

**RESISTÊNCIA DE *Brevipalpus phoenicis* (GEIJSKES, 1939)  
(ACARI: TENUIPALPIDAE) AO ACARICIDA HEXITIAZOX EM  
CITROS**

**FERNANDO JOLY CAMPOS**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área de Concentração: Entomologia

**PIRACICABA**  
Estado de São Paulo - Brasil  
Dezembro - 2001

**RESISTÊNCIA DE *Brevipalpus phoenicis* (GEIJSKES, 1939)  
(ACARI: TENUIPALPIDAE) AO ACARICIDA HEXITIAZOX EM  
CITROS**

**FERNANDO JOLY CAMPOS**

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. Celso Omoto

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área de Concentração: Entomologia

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Dezembro - 2001

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

Campos, Fernando Joly  
Resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes 1939) (Acari : Tenuipalpidae) ao acaricida hexitiazox em citros /  
Fernando Joly Campos. - - Piracicaba, 2001.  
61 p.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2001.  
Bibliografia.

1. Acaro 2. Citricultura 3. Leprose 4. Manejo integrado 5. Resistência ao acaricida I. Título

CDD 634.3

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

Aos meus pais

Gregório e Maria Madalena

Ofereço

Aos meus irmãos Fábio e Beatriz

e à minha avó Amélia

Dedico

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Celso Omoto pelo apoio, incentivo, orientação na realização desse trabalho, e pelas oportunidades que me foram dadas.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Entomologia da ESALQ/USP pelos valiosos ensinamentos transmitidos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela concessão da bolsa de estudo para a realização desse trabalho.

Ao Fundo de Defesa da Citricultura - Fundecitros e à Fischer Agropecuária S.A. pelo apoio ao projeto .

Aos engenheiros agrônomos e colegas do "Laboratório de Resistência de Artrópodes a Pesticidas", Cláudio Roberto Franco, Eloisa Salmeron, Everaldo Batista Alves, Marcelo Poletti, Marina Regina Frizzas e Roberto Hiroyuki Konno pela amizade, companheirismo e colaboração.

Aos amigos do Setor de Entomologia pelo apoio e pelo incentivo.

À Andresa Fernanda Rizzo pelo apoio, compreensão e amizade.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	vii
SUMMARY.....	ix
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Aspectos taxonômicos de <i>Brevipalpus phoenicis</i> .....	4
2.2 Aspectos bioecológicos de <i>Brevipalpus phoenicis</i> .....	5
2.3 Resistência de ácaros a acaricidas.....	7
2.3.1 Fatores que afetam a evolução da resistência de ácaros a acaricidas.....	8
2.3.2 Casos de resistência de ácaros a hexitiazox.....	12
2.4 Manejo da resistência de ácaros a acaricidas.....	14
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 Coleta e criação de <i>Brevipalpus phoenicis</i> em laboratório.....	19
3.2 Método de bioensaio.....	20
3.3 Efeito da idade de ovos de <i>Brevipalpus phoenicis</i> na suscetibilidade ao hexitiazox.....	21
3.4 Caracterização da linha básica de suscetibilidade de <i>Brevipalpus</i> <i>phoenicis</i> a hexitiazox.....	22
3.5 Detecção e caracterização da resistência de <i>Brevipalpus phoenicis</i> a hexitiazox.....	23

3.6 Monitoramento da suscetibilidade de populações de <i>Brevipalpus</i> <i>phoenicis</i> a hexitiazox.....	24
3.6.1 Região de Barretos, Estado de São Paulo.....	24
3.6.2 Diferentes regiões citrícolas dos Estados de São Paulo e Minas Gerais...	25
3.7. Dinâmica da resistência de <i>Brevipalpus phoenicis</i> a hexitiazox em condições laboratoriais.....	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.1 Efeito da idade de ovos de <i>Brevipalpus phoenicis</i> na suscetibilidade ao hexitiazox.....	27
4.2 Caracterização da linha básica da suscetibilidade de <i>Brevipalpus</i> <i>phoenicis</i> a hexitiazox.....	31
4.3 Detecção e caracterização da resistência de <i>Brevipalpus phoenicis</i> a hexitiazox.....	33
4.4 Monitoramento da suscetibilidade de populações de <i>Brevipalpus</i> <i>phoenicis</i> a hexitiazox.....	37
4.4.1 Região de Barretos, Estado de São Paulo.....	37
4.4.2 Diferentes regiões citrícolas dos Estados de São Paulo e Minas Gerais...	41
4.5 Dinâmica da resistência de <i>Brevipalpus phoenicis</i> a hexitiazox em condições laboratoriais.....	44
4.6 Considerações finais.....	47
5 CONCLUSÕES.....	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

**RESISTÊNCIA DE *Brevipalpus phoenicis* (GEIJSKES, 1939) (ACARI: TENUIPALPIDAE) AO ACARICIDA HEXITIAZOX EM CITROS**

Autor: Fernando Joly Campos

Orientador: Prof. Dr. Celso Omoto

**RESUMO**

O objetivo desse trabalho foi o de coletar informações básicas para a implementação de um programa de manejo da resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) ao acaricida hexitiazox na cultura de citros. A suscetibilidade de ovos de *B. phoenicis* a hexitiazox foi avaliada através de um bioensaio de contato direto. Foi verificado que há efeito da idade de ovos de *B. phoenicis* na suscetibilidade, sendo que ovos no início do desenvolvimento embrionário (1 a 3 dias) foram menos tolerantes a hexitiazox do que ovos de 4 a 9 dias de idade. A  $CL_{50}$  estimada para a população suscetível de referência (linhagem S) foi de 0,89 mg de hexitiazox/L de água (IC 95% 0,75-1,03). Para o isolamento da resistência de *B. phoenicis* a hexitiazox (linhagem R), um trabalho de seleção em condições laboratoriais foi realizado a partir de uma população coletada em um pomar de citros da região de Barretos-SP, onde o uso de hexitiazox tinha sido intenso e falhas no controle do ácaro haviam sido reportadas com esse acaricida. A intensidade da resistência de *B. phoenicis* a hexitiazox foi maior que 10.000 vezes. Concentrações discriminatórias entre 10 e 320 mg de hexitiazox/L de água foram definidas para um programa de monitoramento da resistência de *B. phoenicis* ao hexitiazox. Resultados do levantamento da suscetibilidade a hexitiazox em populações de *B. phoenicis* provenientes de diferentes pomares dos Estados de São



Paulo e Minas Gerais revelaram uma grande variabilidade na frequência de resistência. Não foi observada relação entre o regime de uso do hexitiazox e a frequência de resistência. Estudos da dinâmica da resistência em laboratório revelaram que a resistência de *B. phoenicis* a hexitiazox é estável, isto é, a frequência de resistência não diminui significativamente na ausência de pressão de seleção. Portanto, os resultados obtidos no presente trabalho indicam a necessidade de implementação imediata de estratégias de manejo da resistência de *B. phoenicis* a hexitiazox para a prolongar a vida útil desse acaricida.

**RESISTANCE OF *Brevipalpus phoenicis* (GEIJSKES, 1939) (ACARI: TENUIPALPIDAE) TO THE ACARICIDE HEXYTHIAZOX IN CITRUS**

Author: Fernando Joly Campos

Adviser: Prof. Dr. Celso Omoto

**SUMMARY**

The objective of this study was to collect baseline information for implementing an acaricide resistance management program of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) to hexythiazox in citrus. The egg susceptibility of *B. phoenicis* to hexythiazox was measured by a direct contact bioassay. It was observed a significant effect of the egg developmental stage on susceptibility; that is, 1 to 3-day old eggs were less tolerant to hexythiazox than 4 to 9-day old eggs. The estimated LC<sub>50</sub> for the S strain was 0.89 mg of hexythiazox/L of water (95% CI 0.75-1.03). To isolate hexythiazox-resistant *B. phoenicis*, a laboratory selection was conducted with a field population collected in a citrus grove located in Barretos-SP, where the intensity of hexythiazox use was high and field failures in the control of *B. phoenicis* were reported with the use of this acaricide. The intensity of resistance was greater than 10,000-fold. Discriminating concentrations between 10 and 320 mg of hexythiazox/L of water were defined for monitoring the resistance of *B. phoenicis* to hexythiazox. Results from a survey of susceptibility of *B. phoenicis* populations collected from citrus groves located in the State of São Paulo and Minas Gerais revealed a great variability in the frequency of resistance. No correlation was observed between the intensity of hexythiazox use and the

frequency of resistance. Studies on dynamics of resistance showed that the resistance of *B. phoenicis* to hexythiazox is stable under laboratory conditions; that is the frequency of resistance did not decline significantly in the absence of selection pressure. Therefore, results obtained herein indicate the urgent need to implement resistance management strategies of *B. phoenicis* to hexythiazox in order to prolong the lifetime of this acaricide.

## 1 INTRODUÇÃO

O ácaro-da-leprose dos citros, *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939), é uma das principais pragas da cultura de citros no Estado de São Paulo, causando sérios riscos à produção, principalmente devido ao seu efeito como vetor do vírus da leprose (Chiavegato et al., 1982; Oliveira, 1986; Gravena, 1994). Essa doença é causada por um rbdovírus de ação localizada que afeta frutos, folhas, ramos e caules (Knorr & Denmark, 1970; Kitajima et al., 1995), e pode comprometer seriamente a produtividade da planta atacada e a sua vida útil (Guirado & Silverio, 1992).

Dentre as táticas de controle do ácaro-da-leprose, o principal método para manter sua densidade populacional a níveis abaixo do dano econômico tem sido a intervenção química (Omoto, 1995b). Devido às características da doença, é comum o citricultor realizar 2 a 3 aplicações de acaricidas ao longo do ano para manter a população abaixo do nível de dano, que varia de 10 a 15% dos frutos amostrados contendo o ácaro da leprose (Gravena, 1994). Em 1999 foram gastos mais de 70 milhões de dólares com acaricidas na citricultura brasileira, o que corresponde a aproximadamente 18% do custo de produção, e cerca de 85 a 90% dos acaricidas comercializados no Brasil (Neves et al., 2001).

Em programas de manejo integrado de pragas (MIP) na cultura de citrus, o uso do acaricida hexitiazox tem sido bastante grande. Dados obtidos através do Painel de Empresas de 1998 revelaram que aproximadamente 15% da área tratada com acaricidas em citrus foi com hexitiazox. Atualmente esse acaricida tem sido muito utilizado em mistura com acaricidas adulticidas.

Problemas no controle do ácaro-da-leprose com hexitiazox (e outros acaricidas recomendados na cultura de citros) têm sido constatados por agricultores e técnicos da área citrícola. Essas falhas têm sido manifestadas através do encurtamento do período residual dos acaricidas, fazendo com que a população do ácaro aumente rapidamente após a pulverização. Falhas no controle podem estar associadas a diversos fatores, tais como: calibragem deficiente dos equipamentos utilizados em pulverizações, aplicação com alta densidade populacional da praga, não obediência por parte do agricultor às recomendações do rótulo do produto (dose), aplicação sob condições meteorológicas desfavoráveis e desenvolvimento da resistência. Omoto et al. (2000) detectaram e caracterizaram a resistência de *B. phoenicis* ao acaricida dicofol, demonstrando que a resistência é um problema que deve ser manejado.

Hexitiazox é um acaricida pertencente ao grupo químico carboxamida, sendo um produto de ação ovicida, mas também atuando sobre larvas, protoninfas e deutoninfas, além de ter efeito esterilizante sobre fêmeas adultas (Aveyard et al. 1986; Welty et al. 1988). Historicamente, ácaros têm desenvolvido resistência mais rapidamente para acaricidas ovicidas (Hoyt, 1969). Este grupo tem sido bastante utilizado por apresentar uma certa seletividade a inimigos naturais (Herron & Rophail, 1993a). O mecanismo de ação do hexitiazox é ainda desconhecido, mas acredita-se que o produto atue na síntese de quitina.

O manejo da resistência de pragas a pesticidas constitui-se num importante componente do MIP e vice-versa (Metcalf, 1980; Georghiou, 1983), no entanto a preocupação com o problema da resistência geralmente tem ocorrido após a constatação de falhas no controle de uma praga com o uso de um determinado produto químico (Croft, 1990). Dentre as conseqüências do desenvolvimento de resistência das pragas estão a aplicação mais freqüente de pesticidas, aumento na dose do produto e substituição por um outro produto, geralmente de maior toxicidade (Georghiou, 1983; Georghiou & Taylor, 1986); o que tem comprometido os princípios do MIP, devido a uma maior contaminação do meio ambiente com pesticidas, maior destruição de organismos benéficos e elevação dos custos de controle da praga. Sabe-se também que a descoberta e o desenvolvimento de uma nova molécula química têm se tornado cada vez

mais difícil e cara, o que aumenta a necessidade de se prolongar a vida útil dos produtos atualmente utilizados.

Os trabalhos de detecção e monitoramento da resistência de *B. phoenicis* a acaricidas são fundamentais para a implantação de estratégias de manejo da resistência. Portanto, o objetivo principal desse trabalho foi o de coletar informações básicas para um programa de manejo da resistência de *B. phoenicis* ao acaricida hexitiazox através do desenvolvimento de técnicas de bioensaio para a detecção da resistência, caracterização da resistência para a estimativa da intensidade da resistência e definição de concentrações discriminatórias para programas de monitoramento da resistência. Também foram conduzidos experimentos para avaliar a dinâmica da resistência de *B. phoenicis* ao hexitiazox em condições laboratoriais através de um acompanhamento da frequência de resistência no decorrer do tempo, na ausência de pressão de seleção.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aspectos taxonômicos de *Brevipalpus phoenicis*

O ácaro-da-leprose *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) pertence à família Tenuipalpidae, superfamília Tetranychoidae, sub-ordem Prostigmata, classe Arachnida e subclasse Acari. O gênero *Brevipalpus* Donnadieu, 1875 tem sido separado em dois grupos de acordo com o número de setas marginais no histerossoma. O maior grupo tem seis pares de setas e contém 46 espécies incluindo *B. californicus* (Banks). O outro grupo apresenta apenas cinco pares de setas marginais no histerossoma e contém nove espécies, incluindo *B. phoenicis* e *B. obovatus* Donnadieu (González, 1975). Estes grupos também podem ser divididos através do número de setas sensoriais (solenídias) na parte distal do tarso II. González (1975) e Oomen (1982) documentaram que apenas *B. phoenicis* possui a combinação de cinco pares de setas histerossomais marginais e 2 solenídias, porém em 1975, González descreveu mais quatro novas espécies com esses mesmos caracteres (*B. phoenicoides*, *B. cortesi*, *B. araucanus* e *B. tarus*), 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 da seta propodossomal.

## 2.2 Aspectos bioecológicos de *Brevipalpus phoenicis*

*Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939), também denominado de ácaro plano ou ácaro-da-leprose dos citros, teve suas espécimes originais coletadas em *Phoenix* sp em casas-de-vegetação na Holanda em 1939 (Gonzáles, 1975). Haramoto (1969) constatou que o maior número de relatos desse ácaro ocorre em áreas próximas dos trópicos, onde as condições climáticas e a abundância de hospedeiros favorecem a sua ocorrência (Gonzáles, 1975). *B. phoenicis* é uma espécie cosmopolita, ocorrendo em diversas plantas hospedeiras, sendo relacionados mais de 80 gêneros de plantas como hospedeiras deste ácaro, sendo citros o principal hospedeiro (Chiavegato & Mischian, 1987). *B. phoenicis* é considerado também uma importante praga para as culturas de chá, café, algodão e frutíferas decíduas e tropicais. Trindade & Chiavegato (1994) detectaram *B. phoenicis* em 34 espécies de plantas hospedeiras no Estado de São Paulo, incluindo plantas cultivadas, ornamentais e plantas daninhas, sendo que muitas dessas são comumente encontradas em pomares de citros.

O ciclo de vida de *B. phoenicis* é constituído pelas fases de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto, sendo que cada ínstar é dividido pelas fase de quiescência e alimentação (Flechtmann, 1977). O ácaro-da-leprose se reproduz principalmente por partenogênese telítoca, isto é, fêmeas não fecundadas dão origem a fêmeas idênticas à progenitora (Helle, 1980), existindo também reprodução sexuada, através do concurso de machos que são relativamente raros na população (cerca de 1%). Estudos conduzidos por Weeks et. al. (2001) mostraram que *B. phoenicis* encontra-se na natureza exclusivamente na forma haplóide, isto é, possuem dois cromossomos que são geneticamente distintos, não havendo cromossomos homólogos, e que essa anomalia é causada pela infecção por uma bactéria endossimbiótica que resulta na feminilização dos machos.

Oliveira (1986) estudando a flutuação populacional de *B. phoenicis* nos pomares de citros do Estado de São Paulo, constatou que a densidade populacional desse ácaro começa a aumentar a partir dos meses de março-abril, que corresponde ao período de



diminuição das precipitações, e o pico populacional ocorre no período de setembro-outubro, diminuindo com o aumento das precipitações (novembro-dezembro).

Um fator importante nas preferências de substrato pelo ácaro-da-leprose é a verrugose dos citros, que é uma doença causada pelo fungo *Elsinoe fawcetti* Bitancourt & Jenkins, que forma uma placa rugosa na superfície do fruto (Knorr & Denmark, 1970; Nakano et al., 1987; Albuquerque et al., 1995; Barreto & Pavan, 1995). O ácaro, quando criado em frutos com verrugose, apresentou maior número de sobreviventes, maior número de ovos e menor número de ácaros mortos naturalmente e na barreira de cola, quando comparados com frutos sadios (Nakano, et al., 1987).

Diversos pesquisadores estudaram a biologia de *B. phoenicis* (Haramoto, 1969; Lal, 1978; Chiavegato, 1986; Trindade, 1990; Trindade & Chiavegato, 1994 e Alves, 1999). Os principais fatores que afetam o desenvolvimento desse ácaro são a temperatura e o hospedeiro. Chiavegato (1986) estudou a biologia sobre frutos das variedades Pêra Rio e Valência nas temperaturas de 20, 25 e 30 ± 1°C, umidade relativa de 60 ± 10% e 14 horas de fotofase, e folhas da variedade Pêra Rio apenas na temperatura de 30°C, e observou que o desenvolvimento do ácaro foi mais rápido em frutos, quando comparado com o desenvolvimento em folhas. A redução da temperatura levou a um aumento na duração do ciclo biológico desse ácaro, concordando com estudos de Haramoto (1969) e Lal (1978). Em estudo da biologia em frutos, Chiavegato (1986) observou que com o aumento da temperatura ocorreu um desenvolvimento mais rápido, e o número de ovos aumentou significativamente. As maiores viabilidades da fase larval (caracterizada como fase crítica) foram observadas a 25°C. Nessa temperatura, o desenvolvimento de ovo a adulto foi de 19,20 dias, sendo inferior ao obtido à temperatura de 20°C cujo valor médio foi de 43,47 dias e bastante próximo ao obtido à temperatura de 30°C, que foi de 14,37 dias.

Haramoto (1969) também estudou o efeito da temperatura sobre o desenvolvimento de *B. phoenicis*, utilizando frutos de mamão como substrato. Nesse trabalho observou-se que o desenvolvimento foi reduzido nas temperaturas mais elevadas, sendo que nas temperaturas superiores a 30°C, a sobrevivência foi menor, bem

como nas temperaturas abaixo de 20°C. Já na temperatura de 25°C, e umidade relativa de 65 a 70%, o ciclo foi completado em 25 dias.

Chiavegato & Mischán (1987) estudaram o comportamento do ácaro *B. phoenicis* em frutos de diferentes variedades cítricas (Valência, Tangor Murcote, Limão Taiti, Limão Siciliano e Lima da Pérsia), e constataram que frutos das variedades Valência e Tangor Murcote apresentaram-se como os mais favoráveis ao desenvolvimento do ácaro.

### **2.3 Resistência de ácaros a acaricidas**

Resistência pode ser definida como a habilidade de uma população de um organismo em tolerar doses de uma substância tóxica que é letal para a maioria dos indivíduos normais (suscetíveis) dessa mesma espécie (Organização Mundial da Saúde, citado por Croft & Van der Bann, 1988). O desenvolvimento da resistência é um exemplo de evolução.

Os casos de pragas resistentes tem aumentado exponencialmente ao longo das décadas, após a introdução dos inseticidas organo-sintéticos ao redor do início da década de 40. No início da década de 90, pelo menos 504 espécies de insetos e ácaros têm desenvolvido linhagens resistentes a pelo menos um pesticida. Dessas 504 espécies, 23 espécies são benéficas e 481 prejudiciais, sendo que 283 são de importância agrícola e 198 de importância médico-veterinária. Os ácaros representam 14% dos casos de resistência detectados (Georghiou & La gunes-Tejeda, 1991).

O primeiro relato de resistência de ácaros ocorreu em 1937 com a detecção de uma linhagem de *Tetranychus urticae* Koch resistente a um composto à base de selênio. Falhas no controle de ácaros tetraniquídeos com acaricidas organofosforados (paration e TEPP) foram relatadas na Europa e nos Estados Unidos ao redor de 1950, após 2 a 3 anos de uso em cultivos protegidos. Já em 1950, *T. urticae* resistente aos organofosforados era comum em culturas de rosas tanto nos Estados Unidos quanto na Europa (Cranham & Helle, 1985). A resistência tem sido constatada para quase todos os acaricidas, como dicofol, tetradifon e outros (Croft & Van der Bann, 1988; Messing &

Croft, 1996), incluindo os mais modernos, como é o caso do hexitiazox (Edge et al.<sup>1</sup>, citados por Welty et al., 1989).

### 2.3.1 Fatores que afetam a evolução da resistência de ácaros a acaricidas

O fator principal que afeta o desenvolvimento da resistência é a pressão de seleção exercida pelo uso contínuo de um determinado produto químico, ou de produtos com resistência cruzada. Quanto maior é a pressão de seleção, mais rapidamente se dá o desenvolvimento da resistência (Crow, 1957). No início da evolução da resistência, vários pesquisadores têm assumido que a frequência de alelos resistentes varia entre  $10^{-2}$  e  $10^{-13}$ , portanto os indivíduos resistentes em uma determinada população são extremamente raros (Roush & McKenzie, 1987).

Georghiou & Taylor (1977a,b) dividiram os fatores que afetam a evolução da resistência em: genéticos, bioecológicos e operacionais.

Os fatores genéticos estão relacionados com a frequência inicial dos alelos resistentes, ao número de alelos envolvidos na resistência, no padrão de herança da resistência e na vantagem ou desvantagem adaptativa dos indivíduos resistentes (Roush & McKenzie, 1987). Segundo Helle (1980), *B. phoenicis* apresenta um reduzido número de cromossomos ( $n=2$ ). Sendo assim, a pressão de seleção com um determinado produto pode aumentar a proporção de genótipos resistentes de maneira rápida e pode também, em teoria, aumentar a probabilidade de ocorrer indivíduos com dois ou mais mecanismos de resistência (resistência múltipla) (Omoto, 1995a).

Os indivíduos com genótipos resistentes podem apresentar desvantagens adaptativas em relação a indivíduos com genótipo suscetível na ausência da pressão de seleção, porém essa desvantagem pode ser muito pequena (Georghiou, 1972; Roush & McKenzie, 1987). Essa desvantagem adaptativa ocorre no início da evolução da resistência, pois poderá ocorrer um processo de coadaptação que diminuirá essas

---

<sup>1</sup> EDGE, V.E.; ROPHAIL, J.; JAMES, D.G. 1987. Acaricide resistance in twospotted mite, *Tetranychus urticae* in Australian horticultural crops, pp.29-30. In: W. THWAITE (Ed.), Proceedings of the symposium on mite control in horticultural crops, Orange Agricultural College, N.S.W., Australia.

desvantagens com o passar do tempo (McEnroe & Naegele, 1968). Porém, Roush & McKenzie (1987) afirmaram que essa coadaptação em campo não é comum. Existindo esse custo adaptativo dos indivíduos resistentes, o restabelecimento da suscetibilidade poderia ser observado em situações onde um determinado produto não é utilizado por um certo período de tempo.

Omoto et al. (1995) estudaram a dinâmica da resistência do ácaro-da-falsa-ferrugem *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead) (Acari: Eriophyidae) resistente ao acaricida dicofol, e observaram que a frequência de resistência diminuiu com a interrupção do uso do acaricida devido ao custo adaptativo da linhagem resistente. Alves (1999) estudou a biologia das linhagens de *B. phoenicis* suscetível e resistente ao dicofol, e constatou que a população resistente apresentava menor fecundidade e longevidade em relação à linhagem suscetível, e portanto, essa desvantagem adaptativa poderia ser explorada no manejo da resistência desse ácaro ao dicofol.

Herron & Rophail (1993c) estudaram o efeito da resistência aos acaricidas clofentezina e hexitiazox nos atributos biológicos do ácaro *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e observaram que a média de ovos produzidos pela linhagem resistente foi muito maior do que pela linhagem suscetível, considerando que o elevado número de ovos produzidos pela linhagem resistente pode evidenciar a ocorrência de coadaptação.

Yamamoto et al. (1995b) estudaram a influência da resistência do ácaro-vermelho-dos-citros *Panonychus citri* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) ao hexitiazox nos parâmetros biológicos, e observaram a presença de uma desvantagem reprodutiva para os ácaros resistentes ao hexitiazox, no entanto essa desvantagem foi muito pequena.

Os principais fatores bioecológicos que influenciam a evolução da resistência são: modo de reprodução, número de gerações por ano, taxa de reprodução, mobilidade da espécie, hábito alimentar, presença de refúgio para a população suscetível e presença de inimigos naturais efetivos da praga (Georghiou & Taylor, 1977a).

Dentro dos fatores bioecológicos, um importante aspecto que afeta o desenvolvimento da resistência em *B. phoenicis* é o seu modo de reprodução (Omoto, 1998). Segundo Helle (1980), *B. phoenicis* é haplóide e se reproduz, principalmente,

por partenogênese telítoca do tipo automítica, sendo assim todos os descendentes originados de ovos não fertilizados serão idênticos à progenitora. Sendo assim, se a progenitora de *B. phoenicis* for resistente, todos os seus descendentes também apresentarão essa característica, o que favorece a evolução da resistência.

O número de gerações por ano também apresenta grande importância, pois quanto maior o número de gerações por ano, mais rápida será a evolução da resistência (Georghiou & Taylor, 1977a). O ácaro-vermelho-europeu, *Panonychus ulmi* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae), apresenta mais de 10 gerações por ano, e a resistência a muitos grupos de acaricidas já tem sido detectada, porém outro ácaro que ataca frutos de diversas espécies de frutíferas de clima temperado, *Bryobia rubrioculus* (Scheuten, 1857) (Acari: Tetranychidae), por apresentar apenas uma geração por ano, não havia apresentado problemas de resistência (Georghiou & Taylor, 1986).

Espécies polífagas tendem a desenvolver resistência mais lentamente que espécies monófagas. Uma pequena parte de uma população de uma espécie polífaga pode ser exposta à pressão de seleção e também áreas não tratadas podem servir de refúgio para os indivíduos suscetíveis que podem imigrar para as áreas tratadas, causando assim uma diluição da resistência (Georghiou & Taylor, 1977a). De acordo com esses autores, o retardamento da evolução da resistência pode certamente resultar do fluxo constante de indivíduos suscetíveis de áreas não-tratadas para áreas tratadas, ajudando assim a evitar o rápido desenvolvimento da resistência. Como *B. phoenicis* é uma espécie polífaga, este é um fator importante a ser explorado em um programa de manejo da resistência a acaricidas, pois a imigração de indivíduos suscetíveis teoricamente diluiria a resistência em condições de campo, porém maiores estudos devem ser conduzidos para comprovar a existência de fluxo gênico.

Dennehy et al. (1990) estudaram a influência do hábito alimentar na dinâmica da resistência dos ácaros *T. urticae* e *P. ulmi* resistentes ao dicofol em pomares de maçã no Estado de Nova York - EUA, e observaram que a resistência de *T. urticae* era instável, enquanto que para *P. ulmi* era estável. Esses resultados podem ser explicados pela diferença de hábito alimentar dessas duas espécies, pois *T. urticae* possui hábito polífago, podendo ser encontrado em um grande número de espécies hospedeiras, assim

ácaros suscetíveis presentes em áreas não tratadas (refúgio) podem imigrar para as áreas tratadas, diluindo a frequência de resistência. Por outro lado, *P. ulmi* por ser monófago (atacando exclusivamente maçã), não apresenta área de refúgio para abrigar os indivíduos suscetíveis.

*Brevipalpus phoenicis* é uma espécie polífaga que pode ser encontrada em diversas plantas hospedeiras e daninhas que se encontram nas proximidades da cultura dos citros (Trindade & Chiavegato, 1994), portanto existe a possibilidade dessas plantas servirem como refúgio para os indivíduos suscetíveis, mas ainda necessita-se de estudos para certificar a ocorrência da movimentação de ácaros para as plantas de citros e avaliar a influência dessa imigração na dinâmica da resistência. Além disso, maiores estudos devem ser realizados para o entendimento da reprodução de *B. phoenicis* sobre a dinâmica da resistência (Omoto, 1998).

Grafton-Cardwell et al. (1991) estudaram a influência da dispersão sobre a dinâmica populacional e a frequência de resistência de ácaros tetraniquídeos infestando a cultura do algodão, e constataram que em duas áreas próximas a frequência de resistência foi similar devido à migração de ácaros de uma área para a outra, e em outras duas áreas com alta frequência de resistência ao acaricida dicofol ocorreu uma reversão da resistência devido à imigração de indivíduos suscetíveis de campos de algodão próximos onde a frequência de resistência era baixa.

Os fatores operacionais que favorecem a evolução da resistência estão ligados às características do produto químico (persistência, formulação, grupo químico e seletividade a inimigos naturais), e às características da aplicação (frequência de aplicação, nível de controle, estágio de desenvolvimento da praga, dose, modo de aplicação e estratégia de uso do produto) (Georghiou & Taylor, 1977b). Esses mesmos autores relataram que logo após a aplicação de um produto no campo, a dose aplicada geralmente é suficiente para controlar tanto os indivíduos suscetíveis quanto os resistentes, porém com o passar do tempo, há uma degradação do produto devido ao ambiente e se a degradação for rápida, todos os indivíduos dessa população estarão expostos a uma mesma concentração. Porém, se o produto for persistente, a degradação ocorrerá de forma mais lenta e gradual, havendo um momento em que a concentração do

resíduo será suficiente para matar os indivíduos suscetíveis mas não os resistentes, ocorrendo assim a seleção para a resistência.

Taylor & Georghiou (1982) estudaram, através de simulações utilizando populações hipotéticas de insetos, a influência da persistência de pesticidas com meia vida de 1, 2, 5 ou 10 dias na evolução da resistência, observando que produtos com meia-vida de 10 dias proporcionaram rápido desenvolvimento da resistência se comparado com produtos com meia-vida de um dia, concluindo que quanto maior a persistência dos produtos utilizados, mais rápida será a evolução da resistência.

Omoto et al. (1995) avaliaram o efeito do decréscimo da atividade biológica de resíduos de dicofol de diferentes idades sobre populações suscetível e resistente de *P. oleivora* ao dicofol. Neste estudo, foi aplicada uma concentração de 500 mg de dicofol/L de água, e os bioensaios sendo realizados diariamente estendendo-se até a avaliação de resíduo de 10 dias, os autores constataram que resíduos de até 2 dias causaram mortalidade de 100% das populações suscetível e resistente, porém para resíduo acima de 2 dias foi detectada uma maior mortalidade para a população suscetível.

### **2.3.2 Casos de resistência de ácaros a hexitiazox**

O acaricida hexitiazox vem sendo utilizado desde a metade da década de 80 nos Estados Unidos, Austrália e Europa para o controle de ácaros da família Tetranychidae, principalmente *Tetranychus urticae* e *Panonychus ulmi*, devido à eficiência no controle de ovos e formas jovens desses ácaros, e seletividade a inimigos naturais (Hoy & Ouyang, 1986; Welty et al., 1988). No Brasil esse acaricida vem sendo utilizado para o controle *Brevipalpus phoenicis* desde a segunda metade da década de 80 e continua sendo utilizado sozinho ou em mistura com acaricidas adulticidas. A ação desse acaricida é resultado combinado da atividade ovicida direta e da atividade residual sobre as formas jovens (Aveyard et al., 1986), sendo que a sua ação é similar ao acaricida clofentezina (Baillod et al., 1986; Hoy & Ouyang, 1986).

Aveyard et al. (1986) estudaram a atividade biológica de clofentezina sobre ovos e estágios móveis do ácaro *T. urticae* e verificaram que esse acaricida apresentava boa atividade sobre ovos, larvas e ninfas, e baixa atividade sobre adultos. Também constataram que o estágio mais suscetível é a de ovo, sendo 40-60 vezes mais suscetível se comparada com os estágios de larva e ninfa. Os autores verificaram que quanto mais próxima à eclosão da larva, menor a ação ovicida de clofentezina.

Estudos conduzidos por Welty et al. (1988, 1989) avaliaram o efeito de clofentezina sobre ovos de inverno do ácaro vermelho europeu *P. ulmi* de diferentes idades, e constataram que ovos tratados com 1 dia antes da eclosão foram mais tolerantes a clofentezina do que ovos tratados nos seus primeiros estágios de desenvolvimento.

Para *B. phoenicis*, Rodrigues & Machado (1999) relataram diferenças na suscetibilidade aos pesticidas ovicidas em ovos de diferentes idades, sendo sugerido possíveis mudanças morfológicas e fisiológicas envolvendo o estágio de ovo, sendo que ovos de até 3 dias de idade foram mais suscetíveis do que ovos de 5 a 8 dias. Esses autores estudaram a superfície dos ovos, utilizando microscopia eletrônica e observaram que ovos de até 3 dias após a oviposição apresentam carenas longitudinais, porém ovos de três ou mais dias após a oviposição apresentam uma estrutura cilíndrica na superfície do cório, sendo provavelmente uma estrutura ligada à respiração.

Yamamoto et al. (1995a) detectaram a existência de resistência cruzada entre a linhagem resistente de *P. citri* ao hexitiazox com os acaricidas clofentezina, flufenoxuron e flucicloxuron. Vários outros trabalhos têm mostrado a existência de resistência cruzada entre hexitiazox e clofentezina para os ácaros *T. urticae* (Gough, 1990; Keena et al., 1991; Herron et al., 1993) e *P. ulmi* (Thwaite, 1991), e entre esses dois acaricidas e flucicloxuron em *P. ulmi* (Grosscurt et al., 1994). A resistência ao hexitiazox em *T. urticae* foi documentada inicialmente na Austrália em 1987, após repetido uso de clofentezina em rosa, sendo a resistência conferida pela resistência cruzada com clofentezina, cuja intensidade de resistência foi maior que 2500 vezes (Edge et al.<sup>1</sup>, citados por Welty et al., 1989).



O efeito tóxico dos acaricidas hexitiazox e clofentezina podem persistir por até 30 dias (Pree et al., 1992), sendo a alta persistência um fator indesejável em um programa de manejo da resistência, por exercer uma maior pressão de seleção e, portanto, acelerando a evolução da resistência (Taylor & Georghiou, 1982; Roush, 1989). Chiavegato et al. (1993) observaram que o hexitiazox não foi efetivo sobre adultos, mas apresentou excelente, moderado e desprezível controle de ovos de *B. phoenicis*, sobre resíduos de 15, 30 e 45 dias, respectivamente.

Estudos conduzidos na Austrália em 1987 mostraram que ovos do ácaro rajado, *T. urticae*, apresentaram alta resistência a hexitiazox (> 1.000 vezes) após 20 ciclos de seleção em cultura de rosas (Gough, 1990).

Yamamoto et al. (1995c) selecionaram em laboratório uma linhagem de *P. citri* resistente ao hexitiazox, sendo que essa população foi originária de um pomar após 17 aplicações do referido acaricida, e posteriormente submetida a seis sucessivas seleções para resistência em laboratório. Os autores selecionaram para uma alta intensidade de resistência (> 24.000 vezes), se comparada com uma linhagem suscetível, e moderada (4.450 vezes) se comparada com a população original de campo.

Herron et al. (1993ab) estudaram alguns parâmetros biológicos (total de ovos produzidos, razão sexual, porcentagem de sobrevivência de ovo a adulto, longevidade e taxa de oviposição) de uma linhagem resistente de *T. urticae* a hexitiazox e mostraram que a linhagem resistente era tão adaptada quanto a linhagem suscetível, e que a intensidade de resistência foi de 695 vezes. Já Yamamoto et al. (1995b) estudando a resistência de *P. citri* a hexitiazox, verificaram que a linhagem resistente apresentava desvantagem adaptativa em relação a linhagem suscetível. Portanto, o custo adaptativo varia em função do organismo e produto avaliado.

## **2.4 Manejo da resistência de ácaros a acaricidas**

Segundo Metcalf (1990), o manejo da resistência a pesticidas é um importante componente do manejo integrado de pragas (MIP), e o controle químico ainda representa uma importante ferramenta para o MIP. A resistência não é apenas um problema para os

pesticidas utilizados atualmente para controle de pragas, mas pode também inviabilizar a utilização de novas moléculas através da resistência cruzada.

O MIP é uma prática consolidada na cultura de citros no Brasil, existindo vários estudos que buscam a maximização das táticas de controle de pragas, como estudo dos métodos de amostragem da densidade populacional dos ácaros (Gravena et al., 1988; Comenale Neto, 1995; Negri, 1994; Salva, 1994; Pinto et al., 1995) e dos inimigos naturais e seletividade de pesticidas (Komatsu & Nakano, 1988; Yamamoto, et. al., 1992; Gravena, 1994; Moraes et. al., 1994; Moraes & Sá, 1995; Sato et al., 1995; Reis, 1996). Sendo assim, para a implementação de um programa de manejo da resistência de pragas na cultura dos citros há necessidade dos conhecimentos das características bioecológicas da praga e das características dos produtos químicos, associadas ao modo de aplicação e estratégias de uso dos mesmos.

Georghiou (1983) dividiu as estratégias de manejo da resistência em três categorias: manejo por moderação, manejo por saturação e manejo por ataque múltiplo. O manejo por moderação consiste na diminuição da pressão de seleção com pesticidas, utilizando estratégias tais como: redução na frequência de aplicação dos produtos químicos, utilização de produtos seletivos, utilização de produtos menos persistentes, aplicação do produto na fase mais vulnerável da praga e preservação de refúgios para os indivíduos suscetíveis. O manejo por saturação tem como objetivo reduzir o valor adaptativo dos indivíduos resistentes na presença de pressão de seleção através da utilização de altas doses ou da utilização de sinergistas que atuam inibindo a desintoxicação através de enzimas específicas, reduzindo ou eliminando as vantagens dos indivíduos que possuem essas enzimas, isto é, os sinergistas bloqueiam a resistência metabólica. Por último, o manejo por ataque múltiplo envolve a utilização de dois ou mais produtos em rotação ou mistura.

O conceito de rotação é baseado na premissa de que a frequência de indivíduos resistente a um pesticida A pode declinar com a aplicação de um pesticida alternativo B, assumindo que indivíduos resistentes ao pesticida A são menos adaptados que os indivíduos suscetíveis na presença do pesticida B, isto é, o uso de rotação geralmente assume que uma substancial redução no valor adaptativo está associada com resistência

e que não existe resistência cruzada entre os pesticidas utilizados em rotação (Georghiou, 1983; Tabashnik, 1989). A imigração de indivíduos suscetíveis pode também diminuir a frequência de indivíduos resistentes, aumentando assim as chances de sucesso dessa estratégia (Georghiou, 1983; Roush & McKenzie, 1987).

O uso de mistura para retardar a resistência é baseada na premissa de que se a resistência para um composto é independente e rara, os casos de resistência a dois ou mais compostos serão extremamente raros (Georghiou, 1983; Curtis, 1985). Segundo Roush & Daly (1990), de todas as estratégias para o manejo da resistência a utilização de misturas pode ser a mais discutível. O princípio da mistura se baseia no fato de que os indivíduos resistentes a um pesticida A podem ser controlados por um pesticida B, e vice-versa, mas existe a possibilidade de se encontrarem indivíduos resistentes aos dois produtos através da resistência múltipla. Para que se obtenha sucesso com a utilização das misturas existem várias condições tais como: baixa frequência de resistência, ausência de resistência cruzada, presença de refúgio para os indivíduos suscetíveis e persistência biológica semelhante para os dois produtos (Roush, 1989; Tabashnik, 1989; Denholm & Rowland, 1992).

Duncombe (1973) relatou um programa de manejo da resistência de ácaros da família Tetranychidae na cultura do algodão aos acaricidas organofosforados sistêmicos no Zimbábue. O rápido desenvolvimento da resistência aos organofosforados ocorreu devido à grande utilização de inseticidas desse grupo para o controle de lagartas. Foi avaliada a suscetibilidade desses ácaros a vários acaricidas recomendados e verificaram que apenas oito mostraram-se eficazes. A partir desse estudo foi proposto um esquema de rotação de acaricidas dividindo o país em três regiões, sendo que só poderia utilizar dois acaricidas de grupos distintos em cada região, por dois anos consecutivos, trocando-os nos dois anos seguintes, fazendo com que um mesmo produto só voltasse a ser utilizado na mesma área após seis anos. Segundo Sawicki (1989) esta estratégia de manejo da resistência tem apresentado grande sucesso devido à cooperação de autoridades, produtores e empresas químicas.

Herron & Rophail (1993c) estudaram o efeito da resistência do ácaro *T. urticae* aos acaricidas clofentezina e hexitiazox nos atributos biológicos, e observaram que a

média de ovos da linhagem resistente foi significativamente maior do que a da linhagem suscetível. Os autores consideraram que o elevado número de ovos produzidos evidenciam a existência de coadaptação e que o manejo da resistência pode ser dificultada pela inexistência de uma rápida reversão da resistência na ausência de pressão de seleção.

Omoto et al. (1995) estudaram a dinâmica da resistência de *P. oleivora* resistente ao dicofol em pomares de citros na Flórida, e observaram que a frequência de indivíduos resistentes declinou rapidamente na ausência de pressão de seleção. Sendo assim, estudos mostrando a relação da frequência de uso do dicofol com a frequência de resistência mostrou que a utilização do dicofol uma vez por ano poderia ser empregada em programa de manejo da resistência de *P. oleivora*, já que esse é o intervalo mínimo necessário para que a frequência de resistência retorne ao nível existente antes da última aplicação, porém essa estratégia é apenas viável em áreas onde a resistência está abaixo da frequência crítica.

No Brasil, Alves (1999) estudou a dinâmica da resistência de *B. phoenicis* ao dicofol em citros e verificou que a frequência de resistência declinou significativamente na ausência de pressão de seleção, mostrando assim que a resistência ao dicofol é instável. A linhagem resistente apresentou um menor valor adaptativo em relação a linhagem suscetível com relação à fecundidade e longevidade. Alves et al. (2000) também estudaram a resistência cruzada entre o dicofol e os acaricidas óxido de fenbutatina, propargite, fenpiroximato e bromopropilato, detectando a existência de resistência cruzada apenas com o bromopropilato.

Yamamoto et al. (1996) estudaram a estabilidade da resistência de *Panonychus citri* ao hexitiazox em condições de campo e laboratório. Em laboratório foram colonizadas quatro populações com diferentes frequência de indivíduos resistentes, 50%S + 50%R, 30%S + 70%R, 10%S + 90%R e 2%S + 98%R, mostrando que as duas primeiras populações apresentaram uma rápida reversão da resistência após 3 gerações e as duas últimas populações mostraram-se estáveis após 12 gerações. Em condições de campo foi observada uma reversão gradual da resistência durante 33 meses após o final do tratamento com o acaricida e os autores assumiram que essa reversão foi atribuída

aos indivíduos suscetíveis remanescentes no pomar, à imigração de indivíduos suscetíveis de outros pomares, à herança incompletamente recessiva (Yamamoto et al., 1995a) e a desvantagem reprodutiva dos indivíduos resistentes (Yamamoto et al., 1995b). No entanto, essa desvantagem reprodutiva não foi expressiva no campo, o que dificultaria o manejo da resistência de *P. ulmi* a hexitiazox.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho foi desenvolvido no "Laboratório de Resistência de Artrópodes a Pesticidas" do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, no período de março de 1999 a março de 2001.

#### **3.1 Coleta e criação de *Brevipalpus phoenicis* em laboratório**

As diferentes populações de *B. phoenicis* foram provenientes de pomares comerciais de citros infestados com esse ácaro. Os ácaros foram multiplicados em frutos de laranja das variedades Pêra Rio ou Valência coletados no pomar do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP. Os frutos foram lavados em água corrente, deixados para secar ao ar e parafinados, deixando-se uma arena de 10 a 16 cm<sup>2</sup> para a colonização do ácaro. Essa arena foi circundada por uma camada fina de cola adesiva (marca Tanglefoot<sup>®</sup>) para confinar os ácaros na arena. Antes da transferência dos ácaros, uma mistura de gesso, areia, farinha de trigo e água destilada foi pincelada em alguns pontos da arena, com o objetivo de simular os sintomas da verrugose, os quais favorecem o desenvolvimento deste ácaro (Chiavegato 1986, Nakano et al. 1987). Foram transferidos aproximadamente 100 ácaros por fruto com o auxílio de um pincel com apenas um pêlo e um microscópio estereoscópico, totalizando 12 a 24 frutos por população. Esses frutos foram renovados mensalmente e mantidos em caixas plásticas com dimensões de 41 x 34 x 14 cm. A criação foi mantida em sala climatizada à temperatura de 25 ± 1°C, 70 ± 10% de UR e 14 horas de fotofase.

### 3.2 Método de bioensaio

O bioensaio adotado foi uma modificação do método recomendado pelo Insecticide Resistance Action Committee (1990). Os bioensaios foram realizados com o acaricida Savey PM (500 g de hexitiazox/Kg do produto comercial, formulação pó molhável, DuPont). As diferentes concentrações de hexitiazox foram preparadas através da diluição do produto em água destilada.

Folhas da planta ornamental *Ligustrum lucidum* (Oleaceae), que é hospedeira de *Brevipalpus phoenicis* (Rodrigues, & Nogueira, 1996), foram utilizadas como substrato para os bioensaios. As folhas foram mantidas com a superfície abaxial voltada para cima sobre espuma com 0,7 cm de espessura umedecida com água destilada em placa de Petri com 10 cm de diâmetro. Essas folhas foram circundadas por uma camada fina de algodão umedecido com água destilada para mantê-las túrgidas. Internamente a essa camada de algodão, foi delimitada uma arena com cola adesiva (marca Tanglefoot<sup>®</sup>) para confinar os ácaros. Foram transferidas 20 fêmeas adultas por folha com o auxílio de um pincel com apenas um pêlo e de um microscópio estereoscópico. Os ácaros foram mantidos sobre as folhas para oviposição por um período de 48 horas. Durante esse período, as placas foram mantidas em câmara climatizada à temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotofase de 14 horas. Posteriormente, os ácaros foram retirados e o número de ovos em cada folha foi contado, sendo obtidos de 20 a 40 ovos por folha. As folhas contendo os ovos foram pulverizadas com o auxílio da torre de Potter (Burkard Manufacturing, Rickmansworth, Herts, Inglaterra) à uma pressão de 10 lb/pol<sup>2</sup> (68,95 kPa), utilizando um volume de 2 ml de solução na pulverização, de forma a obter-se uma deposição média de resíduo úmido de aproximadamente 1,56 mg/cm<sup>2</sup>. Após a pulverização, os bioensaios foram mantidos em câmaras climatizadas à temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e 14 horas de fotofase. A avaliação foi feita 11 dias após a pulverização, observando-se a viabilidade dos ovos. Os dados de mortalidade para cada concentração testada foram corrigidos utilizando-se a fórmula de Abbott (Abbott, 1925).

### **3.3 Efeito da idade de ovos de *Brevipalpus phoenicis* na suscetibilidade ao hexitiazox**

O efeito dos estágios de desenvolvimento de ovos de *B. phoenicis* na suscetibilidade ao acaricida hexitiazox foi avaliada utilizando-se uma população de ácaro mantida em laboratório desde 1994. As concentrações utilizadas foram 1 e 10 mg de hexitiazox/L de água destilada [ppm (I.A.)]. Foram avaliados ovos de cinco diferentes idades: 1 dia (0-24 horas), 3 dias (48-72 horas), 5 dias (96-120 horas), 7 dias (144-168 horas) e 9 dias (192-216 horas).

A metodologia de bioensaio foi semelhante à descrita no item 3.2, com exceção do número de ácaros transferidos por folha que foi de 25 e que estes foram retirados 24 horas após a transferência para a padronização da idade dos ovos. Os bioensaios foram repetidos 4 vezes para cada concentração testada.

Os dados de porcentagem de mortalidade corrigida ( $X$ ) foram transformados em arc sen  $\sqrt{(X/100)}$  e submetidos à análise de variância de dois fatores (concentração e idade). As médias dos tratamentos foram comparadas através do teste de Tukey ao nível de significância de  $\alpha = 0,05$ .

### **3.4 Caracterização da linha básica de suscetibilidade de *Brevipalpus phoenicis* a hexitiazox**

Duas populações de *B. phoenicis* foram utilizadas para a caracterização da linha básica de suscetibilidade ao acaricida hexitiazox: uma população de laboratório que foi mantida desde 1994 na ausência de pressão de seleção (população denominada de "Lab") e uma outra população proveniente de um pomar não comercial, isto é, sem sofrer pressão de seleção que foi coletada em 2000 no município de Piracicaba-SP (população denominada de linhagem "S").

Para a caracterização toxicológica das populações Lab e S foram utilizadas de 6 a 7 concentrações do produto, sendo essas distribuídas logaritmicamente entre 0,18 e 10 mg de hexitiazox / L de água destilada [ppm (I.A.)]. Os bioensaios foram repetidos de 4 a 8 vezes para cada concentração do produto ao longo do tempo.



Os dados de mortalidade para cada população foram submetidos à análise de Probit (LeOra Software, 1987) para estimar a  $CL_{50}$ . Um teste de paralelismo das linhas de concentração-resposta para as duas populações foi conduzido para determinar se o coeficiente angular para as duas populações foi significativamente diferente. Baseado na caracterização da linha básica de suscetibilidade de *B. phoenicis* a hexitiazox, duas concentrações diagnósticas foram escolhidas para um programa de monitoramento da suscetibilidade, seguindo os critérios apresentados por Roush & Miller (1986) e French-Constant & Roush (1990). O bioensaio de concentração diagnóstica foi utilizada para o monitoramento da suscetibilidade de diferentes populações de *B. phoenicis* que receberam diferentes regimes de uso do acaricida hexitiazox, para a seleção da população resistente, e também para o estudo da dinâmica da resistência.

### **3.5 Detecção e caracterização da resistência de *Brevipalpus phoenicis* a hexitiazox**

Para a caracterização toxicológica da população resistente de *B. phoenicis* foi utilizada uma população cuja intensidade de uso do hexitiazox foi alta e falhas no controle de *B. phoenicis* já haviam sido reportadas com o uso desse acaricida. Essa população foi coletada no 2º semestre de 1999 a partir de um pomar comercial de citros da região de Barretos-SP. Para a seleção da linhagem resistente de *B. phoenicis* ao hexitiazox foram feitas duas etapas de seleção, utilizando-se a concentração diagnóstica de 18 mg de hexitiazox/L de água destilada [ppm (I.A.)]. Essa concentração foi escolhida através da curva de concentração-mortalidade da população S que propicia uma mortalidade de 100% dos ovos. Os ácaros sobreviventes da primeira etapa de seleção foram transferidos para frutos parafinados para a sua multiplicação por duas ou três gerações. Após a obtenção de um número suficiente de ácaros foi realizada a segunda seleção. Como o ácaro se reproduz por partenogênese telítica do tipo automática, originando descendentes fêmeas geneticamente idênticas à geração maternal, apenas uma etapa de seleção seria suficiente para eliminar todos os indivíduos suscetíveis, mas para evitar qualquer falha nesse processo foram realizadas duas

seleções. A população obtida após essas duas seleções foi considerada resistente ao acaricida hexitiazox (população denominada de linhagem "R").

Para a caracterização toxicológica da linhagem R foram utilizadas 6 concentrações do acaricida hexitiazox espaçadas logaritmicamente entre 560 e 10.000 mg de hexitiazox / L de água destilada [ppm (I.A)]. Os dados de mortalidade para cada concentração testada foram ajustados para a mortalidade do controle, utilizando-se a fórmula de Abbott (Abbott, 1925), e posteriormente submetidos à análise de Probit (LeOra Software, 1987). A intensidade de resistência de *B. phoenicis* a hexitiazox foi estimada através da divisão da CL<sub>50</sub> da linhagem R pela CL<sub>50</sub> da linhagem S.

### **3.6 Monitoramento da suscetibilidade de populações de *Brevipalpus phoenicis* a hexitiazox**

#### **3.6.1 Região de Barretos, Estado de São Paulo**

Foram coletadas diferentes populações de *B. phoenicis* em pomares comerciais de citros do município de Barretos-SP no 1º semestre de 1999, onde o histórico de uso do acaricida hexitiazox havia sido registrado nos últimos anos (desde 1993). Essas populações foram provenientes de talhões das fazendas de propriedade da Fischer Agropecuária S.A. com diferentes regimes de uso do acaricida hexitiazox (Tabela 1). De cada talhão foram coletados de 30 a 50 frutos infestados com ácaros, sendo então estabelecidas diferentes populações no laboratório, de acordo com os procedimentos de criação descritos no item 3.1. Foram estabelecidas 10 populações que foram denominadas de Fischer-1 a Fischer-10.

Com base na caracterização toxicológica da população S, as concentrações de 10 e 18 mg de hexitiazox / L de água destilada [ppm (I.A.)] foram tomadas como concentrações diagnósticas para o monitoramento da suscetibilidade das populações de *B. phoenicis*. Para cada população foram realizadas 4 repetições, sendo testados de 60 a 100 ovos por repetição.

Os dados de porcentagem de mortalidade corrigida ( $X$ ) das diferentes populações foram transformados em  $\arcsin \sqrt{(X/100)}$  e submetidos à análise de variância de dois fatores (população e concentração). As médias dos tratamentos foram comparadas através do teste de Tukey ao nível de significância de  $\alpha = 0,05$ . Foi também realizado um teste de correlação linear entre o número de aplicações e a porcentagem de sobrevivência para a concentração de 18 mg de hexitiazox / L de água destilada [ppm (I.A.)]. O nível de significância dos testes foi de  $\alpha = 0,05$ .

Tabela 1. Populações de *Brevipalpus phoenicis* provenientes de pomares comerciais de citros da Fischer Agropecuária S.A. (Barretos, SP) com diferentes regimes de uso do acaricida hexitiazox no período de 1993 a 1998.

População	Ano de aplicação					
	1993	1994	1995	1996	1997	1998
Fischer-1	==== <sup>(1)</sup>				M	
Fischer-2			====	M	M	
Fischer-3		====		M	M	
Fischer-4		====				
Fischer-5			====	M		M
Fischer-6		====	M			
Fischer-7		====	====			M
Fischer-8		====			M	
Fischer-9			====			
Fischer-10			====	M	M	

<sup>(1)</sup> Ano em que recebeu pulverização com o acaricida hexitiazox (apenas uma aplicação por ano).

M Aplicação do acaricida hexitiazox em mistura com outro acaricida.

### 3.6.2 Diferentes regiões citrícolas dos Estados de São Paulo e Minas Gerais

Oito populações de *B. phoenicis* foram coletadas no primeiro semestre de 2000. Essas populações foram provenientes de diferentes regiões produtoras de citros do Estado de São Paulo e de Minas Gerais. Duas populações, denominadas GP 1 e GP 2, do município de Gavião Peixoto-SP, NE 1 e NE 2 de Nova Europa-SP, OV 1 e OV 2 de Onda Verde-SP, FR 1 e FR 2 de Frutal-MG.

Os dados de porcentagem de mortalidade corrigida ( $\bar{X}$ ) das diferentes populações foram transformados em  $\arcsin \sqrt{(X/100)}$  e submetidos à análise de variância. As médias dos tratamentos foram comparadas através do teste de Tukey ao nível de significância de  $\alpha = 0,05$ .

### 3.7 Dinâmica da resistência de *Brevipalpus phoenicis* a hexitiazox em condições laboratoriais

A frequência de resistência de *B. phoenicis* ao acaricida hexitiazox foi estimada mensalmente por um período de seis meses em três populações de *B. phoenicis* com diferentes frequência de resistência. A partir das linhagens S e R foram estabelecidas populações com 20, 50 e 80% de ácaros resistentes. As linhagens S e R foram tomadas como populações controles. Para cada população foram estabelecidas 12 frutos com 100 ácaros adultos por fruto. As populações foram mantidas em laboratório à temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas.

As frequências de resistência foram estimadas para cada uma das populações através do bioensaio de concentração discriminatória, utilizando-se a concentração de 18 mg de hexitiazox / L de água destilada [ppm (I.A.)]. Os bioensaios foram repetidos 4 vezes para cada população, sendo feitas cinco arenas por repetição contendo cada uma de 20 a 40 ovos por arena.

Os dados de porcentagem de sobrevivência ( $\bar{X}$ ) de cada população, coletada durante seis meses, foram transformados para  $\arcsin \sqrt{(X/100)}$  e submetidos à análise

de variância de dois fatores (população e tempo) com interação. O nível de significância dos testes foi de  $\alpha = 0,05$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Efeito da idade de ovos de *Brevipalpus phoenicis* na suscetibilidade ao hexitiazox

Os estágios de desenvolvimento de ovos de *B. phoenicis* afetaram a suscetibilidade ao acaricida hexitiazox, sendo que a porcentagem de mortalidade diminuiu significativamente com a idade dos ovos ( $F=52,02$ ; g.l.=4, 39;  $P<0,05$ ). Os dados de mortalidade para as diferentes idades de ovos para cada concentração estão representados na Tabela 2 e Figura 1.

Ovos em estágios mais avançados de desenvolvimento, isto é, mais perto da eclosão das larvas, foram mais tolerantes a hexitiazox do que ovos nos estágios iniciais de desenvolvimento embrionário. Por exemplo, para a concentração de 1 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)], a porcentagem de mortalidade para ovos de 1 dia foi de 54,17%, e para ovos de 9 dias foi de apenas 7,06%. Já para a concentração de 10 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)], a porcentagem de mortalidade para ovos de um dia foi de 96,94%, e para ovos de 9 dias foi de 22,44%. Ovos de 1, 3 e 5 dias apresentaram suscetibilidades semelhantes ao produto para a concentração de 10 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)]; porém, a partir do 7<sup>o</sup> dia os ovos mostraram-se mais tolerantes ao produto. Já para a concentração de 1 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)], a porcentagem de mortalidade diminuiu a partir do 1<sup>o</sup> dia, no entanto as respostas para ovos de 3, 5, 7 e 9 dias foram estatisticamente iguais. Pelos resultados obtidos, ovos de 9 dias apresentaram baixa suscetibilidade ao hexitiazox para as duas concentrações testadas, concluindo-se que ovos nesse estágio de desenvolvimento são pouco afetados diretamente pelo produto.

Esse estudo mostra claramente que a suscetibilidade de ovos de *B. phoenicis* ao hexitiazox foi grandemente influenciada pelo estágio de desenvolvimento dos ovos. Ovos que se encontravam em um estágio de desenvolvimento mais avançado (1 e 3 dias para a eclosão), mostraram-se bastante tolerantes ao acaricida. Segundo Rodrigues & Machado (1999), essa diferença de suscetibilidade de ovos de *B. phoenicis* a acaricidas ovicidas pode estar relacionado com o aparato respiratório desses ovos, sendo que ovos de 2 e 3 dias de idade são mais suscetíveis que ovos de 5 a 8 dias. Esses autores estudaram a superfície dos ovos e observaram que ovos de 2 e 3 dias após a oviposição apresentam carenas longitudinais, porém ovos de três ou mais dias após a oviposição apresentam uma estrutura cilíndrica na superfície do cório, sendo provavelmente uma estrutura ligada à respiração. Resultados similares foram observados com clofentezina para *T. urticae* (Aveyard et al., 1986) e com hexitiazox para *P. ulmi* (Welty et al., 1989), onde os autores concluíram que quanto mais próxima à eclosão da larva, menor a suscetibilidade dos ovos aos acaricidas.

Esses resultados sugerem que a eficiência da ação ovicida de hexitiazox em campo pode ser grandemente influenciada pela época de aplicação. De acordo com esse estudo podemos concluir que o hexitiazox apresenta excelente ação ovicida, no entanto sua ação só seria eficiente se atingisse os ovos nos seus estágios iniciais de desenvolvimento. Porém, pela persistência relativamente alta de resíduos de hexitiazox, o produto poderia ter efeito significativo sobre as formas jovens do ácaro.

Tabela 2. Efeito da idade dos ovos de *Brevipalpus phoenicis* na suscetibilidade ao acaricida hexitiazox. Porcentagem média de mortalidade de ovos nas concentrações de 1 e 10 mg de hexitiazox/L de água.

Idade dos ovos (dias)	1 mg/L		10 mg/L	
	n*	% Mortalidade (± epm)	n*	% Mortalidade (± epm)
1	257	54,17 aA (± 2,59)	168	96,94 aB (± 2,34)
3	302	31,49 abA (± 5,45)	210	97,06 aB (± 1,62)
5	265	19,70 bcA (± 3,27)	187	96,71 aB (± 1,86)
7	299	12,41 bcA (± 2,32)	194	61,77 bB (± 6,46)
9	258	7,06 cA (± 5,13)	222	22,52 cA (± 14,16)

\* Número de ovos testados

Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância



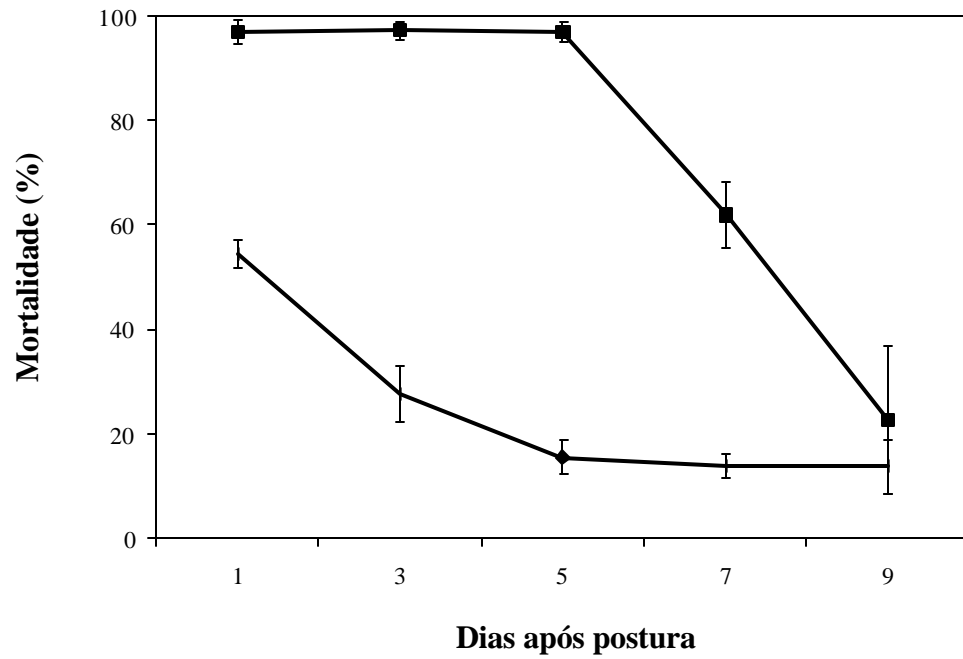


Figura 1 - Efeito da idade de ovos de *Brevipalpus phoenicis* na suscetibilidade ao acaricida hexitiazox nas concentrações de 1 mg/L (●) e 10 mg/L (■).

## 4.2 Caracterização da linha básica de suscetibilidade de *Brevipalpus phoenicis* a hexitiazox

Para a caracterização toxicológica de *B. phoenicis* ao acaricida hexitiazox foram testados 3194 e 1348 ovos para as populações Lab e S, respectivamente. Foram observadas diferenças significativas em termos de resposta dessas populações (Tabela 3). Para a população Lab, a CL<sub>50</sub> estimada foi de 1,52 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)] (I.C. 95% 1,15-1,88) e coeficiente angular ( $\pm$  desvio padrão) de 2,34 ( $\pm 0,11$ ),  $\chi^2$  de 19,50 [graus de liberdade (g.l.) =5;  $P > 0,05$ ]. A CL<sub>50</sub> estimada para a população S foi de 0,89 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)] (I.C. 95% 0,75-1,03) e coeficiente angular de 2,74 ( $\pm 0,15$ ),  $\chi^2$  de 4,18 (g.l.=3;  $P > 0,05$ ).

Tabela 3. Respostas de concentração-mortalidade das populações Lab e S de *Brevipalpus phoenicis* ao acaricida hexitiazox.

População	n*	CL <sub>50</sub> (mg I.A./ L) (95% IC)	Coef. Angular $\pm$ desvio padrão	g.l.	$\chi^2$
Lab	3.194	1,52 (1,15 – 1,88)	2,34 $\pm$ 0,11	5	19,50
S	1.348	0,89 (0,75 – 1,03)	2,74 $\pm$ 0,15	3	4,18

\* Número de ovos testados

Observando-se as CL<sub>50</sub>s estimadas de hexitiazox para as duas populações, verifica-se a que não há sobreposição dos intervalos de confiança, indicando que essas populações apresentam respostas diferentes quanto à suscetibilidade a hexitiazox.

O teste de paralelismo das linhas de concentração-resposta mostrou que os valores de coeficientes angular para as duas populações foram significativamente diferentes ( $\chi^2 = 14,84$ ; g.l.=2;  $P < 0,05$ ). O coeficiente angular pode estar relacionado, através de uma interpretação biológica, à homogeneidade da população (Hoskins & Gordon, 1956), sendo que quanto maior o coeficiente angular, mais homogênea é a população, ou ainda ao método de bioensaio utilizado para a caracterização toxicológica

(French-Constant & Roush, 1990). Porém, a diferença observada entre as populações não pode estar relacionada com o método de bioensaio utilizado, pois este foi o mesmo para as duas populações. O valor do coeficiente angular para a população S foi maior do que o coeficiente angular da população Lab mostrando que S é uma população mais homogênea do que Lab. Portanto, a população S foi tomada como a linhagem suscetível de referência para a caracterização da resistência de *B. phoenicis* a hexitiazox.

A mortalidade de ovos nos bioensaios foi avaliada através da observação da eclosão ou não da larva, e portanto, ovos com larvas eclodidas foram considerados vivos. Em testes preliminares com a linhagem Lab, o desenvolvimento das larvas que eclodiram foram acompanhadas até atingirem os estágios de protoninfa ou deutoninfa, não sendo observada mortalidade significativa das formas jovens que caminhavam sobre o resíduo de hexitiazox, mesmo na concentração mais alta utilizada (10 mg de hexitiazox/L de água). Esses dados não foram quantificados devido ao grande número de larvas que morriam na cola que delimitava a arena.

Baseado na linha de concentração-mortalidade ao hexitiazox da linhagem S, as concentrações de 10 e 18 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)] foram inicialmente definidas como concentrações diagnósticas a serem utilizadas em programas de monitoramento da suscetibilidade de populações de *B. phoenicis* a esse acaricida. Na concentração de 10 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)], a mortalidade da população S foi de aproximadamente 95% e para a concentração de 18 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)] a mortalidade foi de aproximadamente 99%.

Analisando-se os dados obtidos para as duas populações testadas, foram observados um excelente efeito ovicida do acaricida hexitiazox que apresentou alta mortalidade nas concentrações inferiores à recomendada para o controle de *B. phoenicis* em citros (15 mg de hexitiazox/L de água), ou seja, esse acaricida se mostrou bastante eficiente no controle de ovos.

### 4.3 Detecção e caracterização da resistência de *Brevipalpus phoenicis* a hexitiazox

Para a linhagem resistente R, a  $CL_{50}$  não foi estimada devido a ausência de resposta dessa linhagem a altas concentrações de hexitiazox e a dificuldade de manipulação dessas altas concentrações devido ao entupimento do bico da torre de pulverização e a decantação do produto. Na maior concentração testada que foi de 10.000 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)], a mortalidade de ovos foi de apenas 43,19% (Figura 2). Em testes preliminares, a mortalidade de larvas da linhagem R foi observada somente nas concentrações acima de 560 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)], porém esses valores não foram quantificados devido ao grande número de larvas que morriam na cola que delimitava a arena.

As linhas de concentração-mortalidade das linhagens S e R de *B. phoenicis* para o acaricida hexitiazox estão representadas na Figura 3. Foram testados 1.348 e 3.214 ovos, respectivamente. Para a população S, a  $CL_{50}$  estimada foi de 0,89 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)] (I.C. 95% 0,75-1,03) e coeficiente angular ( $\pm$  desvio padrão) de 2,74 ( $\pm$ 0,11),  $\chi^2$  de 4,18 [graus de liberdade (g.l.)=3;  $P>0,05$ ]. A razão de resistência foi estimada como sendo maior que 10.000 vezes (Tabela 4). Esse valor de intensidade da resistência foi estimada através da divisão da  $CL_{50}$  da linhagem S pela concentração mais alta utilizada na caracterização da linhagem R (10.000 mg de hexitiazox/L de água). Em outros casos de ácaros resistentes a hexitiazox, as razões de resistência foram também bastante altas. Para *T. urticae*, Gough (1990) detectou uma razão de resistência maior que 1.000 vezes, e para *P. citri*, Yamamoto et al. (1995a) detectaram razão de resistência maior que 24.000 vezes.

Os resultados obtidos na presente pesquisa confirmaram a existência de *B. phoenicis* resistente ao hexitiazox. A concentração do hexitiazox recomendado comercialmente é de 15 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)] e de 7 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)] quando utilizado em mistura. Essa estratégia de utilização de meia-dose do produto em mistura não seria muito adequada, pois nessa concentração os indivíduos resistentes não seriam afetados e também a utilização da meia-dose não controla toda a população suscetível, violando uma das condições básicas

para o sucesso da mistura que é o de proporcionar alta mortalidade da praga. Outro dado importante é que a utilização do hexitiazox em mistura tem sido recomendado para áreas onde problemas com o controle de *B. phoenicis* já têm sido detectados, portanto onde a frequência de resistência já está relativamente alta, não obedecendo assim outra condição básica para a utilização da mistura, que é a baixa frequência de resistência para os dois componentes da mistura. Outra condição básica para a utilização da mistura é de que a persistência biológica para os dois produtos deve ser semelhante (Roush, 1989; Tabashnik, 1989; Denholm & Rowland, 1992). O acaricida hexitiazox é um acaricida relativamente persistente se comparado com outros acaricidas utilizados na cultura dos citros, sendo que de acordo com Chiavegato et al. (1993), excelente controle de ovos de *B. phoenicis* foram observados em resíduos de 15 dias e controle moderado em resíduos de 30 dias, dessa forma, o controle de *B. phoenicis* utilizando esse acaricida em mistura não seria uma estratégia eficiente pois na mistura são utilizados acaricidas adulticidas que são pouco persistentes, podendo assim acelerar a evolução da resistência.

Tabela 4. Respostas de concentração-resposta das linhagens S e R de *Brevipalpus phoenicis* ao acaricida hexitiazox.

População	n*	CL <sub>50</sub> (mg I.A./ L) (95% IC)	Coef. Angular ± desvio padrão	g.l.	$\chi^2$	RR
S	1.348	0,89 (0,75 – 1,03)	2,74 ± 0,15	3	4,18	–
R	3.214	> 10.000	–	–	–	> 10.000

\* Número de ovos testados

Na Figura 3 está representada a curva de concentração-mortalidade das linhagens S e R e o intervalo das concentrações que podem ser utilizadas como discriminatórias, ou seja, de 10 a 320 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)]. Através do isolamento e da caracterização da resistência de *B. phoenicis* a hexitiazox, outros estudos poderão ser realizados para a implantação do manejo da resistência, como o monitoramento da resistência, dinâmica da resistência para verificar se existe custo

adaptativo dos indivíduos resistentes na ausência da pressão seletiva, relações de resistência cruzada com outros acaricidas etc.

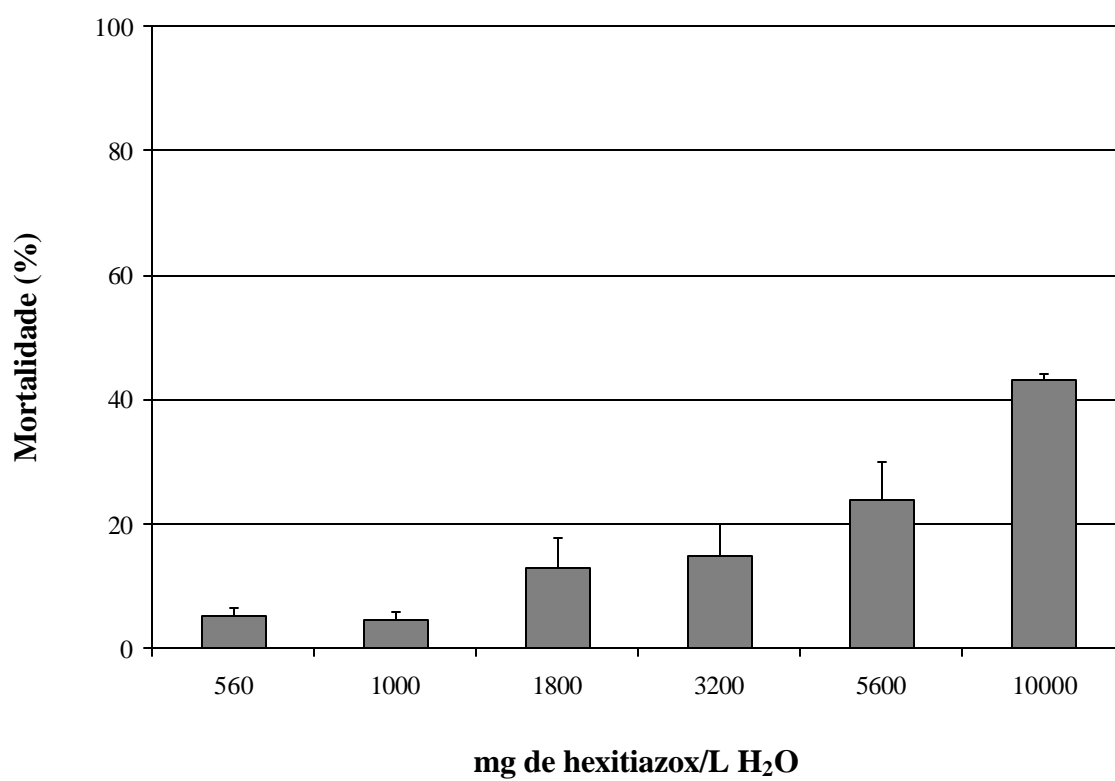


Figura 2 - Porcentagem de mortalidade de ovos da linhagem resistente de *Brevipalpus phoenicis* nas diferentes concentrações do acaricida hexitiazox.

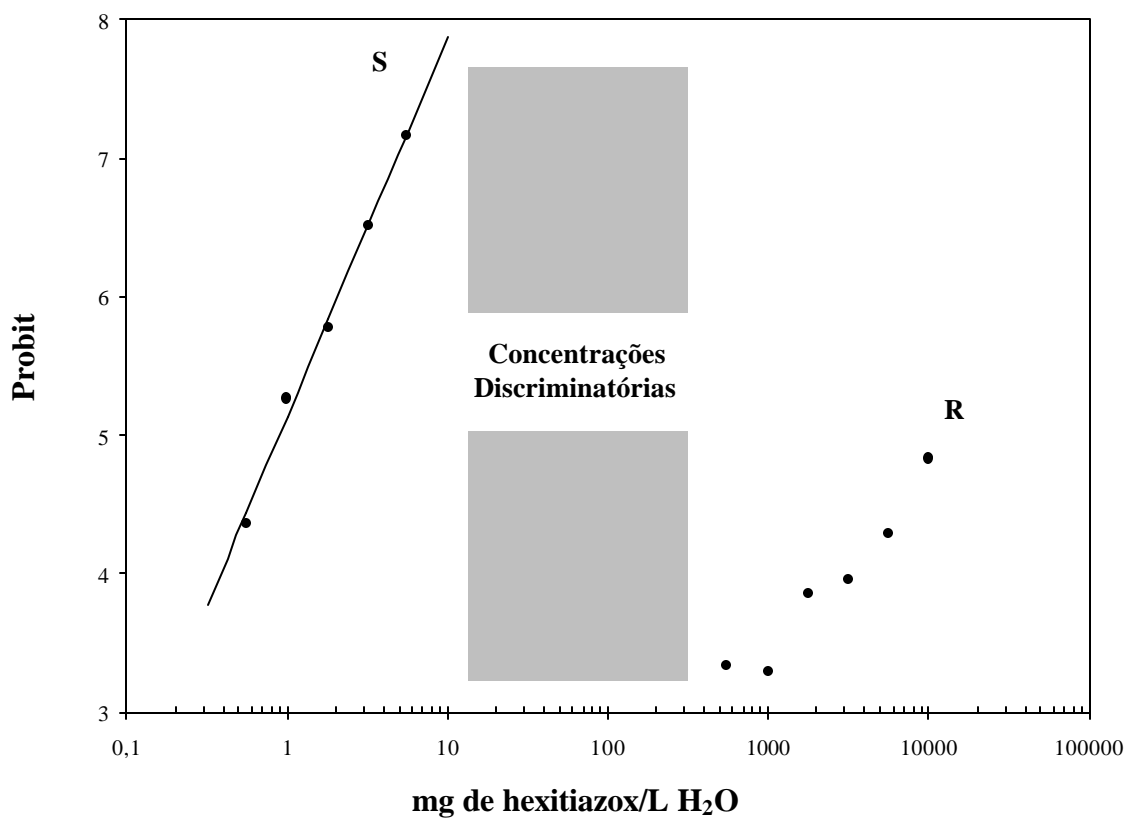


Figura 3 - Curvas de concentração-mortalidade das linhagens de *Brevipalpus phoenicis* suscetível (S) e resistente (R) a hexitiazox. A área hachurada representa o intervalo de concentrações discriminatórias para um programa de monitoramento da resistência de *B. phoenicis* a hexitiazox.

#### 4.4 Monitoramento da suscetibilidade de populações de *Brevipalpus phoenicis* a hexitiazox

##### 4.4.1 Região de Barretos, Estado de São Paulo

Os resultados do estudo do monitoramento da suscetibilidade de *B. phoenicis* ao acaricida hexitiazox revelaram diferenças significativas entre populações provenientes de diferentes pomares comerciais ( $F=65,53$ ; g.l.=10, 85;  $P<0,05$ ), e as estimativas da frequência de resistência com as concentrações discriminatórias de 10 e 18 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)] não diferiram estatisticamente ( $F=3,75$ ; g.l.=1, 85;  $P>0,05$ ). As médias de frequência de resistência das populações de *B. phoenicis* nas concentrações discriminatórias de 10 e 18 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)] se encontram na Tabela 5 e Figura 4. A frequência de resistência variou de 29,89% para a população Fischer 1 a 93,6% para a população Fischer 10 na concentração diagnóstica de 18 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)].

Observa-se que devido ao intenso uso do acaricida hexitiazox, ocorreu uma rápida evolução da resistência nos talhões avaliados. Segundo o histórico de uso de acaricidas nas populações avaliadas (Tabela 1 - item 3.6.1), a mistura de hexitiazox e outros acaricidas passou a ser utilizada a partir de 1995 na tentativa de se obter um melhor controle de *B. phoenicis*. No entanto, essa estratégia seria considerada inadequada, já que uma das premissas para a utilização de mistura é que a frequência de resistência deve ser baixa (Roush, 1989; Tabashnik, 1989; Denholm & Rowland, 1992), e a mistura passou a ser utilizada em talhões que já apresentavam alguns problemas no controle de *B. phoenicis* com hexitiazox utilizado isoladamente, ou seja, em áreas onde a frequência de resistência já era provavelmente bastante alta.

Não foi observada relação entre o número de aplicações do acaricida com a frequência de resistência das populações testadas ( $r=0,13$ ; g.l.=6;  $P>0,05$ ), mostrando assim que o número de aplicações durante o período de 1993 a 1999 não influenciou na frequência de resistência, porém não é conhecido o histórico de uso de acaricidas nesses talhões antes de 1993, não sabendo portanto se o hexitiazox foi utilizado nesses talhões e



se foi utilizado, quantas pulverizações foram feitas. Apesar da população Fischer 9 ter recebido apenas uma aplicação do hexitiazox (sozinho) durante o período de 1993-1998, a porcentagem de sobrevivência foi bastante alta, sendo de 79,42% para a concentração de 18 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)], no entanto para a população Fischer 4 que também recebeu apenas uma aplicação do acaricida, a frequência foi mais baixa que a obtida para Fischer 9. Dessa forma, apesar da relação entre o número de aplicações e a frequência de resistência não ser significativa, não é possível concluir que o número de aplicações não interfere na frequência de resistência.

Um outro importante fator a ser considerado na interpretação dos resultados obtidos é a possibilidade de uma certa estabilidade da resistência de *B. phoenicis* ao hexitiazox, não possibilitando o restabelecimento da suscetibilidade mesmo em talhões onde o uso do hexitiazox foi bastante baixo.

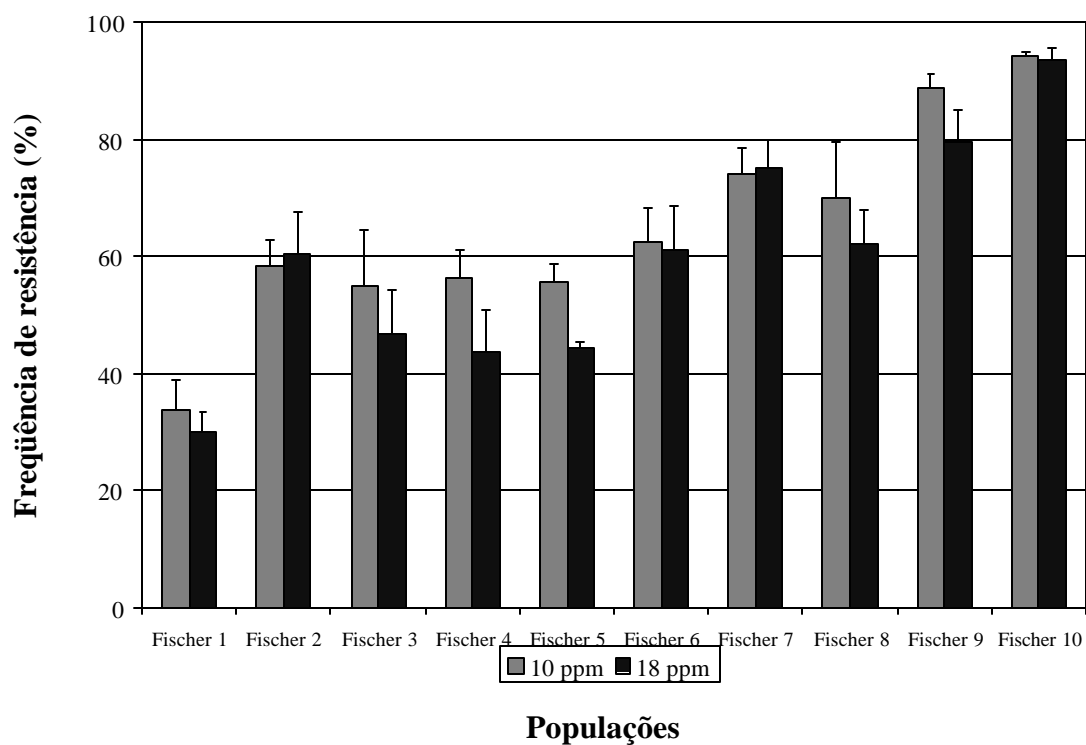


Figura 4 - Monitoramento da suscetibilidade de *B. phoenicis* ao acaricida hexitiazox em 10 diferentes populações da região do município de Barretos-SP, através do bioensaio de concentrações discriminatórias de 10 e 18 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)].

Tabela 5. Porcentagem média de sobreviventes de diferentes populações de *Brevipalpus phoenicis* através do bioensaio de concentrações discriminatórias de 10 e 18 mg de hexitiazox/L de água [I.A. (ppm)].

População	10 mg/L		18 mg/L	
	n*	% Sobreviventes (± epm)	n*	% Sobreviventes (± epm)
Fischer 1	225	33,68 bA (± 5,08)	220	29,89 bA (± 3,67)
Fischer 2	162	58,37 cA (± 4,31)	163	60,47 cdA (± 7,11)
Fischer 3	241	54,85 bcA (± 9,77)	222	46,82 bcA (± 7,31)
Fischer 4	161	56,25 bcA (± 4,79)	178	43,60 bcA (± 7,20)
Fischer 5	244	55,67 bcA (± 3,02)	252	44,39 bcA (± 0,99)
Fischer 6	242	62,33 cA (± 5,85)	239	61,02 cdA (± 7,63)
Fischer 7	322	73,95 cdA (± 4,64)	393	75,15 dA (± 4,62)
Fischer 8	250	69,95 cd A (± 9,51)	273	62,25 cdA (± 5,82)
Fischer 9	307	88,62 deA (± 2,54)	282	79,42 deA (± 5,57)
Fischer 10	402	94,38 eA (± 0,45)	341	93,60 eA (± 2,12)

\* Número de ovos testados

Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

#### 4.4.2 Diferentes regiões citrícolas do Estado de São Paulo e Minas Gerais

Os resultados do estudo da variabilidade entre pomares na suscetibilidade de *B. phoenicis* ao acaricida hexitiazox revelaram diferenças significativas entre as populações das diferentes regiões produtoras de citros ( $F=327,62$ ; g.l.=8, 27;  $P<0,05$ ). Dentro de cada região foram testadas dois talhões que não apresentaram diferenças significativas entre si, isso ocorrendo provavelmente porque o histórico de aplicação de acaricidas dentro de cada região foi o mesmo. As médias de frequência de resistência das populações de *B. phoenicis* à concentração de 18 mg de hexitiazox/L de água [I.A.(ppm)] se encontram na Tabela 6 e Figura 5. As populações provenientes das cidades de Gavião Peixoto-SP e Nova Europa-SP mostraram-se bastante suscetíveis ao hexitiazox. Porém as populações provenientes de Onda Verde-SP e Frutal-MG apresentaram uma alta frequência de indivíduos resistentes a hexitiazox.

Os resultados obtidos mostraram claramente que existe grande diferença na frequência de resistência entre os talhões testados, portanto a utilização do hexitiazox deve ser feita de forma racional para evitar ou retardar a evolução da resistência. Portanto, trabalhos de monitoramento da frequência de resistência antes de se decidir pelo uso do hexitiazox seria bastante interessante, de modo a utilizar esse acaricida somente em talhões com baixas frequência de resistência. A rotação de produtos com mecanismos de ação distintos é uma das alternativas mais viáveis para evitar que a evolução da resistência ocorra. Por outro lado, observamos áreas onde a frequência de indivíduos resistentes já atingiu um patamar muito alto, o que certamente comprometeria a eficácia desse acaricida no controle de *B. phoenicis*. Nessas áreas, a não utilização do hexitiazox por um determinado período poderia possibilitar o restabelecimento da suscetibilidade, e a partir de então o produto poderia ser utilizado novamente.

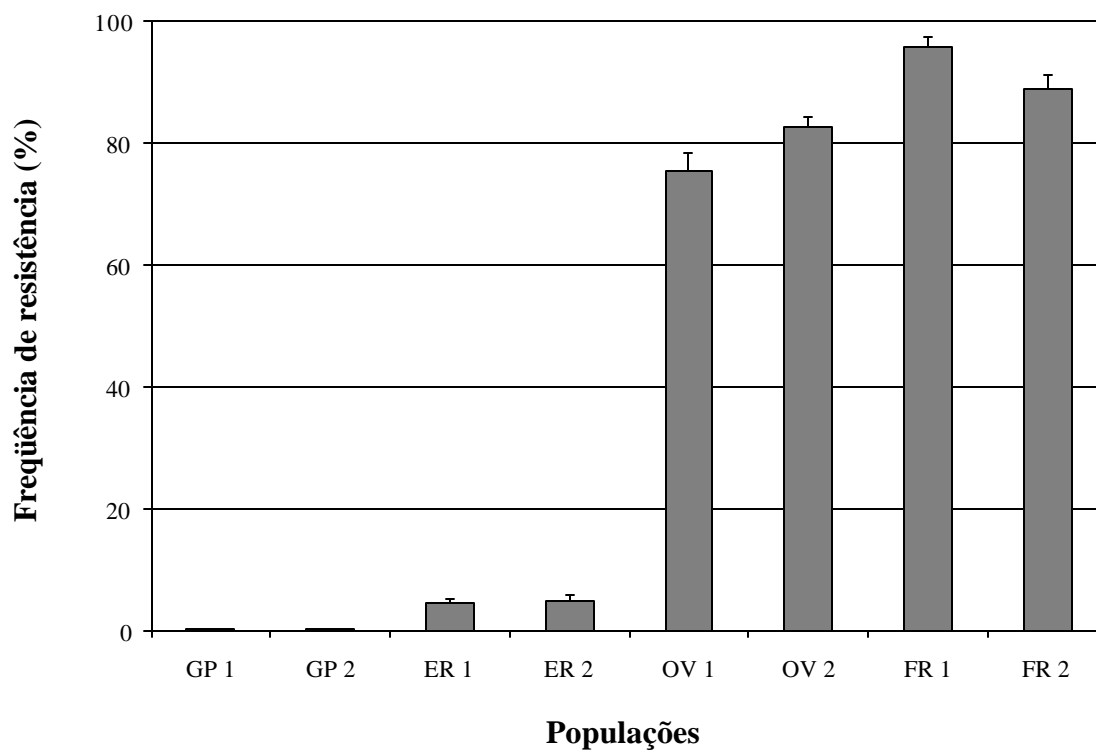


Figura 5 - Monitoramento da suscetibilidade de *B. phoenicis* ao acaricida hexitiazox para 8 populações de diferentes regiões produtoras de citros através do bioensaio de concentração discriminatória de 18 mg/L (ppm) de hexitiazox.

Tabela 6. Porcentagem média de sobreviventes de diferentes populações de *Brevipalpus phoenicis* em quatro regiões produtoras de citros através do bioensaio de concentração discriminatória de 18 mg/L (ppm) de hexitiazox.

Município	População	n*	% Sobreviventes (± epm)
Gavião Peixoto-SP	GP 1	164	0,00 A
	GP 2	217	0,00 A
Nova Europa-SP	NE 1	255	4,33 B (± 0,84)
	NE 2	195	4,65 B (± 1,02)
Onda Verde-SP	OV 1	154	75,35 C (± 2,86)
	OV 2	166	82,54 CD (± 1,78)
Fruta-MG	FR 1	355	95,59 E (± 1,60)
	FR 2	341	88,88 DE (± 2,24)

\* Número de ovos testados

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância

#### 4.5 Dinâmica da resistência de *Brevipalpus phoenicis* ao hexitiazox em condições laboratoriais

As freqüências de resistência ao hexitiazox para as três populações de *B. phoenicis* estudadas não declinaram significativamente na ausência de pressão de seleção com hexitiazox (Figura 6). A interação entre os fatores população e tempo foi significativo ( $F=2,96$ ; g.l.=20, 90;  $P<0,05$ ), mostrando que as três populações se comportaram diferentemente no decorrer dos seis meses de avaliação.

As populações com freqüências iniciais de resistência de 20 e 50% apresentaram um aumento na freqüência ao final dos seis meses, porém para a população com freqüência de resistência inicial de 80%, houve uma pequena diminuição, chegando ao final dos seis meses a 77,22% de ácaros resistentes. Não houve diferença significativa na freqüência de resistentes durante os seis meses de avaliação para as populações com freqüência inicial de 50 e 80%. Para a população com freqüência inicial de resistência de 20%, houve até um aumento na freqüência nos primeiros dois meses de avaliação, chegando ao valor de aproximadamente 50%. No entanto, a partir do terceiro mês ocorreu uma diminuição na freqüência atingindo a freqüência de 25,5%, após seis meses na ausência de pressão de seleção. Essa variação na freqüência de resistência durante os seis meses do estudo para as três populações não pode ser explicado pela imigração de ácaros suscetíveis, pelo fato desse estudo ter sido conduzido em condições fechadas de laboratório.

Estudos da estabilidade da resistência de *P. citri* a hexitiazox realizado por Yamamoto et al. (1996c) mostraram que populações com alta freqüência inicial de indivíduos resistentes (90 e 98%) mostraram-se estáveis após 12 gerações, em condições de laboratório, no entanto populações com freqüência mais baixa (50 e 70%) apresentaram uma rápida reversão da resistência após apenas três gerações, também em condições de laboratório. Porém em estudo em campo, a reversão foi gradual durante 33 meses, sendo essa diminuição na freqüência de resistência atribuída principalmente à imigração de indivíduos suscetíveis.

Observando-se os dados obtidos, constata-se que a resistência de *B. phoenicis* ao hexitiazox é bastante estável, sendo essa uma característica que dificultaria o manejo da resistência (Roush & McKenzie, 1987). Como a resistência é estável, presume-se que não existe custo adaptativo dos indivíduos resistentes e que esses indivíduos são tão adaptados quanto os indivíduos suscetíveis. Porém estudos mais aprofundados devem ser realizados para verificar a existência ou não de desvantagem adaptativa da população resistente, através do estudo da biologia das populações resistente e suscetível para verificar a existência ou não de diferenças nos parâmetros biológicos entre essas duas populações, e também estudo da dinâmica da resistência em condições de campo, considerando outros fatores, como a imigração de indivíduos suscetíveis que afeta diretamente a frequência de resistência em uma determinada população. Dentro desse contexto, a avaliação da movimentação do ácaro de outras plantas hospedeiras (inclusive plantas daninhas) para as plantas cítricas e vice-versa é de grande relevância.



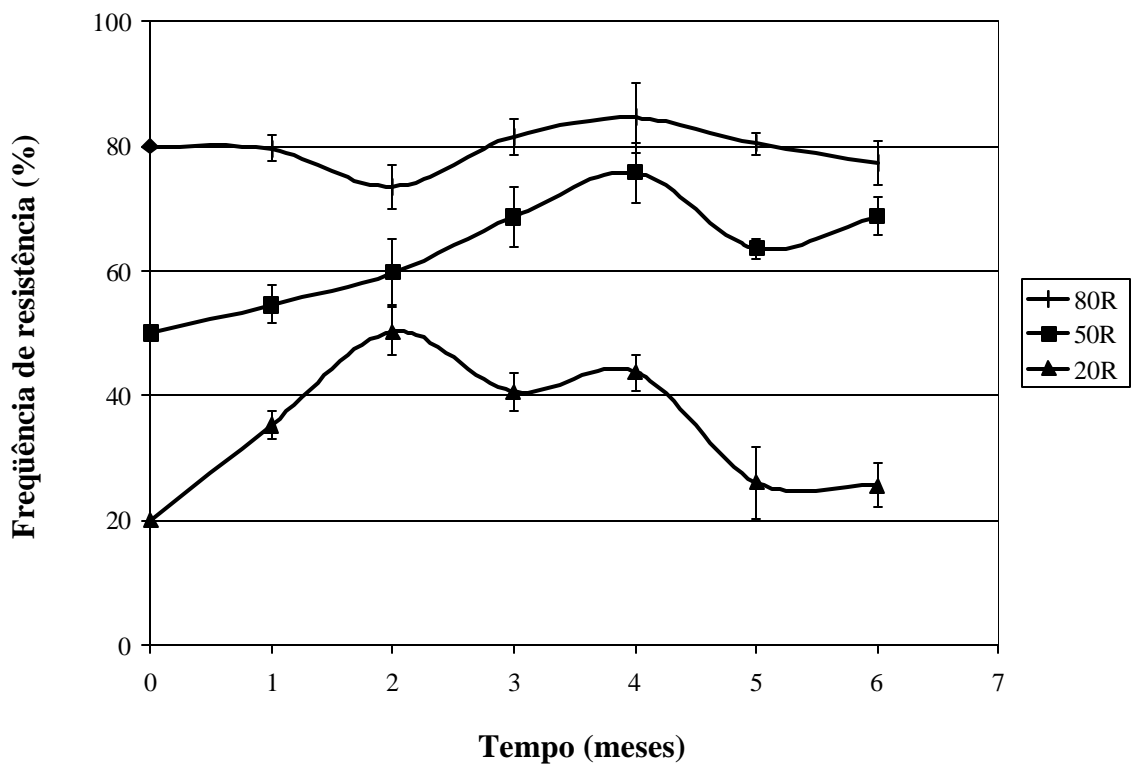


Figura 6 - Mudanças na frequência de resistência de *Brevipalpus phoenicis* ao hexitiazox em populações com frequência iniciais de 20%, 50% e 80% de ácaros resistentes em condições de laboratório (temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR superior a 60% e fotofase de 14 horas).

#### 4.6 Considerações finais

Como os resultados dessa pesquisa confirmaram a existência de *B. phoenicis* resistente ao acaricida hexitiazox, alguns cuidados quanto a sua utilização devem ser tomados. Para a implementação de estratégias para o manejo da resistência de *B. phoenicis* a hexitiazox é de fundamental importância estimar a frequência de resistência antes da utilização do produto, pois se a frequência for alta este acaricida não deveria ser recomendado.

Nesse trabalho foi observada alta variabilidade na frequência de resistência entre os pomares, existindo pomares com baixa frequência de resistência e até pomares com alta frequência de resistência. Tanto para os pomares com baixa frequência, quanto para os pomares com alta frequência de resistência a rotação de produtos com mecanismos de ação distintos seria uma das estratégias mais viáveis para o manejo da resistência de *B. phoenicis* a acaricidas.

A utilização da mistura entre hexitiazox e outros acaricidas adulticidas da forma como vem sendo recomendado na cultura dos citros se mostra ineficiente. A utilização de mistura tem sido recomendada principalmente em áreas onde falhas no controle de *B. phoenicis* devido a alta frequência de resistência, violando assim, uma das premissas básicas para a utilização da mistura, que é a baixa frequência de resistência. Como a resistência de *B. phoenicis* ao hexitiazox foi estável em condições de laboratório, a reversão da resistência em campo será provavelmente lenta. No entanto, a reversão da resistência em campo poderá ocorrer devido à imigração de indivíduos suscetíveis. Portanto, estudos de dinâmica da resistência em campo para determinar o intervalo mínimo de restabelecimento da suscetibilidade devem ser realizados para se definir um melhor regime de uso de hexitiazox para prolongar a sua vida útil no controle de *B. phoenicis*.

## 5 CONCLUSÕES

- O método de bioensaio de contato direto de hexitiazox sobre ovos de *Brevipalpus phoenicis* é adequado para a detecção da resistência.
- Há efeito da idade de ovos de *Brevipalpus phoenicis* na suscetibilidade ao hexitiazox.
- Há grande variabilidade na suscetibilidade de populações de *B. phoenicis* ao hexitiazox em citros.
- A intensidade da resistência de *B. phoenicis* ao hexitiazox é maior que 10.000 vezes.
- A resistência de *B. phoenicis* a hexitiazox é estável na ausência de pressão de seleção em condições de laboratório.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W.S. A method for computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p.265-267, 1925.
- ALBUQUERQUE, F.A.; OLIVEIRA, C.A.L.; BARRETO, M. Comportamento do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) em frutos de citros. In: OLIVEIRA, A.A.L.; DONADIO, L.C. (Ed.). **Leprose dos citros**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. p.77-90.
- 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, E.B.; OMOTO, C.; FRANCO, C.R. Resistência cruzada entre o dicofol e outros acaricidas em *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, n.4, p.765-771, 2000.
- AVEYARD, C. S.; PEREGRINE, D. J.; BRYAN, K. M. G. Biological activity of clofentezine against egg and motile stages of tetranychid mites. **Experimental & Applied Acarology**, v.2, p.223-229, 1986.

- BAILLOD, M.; GUIGNARD, E.; ANTONIN, P. Une nouvelle generation d'acaricides specifiques inhibiteurs de croissance. **Revue Suisse de Viticulture d'Arboriculture et d'Horticulture**, v.18, p.213-219, 1986.
- BARRETO, M.; PAVAN, A. Relação verrugose X leprose. In: OLIVEIRA, A.A.L.; DONADIO, L.C. (Ed.). **Leprose dos citros**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. p.69-76.
- CHIAVEGATO, L.G. Biologia do ácaro *Brevipalpus phoenicis* em citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.21, n.8, p.813-816, 1986.
- CHIAVEGATO, L.G.; MISCHAN, M.M. Comportamento do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) em frutos de diferentes variedades cítricas. **Científica**, v.15, n. 1/p.17 -22, 1987.
- CHIAVEGATO, L. G.; MISCHAN, M. M. ; SILVA, M. A. Prejuízos e transmissibilidade de sintomas da leprose pelo ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae). **Científica**, v.10, p.265-271, 1982
- CHIAVEGATO, L.G.; TRINDADE, M.L.B.; NOGUEIRA, C.E.T.; AFFERRI, F.S Effect of adhesive spreader on the efficiency of hexythiazox for the control of the mite *Brevipalpus phoenicis* G. (Acari: Tenuipalpidae) on citrus. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.22, n.2, p.341-348, 1993.
- COMENALE NETO, C.; YAMAMOTO, P.T.; GRAVENA, S.; SILVA, B.B. Período de controle do ácaro da leprose *Brevipalpus phoenicis* por acaricidas em diferentes níveis de infestação. **Laranja**, v.16, n.2, p.251-261, 1995.
- CRANHAM, J.E.; HELLE, W. Pesticide resistance in Tetranychidae. In: HELLE, W.; SABELIS M.W. (Ed.) **Spider mites; their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, 1985. v.1B, cap.3.4, p.405-419.

- CROFT, B.A. Developing a philosophy and program of pesticide resistance management. In: ROUSH, R.T.; TABASHNIK, B.E. (Ed.). **Pesticide resistance in arthropods**. New York: Chapman and Hall, 1990. p.277-296.
- CROFT, B.A.; VAN DE BAAN, H.E. Ecological and genetic factors influencing evolution of pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mites. **Experimental & Applied Acarology**. v.4, p.277-300, 1988.
- CROW, J.F. Genetics of insect resistance to chemicals. **Annual Review of Entomology**, v.2, p.227-247, 1957.
- CURTIS, C.F. Theoretical models of the use of insecticide mixtures for the management of resistance. **Bulletin of the Entomological Research**, v.75, p.259-265, 1985.
- DENHOLM, I.; ROWLAND, M.W. Tactics for managing pesticide resistance in arthropods: theory and practice. **Annual Review of Entomology**, v.37, n.37, p.91-112, 1992.
- DENNEHY, T.J.; NYROP, J.P.; MARTINSON, T.E. Characterization and exploitation of instability of spider mite resistance to acaricides. In: GREEN, M.B.; LeBARON, H.M.; MOBERG, W.K. (Ed.) **Managing resistance to agrochemicals: from fundamental research to practical strategies**. Washington: American Chemical Society, 1990. cap.5, p.77-91.
- DUNCOMBE, W.G. The acaricide spray rotation for cotton. **Rhodesia Agricultural Journal**, v.70, n.5, p.115-118, 1973.
- FLECHTMANN, C.H.W. **Ácaros de importância agrícola**. São Paulo: Nobel, 1977. 150p.

- FFRENCH-CONSTANT, R.H.; ROUSH, R.T. resistance detection and documentation: the relative roles of pesticidal and biochemical assays. In: ROUSH, R.T.; TABASHNIK, B.E. (Ed.). **Pesticide resistance in arthropods**. New York: Chapman and Hall, 1990. cap.2, p.4-38.
- GEORGHIU, G.P. The evolution of resistance to pesticides. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v.3, p.133-168,1972.
- GEORGHIU, G. P. Management of resistance in arthropods. In: GEORGHIU, G. P.; SAITO. T. (Ed.) **Pest resistance to pesticides**. New York: Plenum, 1983. p.769-792.
- GEORGHIU, G.P.; LAGUNE-TEJEDA, A. **The occurrence of resistance to pesticides in arthropods**. Rome: FAO, 1991. 318p.
- GEORGHIU, G.P.; TAYLOR, C.E Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**, v.70, n.3, p.319-323, 1977a.
- GEORGHIU, G.P.; TAYLOR, C.E Operational influences in the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**. v.70, n.5, p.653-658, 1977b.
- GEORGHIU, G.P.; TAYLOR, C.E. Factors influencing the evolution of resistance. In: NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Pesticide resistance: strategies and tactics for management**. Washington, 1986. p.157-169.
- GONZÁLES, R.H. Revision of the *Brevipalpus phoenicis* "complex" with descriptions of new species from Chile and Thailand (Acarina: Tenuipalpidae). **Acarologia**, v.17, n.1, p.81-91, 1975.

- GOUGH, N. Evaluation of miticides for the control of two-spotted mite *Tetranychus urticae* Koch on field roses in southern Queensland. **Crop Protection**, v.9, p.119-127, 1990.
- GRAFTON-CADWELL, E.E.; GRANETT, J.; NORMINGTON, S.M. Influence of dispersal from almonds on the population dynamics and acaricide resistance frequencies of spider mites infesting neighboring cotton. **Experimental & Applied Acarology**, v.10, p.187-212, 1991.
- GRAVENA, S. Manejo integrado de pragas em citros no Brasil: uma visão atual. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS-MIP, 3., Bebedouro. **Manejo integrado de pragas dos citros: anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. p. 41-56.
- GRAVENA, S.; FERNANDES, O.A.; PAZINI, W.C. Amostragem sequencial para os ácaros da falsa ferrugem *Phyllocoptruta oleivora* (Ashm.) e da leprose *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) no manejo integrado de pragas dos citros. **Laranja**, v.9, p.147-160, 1988.
- GRAVENA, S.; BENETOLI, I.; MOREIRA, P.H.R.; YAMAMOTO, P.T. *Euseius citrifolius* Denmark & Muma predation on citrus leprosis mite *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.23, n.2, p.209-218, 1994.
- GROSSCURT, A.C.; WIXLEY, R.A.J.; TER HAAR, M. Cross-resistance between flucycloxuron, clofentezine and hexythiazox. **Experimental & Applied Acarology**, v.18, p.445-458, 1994.
- GUIRADO, N.; SILVERIO, J.L. Leprose e declínio: problemas sérios da citricultura paulista. **Laranja**, v.13, n.2, p.541-552, 1992.



- HARAMOTO, F.H. Biology and control of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acarina: Tenuipalpidae). **Hawaii Agricultural Experimental Station Technical Bulletin**, n.68, p.1-60, 1969.
- 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.
- HERRON, G.; ROPHAIL, J. Effect of clofentezine-hexythiazox resistance on life-table attributes of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Experimental & Applied Acarology**, v.17, p.823-830, 1993.
- HERRON, G.; EDGE, V.; ROPHAIL, J. Clofentezine and hexythiazox resistance in *Tetranychus urticae* Kock in Australia. **Experimental & Applied Acarology**, v.17, n.6, p.433-440, 1993.
- HOSKINS, W.M.; GORDON, H.T. Arthropod resistance to chemicals. **Annual Review of Entomology**, v.1, p.89-122, 1956.
- HOY, M.A.; OUYANG, Y. Selectivity of the acaricides clofentezine and hexythiazox to the predator *Metaseiulus occidentalis* (Acari: Phytoseiidae). **Journal of Economic Entomology**, v.79, n.5, p.1377-1380, 1986.
- HOYT, S.C. Integrated chemical control of insects and biological control of mites on apple in Washington. **Journal of Economic Entomology**, v.62, p.74-86, 1969.
- 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.

- KEENA, M.A.; GRAFTON-CARDWELL, E.; GRANETT, J. Variability in response of laboratory-reared and field-collected populations of *Tetranychus* spp. (Acari: Tetranychidae) to hexythiazox. **Annals of the Entomological Society of America**, v.84, n.4, p.1128-1134, 1991.
- KITAJIMA, E.W.; LOVISOLO, O.; COLARICCIO, A.; CHAGAS, C.M.; ROSSETI, V. Vírus causador da leprose dos citros. In: OLIVEIRA, A.A.L.; DONADIO, L.C. (Ed.). **Leprose dos citros**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. p.19-24.
- KNORR, L.C.; DENMARK, H.A. Injury to citrus by the mite *Brevipalpus phoenicis*. **Journal of Economic Entomology**, v.63, n.6, p.1996-1998, 1970.
- KOMATSU, S.S.; NAKANO, O. Estudos visando o manejo do ácaro da leprose dos citros através do ácaro predador *Euseius concordis* (Acari: Phytoseiidae). **Laranja**, v.9, p.125-146, 1988.
- LAL, L. Biology of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acarina: Tenuipalpidae). **Acarologia**, v.20, n.1, p. 97-101, 1978.
- LEORA SOFTWARE. **POLO PC**: a user's guide to Probit Or Logit analysis. Berkeley, 1987. 20p.
- McENROE, W.D.; NAEGELE, J.A. The coadaptive process in a organophosphorus-resistant strain of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. **Annals of the Entomological Society of America**, v.61, p.1055-1059, 1968.
- MESSING, R.H.; CROFT, B.A. Pesticide resistance in Eriophyoid mites, their competitors and predators. In: LINDQUIST, E.E.; SABELIS, M.W.; BRUIN, J. (Ed.). **Eriophyoid mites: their biology, natural enemies and control**. New York: Elsevier, 1996. p.689-694.

- METCALF, R.L. Changing role of insecticide in crop protection. **Annual Review of Entomology**, v.25, p.219-256, 1980.
- MORAES, G.L.; SÁ, L.A.N. Perspectivas do controle biológico do ácaro da leprose dos citros. In: OLIVEIRA, C.A.L.; DONADIO, L.C. (Ed.). **Leprose dos citros**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. p.117-128.
- MORAES, G.L.; TAMBASCO, F.J.; SÁ, L.A.N. O controle biológico clássico e o serviço quarentenário no Brasil. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS-MIP, 3., Bebedouro, 1994. **Manejo integrado de pragas dos citros: anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. p.77-84.
- NAKANO, O. Rotatividade de ingredientes ativos em citro. In: OLIVEIRA, C.A.L.; DONADIO, L.C. (Ed.). **Leprose dos citros**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. p. 189-194.
- NAKANO, O.; SANCHES, G.A.; ISHIDA, A.K. Redução na infestação do ácaro da leprose *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) em citros através do controle da verrugose. **Laranja**, v.8, p.19-33, 1987.
- NEGRI, J.D. A extensão rural no MIP-citros. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS-MIP, 3., Bebedouro, 1994. **Manejo integrado de pragas dos citros: anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. p.269-275.
- NEVES, E.M.; DRAGONE, D.S.; DAYOUB, M. Demanda por defensivos na citricultura: análise comparativa com outras culturas comerciais. **Laranja**, v.22, n.2, p.285-297, 2001.
- OLIVEIRA, C.A.L. Flutuação populacional e medidas de controle do ácaro da leprose *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) em citros. **Laranja**, v.7, p.1-31, 1986.

- OMOTO, C. Manejo da resistência de ácaros e insetos aos produtos químicos na citricultura. **Laranja**, v.16,. p.187-208, 1995a.
- OMOTO, C. Resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) aos produtos químicos na citricultura. In: OLIVEIRA, A. A. L.; DONADIO, L. C. (Ed.). **Leprose dos citros**. Jaboticabal: FUNEP. 1995b. p.179-188.
- OMOTO, C. Acaricide resistance management of leprosis mite (*Brevipalpus phoenicis*) in Brazilian citrus. **Pesticide Science**, v.52, p.189-191, 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.757-764, 2000.
- OMOTO, C.; DENNEHY, T.J.; McCOY, C.W.; CRANE, S.E.; LONG, J.W. Management of citrus rust mite (Acari: Eriophyidae) resistance to dicofol in Florida citrus. **Journal of Economic Entomology**, v.88, n.5, p.1129-1137, 1995.
- OOMEN, P.A. **Studies on population dynamics of the scarlet mite, *Brevipalpus phoenicis*, a pest of tea in Indonesia**. Wageningen: Veenman & Zonen, 1982. 88p.
- PINTO, R.A.; YAMAMOTO, P.T.; PAIVA, E.B.; GRAVENA, S. Amostragem seqüencial: uma metodologia rápida e segura. In: OLIVEIRA, C.A.L.; DONADIO, L.C. (Ed.). **Leprose dos citros**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. p.147-158.
- PREE, D.J.; MARSHALL, D. B.; MCGARVEY, B. D. Residual toxicity of dicofol, formetenate HCl, propargite, hexythiazox, and clofentezine to european red mite on peach. **The Canadian Entomologist**, v.124. p.59-67, 1992.

- REIS, P.R. Aspectos bioecológicos e seletividade de agroquímicos a *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma, 1972 (Acari: Phytoseiidae). Piracicaba, 1996. 154p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- REISSIG, W. H.; HULL, L. A. Hexythiazox resistance in a field population of european red mite (Acari: Tetranychidae) on apples. **Annals of the Entomological Society of America**, v.84, n.3, p.727-735, 1991.
- RODRIGUES, J.C.V.; MACHADO, M.A. Notes on a probable respiratory apparatus in eggs of *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae). **International Journal of Acarology**, v.25, n.3, p.231-234, 1999.
- 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.343-344, 1996.
- ROUSH, R.T.; MCKENZIE, J.A. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. **Annual Review of Entomology**, v.32, n.2, p.361-380, 1987.
- ROUSH, R.T.; MILLER, G.L. Considerations for design of insecticide resistance monitoring program. **Journal of Economic Entomology**, v.79, n.2, p.293-298, Apr. 1986.
- ROUSH, R.T. Designing resistance management programs: How can you choose? **Pesticide Science**, v.26, p.423-441, 1989.
- ROUSH, R.T.; DALY, J.C. The role of population genetics in resistance research and management. In: ROUSH, R.T.; TABASHNIK, B.E. (Ed.) **Pesticide resistance in arthropods**. New York: Chapman and Hall, 1990. p.97-152.

- SALVA, R.A. Prática do monitoramento de MIP-citros no Brasil. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS-MIP, 3., Bebedouro, 1994. **Manejo integrado de pragas dos citros: anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. p.255-267.
- SATO, M.E.; RAGA, A.; CERÁVOLO, L.C.; CEZÁRIO, A.C.; ROSSI, A .C. Efeito da utilização de acaricidas em citros, sobre a população de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) e ácaros predadores (Phytoseiidae). **Scientia Agricola**, v.52, n.2, p.282-286, 1995.
- SAWICKI, R.M. Current insecticide management practices in cotton around the world - short-term successes or templates for the future? **Pesticide Science**, v.26, p.401-410, 1989.
- TABASHNIK, B.E. Influence of pesticide persistence in evolution of resistance. **Journal of Economic Entomology**, v.82, n.5, p.1263-1269, 1989.
- TAYLOR C.E.; GEORGHIOU, G.P. Influence of pesticide persistence in evolution of resistance. **Annals of the Entomological Society of America**, v.11, n.3, p.749-750, 1982.
- THWAITE, W. G. Resistance to clofentezine and hexythiazox in *Panonychus ulmi* from apples in Australia. **Experimental & Applied Acarology**, v.11, p.73-80, 1991.
- TRINDADE, M.L.B. Caracterização biológica dos ácaros *Brevipalpus obovatus* Donnadieu, 1875, *Brevipalpus californicus* (Bank, 1904) e *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) no Estado de São Paulo. Botucatu, 1990. 108p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho".

- TRINDADE, M.L.B.; CHIAVEGATO, L.G. Caracterização biológica dos ácaros *Brevipalpus obovatus* D., *B. californicus* B. e *B. phoenicis* G. (Acari: Tenuipalpidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.23, n.2, p.189-195, 1994.
- YAMAMOTO, P.T.; PINTO, A.S.; PAIVA, P.E.B.; GRAVENA, S. Seletividade de agrotóxicos aos inimigos naturais de pragas dos citros. **Laranja**, v.13, n.2, p.693-708, 1992.
- YAMAMOTO, A.; YONEDA, H.; HATANO, R.; ASADA, M. Genetic analysis of hexythiazox resistance in the citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor). **Journal of Pesticide Science**, v.20, n. 4, p.513-519, 1995a.
- YAMAMOTO, A.; YONEDA, H.; HATANO, R.; ASADA, M. Influence of hexythiazox resistance on life history parameters in the citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor). **Journal of Pesticide Science**, v.20, n.4, p.521-527, 1995b.
- YAMAMOTO, A.; YONEDA, H.; HATANO, R.; ASADA, M. Laboratory selections of populations in the citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor), with hexythiazox and cross resistance spectrum. **Journal of Pesticide Science**, v.20, n. 4, p.493-501, 1995c.
- YAMAMOTO, A.; YONEDA, H.; HATANO, R.; ASADA, M. Stability of hexythiazox resistance in the citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor) under laboratory and field conditions. **Journal of Pesticide Science**, v.21, n.1, p.37-42, 1996.
- WEEKS, A.; MAREK, F.; BREEUWER, J.A.J. A mite species that consists entirely of haploid females. **Science**, v.292, p.2479-2482, 2001.

WELTY, C.; REISSIG, W. H.; DENNEHY, T. J.; WEIRES, R. W. Susceptibility to hexythiazox of eggs and larvae of European red mite (Acari: Tetranychidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.81, n.2, p.586-592, 1988.

WELTY, C.; REISSIG, W. H.; DENNEHY, T. J.; WEIRES, R. W. Activity of clofentezine against European Red Mite (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v.82, n.1, p.197-203, 1989.