirado (1999) também observou que os adultos de *B. phoenicis* não se alimentavam e morriam colados na folha, quando foram atingidos por um componente coloidal proveniente do extrato de alho (*Allium sativum*).

Figura 6 - Caracterização de cadáveres do ácaro *Brevipalpus phoenicis*: a) Morto sob aplicação de água (morte natural) b) Morto sob ação de contato do biofertilizante.

Figura 7 - Atividade microbiana sobre cadáveres de *Brevipalpus phenicis* mortos sob ação do biofertilizante; (a) Aderência das pernas anteriores e posteriores por uma substância coloidal (goma); (b) Foco de crescimento microbiano no metapodossoma médio-ventral; (c) Focos de atividade microbiana no tarso (d) e na placa genital

Figura 8 – Gnatossoma e pernas anteriores de *Brevipalpus phoenicis* grudadas por massa coloidal: (a) dorsal e (b) ventral; (c) Setas com gotículas do coloide; (d) Aspecto do biofertilizante sobre a epiderme foliar.

Também Santos (2001) descreveu o mesmo efeito sobre pulgões e outros insetos sugadores de seiva, quando pulverizados com concentrações superiores a 50% de biofertilizante líquidos.

Ficou evidenciado a ação patogênica do biofertilizante sobre *B. phoenicis*, constituindo-se numa ferramenta potencial para o controle dessa. praga Para isso demanda-se a realização de mais estudos para se conhecer em detalhes a causa da morte, bem como a confirmação científica dessas e de outras propriedades do biofertilizante sobre outros organismos semelhantes. Numa perspectiva para o futuro o uso de biofertilizantes na agricultura pode se firmar como uma ferramenta indispensável para o manejo ecológico de pragas e doenças, além dos programas de nutrição e melhoramento da resistência vegetal, o que já está em prática na agricultura orgânica brasileira.

4.1 CONCLUSÕES

Com base nas condições em que os ensaios foram conduzidos, pode-se concluir que:

- 1) O método de bioensaio realizado diretamente sobre a planta é adequado para avaliação do efeito de contato do biofertilizante sobre *B. phoenicis*.
- 2) Há efeito deletério de concentrações do biofertilizante na oviposição e sobrevivência de *B. phoenicis*.
- 3) O biofertilizante possui uma substância de consistência mucilaginosa (goma) que imobiliza e impede a alimentação do ácaro.
- 4) *B. phoenicis* pode ser manejado trofobioticamente sob a ação direta e indireta do biofertilizante.

7 CONCLUSÕES GERAIS

Com base nas condições em que os ensaios foram conduzidos, os resultados dessa pesquisa permitem concluir que:

- 1) Os bioensaios de efeito residual e sistêmico e a utilização de tabela de vida são adequados para avaliação de parâmetros bioecológicos de *B. phoenicis*;
- 2) Há efeito residual do biofertilizante na diminuição da sobrevivência e reprodução de *B. phoenicis*;
- 3) O biofertilizante reduz de modo crônico o potencial de crescimento populacional e o tempo de desenvolvimento de descendentes de *B. phoenicis*;
- 4) A mistura de *V. lecanii* com biofertilizante produz maior redução da sobrevivência de *B. phoenicis*;
- 5) A mistura de biofertilizantes, provenientes de diferentes bioreatores, não altera seu efeito deletério sobre o potencial de crescimento populacional de *B. phoenicis*;
- 6) O efeito sistêmico do biofertilizante na planta reduziu o potencial de crescimento populacional do ácaro *B. phoenicis*, sendo que em intensidade menor que o efeito residual;
- 7) Os métodos de bioensaio com aplicação tópica e residual, realizado diretamente sobre a planta, são adequados para avaliar os efeitos de contato do biofertilizante e sua interação com a planta hospedeira sobre parâmetros biológicos de *B. phoenicis*;
- 8) Há efeito deletério de concentrações do biofertilizante na oviposição e sobrevivência de *B. phoenicis*;
- 9) Um composto coloidal do biofertilizante, de consistência mucilaginosa (goma), causou imobilização e obstrução do sistema digestivo do ácaro.

- 10) Populações de *B. phoenicis* podem ser manejadas trofobioticamente sob a ação direta e indireta do biofertilizantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effective-ness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p.265-267, 1925.
- ABREU JÚNIOR., H. (Coord.) **Práticas alternativas de controle de pragas e doenças na agricultura**. Campinas: EMOPI, 1998. 112p.
- ACEVEDO, J. L. R.; ROSAS, L. S. Control biológico de *Brevipalpus* spp. en *Citrus aurantifolia* en Guerrero, México. **Manejo Integrado de Plagas**, n.55, p.56-59, 2001.
- ALBUQUERQUE, F. A.; ARANTES, A. M. V.; CORREIA, A. C. B. Patogenicidade de fungos para o ácaro da leprose *Brevipalpus phoenicis* (Geijsks, 1939) (Ácari: Tenuipalpidae). **Acta Scientiarum**. v.22, n.4. p.22-24, 2000.
- ALLISON, P. D. **Survival analysis using the SAS system:** a practical guide. 2. ed. Cary: SAS Institute, 1997. 245 p.
- ALVES, E. B. Manejo da resistência do ácaro da leprose *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) ao acaricida Dicofol. Piracicaba, 1999. 91p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano dos insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163 p.

- ALVES, S. B.; ALVES, E. B.; LOPES, R. B.; TAMAI, M. A.; RAMOS, E. Q.; D'ANDREA, P. A. Eficiência da calda sulfocálcica no controle do ácaro da leprose. In: AMBROSANO, E. (Coord.). **Agricultura Ecológica**. Guaíba: Agropecuária, 1999a. p.397-398.
- ALVES, S. B.; TAMAI, M. A.; LOPES, R. B.; ALVES JÚNIOR, S. B. Utilização de entomopatógenos na cultura dos citros In: ABREU JÚNIOR, H. (Ed.). **Citricultura sustentável: controle alternativo de pragas e doenças**. Limeira: Agroecológica, 1999b. p.33-44.
- ALVES, S. B.; MEDEIROS, M. B.; TAMAI, M. A.; LOPES, R. B. Trofobiose e microorganismos na proteção de plantas: Biofertilizantes e entomopatógenos na citricultura orgânica. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.4, n.21, p.16-21, 2001.
- ANDRADE, R.C.; FLORCOVSKI, J.L.; GROES, M.V.; CALAFIORI, M.H. Efeito da aplicação de enxofre no solo para controle do ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) em feijoeiro, *Phaseolus vulgaris* L. **Ecossistema**, v.22, p.1-23, 1997.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Toxicologia: Agroecologia: Fundamentos técnicos da produção orgânica. ANVISA. <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/tox/agro/fundamento/index.htm> (11 jul. 2002).
- AYEDH, H. Y. AL, Antixenosis: the effect of plant resistance on insect Behavior. http://www.colostate.edu/Depts/Entomology/courses/en507/papers_1997/alayedh.htm 1. (15 Jan. 2002).
- AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI JR., W.; PEREIRA, J. O.; ARAÚJO, W. L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.3, n.1, p.40-65, 2000.

- BAPTISTA, G. C. Toxicologia e impacto ambiental de inseticidas e acaricidas. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO AGRÍCOLA SUPERIOR - **Curso de proteção de plantas. toxicologia, meio ambiente e legislação**, módulo 8. Brasília: ABEAS, 2000. p.1-52.
- BERGAMIM FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Ceres, 1996, 289p.
- BETTIOL, W.; TRATCH, R. GALVÃO, J. A. H. **Controle de doenças de plantas com biofertilizantes**. Jaguariúna: EMBRAPA, CNPMA. 1998. 22p (EMBRAPA, CNPMA. Circular Técnica, 02).
- BITANCOURT, A. A.; GRILLO, H. V. S. A clorose zonada – uma nova doença dos citros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.5, p.245-251, 1934.
- BOTEON, M.; VIDAL, A. J. Citricultura no Brasil e na Flórida. **Citricultura Atual**, v.4, n.23, p.3, 2001.
- BURGDORFER, W.; VARMA, M. G. R. Trans-stadial and transovarial development of disease in arthropods. **Annual Review of Entomology**, v.11, p.347-376, 1967.
- CAMPOS, F. J. Resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes 1939) (Acari: Tenuipalpidae) ao acaricida hexitiazox em citros. Piracicaba, 2001. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo
- CANNON Jr., W. N.; TERRIERE, L.C. Egg production of the two - spotted spider mite on bean plants supplied nutrient solutions containing various concentrations of iron, manganese , zinc, and cobalt. **Journal of Economical Entomology**. v.59, p. 89-93. 1966.
- CARSON, R. **Silent spring**. New York: Mariner Books, 1962. 368p.

CASTRO, C.M.; SANTOS, A.C.V.; AKIBA, F. B *Bacillus subtilis* isolado do biofertilizante "Vairo" com ação fungistática e bacteriostática em alguns fitopatógenos. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 3., Águas de Lindóia. 1992. **Anais** Jaguariúna: EMBRAPA, CNPDA, 1992. p.291.

COORDENADORIA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA INTEGRAL. **Recomendações para o controle das principais pragas e doenças em pomares do Estado de São Paulo**; comissão e avaliação de defensivos para uso na citricultura. 5. ed. Campinas: CATI, 1997. 58p. (Boletim Técnico, 165).

CHABOUSSOU, F. **Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos**: a teoria da trofobiose. 2. ed. Trad. de M. J. GUAZZELLI. Porto Alegre: L&MP, 1999. 256p.

CHABOUSSOU, F. **Santé des cultures**. une révolution ágronomique. Paris: Flammarion, 1985. 296p.

CHABOUSSOU, F.: **Les plantes malades des pesticides**: bases nouvelles d'une prévention contre maladies et parasites. Paris: Éditions Debard, 1980. 265p.

CHAGAS, C. M. Associação do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) à mancha anular do cefeeiro. **O Biológico**, v.39, n.9, p.229-232, 1973.

CHAGAS, C. M. Viroses, doenças semelhantes transmitidas por ácaros Tenuipalpídeos: mancha anular do cafeeiro e leprose dos citros. **Fitopatologia Brasileira**, v.13, n.2, p.92, 1978.

CHAGAS, C. M.; ROSSETTI, V.; CHIAVEGATO, L. G. Influence of the biological cycle of *Brevipalpus phoenicis* Geijskes on leprosis transmission. In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZACIÓN OF CITRUS VIROLOGISTS, 9., Riverside, 1984. **Proceedings**. Riverside: IOCV, 1984. p.211-214.

CHIAVEGATO, L. G A Leprose dos citros no Estado de São Paulo. **Laranja**. v.8, n.1, p.7-18. 1987.

- CHIAVEGATO, L. G. Ácaros da cultura dos citros. In: RODRIGUES, O. VIÉGAS, F.; POMPEU Jr., J.; AMARO, A. S. (Ed.) **Citricultura brasileira**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.2, p.601-641.
- CHIAVEGATO, L. G. Biologia do ácaro *Brevipalpus phoenicis* em citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.21, n.8, p.13-16, 1986.
- CHIAVEGATO, L. G. Transmissão de leprose pelo ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) em citros. In: OLIVEIRA, C. A. L.; DANADIO, L. C. **Leprose dos citros**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. p.115-123.
- CHILDERS, C. C.; KITAJIMA, E.W.; WELBOURN, W. C.; RIVERA, C.; OCHOA, R. *Brevipalpus* mites on citrus and their status as vectors of citrus leprosis. **Manejo Integrado de Plagas**, n.60, p.61-65, 2001a.
- CHILDERS, C. C.; RODRIGUES, J. C.V.; KITAJIMA, E.W.; DERRICK, K.S.; RIVERA, C.; WELBOURN, W. C. A control strategy for breaking the virus-vector cycle of *Brevipalpus* spp. and the Rhabdovirus disease, citrus leprosis. **Manejo Integrado de Plagas**, n.60, p.71-75, 2001b.
- COLBORN, T.; DUMANOWSKI, D.; MYERS, J. P. **Our stolen future : are we threatening our fertility, intelligence, and survival?: a scientific detective story**. New York: Penguin Books, 1996. 306p.
- CONCEIÇÃO, C. M. Z. da. A indústria de defensivos agrícolas no Brasil. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO AGRÍCOLA SUPERIOR. **Curso de proteção de plantas**. Brasília: ABEAS, 1997. 54p.
- COPPEL, H. C.; MARTINS, J. W. **Biological insect pest suppression**. New York: Springer-Verlag, 1977. 314p.

- CORDEIRO, C. R. C.; SÁ, M. F. G. Biotecnologia e resistência a patógenos: Interação planta-patógeno e uso da biotecnologia na obtenção de plantas resistentes. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.10, p.1-19, 1999.
- CRUEGER, W.; CRUEGER, A. **Biotechnology**: a textbook of industrial microbiology. Sunderland: Sinauer, 1989. 249p.
- CUNHA, A. O.; SILVA, V. F.; SILVA, A. P.; ALMEIDA, F. A.; ARAÚJO, G. B.; BRUNO, G. B. Intensidade de pragas e doenças em feijão macassar cultivado em sistemas orgânicos e convencionais. **Horticultura Brasileira**, v.18, p.440-442, 2000.
- D'ANDREA, P. A. Tecnologia de processo na citricultura. In: ABREU, Jr., H. (Ed.). **Citricultura sustentável: controle alternativo de pragas e doenças**. Limeira: Agroecológica. 1999. p. 18-24.
- D'ANDRÉA, P. A. Aspectos práticos e tendências no uso de fertiprotetores. In: HEIN, M. (Org.) **Processos de proteção de plantas: controle ecológico de pragas e doenças**. Botucatu: Agroecologica, 2000. p. 97-101
- D'ANDRÉA, P. A. Manejo dos processos de produção de citros sustentável. In: ABREU Jr., H. (Ed.) **Citricultura sustentável: processos de produção e alternativas de comercialização**. Botucatu: Agroecológica, 2001. p. 59-64.
- D'ANDRÉA, P. A.; MEDEIROS, M. B. **Biofertilizantes biodinâmicos na nutrição e proteção de hortaliças**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HORTICULTURA ORGÂNICA, NATURAL, ECOLÓGICA E BIODINÂMICA, 1., Piracicaba, 2001. **Resumos**. Piracicaba: Agroecológica, 2002. p.255-232.
- DEFFUNE, G. Fitoalexinas e resistência sistêmica vegetal: a explicação dos defensivos naturais. **Agroecologia** v.1, n.6, p.6-8, 2001.
- DEMPSEY, D. A.; SILVA, H.; KLESSIG, D. F. Engineering disease and pest resistance in plants. **Trends in Microbiology**, v.6, n.2, p.54-61, 1998.

- EVANS, G. A.; CROMROY, H. L.; OCHOA, R. The tenuipalpidae in bermuda (Prostigmata: Acari). **Florida Entomologist**, v.81, n.2, p.167-170, 1998.
- FARIA, M. R.; MAGALHÃES, B. P. Uso de fungos entomopatogênicos no Brasil: situação e perspectivas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.4, n.22, p.18-21, 2001.
- FERREIRA, C.R.R.P. Defensivos agrícolas. **Informações Econômicas**, n.29, p.11-13., 1999.
- FIGUEIRA, A. R.; REIS, P. R.; CARVALHO, V. L.; PINTO, C. S. Coffee ringspot virus is becoming a real problem to brasilian coffee growers. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF VIROLOGY, 10., Jerusalem, 1996. **Abstracts**. Jerusalem: IVA, 1996. p.203.
- FLECHTMANN, C.H.W. **Ácaros de importância agrícola**. 6. ed. São Paulo: Nobel, 1989. 189p.
- FORTHOFER, R. N.; LEHNEN, R. G. **Public program analysis: A new categorical data approach**. Belmont: Lifetime Learning Publications, 1981. 294p.
- FUNDO PAULISTA DE DEFESA DA CITRICULTURA. Leprose. <http://www.fundecitrus.com.br/leprose.html> (23 Ago. 1999)
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.
- GATEHOUSE, A. M.R.; GATEHOUSE, J. A. Identifying proteins with inseticidal activity: use of encoding genes to produce insect-resistant transgenic crops. **Pesticide Science**, v.52, p.165-175, 1998.

- GATEHOUSE, A. M.R.; GATEHOUSE, J. A. **Genetic engineering of plants for insect resistance.** http://silverserver.dur.ac.uk/Teaching/RehciglChapter/GMInsectResistant_Plants (29 Jan. 2002).
- GEORGHIOU, G. P.; LAGUNE-TARJEDA, A. **The occurrence of resistance to pesticides in arthropods.** Rome: FAO, 1991. 318p.
- GONZÁLES, R. H. Revision of the *Brevipalpus phoenicis* “complex” with descriptions of the new species from Chile and Thailand (Acarina: Tenuipalpidae). **Acarologia**, v.17, n.1, p.81-91, 1975.
- GRAVENA, S. Manejo integrado de pragas dos citros. **Laranja**, v.5, p.323-361, 1984.
- GRAVENA, S. Manejo ecológico de pragas dos citros: aspectos práticos. **Laranja**, v.19, n.1, p.61-77, 1998a.
- GRAVENA, S. Manejo ecológico de pragas dos citros: conceito, princípios e aplicação In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS, 5., Bebedouro, 1998. **Anais.** Bebedouro: Fundação Cargill, 1998b. p.221-250.
- GREWAL, J. S. Biochemical factor responsible for susceptibility or resistance of various plants against the scarlet mite, *Brevipalpus phoenicis*: 1. Amino acids analysis. **International Journal Environmental Studies**, v.43, p.293-295, 1993.
- GRIZZLE, J. E.; STARMER, C. F.; KOCH, G. G. Analysis of categorical data by linear models. **Biometrics**, v.25, p.489-504, 1969.
- GUIRADO, N. Avaliação de substâncias como interferentes na aquisição e inoculação do vírus da leprose dos citros pelo ácaro *Brevipalpus phoenicis*. Piracicaba, 1999. 87p. Tese (Doutorado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.

- HARAMOTO, F. H. **Biology and control of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acarina: Tenuipalpidae)**. Honolulu: Hawaii Agricultural Experiment Station. 1969. 63p. (Hawaii Agricultural Experiment Station. Technical Bulletin, 68).
- HELLE, W.; BOLLAND, H. R.; HEITMANS, W. R. B. Chromosomes and types of parthenogenesis in the false spider mites (Acari: Tenuipalpidae). **Genetica**, v.54, p.545-550, 1980.
- INSECTICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE. Proposed insecticide/acaricide susceptibility tests developed by Insecticide resistance Action Committee (IRAC). **Bulletin OEPP/EPPO**, v.20, p.389-404, 1990.
- INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO. **Investigación que recuperó ventas de café Investigación Y Desarrollo, Periodismo de Ciencia y Tecnología**. In: <http://www.invdes.com.mx> (24 Jul. 1999).
- JEPPSON, L. R.; KEIFER, H. H.; BAKER, E.W. **Mites injurious to economic plants**. Berkeley: University California, 1975. 614p.
- KAPLAN, E. L.; MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of American Statistic Association**, v.53, p.547-581, 1958.
- KENNEDY, J. S.; HANCE, T. Varietal screening based on demographic parameters: resistance of tea to *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae). **Environmental Entomology**, v.24, n.6, p.1481-1486, 1995.
- KENNEDY, J. S.; Van IMPE, G.; HANCE, T.; LEBRUM, P. Demecology of false spider mite, *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae). **Journal Applied Entomology**, v.120, p.493-499, 1996.
- KISSMANN, K. G. Adjuvantes para caldas de produtos fitossanitários. **Cultivar**, n.35 (Caderno técnico) p.3-10, 2002.

- KITAJIMA, E. W.; RESENDE, J. A. M.; RODRIGUES, J. C. V.; CHIAVEGATO, L. G.; PIZA JUNIOR, C. T.; MOROZIN, W. Green spot passion fruit, a possible viral disease associated with infestation by the mite *Brevipalpus phoenicis*. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, n.3, p.555-559, 1997.
- KOMBRINK, E. AND SOMSSICH, I. E. Defense responses of plants to pathogens. **Advanced Botanical Resistance**. v.21, p.1-33, 1995.
- LAL, L. Biology of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Tenuipalpidae: Acarina). **Acarologia**. v.20, n.1, p.97-101, 1979.
- LUTZEMBERGER, J. A. **Manifesto ecológico brasileiro**: O fim do futuro? Porto alegre: Ed. Lançamento. 1976. 96p.
- MACEDO, D. TANZINI, M. R.; ALVES, S. B. Fases de desenvolvimento de *Verticillium lecanii* em *Brevipalpus phoenicis*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 7., Poços de Caldas, 2001. **Resumos**. Poços de Caldas: UFLA, 2001. p.243.
- MAGRO, D. **Supermagro**: a receita completa. São paulo: Associação de Agricultura Orgânica, 1994. p.5. (Associação de Agricultura Orgânica: Boletim,16).
- MAIA, A. H. N. Métodos estatísticos para comparação de parâmetros associados às tabelas de vida e fertilidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., Salvador, 1997. **Resumos**. Salvador: EMBRAPA, CNPMF, 1997. p.19.
- MAIA, A. H. N.; LUIZ, A. J. B.; CAMPANHOLA, C. Statistical inference on associated fertility life table parametrs using jackknife technique: computacional aspects. **Journal of Economic Entomology**, v.93, n.2, p.511-518, 2000.
- MANTEL, N. Evaluation of survival data and two new order statistic arising in its consideration. **Center Chemother Representation**, v.50, p.163-170, 1966.

- MAREGGIANI, G. Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origem vegetal. **Manejo Integrado de Plagas**, n.60, p.22-30, 2001.
- MEDEIROS, M. B. Impacto ambiental dos agrotóxicos. In: ALMEIDA, R. P.; SILVA, C. A. D.; MEDEIROS, M. B. **Biotecnologia de produção massal e manejo de *Trichogramma* para controle biológico de pragas**. Campina Grande: EMBRAPA, CNPA, 1998. p.35-44 (EMBRAPA, CNPA, Documentos, 60). 61p.
- MEDEIROS, M. B.; ALVES, S. B.; BERZAGHI, L. M. Effect of liquid biofertilizer on fecundity and survival of *Tetranychus urticae*. **Journal of Animal, Plant and Environmental Protection**. v.68, (suppl.) p.66, 2001.
- MEDEIROS, M. B.; ALVES, S. B.; BERZAGHI, L. M. Residual effect of liquid biofertilizer and *Beauveria bassiana* on *Tetranychus urticae*. **Journal of Animal, Plant and Environmental Protection**. v.67, (suppl.) p.106. 2000a.
- MEDEIROS, M. B.; ALVES, S. B.; BERZAGHI, L. M.; SINISGALLI, D. L.; GARCÍA, M. O. Effect of liquid biofertilizer on the oviposition of *Brevipalpus phoenicis* In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF UNDERGRADUATE RESEARCH, 9., São Paulo, 2000. **Abstracts**. <http://www.usp.br/siicusp/8osiicusp/resumos/ficha1902.htm> (15 Nov. 2000b).
- MEIRELLES, L.; BRACAGIOLI NETO, A.; MEIRELLES, A. L.; GONÇALVES, A.; GUAZZELLI, M. J.; VOLPATO, C.; BELLÉ, N. **Biofertilizantes enriquecidos: caminho da nutrição e proteção das plantas**. Ipê: Centro de Agricultura Ecológica, 1997. 12p.
- MEYER, J. S.; INGERSOLL, G. G.; McDONALD, L. L.; BOYCE, M. S. Estimating uncertainty in population growth rates: jackknife vs. Bootstrap techniques. **Ecology**, v.67, p.1156-1166, 1986.
- MEZINCESCU, M. D.; SZABO, F. Method for the determination of the non-protein nitrogen of tissue. **The Journal of Biological Chemistry**, v.115, p.131-149, 1936.

- MONTGOMERY, D.C. **Design and analysis of experiments**. 3. ed. NewYork: Third Edition, 1991. 270p.
- MUSUMECI, M. R.; ROSSETTI, V. Transmissão dos sintomas da leprose dos citros pelo ácaro *Brevipalpus phoenicis*. **Ciência e Cultura**, v.15, n.3, p.228, 1963.
- NARDO, E. A. B. De; MAIA, A. H. N.; WATANABE, M. A. Effect of formulation of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus on predador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae), using the fertility life table parameters. **Environmental Entomology**, v.30, n.6, p.1164-1173, 2001.
- NARDO, E. A. B.; CAPALBO, D. M. F.; MORAES, G. J.; OLIVEIRA, M. C. B. (Coord.) **Requisitos para análise de risco de produtos contendo agentes microbianos de controle de organismos nocivos**: uma proposta para os órgãos federais registrates. Jaguariúna: EMBRAPA, CNPMA, 1995. 42p. (EMBRAPA, CNPMA. Documentos, 2).
- NASCIMENTO, M. L. Efeito de *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki sobre *Podisus nigrispinus* Dallas, 1851 (Heterodera: Pentatomidae: Asopinae) em laboratório. Lavras, 1996. 127p. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Lavras.
- NASCIMENTO, M. L. CAPALBO, D. F.; MORAES, G. J.; NARDO, E. A.; MAIA, A. H. N.; Oliveira, R. C. A. L. Effect of a formulation of *Bacillus thuringiensis* Berliner var. kurstaki on *Podisus nigrispinus* Dallas (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae). **Journal Invertebrate Pathology**, n.72, p.178-180, 1998.
- NEVES, E. M. Economia da produção citrícola e efeitos alocativos. **Preços Agrícolas Mercados e Negócios Agropecuários**. v.14, n.162, p. 9-12. 2000.
- NOVAES, W. Botando ordem na mesa: é necessário reforçar os controles sobre o uso de agrotóxicos no Brasil. <http://www.estado.estadao.com.br/jornal/98/01/09/news109.html> (09 Jan. 1998).

- NUNES, M. U. C.; LEAL, M. L. S. Efeito da aplicação de biofertilizante e outros produtos químicos e biológicos, no controle de broca pequena do fruto e na produção do tomateiro tutorado em duas épocas de cultivo e dois sistemas de irrigação. **Horticultura Brasileira**, v.19, n.1, p.53-59, 2001.
- OLIVEIRA, C. A. L. Aspectos ecológicos do *Brevipalpus phoenicis*. In: OLIVEIRA, C. A. L.; DANADIO, L. C. **Leprose dos citros**. Jaboticabal: FUNEP. 1995. p.56-65.
- OLIVEIRA, C. A. L. Flutuação populacional e medidas de controle do ácaro *Brevipalpus phoenicis* em citros. **Laranja**, v.6, p.1-32, 1986.
- OMOTO, C. Manejo da resistência de ácaros e insetos aos produtos químicos na citricultura. **Laranja**, v.16, p.187-208, 1995.
- OMOTO, C. Acaricide resistance management of leprosis mite (*Brevipalpus phoenicis*) in Brazilian citrus. **Pesticide Science**, v. 52, p. 189 – 198. 1998.
- OMOTO, C. Modo de ação de inseticidas e resistência de insetos a inseticidas. In: GUEDES, G. V. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. (Org.) **Bases técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM, CCR, DRF, 2000. p 31-49.
- OMOTO, C.; MCCOY, W. Toxicity of purified fungal toxin hirsutellin A to the citrus rust mite *Philocoptruta oleivora* (Ahs.) **Journal Invertebrate pathology**, v.72, p.319-322, 1998.
- OMOTO, C.; ALVES, E. B.; RIBEIRO, P. C. Detecção e monitoramento da resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) ao dicofol. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n.4, p. 57-764. 2000.
- OOMEN, P. A. **Estudies on population dynamies of the scarlet mit, *Brevipalpus phoenicis*, a pest of the tea in Indonesia**. Wageningen: Veenman & Zonen, 1982. 88p.

- PALIWAL, Y. C. Fate of plant viruses in mite cestors and nonvectors. In: HARRIS, K, F.; MARAMOROSCH, K. **Vectors of plant pathogens**. London: Academic Pres. 1980. p.76-98.
- PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. 359p.
- PASCHOAL, A. D. **Pragas, praguicidas e a crise ambiental**: Problemas e soluções. Rio de Janeiro: Fundação Getúlio Vargas, 1979. 102p.
- PASCHOAL, A. D. **Pragas da agricultura nos trópicos**. Brasília: Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior, 1995. 128 p.
- PENTEADO, S. R. **Introdução à agricultura orgânica: normas e técnicas de cultivo**. Campinas: Grafimagem, 2000. 110p.
- PICANÇO, M.; PALLINI FILHO, A.; LEITE, G. L. D.; MATIOLI, A. L. Avaliação de produtos não convencionais para o controle de *Tuta absoluta* em tomate. **Manejo Integrado de Plagas**, v.54, p. 27-30, 1999.
- PIJNACKER, L. P.; FERWERDA, H. R. HELLE, W. Cytological investigations of the female and male reproductive system of the parthenogenetic privet mite *Brevipalpus obovatus* Donnadieu (Phytoptipalpidae, Acari). **Acarologia**, v.22, p.157, 1981.
- PINHEIRO, S.; BARRETO, S. B. **“MB4” - agricultura sustentável, trofobiose e biofertilizantes**. Porto Alegre: Junqueira Candiru. 1996. 276p.
- PINHEIRO, S.; NARS, N. Y.; LUZ, D. **A agricultura ecológica e a máfia dos agrotóxicos no Brasil**. Rio de Janeiro: Junqueira Candiru, 1998. 356 p.
- POINAR, G. JR.; POINAR, R. Parasites and pathogens of mites. **Annual Review of Entomology**. v.43, p.449–469, 1998.

- POLITO, W. L. Os fertiprotetores (calda sulfocálcica, calda bordaleza e calda viçosa) no contexto da trofobiose. In: HEIN, M. (Org.) **Processos de proteção de plantas: controle ecológico de pragas e doenças**. Botucatu: Agroecológica, 2001. p. 75-89.
- POMPERMAYER, P.; LOPES, A. R.; TERRA, W. R.; PARRA, J. R. P.; FALCO, M. C. F.; SILVA-FILHO, M. C. Effects of soybean proteinase inhibitor on development, survival and reproductive potential of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.99, p.79-85, 2001.
- PRIMAVESI, A. M. Práticas de proteção de plantas em um contexto holístico. In: ABREU JR., H. (Coord.) **Práticas alternativas de controle de pragas e doenças na agricultura**. Campinas: Emopi, 1998. p. 1-9.
- RAGA, A.; SATO, M. E.; CERAVOLO, L. C.; ROSSI, A. C. Effect of acaricides to *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) and predaceous mites in citrus trees. **Journal of Animal, Plant and Environmental Protection**, v.64, n.2, p.57-62, 1997
- REIS, P. R.; CHAGAS, S. J. R. Relação entre o ataque do ácaro –plano e da mancha-anular com indicadores da qualidade do café. **Ciência Agrotécnica**, v.25, n.1, p.72-76, 2001.
- RESENDE, A. M.; FRANÇA, F. H.; CASTELO BRANCO, M.; ROSSI, P. E. F.; SOUZA, A. F. Efeito da consorciação de culturas, adubação química e orgânica, e do uso de biofertilizantes e inseticidas, sobre as pragas da batata. **Horticultura Brasileira**, v.5, n.1, p.12-14, 1987.
- RODELLAS, A. A; BORGES, M. T. M. R. **Manual básico para o setor sucro-alcooleiro**. Piracicaba: Coopesucar, 1989. 225p.
- RODRIGUES, J. C. V. Leprose de citrus: relação vetor x patógeno. In OLIVEIRA, C. A. L.; DANADIO, L. C. (Ed.) **Leprose dos citros**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. p. 119-129

- RODRIGUES, J.C.V. Relações patógeno-vetor-planta no sistema leprose dos citros. Piracicaba, 2000. 168p. Tese (Doutorado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.
- RODRIGUES, J. C. V.; NOGUEIRA, N. L. Occurrence of *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) on *Ligustrum lucidum* (Oleaceae) associated with *Ligustrum ringspot*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.25, n.2, p.334-344, 1996.
- RODRIGUES, J. C. V.; MOON, D. H.; MACHADO, M. A. Variabilidade genética entre populações de *Brevipalpus phoenicis* G. (Acari: Tenuipalpidae), através de marcadores RAPD. **Brazilian Journal of Genetics**, v.19, n.3, p.280, 1996.
- RODRIGUES, J. V. C.; NOGUEIRA, N. L.; FREITAS, D. S. Ringspot of *Ligustrum lucidum* Aiton., a new disease transmitted by *Brevipalpus phoenicis* G. (Acari: Tenuipalpidae), in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.292, 1995b.
- RODRIGUES J.C.V; ROSSETTI M.A; MACHADO J.; TEÓFILO SOBRINHO, J; NOGUEIRA, N. L. Lagarta minadora dos citros: Um fator do aumento de pragas e cancro cítrico. **Laranja** v.19, n.1, p.49-60, 1998.
- ROJAS, L. A. Control biológico de ácaros fitófagos en diferentes cultivos. In: CURSO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO Y APLICACIÓN DE MEDIOS BIOLÓGICOS PARA LA SANIDAD VEGETAL. <http://codagea.edoags.gob.mx/~produce/acarbio.htm>, (18 Dez. 2001).
- ROSSETI, V.; COLARICCIO, A.; CHAGAS, C. M.; SATO, M. E.; RAGA, A. Leprose dos citros. **Boletim Técnico do Instituto Biológico**, n.6. p.5-27, 1997.
- ROSSETI, V.; LASCA, C. C.; NEGRETTI, S. New development regarding leprosis and zonal chlorosis of citrus. In: INTERNATIONAL CITRUS SYMPOSIUM, 1., Riverside, 1969. **Proceedings**. Riverside: University of California, 1969. v.3, p.1453-1456.

- SANTOS, A. C. V. Efeitos nutricionais e fitossanitários do biofertilizante líquido a nível de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.13, n.4, p.275-279, 1991.
- SANTOS, A. C. V. **Biofertilizante líquido**: o defensivo agrícola da natureza. Niterói: EMATER-Rio, 1992. 16p. (Agropecuária Fluminense, 8.)
- SANTOS, C. A. V. Ação múltipla do biofertilizante líquido como ferti e fitoprotetor em lavouras comerciais. In: HEIN, M. (Org.) **Processos de proteção de plantas**: controle ecológico de pragas e doenças. Botucatu: Agroecológica, 2001. 196p.
- SANTOS A. C. V.; CASTRO C. M.; AKIBA, F. Fungistatic and bacteriostatic action of biofertilizer “VAIRO” against some plant pathogens. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE, 9., São Paulo, 1992. **Anais**. São Paulo: INFOAN, 1992. p.159.
- SANTOS, A. C. V.; AKIBA, F. **Biofertilizantes líquidos**: uso correto na agricultura alternativa. Seropédica: UFRRJ; Impr. Univer., 1996. 35p.
- SANTOS, A. C. V.; SAMPAIO, H. N. Efeito do biofertilizante líquido obtido da fermentação anaeróbica do esterco bovino, no controle de pragas prejudiciais à lavoura de citros. In: SEMINÁRIO BIENAL DE PESQUISA, 6, Seropédica, 1993. **Resumos**. Seropédica: UFRRJ, 1993. 78p.
- SAS INSTITUTE. **Users guide**: version. 7 ed. Cary, 1998. 1028p.
- SATO, M. E.; RAGA, A.; CERAVOLO, L. C.; ROSSI, A. C. POTENZA, M. R. Effects of acaricides on *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) and on arthropod fauna in citrus. **Journal of Animal, Plant and Environmental Protection**, v.61, n.1-2, p.9-15, 1994.

- SCARPELLINI, J. R.; SANTOS, J. C. C. Effect of acaricides against the leprosis mite *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) on citrus orchard of Bebedouro, state of São Paulo. **Journal of Animal, Plant and Environmental Protection**, v.66, n.1, p.15-19, 1999.
- SCHOONHOVEN, L. M; JERMY, T.; VAN LOON, J. A. A. **Insect-Plant Biology**. London: Chapman & Hall, 1998. 428p.
- SEIXAS, J.; FOLLE, S.; MACHETTI, D. **Construção e funcionamento de biodigestores**. Brasília: Embrapa, DID, 1980. 60p. (Embrapa, CPAC. Circular Técnica, 4).
- SILVA-FILHO, M. C.; FALCO, M. C. Interação planta inseto - Adaptação dos insetos aos inibidores de proteinases produzidos pelas plantas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.3, n.12, p.14-18, 2000.
- SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILA NOVA, N. A. **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo: Agronômica Ceres. 1976. 419p.
- SMITH MEYER, M. K. P. **The Tenuipalpidae (Acari) of Africa with keys to the world fauna**. Republic of South Africa: Department Agriculture Technology Service, 1979. 135 p. (Entomology Memoir 50).
- SOARES, J. F.; COLOSIMO, E. A. Métodos estatísticos na pesquisa clínica. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 40; SIMPÓSIO DE ESTATÍSTICA APLICADA À EXPERIMENTAÇÃO AGRONÔMICA, 6., Ribeirão Preto, 1995. **Anais**. Ribeirão Preto: USP, 1995. 105p.
- SOUTHWOOD, T. R. E. **Ecological methods with particular reference to the study of insect populations**. 2. ed. London: Chapman and Hall, 1978. 500 p.

- SUDOI, V. Effect of plant nutrients on incidence of red crevice mites (*Brevipalpus phoenicis*). In: **TEA RESEARCH FOUNDATION OF KENYA. Annual report**, Nairobi, 1993. p.177-178.
- SUDOI, V.; KHAEMBA, B.M.; WANJALA, F.M.E. Influence of soil applied nitrogen (NPKS 25:5:5:5) on *Brevipalpus phoenicis* Geijskes (Acari: Tenuipalpidae) mite incidence and damage symptoms on tea. **Annals of Applied Biology**. v.128, p.13-19, 1996.
- SUDOI, V.; KHAEMBA, B.M.; WANJALA, F. M. E. Nitrogen fertilization and yield losses of tea to red crevice mite (*Brevipalpus phoenicis*) Geijskes (Acari: Tenuipalpidae) in the Eastern Highlands of Kenya. **International Journal of Pest Management**, v.47, n.3 p.207-210, 2001.
- SZTERN, D.; PRAVIA, M. A. **Manual para la elaboración de compost bases conceptuales y procedimientos**. Montevideo: Organización Panamericana de la Salud, 1999. 67p.
- TAMAI, M.A., MORAES G.J. DE, SILVA C. A.D; NUNES, A.M. Suitability of *Brevipalpus obovatus* as prey to *Neoseiulus idaeus* (Acari: Tenuipalpidae, Phytoseiidae) on cassava. **Systematic and Applied Acarology**, v.2, p.101-106, 1997
- TOKESHI, H. Doenças e pragas agrícolas geradas e multiplicadas pelos agrotóxicos. **Cultivar**, v.4, n.39, p.17-24, 2002.
- TRATCH, R.; BETTIOL, W. Efeito de biofertilizante sobre o crescimento micelial e a germinação de esporos de alguns fungos fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, n.11, p.1131-1139, 1997.
- TRINDADE, M. L. B.; CHIAVEGATO, L. G. Caracterização biológica dos ácaros *Brevipalpus obovatus*, D., *B. californicus* B. e *B. phoenicis* G. (Ácari: Tenuipalpidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.23, n.2, p.189-195, 1994.

- VARGAS, A. M. **El biol**: fuente de fitoestimulantes en el desarrollo agrícola. Programa Especial de Energías. Cochabamba: Bolivia: UMSS, GTZ, 1990. 79p.
- VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. In: GUEDES, J. V. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. (Ed.). **Bases técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM, CCR, DFS, 2000. 248p.
- WALD, A. Tests of statistical hypothesis concerning several parameters when the number of observations is large. **Transaction of the American Mathematical Society**. v.54, p.426-482. 1943.
- WEEKS, A. R.; MAREC, F.; BREEUWER, J. A. J. A mite species that consists entirely of haploid females. **Science**, v.292, p.24-81, 2001.
- WERMELINGER, B.; OERTLI, J.J.; DELUCCHI, V. Effect of plant nitrogen fertilization on biology of the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v.38, p.23-28, 1985.