

VANESSA FARIAS DA SILVA

**METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DE ÁCAROS ERIOFÍDEOS EM ERINOSE
DE *Aceria litchii* (Keifer) (Acari: Eriophyidae)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Entomologia, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

S586m
2019
Silva, Vanessa Farias da, 1992-
Metodologia para avaliação de ácaros eriofídeos em
erinosede *Aceria litchii* (Keifer)(Acari: Eriophyidae) / Vanessa
Farias da Silva. – Viçosa, MG, 2019.
ix, 34 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Angelo Pallini Filho.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Ácaros de plantas. 2. Amostragem. 3. Herbívoros.
4. Ácaros - Controle biológico. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Entomologia. Programa de
Pós-Graduação em Entomologia. II. Título.

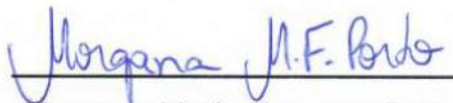
CDD 22. ed. 632.6542

VANESSA FARIAS DA SILVA

**METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DE ÁCAROS ERIOFÍDEOS EM ERINOSE
DE *Aceria litchii* (Keifer) (Acari: Eriophyidae)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Entomologia, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

APROVADA: 28 de fevereiro de 2019.


Morgana Maria Fonseca Porto


André Lage Perez


Angelo Pallini Filho
(Orientador)

Dedico

Aos que me amam.

Em especial aos meus pais, que, para mim, conseguem ser maiores que o próprio amor.

“Um galo sozinho não tece uma manhã”

João Cabral de Melo Neto

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Matéria Primordial de quarks e glúons, pela possível origem da vida.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), cujo Departamento de Entomologia e respectivos professores constituíram mais um degrau da minha jornada em busca de conhecimento.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), que, apesar da instabilidade financeira causada pela crise econômica, honrou os pagamentos da concessão do fomento.

Ao professor Angelo Pallini, que transmitiu a mensagem de que temos a capacidade de matar um monstro a cada dia.

Ao Professor Manoel Guedes Corrêa Gondim Junior, que sempre me direcionou aos melhores caminhos minimizando os erros do percurso.

Aos professores Dalila Jesus, Igor Assis e Leda Faroni, pelo empréstimo de material e disponibilidade do laboratório.

Aos membros da banca por concederem parte do seu tempo à avaliação e aprimoramento do material produzido.

Aos colegas de laboratório: Adriana, Aline, André, Célia, Cléber, Cleide, Felipe Colares, Felipe Lemos, Germán, Henry, Ítalo, Jose, Laila, Marcus, Matheus, Morgana, Pauliana, Pedro, Rafael e Willian, pelos bons momentos e risos. Em especial agradeço a André, Germán, Ítalo, Jose e Rafael, por todas as árvores que subiram durante a experimentação e auxílio com os dados.

A Laís Lopes e Priscilla Figueirôa, por salientarem, mais uma vez, que uma amizade é feita de tempo e merecimento. Seja ela representada por uma simples rosquinha ou por ser a madrinha no batizado de um filho.

A Luana Rocha, por me lembrar que quando uma porta se fecha você ainda pode entrar pela janela.

A Angelina Melo, por me mostrar que uma grande amizade pode começar onde e quando você menos espera. Mas que ela é mais gostosa se for com um café mineiro acompanhando.

A Darwin, o cão mais irresistível do mundo, por ser o melhor despertador do planeta e companheiro de estudos.

Aos meus pais, Aurizete Farias e José Gomes, que antes de serem minha família são minha fonte de inspiração sobre como ser uma pessoa melhor, mesmo nos dias de pouca esperança.

A Josefa Farias (*in memoriam*), por ter me ensinado que o mais bonito da vida é movido pelo amor.

BIOGRAFIA

VANESSA FARIAS DA SILVA, filha de José Gomes da Silva Filho e Maria Aurizete Barbosa de Farias e Silva, nasceu em Surubim, Pernambuco, em 14 de fevereiro de 1992. cursou o nível fundamental e médio no Colégio Marista Pio XII, em sua cidade natal, com conclusão em 2009. Em agosto de 2010, iniciou a graduação, também em Agronomia, na Universidade Federal Rural de Pernambuco. Onde foi bolsista de iniciação científica CNPq durante quase toda totalidade do curso, sob orientação do professor Manoel Guedes Corrêa Gondin Junior. Entre 2014 e 2015 realizou graduação sanduíche em Biotecnologia na Universitat de Valencia, na Espanha. Durante esse período estagiou no Instituto Valenciano de Investigación, na mesma província. Em março de 2017, iniciou o mestrado em Entomologia na Universidade Federal de Viçosa, sob a orientação do professor Angelo Pallini, submetendo-se à defesa de dissertação no dia 25 de fevereiro de 2019.

RESUMO

SILVA, Vanessa Farias, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Metodologia para avaliação de ácaros eriofídeos em erinose de *Aceria litchii* (Keifer) (Acari: Eriophyidae)**. Orientador: Angelo Pallini Filho. Coorientador: Manoel Guedes Corrêa Gondim Junior.

Aceria litchii é uma das mais importantes pragas de lichia no mundo. Esse ácaro provoca a proliferação da indução de eríneos em folhas, flores e frutos, gerando perdas econômicas. Ácaros eriofídeos possuem o corpo diminuto e uma elevada relação de especificidade com o hospedeiro. Este aspecto leva a dificuldade nos processos avaliativos e conseqüentemente o seu controle. Diante disso, o uso de técnicas especiais para a extração e contabilização desse ácaro são necessárias. Como é difícil estimar médias próximas do valor real de ácaros na colônia, utiliza-se métodos de extração para desalojar os indivíduos. Diante disto, inicialmente foi desenvolvida uma metodologia de extração capaz de contabilizar o maior número possível de ácaros. Este método se deu através do uso de ondas ultrassônicas em fluidos e cavitação. Posteriormente, esse método foi utilizado para observar a população de ácaros, através de coletas semanais para amostragem da colônia. Em conclusão, o método utilizado possui capacidade de estimar os níveis populacionais e pode ser utilizado para estudos posteriores de comportamento e dinâmica populacional.

ABSTRACT

SILVA, Vanessa Farias, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019. **Metodologia para avaliação de ácaros eriofídeos em erinose de *Aceria litchii* (Keifer) (Acari: Eriophyidae)**. Adviser: Angelo Pallini Filho. Co-adviser: Manoel Guedes Corrêa Gondim Junior.

Aceria litchii is one of the most important lychee pests in the world. This mite provokes the proliferation of *erineum* induction in leaves, flowers and fruits, what generates economic losses. Eriophyid mites have a minute body size and high specificity relation with the host. This aspect leads to difficulties in the evaluation processes and, consequently, their control. Therefore, the use of special techniques for extraction and accounting of this mite are necessary. Once it is difficult to estimate averages close to the actual value of mites in the colony, extraction methods are used in order to dislodge the individuals. Faced this, initially, it was developed an extraction methodology able to count the largest possible number of mites. This method occurred through the use of ultrasonic waves in fluids and cavitation. Subsequently, this method was used to observe the mites population, through weekly data collections for the colony sampling. Concluding, the method used has capacity to estimate population levels and can be used for later studies about behavior and population dynamics.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	1
Referências Bibliográficas	3
CAPÍTULO I.....	6
Metodologia de contabilização de ácaros eriofídeos	6
Resumo	6
Introdução	7
Material e Métodos	9
Plantas.....	9
Método adaptado para a estimativa de densidade de <i>A. litchii</i> (Metodologia 1)	9
Método de extração através de frequência ultrassônica (Método 2).....	10
Análise estatística	11
Resultado.....	11
Discussão	13
Referências Bibliográficas	15
CAPÍTULO II.....	18
Uso de ondas ultrassônicas e cavitação como ferramentas de avaliação populacional de <i>Aceria litchii</i>	18
Resumo	18
Introdução	19
Material e Método	20
Plantas.....	20
Arranjo amostral.....	20
Método de extração através de frequência ultrassônica	21
Análise estatística	22
Resultado.....	22
Discussão	29
Referências Bibliográficas	32

INTRODUÇÃO GERAL

A fruteira *Litchi chinensis* Sonnerat (Sapindaceae) é uma espécie de clima tropical e subtropical de alto valor econômico, tendo como local de origem o Sudeste da China e Nordeste do Vietnã (Menzel; Waite, 2005). A introdução da lichieira na África e nas Américas ocorreu durante o século 19 (Carr & Menzel 2013). No Brasil, o cultivo comercial da lichia teve início na região oeste do estado de São Paulo nos anos 70 (Carvalho; Salomão, 2000). Atualmente os principais centros produtores são São Paulo e Paraná (CEAGESP, 2017).

Ácaros eriofídeos possuem o corpo alongado com a presença de anéis dorsais que podem se apresentar fusionados ou não. Aqueles que não apresentam tal fusão possuem o corpo mais susceptível aos efeitos ambientais. Devido a essa característica, promovem a formação de galhas ou eríneos em partes vegetais de plantas para se abrigar, estabelecendo uma alta especificidade com o hospedeiro (Moraes & Flechtmann, 2008).

O ácaro da erinose da lichia, *Aceria litchii* (Keifer, 1943) (Acari: Eriophyidae), é uma das mais importantes pragas nessa cultura em todas as regiões de cultivo (Paull; Duarte, 2011; Menzel; Waite, 2005; Sabelis & Bruin 1996; Siddiqui, 2002; Azevedo, 2013). A injúria causada por *A. litchii* é denominada erinose. Esta se apresenta na proliferação anormal de tricomas na face abaxial de folhas jovens. Chegando a se estabelecer também em frutos, galhos e inflorescências na ocorrência de altas infestações do ácaro (Nishida & Holdaway, 1955; Butani, 1977; Martins et al., 2001; Azevedo, 2013). Aparentemente o que leva a esse super desenvolvimento de tricomas é alguma substância liberada pelo ácaro durante sua alimentação ou

oviposição (Jeppson et al. 1975). A coloração dos eríneos varia de clara a marrom escuro. Em altas infestações as folhas apresentam distorções com a formação de depressões nas regiões em que a erinose é formada. Após a formação da erinose, o processo fotossintético da planta é prejudicado levando à perdas econômicas (Alam e Wadud; 1963).

Os danos causados por eriofídeos é crescente ao redor do mundo, gerando maior necessidade de estudo de controle dessas pragas (de Lillo & Skoracka 2008). O controle através de químicos é dificultado quando se tratam de ácaros que vivem em locais confinados das plantas. Ácaros fitoseídeos são citados como importantes predadores no controle biológico de eriofídeos (Sabelis 1996; Gerson *et al.* 2003; Sabelis *et al.* 2008). Entretanto, métodos mais padronizados são necessários ao se estudar eriofídeos, como através do uso de escalas indicativas de dano (Galvão *et al.*, 2008), facilitando o momento de entrada dos métodos de controle conhecidos.

O estudo deste trabalho consistiu em contabilizar e estudar ácaros eriofídeos que habitam eríneos. No Capítulo I foi desenvolvida uma metodologia de contabilização dos ácaros através da técnica do uso de ondas ultrassônicas e cavitação. No Capítulo II, essa metodologia foi utilizada para estudar a população de *A. litchiii* e compreender o comportamento dos ácaros durante a formação e desenvolvimento da erinose. Dessa forma, facilitando os estudos posteriores de tomada de controle e uso de agentes de controle biológico.

Referências Bibliográficas

AZEVEDO, L. H., MORAES, G. J., YAMAMOTO, P. T., & ZANARDI, O. Z.). Development of a Methodology and Evaluation of Pesticides Against *Aceria litchii* and Its Predator *Phytoseius intermedius* (Acari: Eriophyidae, Phytoseiidae). *Journal of Economic Entomology*, 106(5), 2013.

ALAM, M. Z.; WADUD, M. A. On the biology of litchi mite, *Aceria litchi* Keifer (Eriophyidae, Acarina) in East Pakistan. *Pakistan Journal of Science*, Lahore, v. 15, p. 232-240, 1963.

BUTANI, D. K. Pests of litchi in India and their control. *Fruits*, Paris, v. 32, n. 4, p. 269- 270, 1977.

CARVALHO, C. M.; SALOMÃO, C. C. H. Cultura da lichieira. Universidade Federal de Viçosa, boletim de extensão, v. 43, p. 38, 2000.

(CEAGESP). Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais da São Paulo. 2017. A lichia é o destaque da semana na CEAGESP (03/01). (<http://www.ceagesp.gov.br/comunicacao/noticias/lichia-e-o-destaque-da-semana-na-ceagesp-0301/>).

DE LILLO E, SKORACKA A. Why should we talk about Eriophyoid Mites? In: Bertrand M, Kreiter S, McCoy KD, Migeon A, Navajas M, Tixier M S, Vial L (eds) Integrative acarology. Proceedings of VI EurAAc Symposium, Montpellier, July 2008, pp 288-290, 2008.

GERSON U, SMILEY RL, OCHOA R. Mites (Acari) for pest control. Blackwell Science Ltd., UK, 539 pp, 2003.

JEPPSON LR, KEIFER HH, BAKER EW. Mites injurious to economic plants. University of California Press, Berkeley, pp 614, 1975.

MARTINS, A.B.G.; BASTOS, D.C.; SCALLOPI JÚNIOR, E.J. Lichieira (*Litchi chinensis* Sonn). Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2001. 48p.

MENZEL, C. M.; WAITE, G. K. Litchi and longan: botany, cultivation and uses. CABI, Queensland, Australia. 2005.

MORAES, G. J. de; FLECHTMANN, C. H. W. Manual de Acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto: Holos, 2008.

NISHIDA, T; HOLDAWAY, F. G. The erinose mite of lychee. Honolulu: Hawaii Agricultural Experiment Station. 12 p. (Circular 48), 1955.

PAULL, R. E.; DUARTE, O. Litchi and longan, In: PAULL, R. E.; DUARTE, O. [ed.], Tropical Fruits, 2nd ed. CABI. p. 221-251, 2011.

SABELIS MW. Phytoseiidae. In: Lindquist EE, Sabelis MW, Bruin J (eds) Eriophyoid Mites - Their Biology, Natural Enemies and Control. World Crop Pests, pp. 427-456, 1996.

SABELIS MW, BRUIN J. Evolutionary Ecology: Life History Patterns, Food Plant Choice and Dispersal. In: Lindquist EE, Sabelis MW, Bruin J (eds) Eriophyoid Mites - Their Biology, Natural Enemies and Control. World Crop Pests, pp. 329- 366, 1996.

SABELIS MW, JANSSEN A, LESNA I, ARATCHIGE NS, NOMIKOU M, VAN RIJN PCJ. Developments in the use of predatory mites for biological pest control. IOBC/WPRS Bulletin 12:187–199, 2008.

SIDDIQUI, S.B.M.A.B. Lychee production in Bangladesh, *In* M. K. Papademetriou and F. J. Dent (eds.), Lychee Production in the Asia-Pacific Region. Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific, pp. 28-40. 2002.

CAPÍTULO I

Metodologia de contabilização de ácaros eriofídeos

Resumo

Eriofídeos são os menores ácaros encontrados em plantas no mundo. Devido ao seu corpo diminuto e especificidade com o hospedeiro, possuem hábitos de vida que dificultam o acesso às colônias. Por essa razão, tanto sua visualização e avaliação populacional são de difícil acesso. Métodos de agitação e extração de nematoides são utilizados para estimar os valores populacionais deste grupo de ácaros. Entretanto, a quantidade de indivíduos estimada por esses métodos está muito distante do valor real de ácaros que habitam a colônia. Técnicas que utilizam ondas ultrassônicas e cavitação são utilizadas comumente na limpeza de superfícies difíceis de serem atingidas. Portanto, nesse estudo foi utilizado o método de limpeza por sonicação para desalojar eriofídeos confinados entre eríneos. A quantidade de ácaros extraída por sonicação foi 71% superior quando comparada com o método de extração de nematoides. Portanto, o método de sonicação possui mais acuidade para estimar a quantidade de ácaros da colônia.

Introdução

Ácaros eriofídeos são os artrópodes de menor tamanho existente que habitam plantas (Lindquist & Oldfield 1996). O formato do seu corpo permite o acesso a locais crípticos da epiderme vegetal, isolando suas colônias do contato com outros artrópodes (Sabelis & Bruin 1996). Nestes habitats, exercem uma elevada interação com a planta levando vários grupos a uma especificidade com o hospedeiro (Oldfield, 1996). Este estilo de vida dificulta o manejo, o controle (Westphal & Manson 1996; Aratchige et al. 2007; Lesna et al. 2004; Lima et al. 2012; Melo et al. 2015), a estimativa da densidade populacional e a visualização imediata dos ácaros (Azevedo, 2014).

Métodos de amostragem através de agitação manual são utilizados para eriofídeos que podem ser expostos ao se fragmentar as partes vegetais que contém as colônias. *Aceria tosichella*, praga de regiões tritícolas, pode ser facilmente coletada através de lavagem e peneiramento de folhas cortadas de trigo (Bianchin, 2014). Métodos de agitação (Picoli, 2010) e adaptações de métodos de extração de nematoides são utilizados para estimar os valores populacionais de *Aceria litchii* (Azevedo, 2014). Entretanto, para esta espécie, estes métodos apresentam uma estimativa populacional baixa quando comparados ao número real da população observada (Azevedo, 2014). A utilização de aparelho de ultrassom em meio de etanol é uma forma de extração que danifica a estrutura de eriofídeos, impossibilitando a contagem de ácaros (Gibson, 1975).

A produção de bolhas em meio líquido através de ondas ultrassônicas pode ser utilizada benéficamente em diversos sistemas (Mason 2016, Yusof

et al 2016) como a limpeza de materiais e desalojamento de bactérias (Drakopoulou, 2009; Mason, 2016). A partir de 1950, a sonicação tem sido amplamente utilizada na limpeza de materiais alcançando fendas que não são acessíveis a métodos de higienização comuns. Ela forma ondas de choque em jatos que juntamente com a cavitação acústica (formação de bolhas de ar similares ao vácuo) gera um colapso de forças em várias direções. Essas forças conseguem penetrar reentrâncias e saliências da superfície do objeto submetido ao processo de limpeza (Manson, 2016).

Como já mencionado, o desenvolvimento de um método eficiente para a extração de *A. litchei* é necessário e desta forma conduziu-se estudos de comparação de métodos diferentes para a extração de eriofídeos. Foram avaliados um método modificado de extração de nematoides (Azevedo, 2014) e outro de extração através de frequência ultrassônica. A erinose provocada por ácaros eriofídeos é formada pela hiperprodução de eríneos. Estes apresentam cavidades e fendas entre suas superfícies de contato. Portanto, o objetivo deste estudo foi utilizar a energia gerada pela implosão de bolhas oriundas de ondas sonoras piezoelétricas (geração de tensão elétrica como resposta a uma pressão mecânica) com o uso de uma cuba de limpeza ultrassônica para desalojar ácaros eriofídeos confinados entre eríneos. Por consequência, comparar os métodos e analisar qual deles é capaz de apresentar melhor estimativa comparada com o número absoluto de ácaros presentes na colônia.

Material e Métodos

Plantas

Os experimentos foram desenvolvidos em lichieiras, *Litchi chinensis*, da variedade Bengal no Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil (20° 45' 31,8" S; 42° 52' 06" W; 673m de altitude). A área apresenta classificação climática segundo Köppen-Geiger tipo "Cwa", apresentando temperatura moderada, com verão chuvoso e inverno seco (Kottek *et al*, 2006). Foram utilizadas quatro árvores com cerca de 6 metros de altura. As árvores apresentavam infestação por *Aceria litchii* e não sofreram pressão de seleção exercida pelo uso de produtos químicos.

Metodologias de extração

As seguintes metodologias de extração foram utilizadas para contabilizar o número médio de ácaros nas amostras de folhas de lichieira.

Método adaptado para a estimativa de densidade de A. litchii (Metodologia 1)

Foi utilizada a metodologia de extração desenvolvida por Azevedo *et al* 2014, adaptada do método utilizado em estudos de nematologia de Coolen & D'Herde, 1972. Nove ramos contendo de 6 a 8 folhas, com superfície abaxial completamente recoberta por eríneos, foram coletados nas lichieiras. Destes ramos, foram escolhidas três folhas do terço mediano. Um centímetro quadrado de uma das folhas de cada amostra foi retirado para que fosse

utilizado na *metodologia 2*. O material vegetal restante foi demarcado e acondicionado em caixas de poliestireno (15-20°C). Cada amostra foi processada em um liquidificador juntamente com 250ml de água destilada. O material foi passado em um jogo de peneiras de 2mm, 0.2mm e 0.04mm, respectivamente. A alíquota contendo ácaros e pequenas partículas foi retida na última peneira. O material retido foi transferido para uma proveta de 25ml com o auxílio de um jato de sacarose (densidade:1,15g/L). A proveta teve o volume de 25ml completado com a solução de sacarose. Após 15 horas de repouso, o precipitado (folhas) foi separado do sobrenadante (ácaros). O sobrenadante foi entornado na peneira de 0.04mm para que fosse realizada a lavagem dos ácaros com água destilada. Os ácaros foram para uma proveta completando o volume de 15ml com etanol a 70%. O material do recipiente foi agitado antes da avaliação. Três alíquotas de 1 ml cada foram retiradas e contabilizadas em câmara de Peter em microscópio. O total de ácaros da área foliar foi estimado por extrapolação.

Método de extração através de frequência ultrassônica (Método 2)

Amostras de 1cm², obtidas das mesmas folhas que foram utilizadas na *metodologia 1*. As amostras estavam completamente recobertas por eríneos na face foliar abaxial. Cada amostra foi fragmentada em 100 partes iguais com o auxílio de um escalpelo. Os fragmentos foram armazenados dentro de frascos de vidro (18ml) vedados com tampa plástica e filme de parafina plástica. Os frascos foram armazenados por 24h para auxiliar a dispersão dos ácaros. Após esse intervalo, foi acrescentado 3ml de água destilada junto aos fragmentos de folha. Os frascos foram submetidos a dois turnos de 8 minutos

cada em um aparelho de ultrassom. A amostra foi vertida em uma placa de Petri e adicionadas três gotas de detergente neutro para a quebra da tensão superficial. Os ácaros presentes na amostra foram contabilizados com o auxílio de um microscópio estereoscópico e contador manual.

Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R versão 3.5.2 (R Project for Statistical Computing, <http://www.r-project.org>). Os dados recolhidos de ambos os experimentos foram submetidos a uma análise de variância com delineamento inteiramente casualizado. Posteriormente, um teste de Tukey foi utilizado para a comparação das médias ao nível significância de 5%. Os valores de área das folhas de lichieira foram estimados através de uma equação linear simples (Oliveira, 2017).

Resultado

O número de ácaros contabilizados entre os diferentes métodos de estimativa da população foi significativamente diferente ($F_{1, 16} = 41.613$, $P < 0.001$) (Figura 1). A quantidade de ácaros coletados na *metodologia 2*, através de frequência ultrassônica, foi 71% superior quando comparada a *metodologia 1*. A média de ácaros coletados em 3 folhas de lichieira abaxialmente cobertas por eríneos foram de 1248.89 e 4526.93, respectivamente, para a *metodologia 1* e *metodologia 2*.

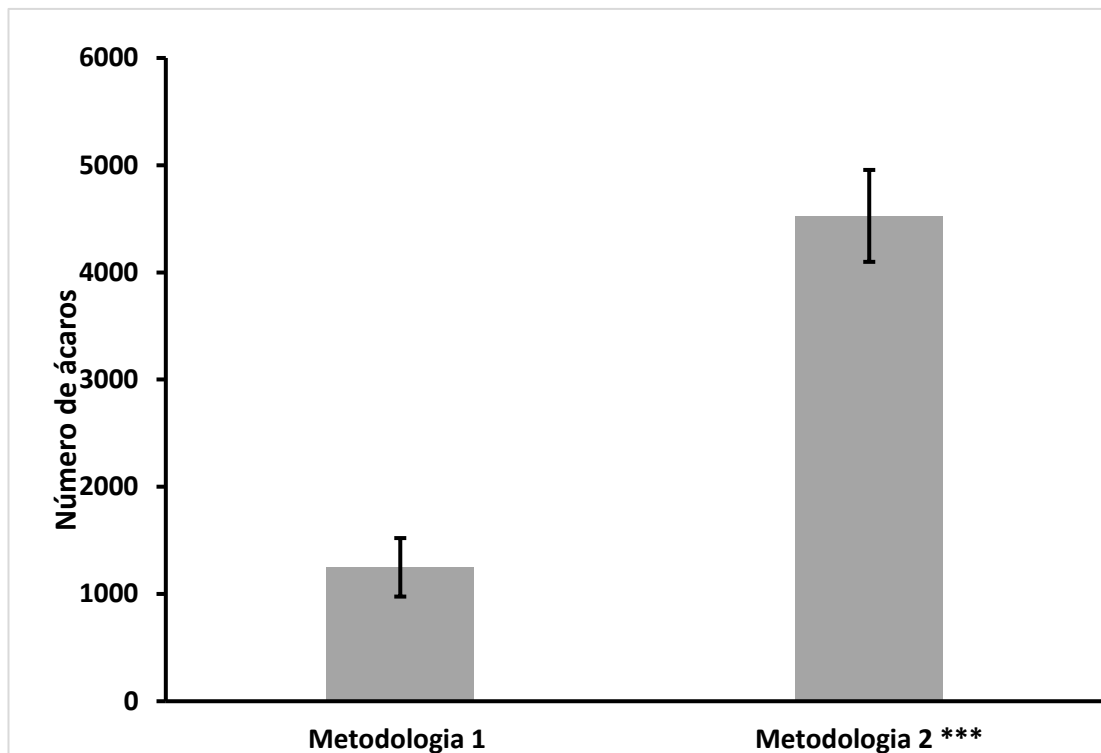


Gráfico 1. Número de ácaros contabilizados pelas metodologias 1 e 2. Asteriscos indicam diferença significativa na quantidade de ácaros observados nos diferentes métodos de estimativa ao nível de 5% pelo teste de Tukey ($P < 0.001$).

Discussão

Como descrito anteriormente, a sonicação pode ser utilizada na remoção de micro-organismos e impurezas no processo de limpeza de materiais (Mason 2016, Yusof *et al* 2016). Através da presença de ondas ultrassônicas e da cavitação gerada pela implosão das bolhas, a sonicação age como um agente de remoção dos ácaros. Esse processo atinge a superfície da folha e as cavidades entre os eríneos, desalojando os ácaros.

A extração de ácaros por esse processo apresentou uma capacidade 71% maior de estimar o número de indivíduos presentes nas injúrias na metodologia desenvolvida neste estudo (*metodologia 2*). O método adaptado da extração de nematóides (Azevedo, 2014) apresenta uma menor capacidade de estimar o número real de ácaros presentes entre os eríneos. Além disso, esse método gera ácaros destruídos e partículas finas de material vegetal que ficam retidos na peneira, mesmo quando se usou o liquidificador na menor velocidade. Não foi possível definir o número de rotações por minuto do liquidificador, tornando a reprodução desse método divergente ao se utilizar marcas diferentes do mesmo aparelho.

Testes através do uso da técnica de sonicação foram realizados em etanol absoluto estimando a densidade de *Aceria hystrix* e *Aculodes dubius* (Nalepa) (Gibson, 1975). Entretanto, apesar do uso de etanol ser comum na preservação e armazenagem de outras famílias, em eriofídeos seu uso causa a desintegração dos ácaros, impossibilitando a estimativa populacional (Gibson, 1975; Keifer, 1975). Portanto, a tentativas do uso de sonicação já realizada anteriormente e destinada a extração não possui sucesso devido ao meio de etanol.

Para ácaros confinados que não induzem a formação de galhas e eríneos e para aqueles de vida livre, a agitação manual pode ser utilizada para obter um número satisfatório de indivíduos. Como no caso de *Aceria tosichella*, que tem sua colônia exposta ao serem destacadas as folhas do colmo (Bianchin, 2010). Quando utilizada a agitação manual para estimar a população de *A. litchii*, foram contabilizados poucos ácaros por amostra (Picoli, 2010; Azevedo, 2014).

Portanto, a técnica de extração através de sonicação em meio à água mostra-se mais adequada para a extração. Através dela a média de ácaros amostrados (4526.93) aproxima-se mais do número real de indivíduos calculados por área foliar. Além disso, a qualidade da amostra para posteriores análises e armazenamento encontra-se estável, sem que ocorra a destruição mecânica pelas hélices do liquidificador ou desintegração pelo uso do etanol.

Referências Bibliográficas

ARATCHIGE NS, SABELIS MW, LESNA I. Plant structural changes due to herbivory: do changes in *Aceria*-infested coconut fruits allow predatory mites to move under the perianth? *Exp Appl Acarol* 43:97–107, 2007.

BIANCHIN V, PEREIRA PRV DA S, LAU D, NAVIA D. Técnica para amostragem coleta e triagem de ácaros Eriophyideos em Poaceas. Embrapa. Comunicado Técnico Online (289). ISSN 1517-4964, 2010.

COOLEN, W.A. & D'HERDE, C.J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent: State Agriculture Research Centre, 1972.

DE AZEVEDO LH, MAEDA EY, INOMOTO MM, DE MORAES GJ. A Method to estimate the population level of *Aceria litchii* (Prostigmata: Eriophyidae) and a study of the population dynamics of this species and its predators on litchi trees in southern Brazil. *J Econ Entomol* 107:361–367. doi: 10.1603/EC13337, 2014.

DRAKOPOULOU, S., TERZAKIS, S., FOUNTOULAKIS, M. S., MANTZAVINOS, D., & MANIOS, T. Ultrasound-induced inactivation of gram-negative and gram-positive bacteria in secondary treated municipal wastewater. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(5), 629–634. doi:10.1016/j.ultsonch.2008.11.011, 2009.

GIBSON, RW. Measurement of eriophyid mite populations on ryegrass using ultrasonic radiation. *Trans. R. Ent. Soc. Lond.*, 127; 31-32, 1975.

KEIFER, HH. Eriophyoidea. In: L.R. Jeppson, HH.Keifer & E. W. Baker (Editors), *Mites injurious to economic plants*. University of California Press, Berkeley, California, USA, pp. 327-396, 1975.

KOTTEK, M., GRIESER, J., BECK, C., RUDOLF, B., & RUBEL, F. World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift*, 15(3), 259–263, 2006.

LESNA I, CONIJN CGM, SABELIS MW. From biological control biological insight; rust-mite induced change in bulb morphology, a new mode of indirect plant defense. *Phytophaga* 14:285–291, 2004.

LIMA DB, DA MELO JWS, GONDIM MGC JR, DE MORAES GJ. Limitations of *Neoseiulus baraki* and *Proctolaelaps bickleyi* as control agents of *Aceria guerreronis*. *Exp Appl Acarol* 56:233–246, 2012.

LINDQUIST EE, OLDFIELD CN. Evolution and phylogeny: evolution of eriophyoid mites in relation to their host plant. In: Lindquist EE, Sabelis MW, Bruin J (eds) *Eriophyoid mites: their biology, natural enemies and control, world crop pest*, vol 6. Elsevier, Amsterdam, pp 277–300, 1996.

MASON, TJ. Ultrasonic cleaning: An historical perspective. *Ultrasonics Sonochemistry*, 29, 519–523.doi:10.1016/j.ultsonch.2015.05.004, 2016.

MELO JWS, LIMA DB, STAUDACHER H, SILVA FR, GONDIM MGC JR, SABELIS MW. Evidence of *Amblyseius largoensis* and *Euseius alatus* as biological control agent of *Aceria guerreronis*. *Exp Appl Acarol* 67:411–421, 2015.

OLDFIELD GN. Diversity and host plant specificity. In: Lindquist EE, Sabelis MW, Bruin J (eds) Eriophyoid mites-their biology, natural enemies and control. Elsevier, Amsterdam, World Crop Pests, vol 6, pp 199–216, 1996.

OLIVEIRA, P. S., SILVA, W., COSTA, A. A. M., SCHMILDT, E. R., & VITÓRIA, E. L. D. leaf area estimation in litchi by means of allometric relationships. revista brasileira de fruticultura, 39(spe). doi:10.1590/0100-29452017403, 2017.

PICOLI, P.R.F., M. R. VIEIRA, E. A. SILVA, AND M.S.O. MOTA. Ácaros predadores associados ao ácaro-da-erinoze da lichia. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 45: 1246Ð1252, 2010.

SABELIS MW, BRUIN J. Evolutionary Ecology: Life History Patterns, Food Plant Choice and Dispersal. In: Lindquist EE, Sabelis MW, Bruin J (eds) Eriophyoid Mites - Their Biology, Natural Enemies and Control. World Crop Pests, pp. 329- 366, 1996.

WESTPHAL E, MANSON. DCM. Feeding effects on host plants: gall formation and other distortions. In: Lindquist E, Sabelis MW, Bruin J (eds) Eriophyoid mites their biology, natural enemies and control, World Crop Pests, vol 6. Elsevier, Amsterdam, pp 231–242, 1996.

YUSOF, N. S. M., BABGI, B., ALGHAMDI, Y., AKSU, M., MADHAVAN, J., & ASHOKKUMAR, M. Physical and chemical effects of acoustic cavitation in selected ultrasonic cleaning applications. Ultrasonics Sonochemistry, 29, 568–576.doi:10.1016/j.ultsonch.2015.06.013, 2016.

CAPÍTULO II

Uso de ondas ultrassônicas e cavitação como ferramentas de avaliação populacional de *Aceria litchii*

Resumo

O ácaro da erinose da lichia, *Aceria litchii*, é considerado a principal praga dessa cultura no mundo. Esse ácaro vive abrigado em eríneos localizados em folhas, flores, pecíolos e até em frutos com infestações severas. Uma avaliação populacional deste fitófago foi realizada por meio de técnicas de amostragem de extração usando ondas ultrassônicas e cavitação. Foi observado um crescimento significativo na colônia durante os primeiros meses de coletas. Estudos mais detalhados devem ser realizados para se conhecer o comportamento populacional de *A. litchii* e seu comportamento de dispersão e picos populacionais. No entanto, as técnicas usadas se mostraram adequadas para extração destes ácaros dos eríneos e constituem uma nova tecnologia para estudo destes ácaros.

Introdução

O ácaro da erinose da lichia, *Aceria litchii*, é considerado a principal praga de ocorrência mundial dessa cultura. Em altas infestações, a presença dos eríneos pode ocorrer também em flores, frutos (Waite & Gerson 1994; Sabelis & Bruin 1996; Westphal & Manson 1996; Mitra 2002; Waite & Hwang 2002; Azevedo *et al.* 2014; Ferraz, 2017) e pecíolos. Esse ácaro desenvolve a proliferação de tricomas, conhecidos como eríneos, nas superfícies fotossintéticas das plantas atrapalhando o seu desenvolvimento (Alam & Wadud; 1963).

A importância econômica de ácaros eriofídeos tem aumentado ao redor do mundo, gerando maior necessidade de conhecimento desses indivíduos (de Lillo & Skoracka 2008). Métodos mais padronizados são necessários ao se estudar eriofídeos. Para a quantificação da escala de danos causados por *A. guerreronis* seja facilmente identificada é utilizada uma escala diagramática (Galvão *et al.*, 2008). Estimando a média populacional através de escalas é possível ter uma reprodutibilidade de estimativas que facilitem o controle das pragas.

Ácaros da família Phytoseiidae são relatados em associação com ácaros eriofídeos no controle biológico (Sabelis 1996; Gerson *et al.* 2003; Sabelis *et al.* 2008). Ácaros predadores possuem dificuldade para acessar locais confinados e podem apenas localizar a presa durante o momento de dispersão no estágio adulto (Van Leeuwen *et al.* 2010). Este momento de

dispersão ocorre, por exemplo, com o ácaro da necrose do coqueiro, *Aceria guerreronis*, que se abriga abaixo das brácteas do fruto do coqueiro e apenas entra em contato com os inimigos naturais ao sair do local da colônia (Melo, 2012; Monteiro *et al*, 2012).

Nesse estudo, objetivou-se utilizar a técnica de amostragem de eriofídeos abrigados em eríneos para se conhecer melhor os picos populacionais de *A. litchii*. Desta forma, buscou-se desenvolver um estudo populacional para facilitar a confecção de escalas de estimativa populacional que auxiliem medidas de controle.

Material e Método

Plantas

Os experimentos foram desenvolvidos em lichieiras, *Litchi chinensis*, da variedade Bengal no Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil (20° 45' 31,8" S; 42° 52' 06" W; 673m de altitude). A área apresenta classificação climática segundo Köppen-Geiger tipo "Cwa", apresentando temperatura moderada, com verão chuvoso e inverno seco (Kottek *et al*, 2006). Foram utilizadas quatro árvores com cerca de 6 metros de altura. As árvores apresentavam infestação por *Aceria litchii* e não sofreram pressão de seleção exercida pelo uso de produtos químicos.

Arranjo amostral

As lichieiras tiveram suas copas divididas em três porções: basal, mediana e apical (posições). Ramos jovens que apresentaram injúria inicial (coloração branca) foram selecionados nos pontos cardinais norte, sul, leste e oeste (regiões) dentro de cada uma dessas áreas. Esses ramos foram marcados com fitas de diferentes cores para cada região selecionada.

Método de extração através de frequência ultrassônica

Inicialmente foram selecionados os ramos segundo a distribuição amostral. Foi amostrada uma folha de cada ramo semanalmente, totalizando 48 amostras por coleta. As amostras foram armazenadas em sacos de papel *Kraft* devidamente identificados. Foi utilizada a metodologia de extração através de frequência ultrassônica desenvolvida no capítulo anterior (*Metodologia 2*), para extrair os ácaros. A amostragem foi realizada no período de quatro meses (julho – outubro de 2018). As folhas amostradas foram medidas em sua altura e largura. Amostras de 1 cm², foram retiradas de cada folha e fragmentadas em 100 partes iguais, com o auxílio de um escalpelo. Os fragmentos foram armazenados dentro de frascos de vidro (18ml) vedados com tampa plástica e filme de parafina plástica. Os frascos foram armazenados por 24h para auxiliar a dispersão dos ácaros. Após esse intervalo, foi acrescentado 3 ml de água destilada junto aos fragmentos de folha. Cada frasco foi submetido a dois turnos de 8 minutos em um aparelho de ultrassom. A amostra foi vertida em uma placa de Petri e adicionadas três gotas de detergente neutro para a quebra da tensão superficial. Os ácaros presentes na amostra foram contabilizados com o auxílio de um microscópio estereoscópico e contador manual. Foi observada também a cor dos eríneos

de cada amostra em uma escala de cores (branco, marrom claro, marrom, marrom escuro e preto). Foram coletados os predadores e armazenados em álcool 70%.

Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R versão 3.5.2 (R Project for Statistical Computing, <http://www.r-project.org>). A distribuição de ácaros ao longo das semanas foi ajustada a um modelo de regressão linear simples. Para as comparações estatísticas das regiões e posições da planta foi realizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (McKight & Najab, 2010), utilizado para a comparação das amostras sem a necessidade de pressuposições. Posteriormente, para melhor comparação dos dados entre posições e regiões, foi aplicado o teste de Bootstrap com intervalos de confiança ao nível de 95%.

Resultado

Existe um crescimento significativo no número de ácaros por semana ($F_{1,6} = 7.327$, $P = 0.03525$). Com o coeficiente de regressão obtido é esperado um aumento de 7.739 ácaros em média por semana em cada planta ($Y = 27.83 + 7.739x$) (Gráfico 1). Não há diferença de distribuição entre as amostras por posição (basal, mediana e superior), a nível de significância $\alpha=0.05$. Esta interpretação vale isoladamente para todas as regiões durante todas as semanas (Tabela 1). O teste de Kruskal-Wallis (Gráfico 4) indica, ao nível de 5%, que não existem diferenças significativas

entre as regiões durante as semanas, exceto na quinta. Nessa semana houve diferença de contagem entre as regiões sul e leste. Na sexta semana, esta diferença deixa de ser significativa novamente. Ao comparar os dados dos Gráficos 5 e 6, verificou-se as seguintes médias nas regiões a) Leste: semanas 4 (64,63; 288,44), 5 (105,63; 149,13), 7 (47,12; 153,27) e 8 (57,24; 117,92) tiveram média estatisticamente maior do que a semana 1 (12,21; 33,92); b) Norte: Nenhuma das semanas teve diferença significativa; c) Oeste: Somente a semana 8 (44,45; 104,21) e a semana 2 (21,83; 43,96) foram diferentes entre si; d) Sul: As semanas 4 (27,12; 85,23) e 8 (33,15; 212,88) são significativamente maiores do que a semana 1 (8,62; 26,35).

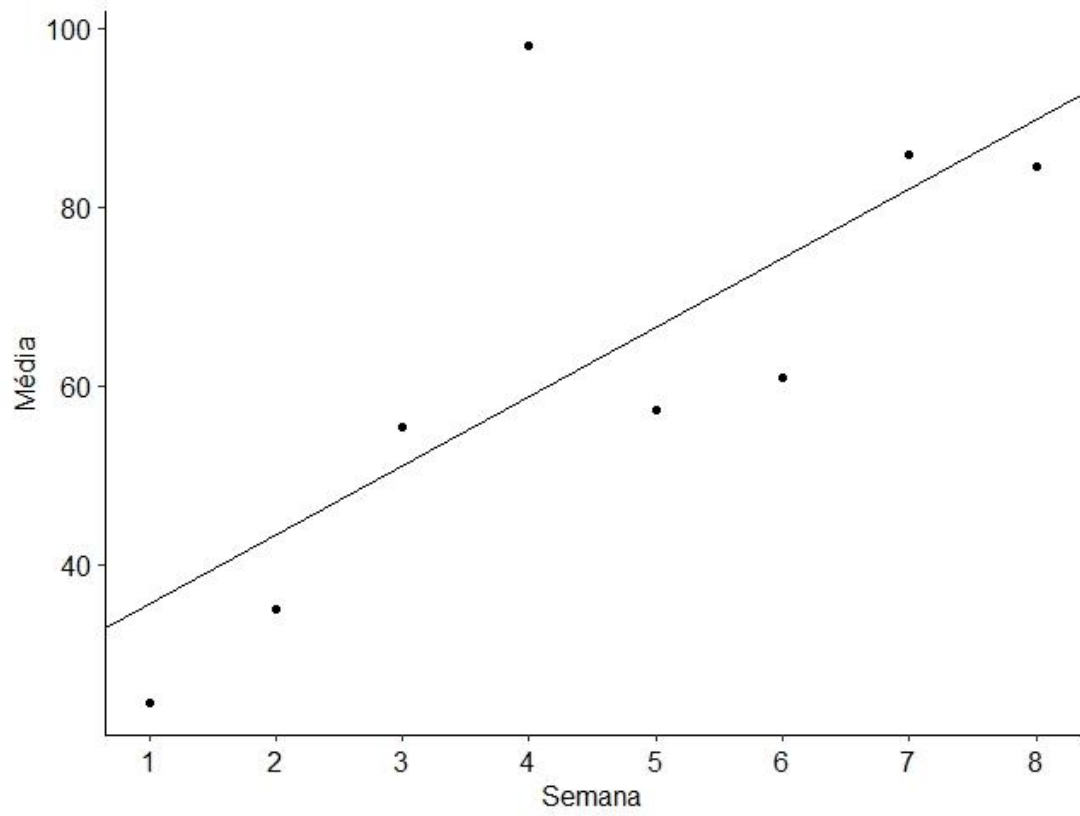


Gráfico 1. Média do número de ácaros ao longo das semanas.

Semana	Norte	Sul	Leste	Oeste
1	0.1452	0.8611	0.5509	0.9575
2	0.9439	0.2274	0.2921	0.7238
3	0.2757	0.5498	0.7774	0.8285
4	0.4555	0.9260	0.6677	0.2457
5	0.6677	0.0906	0.8411	0.2866
6	0.6630	0.7238	0.9392	0.1548
7	0.4724	0.5836	0.3897	0.9257
8	0.8365	0.9810	0.4689	0.2444

Tabela 1. Valores-p de Kruskal-Wallis avaliando dentro de cada região (norte, sul, leste e oeste) a existência de diferença significativa da contabilização entre as diferentes posições (basal, mediana e superior). ($\alpha=0.05$)

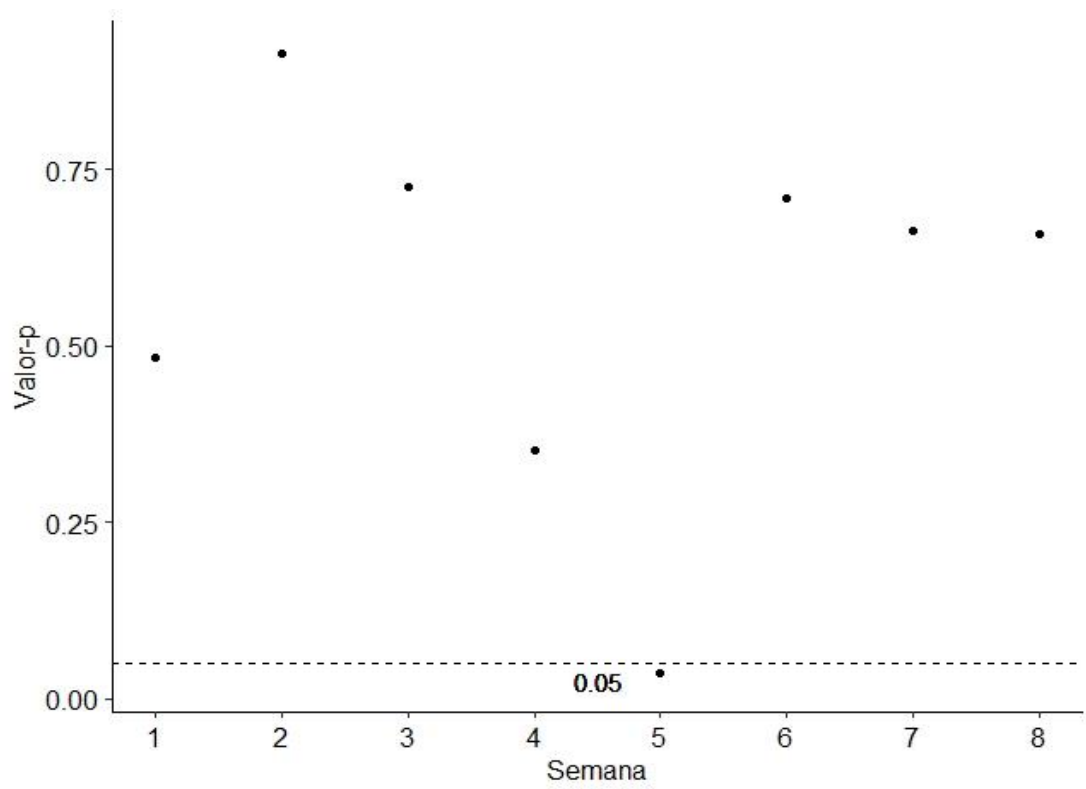


Gráfico 4. Valores-p do teste de Kruskal-Wallis comparando regiões (norte, sul, leste e oeste). ($\alpha=0.05$)

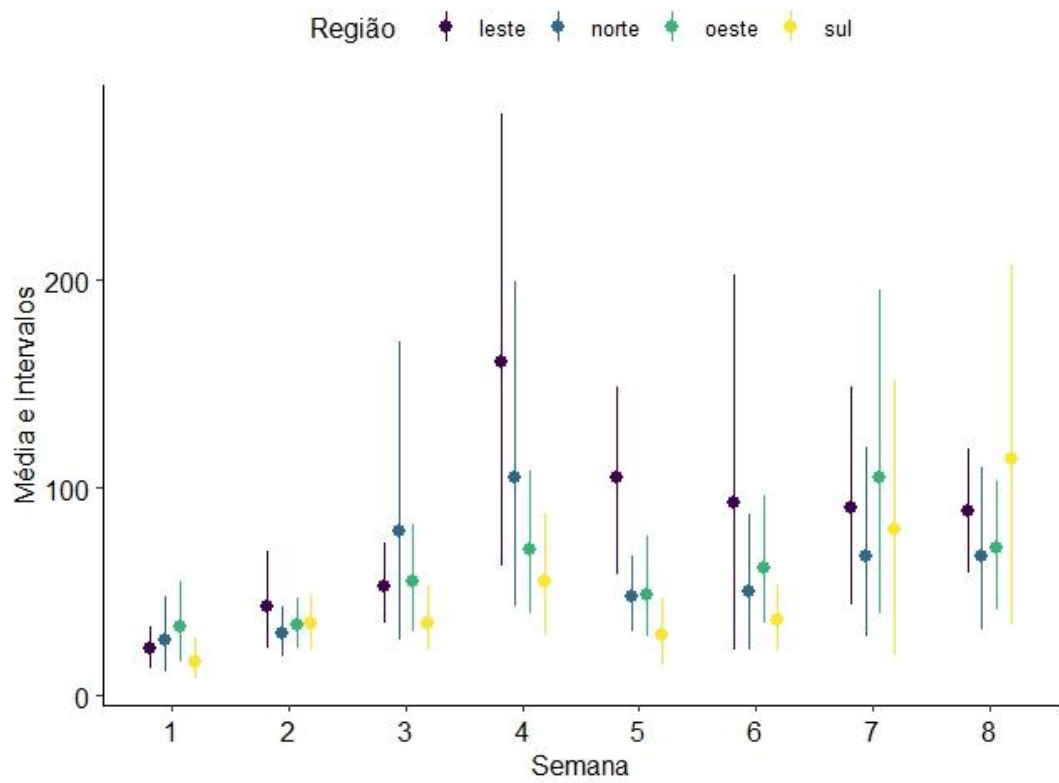


Gráfico 5. Médias do número de ácaros e intervalos de confiança de Bootstrap ao nível de 95% ao longo das semanas.

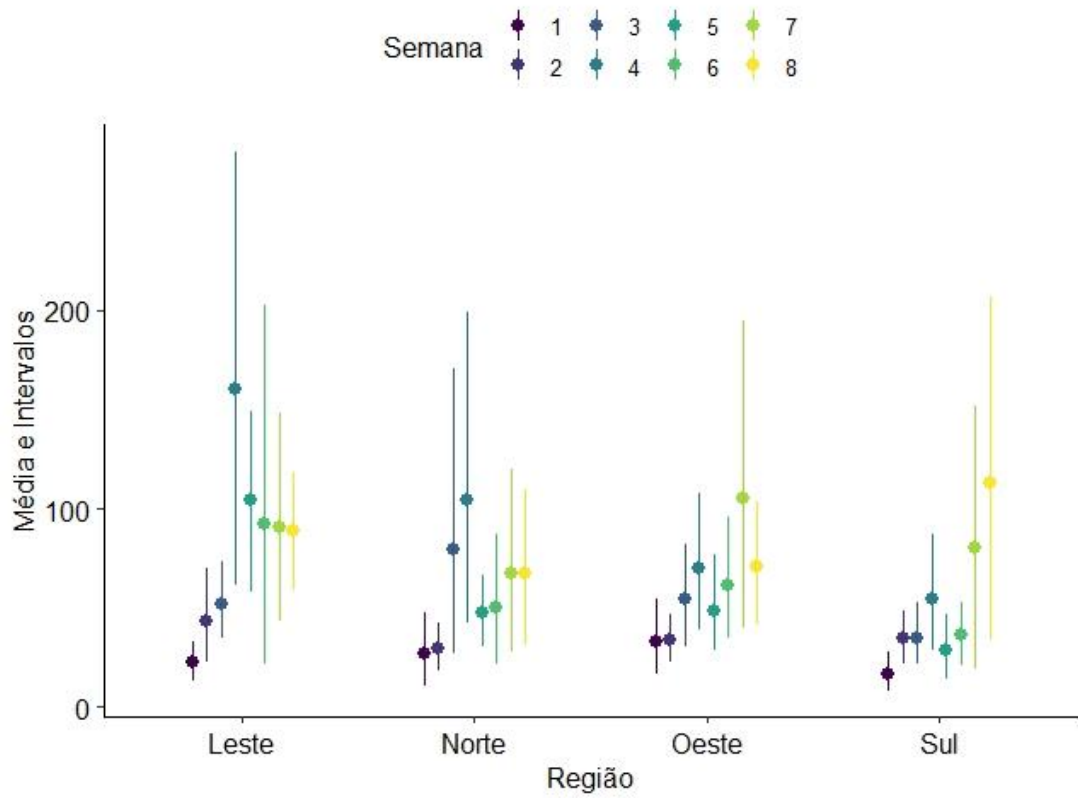


Gráfico 6. Médias do número de ácaros e intervalos de confiança ao nível de 95% de Bootstrap por região.

Discussão

Foi encontrada uma distribuição uniforme do número de ácaros nas amostras, pois não houve diferença entre posições e regiões das plantas. Quando essa distribuição foi ajustada à reta, observamos a correspondência do comportamento da colônia ao longo do tempo de desenvolvimento da injúria durante as semanas. A regressão indica um crescimento significativo da população nos dois primeiros meses. Observando o coeficiente de regressão obtido, existe uma tendência de crescimento da população nas semanas seguintes após o período dos dados apresentados.

Na segunda análise de geração de intervalos de confiança de Bootstrap comparando região e semanas foram reamostrados os conjuntos de valores em intervalos iguais, através da obtenção de vários intervalos de confiança ao nível de 95%. Comparando as regiões durante as semanas, houve diferença significativa somente na semana 5 entre as regiões Sul e Leste. Apesar do resultado significativo na semana 5, essa diferença não foi encontrada ao longo das semanas entre as regiões. Devido aos tamanhos amostrais pequenos, é possível que efeitos reais de crescimento e diferença não tenham sido detectados por presença de ruído, levando a essa diferença na quinta semana.

Os dados apresentados são resultados dos dois primeiros meses de avaliação desde a fase inicial da injúria. Por serem quatro meses de experimentação, espera-se que no próximo estágio das análises o comportamento do estudo da população seja representado por uma parábola. A equação da reta indica o crescimento inicial da colônia. Entretanto, no decorrer das avaliações acredita-se que a colônia estacione o crescimento e

logo em seguida diminua as médias populacionais, como observado em Azevedo *et al*, 2014.

Eriofídeos são de difícil controle tanto com o uso de pesticidas como usando-se agentes de controle biológico. No entanto, ácaros fitoseídeos são citados como importantes predadores no controle biológico de eriofídeos (Sabelis 1996; Gerson *et al*. 2003; Sabelis *et al*. 2008). *Phytoseius intermedius* e *Amblyseius herbicolus* foram encontrados associados a *A. litchii* durante o experimento (Silva, V.F., obs. pessoal). Estes ácaros são estudados no controle biológico do ácaro da erinose da lichia e podem estar diretamente ligados as oscilações populacionais (Waite & Gerson, 1994; Picoli *et al*, 2010; Azevedo *et al*, 2016; Ferraz, 2017;). Portanto, as curvas populacionais desses predadores com a presa podem ser alvo de estudos populacionais predador-presa.

Escalas populacionais facilitam a compreensão de estudos para a tomada de controle como a desenvolvida para *Aceria guerreronis* por Galvão *et al*, 2018. Foi observado que as cores dos eríneos em *A. litchii* estão ligadas diretamente com o estágio de desenvolvimento da injúria (branco ao preto). Com o material do estágio inicial até o período de senescência da folha, poderá ser desenvolvida uma escala de cores em relação à média populacional de cada amostra ao longo do tempo. Dessa forma, pode-se facilitar o conhecimento dos picos populacionais de *A. litchii* de forma empírica usando-se as cores da injúria.

Os resultados até aqui obtidos demonstram que a distribuição da quantidade de *A. litchii* na copa das árvores é aleatória. As técnicas de extração usadas permitem estudar o comportamento populacional do ácaro

de maneira mais prática e eficiente que os métodos usados atuais (Picoli, 2010; Azevedo *et al*, 2014). Entretanto, os estudos precisam ser conduzidos por um tempo de amostragem suficiente para que possa ser gerada a curva de crescimento populacional. Por consequência, serem estudados dados suficientes para desenvolver melhor as análises do momento da tomada de controle do eriofídeo.

Referências Bibliográficas

ALAM MZ, WADUD MA. On the biology of litchi mite, *Aceria litchii* Keifer (Eriophyidae, Acarina) in East Pakistan. Pak J Sci 15: 232-240, 1963.

DE AZEVEDO LH, MAEDA EY, INOMOTO MM, DE MORAES GJ. A Method to estimate the population level of *Aceria litchii* (Prostigmata: Eriophyidae) and a study of the population dynamics of this species and its predators on litchi trees in southern Brazil. J Econ Entomol 107:361–367. doi: 10.1603/EC13337, 2014.

DE LILLO E, SKORACKA A. Why should we talk about Eriophyoid Mites? In: Bertrand M, Kreiter S, McCoy KD, Migeon A, Navajas M, Tixier M S, Vial L (eds) Integrative acarology. Proceedings of VI EurAAc Symposium, Montpellier, July 2008, pp 288-290, 2008.

GALVÃO AS, GONDIM MGC JR, MICHEREFF SJ. Escala diagramática de dano de *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) em coqueiro. Neotrop Entomol 37:723–728, 2008.

GERSON U, SMILEY RL, OCHOA R. Mites (Acari) for pest control. Blackwell Science Ltd., UK, 539 pp, 2003.

MELO JWS, DOMINGOS CA, PALLINI A, OLIVEIRA JEM, GONDIM MGC JR. Removal of bunches or spikelets is not effective for the control of *Aceria guerreronis*. HortScience 47:1–5, 2012.

MONTEIRO VB, LIMA DB, GONDIM MGCJR SIQUEIRA HAA. Residual bioassay to assess the toxicity of acaricides against *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) under laboratory conditions. *J Econ Entomol* 105:1419–1425, 2012.

MITRA SK. Overview of lychee production in the Asia-Pacific Region. In: Papademetriou MK, Dent FJ (ed) *Lychee Production in the Asia-Pacific Region*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok, Thailand pp 5-13, 2002.

PICOLI, P.R.F., M. R. VIEIRA, E. A. SILVA, AND M.S.O. MOTA. Ácaros predadores associados ao ácaro-da-erinoze da lichia. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 45: 1246–1252, 2010.

SABELIS MW. Phytoseiidae. In: Lindquist EE, Sabelis MW, Bruin J (eds) *Eriophyoid Mites - Their Biology, Natural Enemies and Control*. *World Crop Pests*, pp. 427-456, 1996.

SABELIS MW, BRUIN J. Evolutionary Ecology: Life History Patterns, Food Plant Choice and Dispersal. In: Lindquist EE, Sabelis MW, Bruin J (eds) *Eriophyoid Mites - Their Biology, Natural Enemies and Control*. *World Crop Pests*, pp. 329- 366, 1996.

SABELIS MW, JANSSEN A, LESNA I, ARATCHIGE NS, NOMIKOU M, VAN RIJN PCJ. Developments in the use of predatory mites for biological pest control. *IOBC/WPRS Bulletin* 12:187–199, 2008.

VAN LEEUWEN T, WITTERS J, NAUEN R, DUSO C, TIRRY L. The control of eriophyoid mites: state of the art and future challenges. *Experimental and Applied Acarology*. 51:205–224, 2010.

WAITE GK, HWANG JS. Pest of litchi and longan. In: Peña JE, Sharp JL, Wysoki M (ed) *Tropical fruit pest and pollinators: biology, economic importance, natural enemies and control*. CAB International, Wallingford, pp 331-359, 2002.

WAITE GK, GERSON U. The predator guild associated with *Aceria litchii* (Acari: Eriophyidae) in Australia and China. *Entomophaga* 39 (3/4):275-280, 1994.

WESTPHAL E, MANSON DCM. Feeding Effects on Host Plants: Gall Formation and Other Distortions. In: Lindquist EE, Sabelis MW, Bruin J (eds) *Eriophyoid Mites - Their Biology, Natural Enemies and Control*. World Crop Pests, pp. 231-242, 1996.