



## **AVALIAÇÃO DA BACTÉRIA ENTOMOPATOGENICA *Xenorhabdus szentirmaii* PARA O CONTROLE DE *Tetranychus urticae* (ACARI: TETRANYCHIDAE)**

Giovanna M. Muniz<sup>1</sup>, Jorge F.M. Cardoso<sup>2</sup>, Julie G. Chacon-Orozco<sup>3</sup>, Luis G. Leite<sup>4</sup>

**Nº 22814**

**RESUMO** – A incidência de pragas é um dos principais entraves da agricultura atual, ocasionando reduções do volume de produção, prejuízos à qualidade dos produtos e até a morte de plantas e dizimação de cultivos inteiros, além de grandes perdas econômicas. Dentre estas pragas, destaca-se o ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*), que atacam vasta gama de plantas cultivadas, possuem ciclos de vida curtos e taxas reprodutivas elevadas, ocorrendo em diversas regiões do planeta. Sua principal técnica de controle consiste na aplicação de pesticidas químicos que promovem desbalanços ambientais e se tornam ineficazes devido ao desenvolvimento de populações resistentes. Buscando-se uma agricultura mais sustentável e eficaz, métodos alternativos vêm sendo estudados para controle dessas pragas, com destaque para o controle biológico. Bactérias das espécies *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, simbioses de nematoides entomopatogênicos caracterizam-se pela produção de compostos antimicrobianos e inseticidas que podem atuar como potencial fonte de novos agentes de controle biológico de pragas e doenças de plantas. Sendo assim, este projeto teve como objetivo avaliar a ação patogênica da bactéria *Xenorhabdus szentirmaii* sobre fêmeas adultas do ácaro-rajado, comparando diferentes tempos de crescimento do caldo bacteriano (3, 6 e 9 dias). Os resultados demonstram que a bactéria *X. szentirmaii* PAM 25, crescida durante 6 dias causou a maior taxa de mortalidade dos ácaros (56,7%), seguido por 3 dias e 9 dias de crescimento (41,7% e 36,7%, respectivamente). Estes resultados evidenciam a ação da cultura da bactéria na patogenicidade do ácaro rajado, e destacam que o tempo de crescimento influencia na porcentagem da mortalidade, possivelmente devido ao estágio de desenvolvimento da bactéria.

**Palavras-chaves:** Controle biológico, ácaro-rajado, bactérias simbioses, nematoides entomopatogênicos, patogenicidade.

1 Autora, Bolsista PIBIC, Graduação em Ciências Biológicas, PUCC, Campinas-SP; giovannammuniz@gmail.com

2 Mestrando, Bolsista CAPES, laboratório de controle biológico, CAPSA - IB, Campinas-SP.

3 Pós-doutoranda, Bolsista FAPESP, laboratório de controle biológico, CAPSA - IB, Campinas-SP.

4 Orientador, Pesquisador do CAPSA - IB, Campinas-SP. [garrigos.leite@gmail.com](mailto:garrigos.leite@gmail.com)



## EVALUATION OF THE ENTOMOPATOGENIC BACTERIA *Xenorhabdus szentirmai* FOR THE CONTROL OF *Tetranychus urticae* (ACARI: TETRANYCHIDAE)

**ABSTRACT** – The incidence of pests is one of the main challenges of current agriculture, causing reductions in production volumes, damages to product quality and even the death of plants and decimation of entire crops, in addition to great economical losses. Among these pests, the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) stands out, attacking a wide range of cultivated plants, having a short life cycle and high reproductive rates and occurring in different regions of the planet. Its main control technique consists of the application of chemical pesticides that promote environmental imbalances and become ineffective due to the development of resistant populations. Seeking a more sustainable and effective agriculture, alternative methods have been studied to control this pest, with emphasis on biological control. Bacteria of the species *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*, symbionts of entomopathogenic nematodes, are characterized by the production of antimicrobial compounds and insecticides that can act as a potential source of new biological control agents for plant pests and diseases. Therefore, this project aimed to evaluate the pathogenic action of the bacterium *Xenorhabdus szentirmai* on adult females of the two-spotted spider mite, comparing different growth times of bacterial cultures (3, 6 and 9 days). The results show that the bacterium *X. szentirmai* PAM 25, grown for 6 days, caused the highest mite mortality rate (56.7%), followed by 3 days and 9 days of growth (41.7% and 36.7%, respectively). These results show the action of the bacterial culture on the pathogenicity of the two-spotted spider mite, and highlight that the growth time influences the percentage of mortality, possibly due to the stage of development of the bacteria.

**Keywords:** Biological control, two-spotted spider mite, symbiotic bacteria, entomopathogenic nematodes, pathogenicity.

### 1. INTRODUÇÃO

O ácaro-rajado *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae) é uma das pragas agrícolas e ornamentais de maior importância no cenário produtivo atual (ATTIA et al. 2013; AL-AZZAZY; ALSOHIM; YODER, 2020). Por se tratar de uma espécie fitófaga e polífaga, é capaz de ocasionar danos físicos e econômicos a mais de 1.100 espécies de plantas e cerca de 150 safras (VAN LEEUWEN et al. 2010). Sua distribuição geográfica compreende diversas áreas do globo, ocupando



majoritariamente zonas de clima temperado e subtropical (INCEDAYI et al. 2021), sendo que mais de 100 países apresentam histórico de infestações de *T. urticae* (CABI, 2021).

Os danos ocasionados às plantas pelo ácaro-rajado ocorrem durante sua alimentação, que consiste em romper células epidérmicas e sugar o conteúdo de seu mesofilo. As lesões assim causadas alteram os processos fisiológicos da planta e reduzem suas áreas de atividade fotossintética (FLECHTMANN, 1985; EROGLU et al. 2019; INCEDAYI et al. 2021). Estas lesões ocasionam o aparecimento de manchas cloróticas, o que conforme o aumento populacional de *T. urticae*, pode ocasionar o amarelamento e queda precoce das folhas, o cessar de seu crescimento e eventual morte da planta (BERNARDI et al. 2010).

Atualmente a principal técnica de controle utilizada para o manejo de populações do ácaro-rajado é a aplicação de acaricidas sintéticos (ÇAĞATAY et al. 2018; SATO et al. 2007; WATANABE et al. 1994). Contudo, devido à alta taxa de reprodução desta espécie e seu ciclo de vida curto, essa prática estimula o desenvolvimento de populações resistentes a estes químicos (WYMAN; OATMAN; VOTH, 1979).

Desde seu primeiro relato como praga, *T. urticae* tem traçado um histórico de desenvolvimento de resistência a pesticidas (GOODWIN et al., 1995), o que acarreta em aplicações elevadas e frequentes, que levam a riscos crescentes à saúde de produtores e consumidores, além de gerar impactos ambientais (EDGE; JAMES, 1982; SATO et al., 1994; ATTIA et al., 2013). Além disso, o uso excessivo de produtos químicos pode promover desequilíbrios ambientais que favorecem o crescimento populacional de *T. urticae*, como a eliminação de predadores naturais mais sensíveis a produtos químicos (PONTES, 2006; KUMARI et al., 2017).

No Brasil, mais de dez Ingredientes Ativos registrados são utilizados para o controle de *T. urticae*, com classificações toxicológicas variadas (AGROFIT, 2019) e uma série de trabalhos científicos destacando populações resistentes aos principais produtos utilizados no mercado (KUMARI et al., 2017). Devido ao alto impacto ocasionado por infestações desta praga, e dos problemas compreendidos nas suas técnicas atuais de controle, novas tecnologias e estratégias de manejo ganham destaque e importância, como o uso de inseticidas de origem vegetal e agentes de controle biológico (NICETIC et al. 2001; PONTES, 2006; POTENZA et al. 2006). Dentre os promotores de controle biológico, múltiplos tipos de organismos são promissores, a exemplos dos ácaros-predadores, fungos entomopatogênicos e bactérias.

As bactérias são organismos altamente variados utilizados em diferentes frentes de manejo de pragas (PALMA et al., 2014; SANTOS-MATOS et al., 2017; FIRA et al., 2018). Elas são capazes de habitar diversos ambientes aquáticos e terrestres, rizosferas de plantas e até mesmo colonizar



plantas internamente. Certos gêneros têm uma parte considerável de seu genoma dedicada à produção de metabólitos secundários, o que as torna capazes de sintetizar múltiplas substâncias antagônicas com estruturas químicas distintas (PALMA et al., 2014; EHLING-SCHULZ; LERECLUS; KOEHLER, 2019).

As bactérias *Photorhabdus* e *Xenorhabdus* (simbiontes dos nematoides entomopatogênicos *Heterorhabditis* e *Steinernema*, respectivamente), são conhecidas por serem altamente patogênicas a insetos (SHAPIRO-ILAN; DOLINSKI, 2015) produzindo grande quantidade de metabólitos secundários que desempenham vários papéis no processo de infecção, bem como na proteção de cadáveres de insetos infectados contra vários microrganismos oportunistas (FOLTAN; PUZA, 2009). Devido a toxicidade oral dos metabólitos dessas bactérias para inseto, essas substâncias têm recebido atenção devido ao seu potencial para controlar diversas pragas (BOWEN et al., 1998; FFRENCH-CONSTANT; BOWEN, 2000; ABDEL-RAZEK, 2003), incluindo o ácaro-rajado (EROGLU et al., 2019; CEVIZCI et al., 2020).

A descoberta, caracterização molecular e produção de isolados bacterianos oriundos de diferentes fontes tem apresentado crescimento considerável nas últimas décadas. Contudo, ainda existe muito a ser explorado quanto à triagem de novos isolados, para que cresça o número de organismos capazes de promover um controle eficiente do ácaro-rajado, buscando compatibilidade com outros produtos e variedade de espécies e compostos, e que ao mesmo tempo sejam seguros para o meio ambiente, aos seres-humanos e viáveis em uma cadeia de produção de produtos biológicos acessíveis (LACEY et al. 2015).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local do experimento**

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Controle Biológico de Pragas, localizado no Centro Avançado em Proteção de Plantas e Sanidade Animal do Instituto Biológico, em Campinas, São Paulo.

### **2.2 Criação de *Canavalia ensiformis***

As fêmeas adultas de *T. urticae* utilizadas nos experimentos foram obtidas a partir de uma criação em plantas de *Canavalia ensiformis*, Fabaceae, no Laboratório de Acarologia (LA/IB) do CAPSA em Campinas-SP.

Sementes de *Canavalia ensiformis* foram embebidas em água por doze horas, secas e transferidas para vasos plásticos de 500 ml contendo o substrato VIVATTO PRO 20 – TECHNES™,

tipo F, seguido de sua incubação em ausência de luz até a germinação e emergência das plantas. Os vasos foram então transferidos para uma câmara climatizada e mantidos sob umidade relativa do ar constante de  $70\pm 10\%$ , temperatura de  $25\pm 1^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 14 horas por 30 dias.

Uma população de ácaros fornecida pelo Laboratório de Acarologia foi então reproduzida em plantas adultas de *C. ensiformis*. As plantas infestadas foram mantidas sob temperatura constante de  $25\pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa do ar de  $70\pm 10\%$  e fotoperíodo de 14 horas, conforme descrito por (SATO, et al. 2007).

### 2.3 Isolamento da bactéria simbiote do nematoide entomopatogênico

A bactéria foi isolada de acordo com a metodologia de Akhurst (1980), a partir da hemolinfa de lagartas de *Galleria mellonella* infectadas, com 1 mL da suspensão do nematoide *Steinernema rarum*. Logo após a morte, os insetos foram desinfestados superficialmente com álcool 90% e flambados. Com auxílio de um alfinete entomológico foi feito um ferimento na parte frontal da lagarta e a hemolinfa extravasada foi semeada em placas de Petri contendo o meio de cultura NBTA (Agar Nutritivo; 25 mg Azul de Bromotimol; 40 mg Cloreto de Trifenil-Tetrazolio; 1000 mL-1 água destilada). As placas foram mantidas no escuro a  $28^\circ\text{C}$ , durante 72 h.

Para a produção dos inóculos uma colônia da bactéria *X. szentirmaii* PAM25 foi cultivada em 3 frascos Schott de 100 mL contendo 60 mL de meio líquido Nutrient Broth (NB) (Extrato de carne – 1 g/L, extrato de levedura – 2 g/L, peptona – 5 g/L, cloreto de sódio – 5 g/L) e mantidos em agitação de 150 rpm sob temperatura constante de  $25^\circ\text{C}$ . o tempo de crescimento variou dependendo de cada tratamento 3, 6 e 9 dias.

### 2.4 Preparação das arenas

Para a aplicação das bactérias, cada arena foi constituída por uma placa de Petri com 15 cm de diâmetro, contendo uma camada de algodão hidrofílico embebida em água e sobre ela uma folha de feijão de porco com a face abaxial voltada para cima. O pecíolo e as extremidades da folha foram cobertos por algodão umedecido para mantê-la turgida e prevenir o escape dos ácaros.

Com o auxílio de um pincel (nº 0) de cerdas macias, 20 fêmeas adultas foram transferidas para as arenas, e após duas horas fêmeas mortas ou injuriadas pela transferência foram retiradas até que se obteve a quantia especificada em cada experimento.

## 2.5 Aplicação das bactérias

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação patogênica da bactéria *X. szentirmaii* PAM25 em 3 três tempos de crescimento (3, 6 e 9 dias), sobre o ácaro-rajado. O estudo foi composto por quatro tratamentos, cada um representado por um tempo de crescimento, além de um tratamento controle contendo água destilada esterilizada. Para tratamento foram estabelecidas três repetições, cada uma representada por uma arena contendo 20 fêmeas adultas.

Os caldos bacterianos foram aplicados sobre as arenas por meio de uma Torre de Potter (7 lb/psi), que pulverizou 2 ml das suspensões bacteriana. Em seguida as arenas foram armazenadas em uma sala fechada, sob temperatura de 25°C e Umidade relativa de 60%.

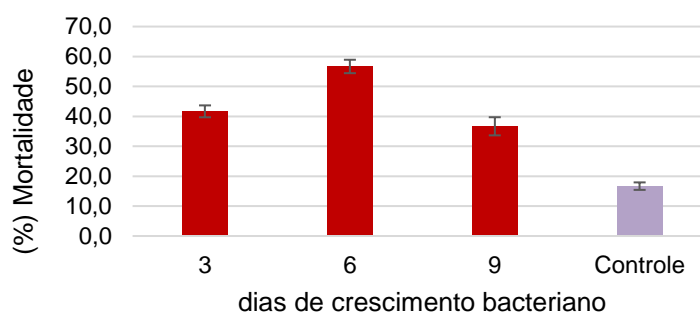
As avaliações foram realizadas 24, 48 e 72 horas após a pulverização, e consistiram em contabilizar e retirar fêmeas mortas, identificadas visualmente por coloração amarelada atípica, corpos flácidos e ausência de movimento quando estimuladas por um pincel nº 0 de cerdas macias. Indivíduos mortos por contato com o algodão umedecido foram contabilizados como vivos nos cálculos de mortalidade.

## 2.6 Análise estatística

O experimento foi realizado com delineamento inteiramente casualizado e apresentado em porcentagem de mortalidade (%).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A bactéria ocasionou mortalidade de fêmeas do ácaro em todos os tratamentos testados (Figura 1.), causando 41,7% aos 3 dias de crescimento do caldo bacteriano, 56,7% com 6 dias de crescimento, e 36,7% com 9 dias.



**Figura 1.** Mortalidade do ácaro-rajado inoculado com *Xenorhabdus szentirmaii* PAM25 em diferentes tempos de crescimento no meio NB.



Os resultados obtidos se diferenciam dos encontrados por Eroglu et al. (2019), onde avaliaram a eficácia dos metabólitos secundários (2,5ml) produzidos por *X. szentirmaii* (com 6 dias de crescimento) sobre fêmeas adultas de *T. urticae* e obtiveram uma taxa de mortalidade equivalente a 79%, cinco dias após aplicação da bactéria. Esta diferença pode estar relacionada a fatores evolutivos de adaptação ao local de obtenção das bactérias e da população de *T. urticae* utilizada no estudo (origem geográfica diferente).

Estudos futuros podem ser desenvolvidos para a averiguar a diferença de susceptibilidade de populações distintas de *T. urticae*, assim como a influência de um volume superior de caldo bacteriano sobre o ácaro.

As maiores taxas de mortalidade observadas no tratamento contendo o caldo bacteriano obtido após 6 dias de cultivo podem estar relacionadas ao maior acúmulo de metabólitos secundários (antibióticos e exoenzimas), até o momento de avaliação, seguido de sua provável degradação quando submetidos a maior tempo de crescimento (CHACÓN-OROZCO et al., 2020). Segundo Forst e Neelson (1996), na curva de crescimento das bactérias simbiotes dos NEPs ocorre um aumento na produção das exoenzimas (lipases, quitinases, proteases e fosfolipases) após o final da fase logarítmica até o final da fase estacionária, indicando que tempo de crescimento elevado pode não resultar em maior mortalidade.

Contudo, mortalidades próximas a 40% contribuir para um controle efetivo, considerando sua capacidade de reduzir níveis populacionais do ácaro, assim como sua alta taxa de reprodução (TEHRI, 2014). Somado a isso, Gatarayih; Laing e Miller (2010) demonstram que adjuvantes como a emulsão de óleos acarretam em um acréscimo de mortalidade, sendo uma alternativa que pode ser unida ao controle biológico por microrganismos para ocasionar maior eficácia, e que pode ser explorada em estudos futuros.

#### **4. CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos permitem identificar o potencial da bactéria simbiote de NEP como agente de controle de ácaros, e como o tempo de crescimento da bactéria afeta na mortalidade da praga..

#### **5. AGRADECIMENTOS**

Agradecimentos ao CNPq pela bolsa PIBIC concedida.





## 6. REFERÊNCIAS

- AGROFIT. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - **Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/SDA** 2019. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 27 dez. 2019.
- ABDEL-RAZEK, A. S. Pathogenic effects of *Xenorhabdus nematophilus* and *Photorhabdus luminescens* (Enterobacteriaceae) against pupae of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.). **Anzeiger für Sch.**, [S. l.], v. 76, n. 4, p. 108–111, 2003. DOI: 10.1046/j.1439-0280.2003.02030.x. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1439-0280.2003.02030.x>.
- AKHURST, R. J. A comparative analysis of entomoparasitic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*. **Journal of General Microbiology**, [S. l.], v. 121, p. 303–309, 1980.
- AL-AZZAZY, Mahmoud M.; ALSOHIM, Abdullah S.; YODER, Carl E. Biological effects of three bacterial species on *tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) infesting eggplant under laboratory and greenhouse conditions. **Acarologia**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 587–594, 2020. DOI: 10.24349/acarologia/20204390.
- ATTIA, Sabrine; GRISSA, Kaouthar Lebdi; LOGNAY, Georges; BITUME, Ellyn; HANCE, Thierry; MAILLEUX, Anne Catherine. A review of the major biological approaches to control the worldwide pest *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with special reference to natural pesticides: Biological approaches to control *Tetranychus urticae*. **Journal of Pest Science**, [S. l.], v. 86, n. 3, p. 361–386, 2013. DOI: 10.1007/s10340-013-0503-0.
- BERNARDI, D., BOTTON, M., CUNHA, U. S., NAVA, D. E., GARCIA, M. S. Bioecologia, monitoramento e controle do ácaro-rajado com o emprego da azadiractina e ácaros predadores na cultura do morangueiro. **Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica**, [S. l.], v. 83, p. 1–8, 2010.
- BOWEN, David; ROCHELEAU, Thomas A.; BLACKBURN, Michael; ANDREEV, Olga; GOLUBEVA, Elena; BHARTIA, Rohit; FFRENCH-CONSTANT, Richard H. Insecticidal Toxins from the Bacterium *Photorhabdus luminescens*. **Science**, [S. l.], v. 280, n. 5372, p. 2129–2132, 1998. DOI: 10.1126/science.280.5372.2129. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.280.5372.2129>.
- CABI. ***Tetranychus urticae* (two-spotted spider mite)**. 2021. Disponível em: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/53366#todistribution>. Acesso em: 30 set. 2021.
- ÇAĞATAY, Naciye Sena; RIGA, Maria; VONTAS, John; ÇEVİK, Bayram; AY, Recep. Biochemical and molecular characterizations of cypermethrin resistance in laboratory-selected cypermethrin-resistant strains of *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae). **International Journal of Acarology**, [S. l.], v. 44, n. 6, p. 262–267, 2018. DOI: 10.1080/01647954.2018.1500641. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01647954.2018.1500641>.
- CEVİZCI, Duygu; ULUG, Derya; CIMEN, Harun; TOURAY, Mustapha; HAZIR, Selcuk; ÇAKMAK, Ibrahim. Mode of entry of secondary metabolites of the bacteria *Xenorhabdus szentirmai* and *X. nematophila* into *Tetranychus urticae*, and their toxicity to the predatory mites *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, [S. l.], v. 174, p. 107418, 2020. DOI: 10.1016/j.jip.2020.107418. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022201120301245>.
- CHACÓN-OROZCO, Julie G.; BUENO, César Jr; SHAPIRO-ILAN, David I.; HAZIR, Selcuk; LEITE, Luís G.; HARAKAVA, Ricardo. Antifungal activity of *Xenorhabdus* spp. and *Photorhabdus* spp. against the soybean pathogenic *Sclerotinia sclerotiorum*. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 10, n. 1, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-77472-6. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77472-6>.
- DHANASEKARAN, Dharumadurai; THANGARAJ, Ramasamy. Microbial secondary metabolites are an alternative approaches against insect vector to prevent zoonotic diseases. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 253–261, 2014. DOI: 10.1016/S2222-1808(14)60569-7. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60569-7](http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60569-7).
- EDGE, V. E.; JAMES, D. G. DETECTION OF CYHEXATIN RESISTANCE IN TWOSPOTTED MITE,





TETRANYCHUS URTICAE KOCH (ACARINA: TETRANYCHIDAE) IN AUSTRALIA. **Australian Journal of Entomology**, [S. l.], v. 21, n. 3, p. 198–198, 1982. DOI: 10.1111/j.1440-6055.1982.tb01793.x. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1440-6055.1982.tb01793.x>.

EHLING-SCHULZ, Monika; LERECLUS, Didier; KOEHLER, Theresa M. The bacillus cereus group: Bacillus species with pathogenic potential. **Gram-Positive Pathogens**, [S. l.], p. 875–902, 2019. DOI: 10.1128/9781683670131.ch55.

EROGLU, Ceren; CIMEN, Harun; ULUG, Derya; KARAGOZ, Mehmet; HAZIR, Selcuk; CAKMAK, Ibrahim. Acaricidal effect of cell-free supernatants from Xenorhabdus and Photorhabdus bacteria against Tetranychus urticae (Acari: Tetranychidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, [S. l.], v. 160, p. 61–66, 2019. DOI: 10.1016/j.jip.2018.12.004. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022201118303136>.

FFRENCH-CONSTANT, R. H.; BOWEN, D. J. Novel insecticidal toxins from nematode-symbiotic bacteria. **Cellular and Molecular Life Sciences**, [S. l.], v. 57, n. 5, p. 828–833, 2000. DOI: 10.1007/s000180050044.

FIRA, Djordje; DIMKIĆ, Ivica; BERIĆ, Tanja; LOZO, Jelena; STANKOVIĆ, Slaviša. Biological control of plant pathogens by Bacillus species. **Journal of Biotechnology**, [S. l.], v. 285, n. 2018, p. 44–55, 2018. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2018.07.044. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.07.044>.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de importância agrícola**. 6. ed. São Paulo: Nobel, 1985.

FOLTAN, P.; PUZA, V. To complete their life cycle, pathogenic nematode–bacteria complexes deter scavengers from feeding on their host cadaver. **Behavioural Processes**, [S. l.], v. 80, n. 1, p. 76–79, 2009. DOI: 10.1016/j.beproc.2008.09.012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376635708002441>.

FORST, Steven; NEALSON, Kenneth. Molecular biology of the symbiotic-pathogenic bacteria Xenorhabdus spp. and Photorhabdus spp. **Microbiological Reviews**, [S. l.], v. 60, n. 1, p. 21–43, 1996. DOI: 10.1128/mmbr.60.1.21-43.1996.

GATARAYIHA, Mutimura C.; LAING, Mark D.; MILLER, Ray M. Effects of adjuvant and conidial concentration on the efficacy of Beauveria bassiana for the control of the two spotted spider mite, Tetranychus urticae. **Experimental and Applied Acarology**, [S. l.], v. 50, n. 3, p. 217–229, 2010. DOI: 10.1007/s10493-009-9307-6.

GOODWIN, Stephen; HERRON, Grant; GOUGH, Neil; WELLHAM, Tony; ROPHAIL, Jeanette; PARKER, Russell. Relationship Between Insecticide-Acaricide Resistance and Field Control in Tetranychus urticae (Acari: Tetranychidae) Infesting Roses. **Journal of Economic Entomology**, [S. l.], v. 88, n. 5, p. 1106–1112, 1995. DOI: 10.1093/jee/88.5.1106. Disponível em: <http://academic.oup.com/jee/article/88/5/1106/2216330/Relationship-Between-Insecticide-Acaricide>.

IDRIS, H. Ahmed; LABUSCHAGNE, N.; KORSTEN, L. Screening rhizobacteria for biological control of Fusarium root and crown rot of sorghum in Ethiopia. **Biological Control**, [S. l.], v. 40, n. 1, p. 97–106, 2007. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2006.07.017.

INCEDAYI, Gamze; CIMEN, Harun; ULUG, Derya; TOURAY, Mustapha; BODE, Edna; BODE, Helge B.; ORENILILI YAYLAGUL, Esra; HAZIR, Selcuk; CAKMAK, Ibrahim. Relative potency of a novel acaricidal compound from Xenorhabdus, a bacterial genus mutualistically associated with entomopathogenic nematodes. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 11253, 2021. DOI: 10.1038/s41598-021-90726-1. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/s41598-021-90726-1>.

KUMARI, Sapana; CHAUHAN, Urvashi; KUMARI, Anuradha; NADDA, Gireesh. Comparative toxicities of novel and conventional acaricides against different stages of Tetranychus urticae Koch (Acarina: Tetranychidae). **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 191–196, 2017. DOI: 10.1016/j.jssas.2015.06.003. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1658077X15000247>.

LACEY, L. A.; GRZYWACZ, D.; SHAPIRO-ILAN, D. I.; FRUTOS, R.; BROWNBRIDGE, M.; GOETTEL, M. S. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**, [S. l.], v. 132, p. 1–41, 2015. DOI: 10.1016/j.jip.2015.07.009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.009>.



LEMESSA, F.; ZELLER, W. Screening rhizobacteria for biological control of *Ralstonia solanacearum* in Ethiopia. **Biological Control**, [S. l.], v. 42, n. 3, p. 336–344, 2007. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2007.05.014.

NICETIC, O.; WATSON, D. M.; BEATTIE, G. A. C.; MEATS, A.; ZHENG, J. Integrated pest management of two-spotted mite *Tetranychus urticae* on greenhouse roses using petroleum spray oil and the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. **Experimental and Applied Acarology**, [S. l.], v. 25, n. 1, p. 37–53, 2001. DOI: 10.1023/A:1010668122693.

PALMA, Leopoldo; MUÑOZ, Delia; BERRY, Colin; MURILLO, Jesús; CABALLERO, Primitivo; CABALLERO, Primitivo. *Bacillus thuringiensis* toxins: An overview of their biocidal activity. **Toxins**, [S. l.], v. 6, n. 12, p. 3296–3325, 2014. DOI: 10.3390/toxins6123296.

PONTES, Wendel José Teles. **Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais de espécies nativas de pernambuco sobre o ácaro rajado**. 2006. [S. l.], 2006.

POTENZA, M. R.; GOMES, R. C. O.; JOCYS, T.; TAKEMATSU, A. P.; RAMOS, A. C. O. Evaluation of Natural Products for the Control of Twospotted Spider Mite *Tetranychus Urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) in the Greenhouse. **Arquivos do Instituto Biológico São Paulo**, [S. l.], v. 73, n. 4, p. 455–459, 2006.

SANTOS-MATOS, Gonçalo et al. *Tetranychus urticae* mites do not mount an induced immune response against bacteria. **Proceedings. Biological sciences**, [S. l.], v. 284, n. 1856, p. 0–7, 2017. DOI: 10.1098/rspb.2017.0401.

SATO, M. E.; SUPLICY FILHO, N.; SOUZA FILHO, M. F. DE; TAKEMATSU, A. P. Resistência do ácaro rajado *Tetranychus urticae* Kock, 1836 (Acari: Tetranychidae) a diversos acaricidas em morangueiro (*Fragaria* sp.) nos municípios de Atibaia-SP e Piedade-SP. **Ecossistema**, [S. l.], v. 19, p. 40–46, 1994.

SATO, Mário Eidi; DA SILVA, Marcos Zatti; DE SOUZA FILHO, Miguel Francisco; MATIOLI, André Luís; RAGA, Adalton. Management of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in strawberry fields with *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) and acaricides. **Experimental and Applied Acarology**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 107–120, 2007. DOI: 10.1007/s10493-007-9081-2.

SHAPIRO-ILAN, David; DOLINSKI, Claudia. Entomopathogenic Nematode Application Technology. *In: Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests*. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 231–254. DOI: 10.1007/978-3-319-18266-7\_9. Disponível em: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-18266-7\\_9](http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-18266-7_9).

TEHRI, Kanika. tehri 2014 A review on reproductive strategies in two spotted spider mite. [S. l.], v. 2, n. 5, p. 35–39, 2014.

VAN LEEUWEN, Thomas; VONTAS, John; TSAGKARAKOU, Anastasia; DERMAUW, Wannes; TIRRY, Luc. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: A review. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, [S. l.], v. 40, n. 8, p. 563–572, 2010. DOI: 10.1016/j.ibmb.2010.05.008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0965174810001268>.

WANG, Zhiwei; CANG, Tao; WU, Shenggan; WANG, Xinqun; QI, Peipei; WANG, Xiangyun; ZHAO, Xueping. Screening for suitable chemical acaricides against two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae*, on greenhouse strawberries in China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 163, n. July, p. 63–68, 2018. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.07.058. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.058>.

WATANABE, M. A.; MORAES, G. J. De; GASTALDO JR., I.; NICOLELLA, G. Controle biológico do ácaro rajado com ácaros predadores fitoseídeos (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) em culturas de pepino e morango. **Scientia Agricola**, [S. l.], v. 51, n. 1, p. 75–81, 1994. DOI: 10.1590/S0103-90161994000100012. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90161994000100012&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90161994000100012&lng=pt&tlng=pt).

WYMAN, J. A.; OATMAN, E. R.; VOTH, V. Effects of Varying Twospotted Spider Mite Infestation Levels on Strawberry Yield1. **Journal of Economic Entomology**, [S. l.], v. 72, n. 5, p. 747–753, 1979. DOI: 10.1093/jee/72.5.747.