



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA



**PERDAS OCASIONADAS POR *Aceria guerreronis* (ACARI:  
ERIOPHYIDAE) EM COQUEIRO ANÃO VERDE (*Cocos nucifera* L.) E  
TAXONOMIA INTEGRATIVA DE ÁCAROS PREDADORES (PHYTOSEIIDAE)**

Perdas ocasionadas por ...  
2014 TS-PP-2014.00012



CPATSA-56524-1

**DSc. DANIELA DUARTE MONTEIRO REZENDE**

4.00012

**RECIFE, PE-NOVEMBRO DE 2014**



PERDAS OCASIONADAS POR *Aceria guerreronis* (ACARI: ERIOPHYIDAE) EM  
COQUEIRO ANÃO VERDE (*Cocos nucifera* L.) E TAXONOMIA INTEGRATIVA DE  
ÁCAROS PREDADORES (PHYTOSEIIDAE)

por

DANIELA DUARTE MONTEIRO REZENDE

(Sob Orientação do Professor Manoel Guedes Corrêa Gondim Jr. UFRPE)

RESUMO

*Aceria guerreronis* Keifer é praga importante da cultura do coqueiro, causando perdas em diversas regiões do Brasil e no mundo. Recentemente, outra praga do coqueiro foi introduzida no Brasil, *Raoiella indica* Hirst, representando uma ameaça à cocoicultura nacional. Apesar da importância de *A. guerreronis* para a cocoicultura brasileira, não há estimativa das perdas causadas por este ácaro no Brasil e estudos sobre a viabilidade do controle químico. O controle biológico é uma alternativa no manejo de *A. guerreronis*. Os ácaros *Neoseiulus paspalivorus* (De Leon) e *Neoseiulus baraki* (Athias-Henriot) são os predadores mais importantes associados a *A. guerreronis* no Brasil e no mundo. *Amblyseius largoensis* (Muma) é o predador encontrado com maior frequência associado à *R. indica* em diversos continentes. A identificação precisa dos predadores e o conhecimento da variabilidade genética são passos importantes em programas de controle biológico. Os objetivos deste estudo foram estimar as perdas causadas por *A. guerreronis* ao coqueiro anão verde, efetuar uma análise econômica dos custos envolvidos no controle químico, assim como confirmar o status taxonômico e conhecer a variabilidade de populações de *N. paspalivorus* (Brasil), *N. baraki* (Brasil, Ásia e África) e *A. largoensis* (Américas, Ásia e ilhas do Oceano Índico) através de uma abordagem integrativa, combinando análises morfométricas

LOSSES CAUSED BY *Aceria guerreronis* (ACARI: ERIOPHYIDAE) IN COCONUT (*Cocos nucifera* L.) AND INTEGRATIVE TAXONOMY OF PREDATORS MITES (PHYTOSEIIDAE)

by

DANIELA DUARTE MONTEIRO REZENDE

(Under the Direction of Professor Manoel Guedes Corrêa Gondim Jr.)

ABSTRACT

*Aceria guerreronis* Keifer is important pest of coconut, causing losses in several regions of Brazil and in the world. Recently, another pest of the coconut palm was introduced in Brazil, *Raoiella indica* Hirst, representing a threat to national coconut crop. Despite the importance of *A. guerreronis* in coconut crop Brazilian, there is no estimate of losses caused by this mite in Brazil and studies on the viability of the chemical control. Biological control is an alternative in the management of *A. guerreronis*. The mites *Neoseiulus paspalivorus* (De Leon) and *Neoseiulus baraki* (Athias-Henriot), are the most important predators associated with *A. guerreronis* in Brazil and in the world. *Amblyseius largoensis* Muma is the predator found most often associated with *R. indica* on several continents. Accurate identification of predators and knowledge of genetic variability are important steps to ensure the success of biological control programs. The objectives of this study were to estimate the losses caused by *A. guerreronis* on the green dwarf coconut, making an economic analysis of the costs involved in chemical control, and confirm the taxonomic status and know the variability of *N. paspalivorus* (Brazil), *N. baraki* (Brazil, Asia and Africa) and *A. largoensis* (Americas, Asia and Indian Ocean islands) populations through an integrative approach, combining univariate and multivariate morphometric analysis, molecular analysis and crosses tests. It was observed 60% reduction in the average number of fruits per plant

and 28% in the volume of liquid albumen in the area without chemical control, being the net revenue 69% higher with the use of abamectin. The integrative approach showed intraspecific variability between populations from Brazil classified as *N. paspalivorus*, *N. baraki* from Brazil, Sri Lanka and Africa, except for an population from Africa (Benin), and among populations of *A. largoensis* from Americas, Asia and Indian Ocean islands.

KEY WORDS: Chemical control, biological control, morphology, molecular marker, genetic variability, *Neoseiulus*, *Amblyseius*, *Raoiella indica*

PERDAS OCASIONADAS POR *Aceria guerreronis* (ACARI: ERIOPHYIDAE) EM  
COQUEIRO ANÃO VERDE (*Cocos nucifera* L.) E TAXONOMIA INTEGRATIVA DE  
ÁCAROS PREDADORES (PHYTOSEIIDAE)

por

DANIELA DUARTE MONTEIRO REZENDE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Novembro de 2014

PERDAS OCASIONADAS POR *Aceria guerreronis* (ACARI: ERIOPHYIDAE) EM  
COQUEIRO ANÃO VERDE (*Cocos nucifera* L.) E TAXONOMIA INTEGRATIVA DE  
ÁCAROS PREDADORES (PHYTOSEIIDAE)

por

DANIELA DUARTE MONTEIRO REZENDE

Comitê de Orientação:

Manoel Guedes Corrêa Gondim Jr. – UFRPE

Denise Navia Magalhães Ferreira – EMBRAPA/CENARGEN

José Eudes de Moraes Oliveira – EMBRAPA Semiárido

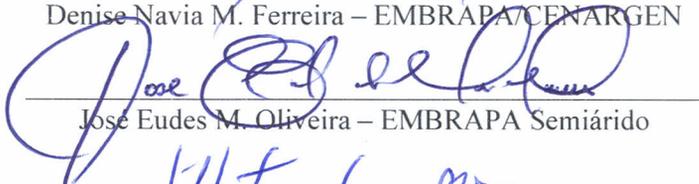
PERDAS OCASIONADAS POR *Aceria guerreronis* (ACARI: ERIOPHYIDAE) EM  
COQUEIRO ANÃO VERDE (*Cocos nucifera* L.) E TAXONOMIA INTEGRATIVA DE  
ÁCAROS PREDADORES (PHYTOSEIIDAE)

por

DANIELA DUARTE MONTEIRO REZENDE

Orientador:   
Manoel Guedes Corrêa Gondim Jr. – UFRPE

Examinadores:   
Denise Navia M. Ferreira – EMBRAPA/CENARGEN

  
José Eudes M. Oliveira – EMBRAPA Semiárido

  
Gilberto José de Moraes – ESALQ/USP

  
Valdir de Queiroz Balbino – UFPE

## DEDICATÓRIA

Dedico a Deus, ao meu amado esposo Anderson Puker, ao meu filho Enzo Monteiro Puker, aos meus pais Osvaldir Rezende Monteiro e Maria Leodir Duarte Rezende, aos meus irmãos Leonardo Duarte Monteiro Rezende, Guilherme Duarte Monteiro Rezende e Fernanda Duarte Monteiro Rezende e a minha avó Maria da Penha Monteiro Rezende. Ao meu orientador Manoel Guedes Corrêa Gondim Jr. e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da UFRPE.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e do saber, por estar sempre ao meu lado, iluminando os meus caminhos e dando-me força para seguir em frente.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pela infraestrutura e pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (REUNI) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por ter me concedido a bolsa de doutorado junto ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da UFRPE.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa Auxílio Mobilidade Discente (AMD-0107-5.00/12) no período que estive na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília-DF).

À EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia pela infraestrutura durante meu treinamento em técnicas moleculares e condução de caracterizações moleculares.

À EMBRAPA Semiárido pela infraestrutura durante os experimentos de campo.

Ao Centre de Biologie et Gestion de Population (CBGP) pela infraestrutura durante o período que estive em Montpellier-FR.

Ao Prof. Dr. Manoel Guedes Corrêa Gondim Jr. pela orientação, ensinamentos, críticas, incentivos e oportunidades. Meus sinceros agradecimentos por efetivamente me auxiliar em todas as etapas de minha tese, pela colaboração ativa nos experimentos de campo e por buscar sempre a solução de forma ágil e eficiente para os inúmeros problemas que surgiram durante esses quatro anos. Com certeza levarei na bagagem bons exemplos deste período de convivência.

Ao Dr. José Eudes de Moraes Oliveira pela co-orientação e por fornecer subsídios para a execução da experimentação em Petrolina-PE, e toda a equipe do Laboratório de Entomologia da Embrapa Semiárido pelo auxílio na montagem e avaliação deste experimento.

Ao Prof. Marcos Paz Saraiva Câmara por ter me recebido no laboratório de Micologia/UFRPE e autorizado a utilização dos equipamentos de microscopia e fotografia e ao Dr. Nelson Bernardi Lima por me auxiliar durante este período.

À Dra. Denise Navia Magalhães Ferreira pela co-orientação e por ter me recebido calorosamente no período que estive na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pelos conselhos, ensinamentos, incentivos e por tornar possível a minha formação em biologia molecular. Agradeço também por seu empenho em buscar recursos para que o trabalho fosse conduzido da melhor maneira possível e principalmente pelo grande exemplo que é como cientista.

À Dra. Renata Santos de Mendonça por me apresentar as técnicas da biologia molecular, pela ajuda incondicional durante todo o período que estive na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e por sempre me ajudar a encontrar a solução para as incógnitas da Biomol. Foi um imenso prazer conviver com alguém tão especial.

Aos colegas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Fabrício Mota, Helouise Montandon de Carvalho Rocha, Isis Carolina Souto de Oliveira, Maria Elvira de Rezende, Mércia Elias Duarte, Norton Polo Benito e Olinda Maria Martins) pela agradável convivência e auxílio no período em que estive em Brasília.

Ao Msc. Daniel Chiaradia Oliveira pela coleta, envio de espécimes e montagem de lâminas de *Amblyseius largoensis* da Tailândia.

À Dra. Nayanie S. Aratchige pela coleta e envio de espécimes de *Neoseiulus baraki* do Sri Lanka.

À Dra. Marie-Stéphane Tixier, pela ótima recepção, pelos conselhos e auxílio intelectual e pessoal no período que estive em Montpellier-FR.

Ao Prof. Dr. Angelo Pallini por ter me inserido no meio científico abrindo um leque de oportunidades em minha vida.

Aos membros da banca Prof. Dr. Gilberto José de Moraes e Prof. Dr. Valdir de Queiroz Balbino.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da UFRPE pelos ensinamentos e pelo ótimo exemplo de relação professor/aluno, em especial ao Prof. Jorge Braz Torres.

Ao agricultor José Loyo Arcoverde por ceder parte de sua área de cultivo de coco para nossa experimentação e por nos receber com presteza, simpatia e educação.

Às estagiárias Girleide Vieira França e Vanessa Faria Silva pela colaboração na manutenção de colônias de ácaros e coleta de dados nos experimentos de campo.

Aos colegas do Laboratório de Acarologia Agrícola da UFRPE (Aleuny Coutinho Reis, Carla Patrícia Oliveira de Assis, Cecília Batista Sanguinetti Ferreira, Cleiton Araújo Domingos, Débora Barbosa de Lima, Girleide Vieira França, José Wagner da Silva Melo, Josilene Maria de Sousa, Vaneska Barbosa Monteiro e Vanessa Faria Silva) pelo auxílio e agradável companhia.

Aos colegas da Pós-graduação (Alberto Belo Esteves Filho, Alice Maria N. Araújo, Aline Fonseca do Nascimento, Cíntia Conceição Matias da Silva, Douglas Rafael Silva Barbosa, Eduardo Barros, Eliana Maria dos Passos, Jefferson Elias Silva, Jennifer Guimarães, Karla Fernanda Ayres de Souza Silva, Luan Ítalo Rebouças, Mariana Oliveira Breda, Martin Duarte de Oliveira, Mateus Campos, Robério Carlos dos Santos Neves, Roberta Leme dos Santos, Sérgio Monteze Alves, Tadeu Martins Barbosa e Wellington Marques da Silva) pela agradável convivência durante as disciplinas e nos momentos de distração.

Ao “grande casal” Débora Barbosa de Lima e José Wagner da Silva Melo pela amizade, companheirismo e divertimento. Ao Wagner pela parceria nos trabalhos, por todo auxílio estatístico e intelectual e por desvendar os difíceis protocolos da análise multivariada.

À minha querida amiga Luziani Rezende Bestete, por tornar minha estadia em Recife mais agradável e divertida, foi um enorme prazer desfrutar de sua companhia neste período. Muito obrigada pelo companheirismo e pela amizade que permanece.

Ao amigo Felipe Colares Batista por me acolher e me auxiliar quando cheguei a Recife, e pela ótima companhia.

Aos funcionários da Universidade Federal Rural de Pernambuco Ariella Rayder G. S. Cahú, Darci Martins Correia da Silva e José Romildo Nunes pela competência e eficiência na prestação de serviços.

À minha grande amiga Liany Divina Lima Miranda pela amizade duradoura e por estar sempre presente em minha vida.

À Elza Abrantes e Marcelo Abrantes Silva pelo carinho e atenção.

Aos meus queridos pais Osvaldir Rezende Monteiro e Maria Leodir Duarte Rezende, agradeço e reconheço o esforço que vocês sempre dedicaram a mim, transmitindo valores essenciais, incentivando e auxiliando sempre com muito amor e carinho. Por me mostrarem que o saber é o bem mais precioso e por se orgulharem com minhas conquistas, sem vocês nada disso seria possível.

Aos meus irmãos Leonardo Duarte Monteiro Rezende, Guilherme Duarte Monteiro Rezende, Fernanda Duarte Monteiro Rezende e cunhada Andreza Saraiva Bittencourt cujos laços afetivos foram de fundamental importância em cada etapa vencida.

Aos meus sobrinhos Naiara Clugg Rezende e Danilo Bittencourt Rezende por tornarem os dias mais suaves e divertidos.

Ao meu amado esposo, Anderson Puker, por dividir sua vida comigo e estar ao meu lado sempre, por mais tortuosos que estivessem nossos caminhos, sendo o meu alicerce para que eu pudesse caminhar com segurança. Obrigada por toda ajuda tanto na vida pessoal como na acadêmica, pelos conselhos, incentivos e pelas inúmeras vezes que leu, opinou e criticou meus resumos, manuscritos, posters e tese. Por todo carinho, amor, dedicação, amizade e pela infinita compreensão durante todo esse período. Enfim, obrigada por me proteger e me promover e simplesmente por existir e me fazer feliz. *Te amo!*

E por fim, e mais importante, ao meu amado filho, Enzo Monteiro Puker, por me proporcionar a enorme benção de ser sua mãe e poder desfrutar deste amor intenso e arrebatador, por iluminar minha vida diariamente com seu doce sorriso e me alegrar com suas descobertas. Que esta tese lhe sirva de inspiração para ingressar no mundo da ciência. *Te amo meu filho!*

## SUMÁRIO

Página

AGRADECIMENTOS .....ix

### CAPÍTULOS

1	INTRODUÇÃO .....	01
	A cultura do coqueiro .....	02
	Ácaro-da-necrose-do-coqueiro ( <i>Aceria guerreronis</i> ).....	04
	Perdas causadas por <i>Aceria guerreronis</i> .....	05
	Controle químico de <i>Aceria guerreronis</i> .....	07
	Controle biológico de <i>Aceria guerreronis</i> .....	08
	Ácaro-vermelho-das-palmeiras ( <i>Raoiella indica</i> ).....	10
	Análises morfométricas para ácaros fitoseídeos .....	11
	Análises moleculares para ácaros fitoseídeos .....	14
	Testes de cruzamentos.....	17
	Taxonomia Integrativa – uma nova abordagem para a sistemática de fitoseídeos .	18
	LITERATURA CITADA.....	22
2	ESTIMATIVA DAS PERDAS OCACIONADAS PELO ÁCARO-DA-NECROSE- DO-COQUEIRO E DOS CUSTOS DO SEU CONTROLE.....	37
	RESUMO .....	38
	ABSTRACT .....	39
	INTRODUÇÃO .....	40
	MATERIAL E MÉTODOS .....	42

RESULTADOS.....	45
DISCUSSÃO.....	48
AGRADECIMENTOS.....	53
LITERATURA CITADA.....	53
3 O ÁCARO PREDADOR <i>Neoseiulus paspalivous</i> (DE LEON) (PHYTOSEIIDAE) NO BRASIL: STATUS TAXONÔMICO, COMPATIBILIDADE REPRODUTIVA E VARIABILIDADE MORFOLÓGICA E MOLECULAR.....	67
RESUMO .....	68
ABSTRACT .....	69
INTRODUÇÃO .....	71
MATERIAL E MÉTODOS .....	73
RESULTADOS.....	80
DISCUSSÃO.....	83
AGRADECIMENTOS.....	86
LITERATURA CITADA.....	87
4 TAXONOMIA INTEGRATIVA APLICADA A POPULAÇÕES DO ÁCARO PREDADOR <i>Neoseiulus baraki</i> (ATHIAS-HENRIOT) (PHYTOSEIIDAE) .....	99
RESUMO .....	100
ABSTRACT.....	101
INTRODUÇÃO .....	102
MATERIAL E MÉTODOS .....	104
RESULTADOS.....	114
DISCUSSÃO.....	119
AGRADECIMENTOS.....	124

LITERATURA CITADA.....	125
5 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE POPULAÇÕES DO ÁCARO PREDADOR <i>Amblyseius largoensis</i> (MUMA) (PHYTOSEIIDAE) DA ÁSIA, AMÉRICAS E ILHAS DO OCEANO ÍNDICO .....	145
RESUMO .....	146
ABSTRACT .....	147
INTRODUÇÃO .....	148
MATERIAL E MÉTODOS .....	150
RESULTADOS.....	157
DISCUSSÃO.....	160
AGRADECIMENTOS.....	163
LITERATURA CITADA.....	163

## CAPÍTULO 1

### INTRODUÇÃO

*Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) é uma importante praga da cultura do coqueiro, causando danos e perdas em diversas regiões produtoras ao redor do mundo (Navia *et al.* 2013). Os principais problemas associados ao ataque de *A. guerreronis* são abortamento e redução no volume de albúmen líquido (água do coco), albúmen sólido (copra), peso, tamanho e valor comercial dos frutos (Moore *et al.* 1989, Haq *et al.* 2002, Paul & Mathew 2002). As perdas causadas por *A. guerreronis* têm sido estimadas em vários países (Navia *et al.* 2013). No entanto, há uma carência de estudos que estimem as perdas para vários parâmetros de forma simultânea e correlativa, e especialmente que traduzam essas perdas em valores econômicos.

O controle químico é o método mais utilizado no manejo de populações de *A. guerreronis* em plantios com elevada produtividade. No entanto, o coqueiro é cultivado no Brasil principalmente por pequenos produtores, que em sua maioria não podem arcar com o uso contínuo de acaricidas. Um grande número de pesquisas vem sendo realizado com o intuito de encontrar ácaros predadores que possam ser utilizados no manejo de populações de *A. guerreronis* (Haq 2001, Ramajaru *et al.* 2002, Moraes *et al.* 2004, Negloh *et al.* 2008, 2010, Lawson-Balagbo *et al.* 2008, Reis *et al.* 2008, Fernando *et al.* 2010, Silva *et al.* 2010). Os ácaros fitoseídeos *Neoseiulus paspalivorus* (De Leon) e *Neoseiulus baraki* (Athias-Henriot) são os predadores encontrados em maior frequência e abundância em associação com *A. guerreronis* em frutos de coqueiro (Moraes *et al.* 2004, Lawson-Balagbo *et al.* 2008, Reis *et al.* 2008).

Recentemente, outra praga do coqueiro foi introduzida no Brasil, o ácaro-vermelho-das-palmeiras, *Raoiella indica* Hirst (Tenuipalpidae), sendo constatada em áreas urbanas de Boa Vista,

em 2009 (Navia *et al.* 2011). Desde então, este ácaro vem se disseminando em Roraima, além de ter sido detectado em 2011, em Manaus (Rodrigues & Antony 2011). Esta praga causa redução na produtividade da planta, compromete o desenvolvimento de coqueiros na fase jovem (Sarkar & Somchoudhury 1988, Sathiamma 1996). Alguns métodos de controle estão sendo estudados para minimizar os danos causados por *R. indica* nas áreas recentemente invadidas da América, destacando-se o controle biológico através de predadores (Carrillo *et al.* 2010, Mound *et al.* 2010, Carrillo & Peña 2012, Carrillo *et al.* 2012, Domingos *et al.* 2013).

A identificação precisa dos predadores é um passo importante para garantir o sucesso de um programa de controle biológico (Moraes 1987). Caracteres morfológicos são comumente usados para descrever as espécies da família Phytoseiidae (Chant & McMurtry 1994). No entanto, a utilização apenas de caracteres morfológicos na distinção de espécies próximas pode ser limitante. Variações expressas ao nível genético, fisiológico e comportamental podem caracterizar a separação de espécies, e detectar a presença de espécies crípticas já relatadas em fitoseídeos (Famah Sourassou *et al.* 2012). A abordagem da taxonomia integrativa tem possibilitado a elucidação de problemas taxonômicos e a identificação acurada de ácaros fitoseídeos (Navajas *et al.* 1999, Jeyaprakash & Hoy 2002, Tixier *et al.* 2006ab, 2011, Okassa *et al.* 2009, Okassa *et al.* 2011). No entanto, estudos envolvendo taxonomia integrativa em ácaros fitoseídeos promissores no controle de *A. guerreronis* e *R. indica* ainda são escassos (Famah Sourassou *et al.* 2011, 2012, Navia *et al.* 2014).

### **A cultura do coqueiro**

O coqueiro, *Cocos nucifera* L., apresenta elevada importância agrícola, agroindustrial, socioeconômica e alimentar (Aragão *et al.* 2009), sendo cultivado em mais de 12 milhões de hectares, em aproximadamente 86 países (FAOTAST, 2012), e destaca-se como a palmeira de

maior importância no mundo. A origem geográfica do coqueiro ainda é controversa (Child 1974, Gunn *et al.* 2011), havendo muitas hipóteses sobre sua origem, contudo a mais provável é baseada em evidências moleculares que sugerem, como centro de origem, o extremo Sudeste da Ásia, nas ilhas do Pacífico de Papua Nova Guiné (Lebrun *et al.* 1998, Gunn *et al.* 2011).

Os maiores produtores de coco são Indonésia, Filipinas, Índia, Brasil e Sri Lanka (FAOTAST 2013). O Brasil tem aproximadamente 257.000 hectares plantados (FAOTAST 2013), tendo a Região Nordeste 84% da área total (Aragão *et al.* 2009). A maior parte da produção brasileira é destinada à indústria alimentícia e ao consumo *in natura* da água de coco (Aragão *et al.* 2002). A cultura é adaptada ao cultivo em solos arenosos do litoral nordestino. No entanto, o aumento do consumo *in natura* da água de coco em diversas regiões brasileiras, tem estimulado a produção em áreas consideradas não tradicionais (Aragão *et al.* 2002, Fontes & Wanderley 2006), tais como, os perímetros irrigados do Vale do São Francisco, além de outros localizados na região semiárida da Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe.

O coqueiro é hospedeiro de diversos insetos e ácaros que podem causar danos consideráveis à cultura (Lepesme 1947). Entre as diversas pragas que podem afetar a cultura do coqueiro no Brasil estão os ácaros fitófagos: *A. guerreronis* (Robbs & Peracchi 1965, Navia *et al.* 2005, 2013), *Amrineus cocofolius* Flechtmann (Eriophyidae) (Flechtmann 1994, Navia *et al.* 2005), *Retracrus johnstoni* Keifer (Phytoptidae) (Moraes & Flechtmann 2008), *Steneotarsonemus furcatus* DeLeon (Tarsonemidae) (Gondim Jr. & Oliveira 2001, Navia *et al.* 2005), *Steneotarsonemus concavuscutum* Lofego & Gondim Jr. (Lofego & Gondim Jr. 2006), *Tetranychus mexicanus* (McGregor) (Tetranychidae) (Ferreira *et al.* 1998) e, mais recentemente, *R. indica* (Navia *et al.* 2011).

### Ácaro-da-necrose-do-coqueiro (*Aceria guerreronis*)

Dentre os ácaros que podem afetar a produção de coco, destaca-se o eriofídeo *A. guerreronis* (Moore & Howard 1996). Essa espécie foi descrita em 1965 por Keifer, a partir de espécimes coletados em coqueiros no estado de Guerrero, no México (Keifer 1965). *Aceria guerreronis* é considerada uma das principais pragas do coqueiro nas Américas (Moore *et al.* 1989, Lawson-Balagbo *et al.* 2008), África (Negloh *et al.* 2011) e parte da Ásia (Haq *et al.* 2002, Fernando & Aratchige 2010). No Brasil, seu relato se deu no mesmo ano em que a espécie foi descrita, sendo encontrado infestando coqueirais no Estado do Rio de Janeiro, Brasil (Robbs & Peracchi 1965). Logo depois, foi registrado no Estado de Pernambuco (Aquino & Arruda 1967). Atualmente, *A. guerreronis* está disseminada em todas as regiões litorâneas produtoras do país (Lawson-Balagbo *et al.* 2008), no semiárido nordestino, como o perímetro irrigado de Juazeiro (Bahia) e Petrolina (Pernambuco) (Alencar *et al.* 1999). Em 1970, foi relatado na Colômbia (Estrada & Gonzalez 1975), em 1976, em Dominica e em 1980 já se destacava como importante praga da cultura do coqueiro em Santa Lucia, no Caribe (Moore *et al.* 1989). Posteriormente, foi relatada na Costa Rica em 1985 (Schliesske 1988), Jamaica em 1986 (McDonald 1997) e Porto Rico em 1990 (Howard *et al.* 1990). Segundo Mariau & Julia (1970), há evidências de que *A. guerreronis* foi encontrado em várias regiões do continente americano antes de sua descrição original (Bondar 1940, Ortega *et al.* 1967, Zuluaga & Sánchez 1971).

No continente africano, o primeiro registro de *A. guerreronis* também ocorreu logo depois de sua descrição, em São Tomé e Príncipe em 1967 (Cabral & Carmona 1969). Posteriormente, foi relatado também em Benim, Camarões, Nigéria e Togo (Mariau 1969) e em poucos anos se disseminou por várias regiões produtoras da África (Mariau 1977). Na Tanzânia foi relatado na década de 1990 (Seguni 2000).

No Oriente Médio, há relatos da ocorrência de *A. guerreronis* no final da década de 1980 em Omã (Al-Shanfari *et al.* 2013). Na Ásia, onde a cultura do coqueiro assume sua maior importância econômica, a ocorrência de *A. guerreronis* foi relatada somente em 1997, primeiramente no Sri Lanka (Fernando *et al.* 2002) e logo em seguida na Índia, onde foi reportada em Kerala (Sathiamma *et al.* 1998), disseminando-se rapidamente para outras regiões destes países (Nair *et al.* 2002, Ramaraju *et al.* 2002, Muthiah 2007).

Fêmeas adultas de *A. guerreronis* têm 205-255 µm de comprimento e 36-52 µm de largura, corpo vermiforme, coloração branco-leitosa ou levemente amarelada e apenas dois pares de pernas (Keifer 1965, Moore & Howard 1996). Essa espécie apresenta alta taxa reprodutiva e rápido desenvolvimento, podendo a fêmea produzir até 66 ovos e os imaturos atingirem a fase adulta em 8-10,5 dias (Mariau 1977, Suarez 1991a, Ansaloni & Perring 2004). No coqueiro, as colônias de *A. guerreronis* se desenvolvem no perianto, região meristemática do fruto, que é coberta pelas brácteas. Inicialmente, os danos provocados pelo ácaro são manchas branco-amareladas na epiderme dos frutos de formato, usualmente, triangular. Posteriormente, as manchas se expandem e tornam-se necrosadas com rachaduras longitudinais, podendo ocorrer deformações e, frequentemente, o abortamento (Moore & Howard 1996). A área necrosada pode cobrir quase toda superfície do fruto (Howard *et al.* 2001). As colônias desta praga se expandem rapidamente por todo o perianto, e os ácaros migram para frutos mais novos da mesma planta ou para plantas vizinhas (Moore & Alexander 1987). Este ácaro também foi encontrado na flecha de mudas, causando necrose e morte de plantas (Aquino & Arruda 1967).

### **Perdas causadas por *Aceria guerreronis***

Os danos causados por *A. guerreronis* provocam perdas significativas, em algumas regiões produtoras de coco no mundo, podendo chegar a valores superiores a 60% da produção (Doreste

1968, Hernández 1977, Julia & Mariau 1979, Moore *et al.* 1989, Moore 2000, Seguni 2000, Rethinam *et al.* 2003, Wickramananda *et al.* 2007). As perdas são mais acentuadas quando as infestações acontecem no início do desenvolvimento dos frutos (Mariau 1986). A redução no número de frutos é uma das perdas associadas ao ataque de *A. guerreronis* (Moore *et al.* 1989). Esses autores registraram reduções no número de frutos de 30% em West Indies, Caribe. Os frutos não abortados podem ter parâmetros de produtividade afetados, como a redução do albúmen líquido, albúmen sólido, peso e tamanho dos frutos, além da redução do valor comercial (Moore *et al.* 1989, Haq *et al.* 2002, Paul & Mathew 2002). A percentagem de perdas é variável em função da idade do fruto, variedade da planta, condições climáticas e práticas de controle (Mariau & Julia 1970, Julia & Mariau 1979, Suarez 1991b, Seguni 2000, Ramaraju *et al.* 2005, Fernando & Aratchige 2010, Negloh *et al.* 2011).

Pesquisas relacionadas a perdas causadas por *A. guerreronis* são listadas em Navia *et al.* (2013). Na Tanzânia, são relatadas perdas na produção de 30% para variedade East African Tall e de 61% para o híbrido PB121 (Seguni 2000), enquanto na Índia são relatadas perdas de 15-33% no peso da copra (Rethinam *et al.* 2003), e de 66,9% no volume de albúmen líquido (Ramaraju *et al.* 2005). As perdas causadas por *A. guerreronis* são estimadas em vários países com base em metodologias e/ou parâmetros diversos, o que dificulta as comparações de dados (Navia *et al.* 2013). Há também uma carência de informações sobre a redução do valor comercial dos frutos, uma vez que os danos causados por *A. guerreronis*, além de reduzir a produção e diversos parâmetros de produtividade, também podem inviabilizar a comercialização do fruto *in natura*, devido às exigências de mercado da indústria e dos consumidores.

### Controle químico de *Aceria guerreronis*

O controle de *A. guerreronis* é difícil, pois às colônias desta praga se desenvolvem no perianto, habitat protegido pelas brácteas do fruto (Moore *et al.* 2000, Ramaraju *et al.* 2002, Lawson-balagbo *et al.* 2007a, Lima *et al.* 2012). As brácteas agem como uma barreira física ao contato do acaricida com o ácaro no perianto, limitando a ação do produto (Mariau & Tchibozo 1973, Hernandez 1977). A toxicidade dos acaricidas sobre *A. guerreronis* ocorre durante o processo de dispersão, quando o ácaro sai do perianto, e entra em contato com o resíduo dos acaricidas na epiderme dos frutos (Silva *et al.* 2013). Devido a este hábito, há a necessidade de aplicações frequentes de acaricidas, em intervalos curtos de tempo (Hernandez 1977, Julia & Mariau 1979, Fernando *et al.* 2002), o que normalmente eleva os custos de produção (Moore & Howard 1996).

No Brasil, o coqueiro é cultivado principalmente por pequenos produtores, que em sua maioria não podem arcar com o uso contínuo de acaricidas. Todavia, o controle químico é o método mais utilizado no manejo de populações de *A. guerreronis* em plantios com elevada produção e produtividade, e é feito através de aplicações direcionadas para a superfície externa dos frutos de cachos em desenvolvimento (Oliveira *et al.* 2012).

A eficácia de alguns agrotóxicos no controle de *A. guerreronis* já foi relatada em várias pesquisas, tais como quinometionato e monocrotofós na África (Mariau & Tchibozo 1973); dicotrofós, quinometionato e monocrotofós no Caribe (Cabrera 1991); monocrotofós (Nair 2002, Sujatha *et al.* 2003), fenpyroximate (Sujatha *et al.* 2003), azadiractina, carbosulfan, endosulfan e triazofos na Índia (Rethinam *et al.* 2003). No entanto, a utilização da maioria destes produtos não é mais permitida no Brasil pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo registrados apenas os seguintes produtos para o controle de *A. guerreronis* em coqueiro: Azamax (azadiractina), Envidor (espiroclorfenol), Ortus 50SC (fenpiroximate), Talento

(hexitiazoxi) e Vertimec 18 CE (abamectina) (AGROFIT 2014). Dentre os produtos registrados no Brasil, o bom desempenho de hexitiazoxi no controle de *A. guerreronis* foi relatado em campo, de forma isolada ou associada a abamectina, enxofre ou fenpiroximato (Moreira & Nascimento 2002). Melo *et al.* (2012) ressaltaram a alta eficiência de abamectina no controle de *A. guerreronis*, sugerindo que o prazo entre as pulverizações poderia ser aumentado, reduzindo assim os custos de produção. No entanto, há uma preocupação com relação ao uso contínuo de abamectina. Estudos realizados em Petrolina-PE relataram menor toxicidade deste acaricida em populações de *A. guerreronis* desta região, indicando possível seleção de populações resistentes (Monteiro *et al.* 2012). Outro ponto relevante na escolha do acaricida é a utilização de produtos seletivos a inimigos naturais. Pesquisas recentes apontaram os acaricidas fenpiroximato e clorfenapir como os mais seletivos ao ácaro predador *N. baraki*, dentre aqueles registrados no Brasil para o controle de *A. guerreronis* (Lima *et al.* 2013).

### **Controle biológico de *Aceria guerreronis***

O controle biológico de *A. guerreronis* tem sido amplamente estudado, sobretudo após a chegada desta praga no continente asiático, onde a cultura do coqueiro apresenta maior expressão sócio-econômica. Pesquisas vêm sendo conduzidas na África (Negloh *et al.* 2008, 2010), Américas (Lawson-Balagbo *et al.* 2008, Reis *et al.* 2008, Silva *et al.* 2010) e Ásia (Haq 2001, Ranajaru *et al.* 2002, Moraes *et al.* 2004, Fernando *et al.* 2010), com o objetivo de encontrar ácaros predadores que possam ser utilizados no manejo de populações de *A. guerreronis*. Os ácaros fitoseídeos *N. paspalivorus* e *N. baraki* são frequentemente encontrados em associação com *A. guerreronis* no perianto de frutos de coqueiro (Moraes *et al.* 2004, Lawson-Balagbo *et al.* 2008, Reis *et al.* 2008), enquanto *Amblyseius largoensis* (Muma) ocorre principalmente nos folíolos do coqueiro (Moraes *et al.* 2004, Lawson-Balagbo *et al.* 2008). Ácaros da família

Melicharidae e Blattisociidae também têm sido relatados em frutos de coqueiros, sobretudo aqueles abortados, representados em sua maioria pelas espécies *Proctolaelaps bickleyi* (Bram), *Proctolaelaps bulbosus* Moraes, Reis & Gondim Jr., *Proctolaelaps longipilis* Chant e *Lasioseius subterraneus* Chant (Navia *et al.* 2005, Lawson-Balagbo *et al.* 2008).

Na África, em Benim e Tanzânia, foram encontradas as espécies *N. baraki*, *N. paspalivorus* e *Neoseiulus neobaraki* (Zannou, Moraes & Oliveira) (Negloh *et al.* 2008, 2010, 2011). Na Ásia, no Sri Lanka, foram relatadas as espécies *A. largoensis*, *N. baraki* e *N. paspalivorus* (Moraes *et al.* 2014). Na Índia, foi relatada a presença de *A. largoensis* e *N. paspalivorus* (Haq 2001, Ramaraju *et al.* 2002). Nas Américas, em levantamentos realizados no Norte do Brasil (Roraima e Rondônia), Colômbia, México e Venezuela observou-se a predominância das espécies *N. paspalivorus*, *P. bickleyi* e *A. largoensis* (Silva *et al.* 2010). Lawson-Balagbo *et al.* (2008) realizaram extensos levantamentos, abrangendo todas as áreas de cultivo de coqueiro no norte e nordeste do Brasil, com o objetivo de determinar a ocorrência e distribuição de *A. guerreronis* e de seus inimigos naturais. Cerca de 81% dos ácaros predadores associados a *A. guerreronis* pertenciam à família Phytoseiidae, também com predominância das espécies *N. paspalivorus*, *N. baraki* e *A. largoensis*.

O habitat protegido onde as colônias de *A. guerreronis* se desenvolvem representa um grande entrave para entrada dos predadores, uma vez que alguns deles são maiores que o espaço entre a extremidade distal das brácteas e a epiderme do fruto (Lawson-Balagbo *et al.* 2007a, Lima *et al.* 2012). Contudo, as espécies *N. baraki* e *N. paspalivorus* tem o corpo achatado e pernas curtas em comparação aos outros predadores associados ao coqueiro, como, por exemplo, *A. largoensis*, sendo portanto mais aptas a acessar o perianto dos frutos (Lima *et al.* 2012) e promissoras para utilização em programas de controle biológico de *A. guerreronis* (Lawson-Balagbo *et al.* 2007b).

### **Ácaro-vermelho-das-palmeiras (*Raoiella indica*)**

O ácaro-vermelho-das-palmeiras, *R. indica*, foi descrito em 1924 por Hirst, em Coimbatore, na Índia. Posteriormente, este ácaro foi relatado em outras regiões da Índia, como Gao, Karnataka, Kerala, Madhya Pradesh, Tamil Nadu e West Bengal (CABI 2014). Foi relatado também em outros países da Ásia, como Filipinas, Paquistão, Sri Lanka e Tailândia (Chaudhri 1974, CABI 2014). No Oriente Médio, há relatos de sua presença na Arábia Saudita, Emirados Árabes, Irã, Israel e Omã (Gerson *et al.* 1983, Elwan 2000, Arbabi *et al.* 2002, CABI 2014). Na África, foi encontrado em Benim, Egito, Ilha Mauritius, Ilha da Reunião, Sudão, Tanzânia e Tunísia (Sayed 1942, Moutia 1958, Pritchard & Baker 1958, Quilici *et al.* 1997, Zannou *et al.* 2010, Zouba & Raeesi 2010). Nas Américas, o primeiro relato de *R. indica* ocorreu em 2004, na ilha caribenha de Martinica (Flechtmann & Etienne 2004), logo depois, sua presença foi registrada em diversas outras ilhas do Caribe (Etienne & Flechtmann 2006, Rodrigues *et al.* 2007, Welbourn 2009, de la Torre 2010, CABI 2014). Em 2007 foi relatada na América do Norte (Welbourn 2009) e América do Sul (Venezuela) (Vásquez *et al.* 2008). No Brasil, sua presença foi constatada em 2009 nas áreas urbanas de Boa Vista, Roraima (Navia *et al.* 2011). Posteriormente, foi também encontrado em Manaus, Amazonas, em 2011 (Rodrigues & Antony 2011). Em 2010, *R. indica* foi relatada na Colômbia (Carrillo *et al.* 2011).

Altas infestações de *R. indica* em coqueiro causam amarelecimento intenso das folhas, seguido de necrose dos tecidos (Flechtmann & Etienne 2004), reduções na produtividade da planta, comprometimento do desenvolvimento de coqueiros jovens e até mesmo morte da planta (Sarkar & Somchoudhury 1988). *Raoiella indica* ainda não afetou áreas de grande produção de coqueiro no Brasil, mas grande atenção deve ser dada ao impacto eminente que pode causar nestas área, sendo necessárias pesquisas para definir as estratégias de controle a serem utilizadas (Navia *et al.* 2014). Dentre as medidas de controle que vem sendo estudadas para minimizar os danos

causados por *R. indica*, destaca-se o controle biológico, utilizando-se ácaros predadores (Carrillo *et al.* 2010, Mound *et al.* 2010, Carrillo & Peña 2011, Carrillo *et al.* 2012, Domingos *et al.* 2013).

Esforços têm sido realizados para identificar e avaliar potenciais agentes de controle biológico de *R. indica* que possam ser utilizados na região neotropical (Hoy 2012, Moraes *et al.* 2012, Taylor *et al.* 2012). O ácaro predador *A. largoensis* destaca-se por ser encontrado com maior frequência e abundância em associação a *R. indica* e estar amplamente distribuído em áreas tropicais e subtropicais do mundo (Gallego *et al.* 2003, Etienne & Flechtmann 2006, Peña *et al.* 2009, Moraes *et al.* 2012, Taylor *et al.* 2012), incluindo o Estado de Roraima (Gondim Jr. *et al.* 2012).

#### **Análises morfométricas para ácaros fitoseídeos**

A morfometria se refere a qualquer análise quantitativa da variação morfológica dos organismos (Blackith 1965). Atualmente é definida como um modo de analisar a forma e tamanho de parâmetros corporais das espécies, permitindo observar variações no tamanho de estruturas consideradas importantes para taxonomia e desta forma auxiliar na identificação de espécies (Zelditch *et al.* 2004).

As técnicas de análise morfométrica evoluíram ao longo dos anos, desde o estabelecimento de proporções entre as diversas partes do corpo utilizadas nas descrições taxonômicas, até as sofisticadas técnicas estatísticas, as quais utilizam modelos matemáticos complexos para explicar diferenças no tamanho e forma de caracteres. A disponibilidade de novas tecnologias computacionais possibilitou a análise simultânea de diversas variáveis, denominadas de análises de morfometria multivariada. Estas análises permitem considerar padrões de variação e covariação simultâneas de um conjunto de caracteres (Cavalcanti & Lopes 1998). Em estudos taxonômicos, as análises de morfometria multivariada mais utilizadas são: componentes

principais, variáveis canônicas e função discriminante (James & McCulloch 1990). Estas análises permitem a ordenação dos dados morfométricos e a interpretação de parâmetros biológicos implícitos à morfologia dos espécimes estudados (Blackith & Reyment 1971, Reis 1988).

A Análise de Componentes Principais (ACP) consiste em transformar um conjunto de variáveis originais em outro conjunto de variáveis de mesma dimensão, denominadas componentes principais. Estas variáveis são deduzidas em ordem decrescente de importância, de modo que o primeiro componente principal explique o máximo possível de variação nos dados originais. Somente os dois ou três primeiros componentes principais devem ser interpretados em um senso biológico, pois normalmente explicam a maior porcentagem de variação nos dados (Reyment *et al.* 1981).

A Análise das Variáveis Canônicas (AVC) busca, com base em um grande número de variáveis originais correlacionadas, obter combinações lineares dessas variáveis denominadas variáveis canônicas, de tal forma que a correlação entre essas variáveis seja nula (Khattree & Naik 2000). A AVC difere da ACP pelo fato de não considerar as correlações entre as variáveis e por definir os grupos “a priori”, permitindo distinguir as variações dentro dos grupos (Cavalcanti & Lopes 1993). A AVC possibilita a visualização da magnitude de diferenças entre os grupos analisados, maximizando as variações entre os grupos e dentro dos grupos, além de apontar quais caracteres morfológicos separam melhor os grupos estudados, o que a torna adequada para estudos de sistemática (Blackith & Reyment 1971).

A ACP e AVC têm como objetivo comum reduzir a dimensionalidade e tentar explicar a variação morfológica entre os grupos em função de um menor número de variáveis construídas a partir de autovetores, permitindo a interpretação da essência da variação morfológica (Monteiro & Reis 1999).

A Análise Discriminante consiste numa técnica multivariada empregada com objetivo de diferenciar populações (Fisher 1936). Esta análise constitui-se em um método estatístico para identificar ou alocar indivíduos das populações estudadas, considerando o vetor de respostas de dados com estrutura multidimensional e identificar as divergências entre populações. Para isso, são formados grupos homogêneos (regiões de identificação) a partir do conhecimento “a priori” de quais populações pertencem às unidades amostrais, ou seja, coleta-se uma amostra aleatória de cada população multivariada e estabelece-se o critério de identificação nos grupos (Barroso & Artes 2003).

A morfometria multivariada tem sido frequentemente utilizada em estudos de sistemática de ácaros fitófagos, sendo útil na elucidação de sinonímias e variabilidade intraespecífica (Huang *et al.* 1996, Skoracka *et al.* 2002, Navia *et al.* 2006, 2009, Vidovic' *et al.* 2010, Wang *et al.* 2011).

Um grande número de trabalhos envolvendo o uso da morfometria multivariada tem sido conduzido no estudo de ácaros predadores da família Phytoseiidae, os quais tem sido úteis na resolução de problemas taxonômicos desta família. A análise morfométrica de populações canadenses de *Typhlodromus (Anthoseius) caudiglans* Schuster revelou que as populações do norte e do leste representavam duas subespécies, e esta variação foi correlacionada com fatores climáticos e plantas hospedeiras (Chant *et al.* 1978). A sinonímia entre *Typhlodromus (A.) caudiglans* e *Typhlodromella nodosus* De Leon, também foi evidenciada a partir de análises morfométricas (Chant *et al.* 1978). Chant & Shaul-Yoshida (1990) constataram a sinonímia de *Amblyseius potentillae* (Garman) e *Amblyseius britannicus* (Chant) com *Amblyseius andersoni* (Chant) através de uma ACP. Análise Discriminante e ACP também foram utilizadas para confirmar a identidade de espécimes de *Phytoseius macropilis* (Banks) e *Phytoseius delicatus* Chant (Shaul-Yoshida & Chant 1995). Tixier *et al.* (2003) detectaram grande variabilidade morfométrica de populações de *Kampimodromus aberrans* (Oudemans), em caracteres utilizados

na separação de espécies do gênero *Kampimodromus*, levando ao questionamento da utilização do comprimento das cerdas idiossomais dorsais e da macroseta na basitarso IV na sistemática do gênero. Análises morfométricas também foram utilizadas para avaliar a variação intraespecífica de 42 caracteres morfológicos em dez populações de *Neoseiulus californicus* McGregor, sendo altos os intervalos de variação (mim-máx) dos caracteres. Estes resultados evidenciaram o nível de variação intraespecífica presente em Phytoseiidae (Tixier *et al.* 2008a).

### **Análises moleculares para ácaros fitoseídeos**

Análises moleculares têm sido empregadas no estudo da diversidade genética intra e interespecífica para ácaros de interesse agrícola, pertencentes às famílias Tetranychidae, Eriophyidae e Phytoseiidae (*e.g.* Navajas *et al.* 1999, Navajas & Fenton 2000, Tixier *et al.* 2008a 2010a, Okassa *et al.* 2011). A identificação de ácaros através de caracteres moleculares é uma técnica prática e não requer conhecimento em outras áreas da biologia, além da morfologia. Quando a distância genética é grande entre os indivíduos ou populações analisadas, de acordo com os limites estabelecidos, considera-se que pertencem a espécies distintas. As técnicas moleculares auxiliam na resolução de problemas que morfologicamente são de difícil elucidação, podendo ser solucionado com apenas um único indivíduo de qualquer sexo ou estágio de desenvolvimento. O uso dessas técnicas na Acarologia tem promovido um aumento do conhecimento sobre a sistemática, a filogenética e a estrutura das populações, contribuindo não apenas na identificação de espécies próximas morfologicamente, mas também na distinção de categorias subespecíficas, assim como na caracterização de biótipos e distinção de espécies crípticas (Mozes-Koch & Gerson 1998).

A utilização de um único marcador na caracterização molecular é desaconselhável, devido à propensão de resultados enganosos (Navajas & Boursot 2003). Para evitar tais erros deve-se

comparar resultados de marcadores com propriedades distintas. Os marcadores moleculares frequentemente utilizados em sistemática molecular de ácaros são regiões do DNA mitocondrial (mtDNA) e o DNA ribossomal (rDNA). Alguns estudos utilizando RAPD (*Random Amplified Polymorphism DNA*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), DALP (*Direct Amplification of Length Polymorphism*) e microssatélites também têm sido realizados (Navajas & Fenton 2000).

Os marcadores DNA ribossomal (rDNA) e o DNA mitocondrial (mtDNA) diferem consideravelmente em sua organização genômica e no modo de transmissão (Navajas & Boursot 2003). O rDNA é utilizado em estudos de relações filogenéticas, variabilidade genética e de divergências dentro e entre espécies, por apresentar propriedades adequadas como taxas diferenciais de evolução entre diferentes regiões e genes repetidos (Gebri 1985). Em eucariontes, o rDNA possui unidades transcricionais repetitivas, e estas unidades são separadas por espaços intergênicos, Espaço Transcrito Interno 1 (do inglês “Internal Transcribed Spacer 1”) (ITS 1) e Espaço Transcrito Interno 2 (ITS 2). As regiões ITS apresentam maior variabilidade que as regiões codantes, e apresentam taxas elevadas de mutação, o que difere na taxa de evolução das regiões (Weekers *et al.* 2001). Logo, as regiões ITS e codantes são apontadas como versáteis e aptas a evidenciar relações filogenéticas ao nível de população (Hills & Dixon 1991). Já o mtDNA é considerado eficaz em estudos evolucionários, e também utilizado em estudos a nível populacional (Avise *et al.* 1987). Os genes mitocondriais pertencem a duas categorias: genes ribossomais (12S e 16S) e genes proteína codante (*Citocromo Oxidase subunidade I, COI*, e *Citocromo Oxidase subunidade III, COIII*) (Cruickshank 2002).

Com o aprimoramento e facilidade das técnicas moleculares, estas têm sido muito utilizadas nas análises filogenéticas. O processo de análise filogenética envolve a obtenção e alinhamento dos nucleotídeos e a construção e avaliação da árvore filogenética. A criação de árvores

filogenéticas permite a organização das sequências obtidas e a análise de suas relações com outras afins. Os métodos cladísticos são amplamente utilizados no desenvolvimento de árvores filogenéticas, estes métodos calculam árvores para cada caráter e então indicam a melhor árvore através da determinação daquela que requer menor número de mudanças (Parcimônia) ou aquela mais provável estatisticamente (Máxima Verossimilhança). O método de Máxima Verossimilhança avalia a hipótese da história evolucionária em termos da probabilidade de que um modelo proposto e a história hipotética originariam um conjunto de dados. A suposição é que a história com maior probabilidade de alcançar o estado observado é preferida à história com menor probabilidade, logo este método procura a árvore com maior probabilidade ou verossimilhança (Buso 2005).

Pesquisas envolvendo a aplicação da caracterização molecular em estudos taxonômicos de ácaros da família Phytoseiidae têm sido desenvolvidas, possibilitando a elucidação de aspectos importantes relacionados à filogenia das espécies estudadas (Kanouh *et al.* 2010a, Tsolakis *et al.* 2012) e a resolução de problemas taxonômicos como a existência de sinonímias e a presença de espécies crípticas (Tixier *et al.* 2006ab, 2010a, 2011, 2012, Kanouh *et al.* 2010b, Famah Sourassou *et al.* 2012, Navia *et al.* 2014). Como exemplo, o estudo sobre dois casos de sinonímia do gênero *Neoseiulella* foi realizado, utilizando os marcadores ITS, 12S rRNA e citocromo b (Cytb). Os resultados obtidos suportam a sinonímia entre *Neoseiulella tiliarum* (Oudemans) e *Neoseiulella formosa* (Wainstein) e entre *Neoseiulella squamiger* (Wainstein) e *Neoseiulella aceri* (Collyer) (Kanouh *et al.* 2010b). A frequência com que espécies crípticas são descobertas com dados de sequência de DNA sugere que os dados moleculares devem ser incorporados nas pesquisas taxonômicas como rotina e/ou o material genético deve ser preservado de modo que posteriormente seja possível submetê-lo a análise molecular (Bickford *et al.* 2007).

A caracterização molecular também tem auxiliado no processo de identificação de fitoseídeos, sobretudo de espécies de importância comercial, utilizadas em programas de controle biológico. Navajas *et al.* (1999) desenvolveram um trabalho preliminar para avaliar a utilidade de marcadores (ITS1-5,8S-ITS2) na análise em diferentes categorias taxonômicas de seis espécies de fitoseídeos de importância comercial: *N. californicus*, *Neoseiulus fallacis* (Garman), *Euseius concordis* (Chant), *Galendromus (Galendromus) occidentalis* (Nesbitt), *Typhlodromus (Typhlodromus) pyri* Scheuten e *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot. Os autores concluíram que o ITS1 pode ser útil para a identificação de espécies, porém o seu valor em estudos taxonômicos não se estende ao nível da família. Jeyaprakash & Hoy (2002) desenvolveram um método, utilizando o marcador 12S rRNA, para identificação através de técnicas moleculares para seis fitoseídeos comercialmente disponíveis: *N. fallacis*, *N. californicus*, *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans), *Galendromus (G.) occidentalis*, *Iphiseius degenerans* (Berlese) e *P. persimilis*, além de presa *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Este método permite aumentar a capacidade de monitoramento de fitoseídeos durante a produção massal e após a liberação em campo.

### **Testes de cruzamentos**

Os testes de cruzamentos são utilizados para verificar a ocorrência de isolamento reprodutivo entre populações. Do ponto de vista biológico, espécies são agrupamentos de populações naturais inter cruzantes que são reprodutivamente isolados de outros grupos de populações pertencentes a outras espécies (Mayr 1977). A incompatibilidade reprodutiva entre populações pode ocorrer através de dois mecanismos de isolamento reprodutivo: pré-acasalamento e pós-acasalamento (Mayr 1977) ou devido a fatores exógenos, relacionada à presença de microrganismos simbiotes como bactérias do gênero *Wolbachia* (Werren *et al.*

1995). Em mecanismos pré-acasalamento não ocorre transferência de gametas e inclui isolamento de hábitat, isolamento etológico e isolamento mecânico. Nos mecanismos pós-acasalamento ocorre a transferência de gametas, porém sem fertilização do óvulo, ocasionando a produção de híbridos com pouca viabilidade e produção de híbridos viáveis, mas parcialmente ou totalmente estéreis. Os mecanismos pós-acasalamento podem ocasionar a mortalidade gamética, mortalidade do zigoto, a inviabilidade e esterilidade do híbrido (Mayr 1977).

Pesquisas envolvendo testes de cruzamentos em fitoseídeos têm sido desenvolvidas, visando elucidar dúvidas taxonômicas através da avaliação da compatibilidade reprodutiva entre populações morfologicamente próximas. Estudos entre populações de *Galendromus* (*Galendromus*) *occidentalis* (Nesbitt) originadas da Califórnia, Washington e Utah (EUA) indicaram incompatibilidade reprodutiva, ocasionando a produção de ovos inviáveis, redução na taxa de oviposição em alguns retrocruzamentos e aumento da mortalidade de imaturos (Croft 1970). Furtado (1997) relatou completo isolamento reprodutivo entre populações identificadas como *E. concordis* procedentes de Jaguariúna-SP e Petrolina-PE, considerando que ocorreu apenas a produção de ovos inviáveis, aparentemente devido a não existência de troca gênica entre as populações. Noronha & Moraes (2004) verificaram a ocorrência de incompatibilidade reprodutiva pós-acasalamento entre populações de *E. concordis* coletadas em diferentes regiões do Brasil.

### **Taxonomia integrativa - uma nova abordagem para a sistemática de ácaros Phytoseiidae**

A taxonomia integrativa tem como objetivo a construção de uma sistemática consistente, através da integração de diferentes áreas de conhecimento como a morfologia, biologia molecular, comportamento, ecologia, estudos enzimáticos, compatibilidade reprodutiva, citogenética e química (Schlick-Steiner *et al.* 2010). A taxonomia clássica baseia-se na morfologia e não é

substituível (Schlick-Steiner *et al.* 2010), mas a sua combinação com outras ferramentas pode acelerar o processo de identificação e esclarecer problemas taxonômicos (Bickford *et al.* 2007). A combinação de ferramentas propostas pela taxonomia integrativa extrapola a identificação dos organismos, possibilitando a compreensão dos processos evolutivos dos organismos estudados (*e.g.* Schlick-Steiner *et al.* 2010).

A acurada identificação de inimigos naturais é fundamental em programas de controle biológico, pois identificações imprecisas podem resultar no insucesso dos mesmos (Moraes 1987). Logo, é incontestável a utilidade da taxonomia integrativa na elucidação dos problemas taxonômicos e na identificação precisa de fitoseídeos de importância para o controle biológico, possibilitando o aumento da capacidade de monitoramento de fitoseídeos durante a produção massal e após a liberação em campo. A identificação de ácaros fitoseídeos tem sido comumente realizada através da taxonomia clássica, pela observação de presença ou ausência de cerdas do corpo (quetotaxia) e em medições de estruturas (morfometria) como: tamanho dos escudos dorsais e ventrais, forma e comprimento das cerdas dorsais, espermateca e quelíceras (Chant & McMurtry 1994, 2006, Tixier *et al.* 2008b). No entanto, a utilização exclusiva da morfologia na distinção segura de espécies próximas pode ser limitante, sobretudo quando há problemas taxonômicos como a ocorrência de espécies crípticas (duas ou mais espécies de morfologia similar, classificadas erroneamente como uma única espécie) (Bickford *et al.* 2007) e sinónimas.

Recentemente, a integração de métodos em uma abordagem integrativa de estudos taxonômicos de ácaros da família Phytoseiidae têm sido desenvolvidas, visando a elucidação de aspectos importantes relacionados à filogenia das espécies estudadas. Kanouh *et al.* (2010a) realizaram estudos morfológicos e moleculares (ITS, 12S e Cytb) para determinar as relações filogenéticas entre todas as espécies do gênero *Phytoseiulus* e concluíram que estas espécies não constituem um grupo monofilético e que a parte ocidental do Gondwana é o provável centro de

origem deste táxon. Análises filogenéticas moleculares com os marcadores ITS e 12S foram realizadas em espécimes do gênero *Neoseiulus*, com o objetivo de investigar qual conceito de gêneros da família Phytoseiidae se ajusta a evolução filogenética. Os resultados das análises apontaram o conceito proposto por Athias-Henriot (e.g. Athias-Henriot 1977), que considera a forma da espermateca como o carácter fundamental na identificação de gêneros, como a mais confiável e que melhor se ajusta aos clados evolutivos (Tsolakis *et al.* 2012).

A taxonomia integrativa também tem contribuindo no processo de identificação de fitoseídeos. A confirmação da identidade de espécimes de *Kampimodromus corylosus* Kolodochka, coletadas no EUA e inicialmente reportadas como *K. aberrans*, foi realizada utilizando análises moleculares com o marcador *COI* e análises morfométricas (Tixier *et al.* 2008b). Okassa *et al.* (2009) realizaram análises morfométricas e análises moleculares (12S e *COI*) para confirmar a identidade de espécimes do gênero *Euseius* coletadas na França e concluíram que se tratava de uma nova espécie, posteriormente descrita como *Euseius gallicus* Kreiter & Tixier (Tixier *et al.* 2010b). Análises moleculares (12S e *Cytb*) e análises morfológicas foram realizadas com o objetivo de diferenciar as espécies *P. macropilis* e *P. persimilis* (Okassa *et al.* 2010). Os resultados moleculares mostraram uma delimitação clara entre as espécies, apesar das pequenas diferenças morfológicas. Okassa *et al.* (2011) realizaram a caracterização molecular (12S e *Cytb*) e morfológica de 14 populações de *N. californicus* coletadas em vários países, possibilitando a determinação das variações intra-específicas moleculares e morfológicas para esta espécie.

A abordagem integrativa em estudos de fitoseídeos também tem sido uma ferramenta útil na resolução de problemas taxonômicos, como a existência de sinonímias e a presença de espécies crípticas. As espécies *Typhlodromus (Typhlodromus) exhilaratus* Ragusa e *Typhlodromus (Typhlodromus) phialatus* Athias-Henriot eram consideradas crípticas, devido a grande

proximidade morfométrica, contudo com a realização de testes moleculares envolvendo os marcadores ITS1-5,8S-ITS2 e *COI* e estudos de cruzamentos foi confirmada a presença de duas espécies válidas (Tixier *et al.* 2006a). A sinonímia de *Kampimodromus hmiminai* McMurtry & Bounfour e *Kampimodromus adrianae* Ferragut & Peña-Estévez foi estabelecida após análise morfológica e molecular com o marcador *COI* (Tixier *et al.* 2006b). Estudos moleculares (12S) e morfológicos foram realizados com objetivo de verificar a presença de espécies crípticas entre quatro populações de *Phytoseiulus longipes* Evans (Argentina, Brasil, Chile e África do Sul), que apresentavam hábitos alimentares diferentes. As distâncias genéticas entre as quatro populações de *P. longipes* foram baixas, sugerindo que apesar de hábitos alimentares distintos, todas as amostras pertencem à mesma espécie (Tixier *et al.* 2010a). Análises morfométricas e moleculares (12S e *Cytb*) foram utilizadas para diferenciar *P. macropilis* e *P. persimilis*. Os resultados obtidos mostraram que somente as escarpas da macroseta no basitarso permitiu a diferenciação morfológica das espécies, apesar da clara distinção obtida na análise molecular (Okassa *et al.* 2010). A sinonímia entre *Cydnodromus idaeus* (Denmark & Muma) e *Cydnodromus picanus* Ragusa foi estabelecida após análise morfológica e molecular com os marcadores 12S, *CytB* e ITS (Tixier *et al.* 2011). Tixier *et al.* (2012) realizaram análises morfológicas e moleculares (*COI*, *Cytb*, 12S e ITS1-5,8S-ITS2) com o objetivo de verificar a ocorrência de espécies crípticas em populações de *Typhlodromus (T.) pyri* coletadas em vinhedos e pomares de vários países. Os resultados das análises mostraram que as populações estudadas pertencem a uma única espécie. Famah Sourassou *et al.* (2011) realizaram análises morfométricas multivariadas (ACP, AVC e Análise Discriminante) e testes de cruzamentos em três populações de *N. paspalivorus* (Benim, Gana e Brasil) e concluíram que as espécimes estudadas são entidades biológicas distintas, apesar de semelhança morfológica. Famah Sourassou *et al.* (2012) utilizaram três métodos: 1) análises morfométricas multivariadas (ACP, AVC e Análise Discriminante); 2) análise de sequências de

DNA do gene *COI*; e 3) experimentos de cruzamentos, para averiguar presença de espécies crípticas em populações de *N. baraki* (Benim, Tanzânia e Brasil). Os resultados das três etapas forneceram evidências da existência de espécies crípticas. Estudo semelhante foi realizado por Navia *et al.* (2014), envolvendo análises moleculares (ITS e 12 rRNA), análises morfométricas e testes de cruzamentos, com o objetivo de determinar se as populações de *A. largoensis* das ilhas do Oceano Índico (Ilha da Reunião e Mauritius) e Américas (Brasil, Trinidad e Tobago e EUA) pertencem a mesma espécie ou a um grupo de espécies crípticas. Os autores concluíram que as populações pertencem à mesma espécie, embora haja dois grupos genéticos bem definidos.

#### Literatura Citada

- AGROFIT. 2014.** Sistema de agrotóxicos Fitossanitários do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>, acessado em 11/01/2014.
- Alencar, J.A., F.N.P. Haji & F.R.B. Moreira. 1999.** Ácaro-da-necrose-do-coqueiro *Aceria guerreronis*: Aspectos bioecológicos, sintomas, danos e medidas de controle. Petrolina, Embrapa Semi-Árido, 18p.
- Al-Shanfari, A., F.C. Hountondji, H. Al-Zawamri, H. Rawas, Y. Al-Mashiki, G.J. de Moraes, D. Moore & S.R. Gowen. 2013.** Occurrence and seasonal prevalence of the coconut mite, *Aceria guerreronis* (Eriophyidae), and associated arthropods in Oman. *Exp. Appl. Acarol.* 60: 139-151.
- Ansaloni, T. & T.M. Perring. 2004.** Biology of *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) on queen palm, *Syagrus romanzoffiana* (Arecaceae). *Int. J. Acarol.* 30: 63-70.
- Aquino, M.L.N. & G.P. Arruda. 1967.** Agente causal da “necrose-do-olho-coqueiro” em Pernambuco. Recife, IPA, Boletim técnico, 33p.
- Aragão, W.M., J.M. Resende, E.M.O. Cruz, C.S. Reis, O.J. Saggin Junior, J.A. Alencar, W.A. Moreira, F.R. Paula & J.M.P. Lima Filho. 2002.** Fruto do coqueiro para consumo natural, p. 19-25. In W.M. Aragão (eds.), *Coco: Pós-colheita*. Aracaju, Embrapa Tabuleiros Costeiros, 292p.
- Aragão, W.M., F.E. Ribeiro & M.F.V. Melo. 2009.** Cultivares de coqueiro para a produção de coco seco: coqueiro gigante vs híbridos, p. 37-60. In F.L.D. Cintra, H.R. Fontes, E.E.M. Passos & J.M.S. Ferreira (eds.), *Fundamentos tecnológicos para a revitalização das áreas*

- cultivadas com coqueiro gigante no Nordeste do Brasil. Aracaju, Embrapa Tabuleiros Costeiros, 233p.
- Arbabi, M., N.G.Z. Khiaban & M. Askari. 2002.** Plant mite fauna of Sistan-Baluchestan and Hormozgan Provinces. *J. Entomol. Soc. Iran* 22: 87-88.
- Athias-Henriot, C. 1977.** Nouvelles notes sur les Amblyseiini. III. Sur le genre *Cydnodromus*: redéfinition, composition (Parasitiformes, Phytoseiidae). *Entomophaga* 22: 61-73.
- Avise, J.C., J. Arnold, R.M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J.E. Neigel, C.A. Reeb & N.C. Saunders. 1987.** Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18: 489-522.
- Barroso, L.P. & R. Artes. 2003.** Análise Multivariada. Minicurso do 10<sup>o</sup> SAEGRO e 48<sup>a</sup> RBRAS. Lavras, UFLA, 151p.
- Bickford, D., D.J. Lohman, N.S. Sodhi, P.K.L. Ng, R. Meier, K. Winke, K.K. Ingram & I. Das. 2007.** Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecol. Evol.* 22: 148-155.
- Blackith, R. 1965.** Morphometrics, p. 225-249. In T.H. Waterman & J. Morowitz. (eds.). *Theoretical and mathematical biology*. New York, Blaisdell, 448p.
- Blackith, R. & R.A. Reyment. 1971.** *Multivariate morphometrics*. London, Academic Press, 412p.
- Bondar, G. 1940.** Insetos nocivos e molestias do coqueiro (*Cocos nucifera*) no Brasil. Salvador, Tipografia Naval, 160p.
- Buso, G. S. C. 2005.** Marcadores moleculares e análise filogenética. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 22p.
- CABI. 2014.** Invasive species compendium: *Raoiella indica*. Disponível em <[www.cabi.org/isc/?compid=5&dsid=46792&loadmodule=datasheet&page=481&site=144#](http://www.cabi.org/isc/?compid=5&dsid=46792&loadmodule=datasheet&page=481&site=144#)>, acessado em 23/09/2014.
- Cabral, R.V.G. & M.M. Carmona. 1969.** *Aceria guerreronis* Keifer (Acarina: Eriophyidae), uma espécie nova para S. Tomé e Príncipe. *Port. Acta Biol.* 10: 353-358.
- Cabrera, R.I. 1991.** El ácaro del cocotero *Eriophyes guerreronis* su importancia económica y métodos de lucha. Habana, Estación Nacional de Sanidad de los Cítricos y Otros Frutales, 40p.
- Carrillo, D., J.E.P. Peña, M.A. Hoy & H.J. Frank. 2010.** Development and reproduction of *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae) feeding on pollen, *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae), and other microarthropods inhabiting coconuts in Florida, USA. *Exp. Appl. Acarol.* 52: 119-129.

- Carrillo, D., D. Navia, F. Ferragut & J.E. Peña. 2011.** First report of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) in Colombia. Fla. Entomol. 94: 370-371.
- Carrillo, D., M.E. de Coss, M.A. Hoy & J.E. Peña. 2012.** Variability in response of four populations of *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae) to *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) and *Tetranychus gloveri* (Acari: Tetranychidae) eggs and larvae. Biol. Control. 60: 39-45.
- Carrillo, D. & J.E. Peña. 2012.** Prey-stage preferences and functional and numerical responses of *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae) to *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae). Exp. Appl. Acarol. 57: 362-362.
- Cavalcanti, M.J. & P.R.D. Lopes. 1998.** Variação geográfica de caracteres quantitativos em *Ogcocephalus vespertilio* (Linnaeus) (Teleostei, Lophiiformes, Ogcocephalidae). Rev. Bras. Zool. 15: 125-134.
- Cavalcanti, M.J. & P.R.D. Lopes. 1993.** Análises morfométricas multivariadas de cinco espécies de Serranidae (Teleostei: Perciformes). Acta Biol. Leopoldensia 15: 53-64.
- Chant, D.A., R.I.C. Hansell & H. Rowell. 1978.** A numerical taxonomic study of variation in populations of *Typhlodromus caudiglans* Schuster (Acarina: Phytoseiidae). Can. J. Zool. 56: 55-65.
- Chant, D.A. 1985.** Biosystematics, p. 31-35. In W. Helle & M.W. Sabelis (eds.), Spider mites: their biology, natural enemies and control. Amsterdam, Elsevier, 458p.
- Chant, D.A. & E. Shaul-Yoshida. 1990.** The identities of *Amblyseius andersoni* (Chant) and *A. potentillae* (Garnan) in the family Phytoseiidae (Acarina: Gamasina). Int. J. Acarol. 16: 5-12.
- Chant, D.A. & J.A. McMurtry. 1994.** A review of the subfamilies Phytoseiinae and Typhlodrominae (Acari: Phytoseiidae). Int. J. Acarol. 20: 223-310.
- Chant, D.A. & J.A. McMurtry. 2006.** A review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae) Part IX. An overview. Int. J. Acarol. 32: 125-152.
- Chaudhri, W.M. 1974.** Taxonomic studies of the mites belonging to the families Tenuipalpidae, Tetranychidae, Tuckerellidae, Caligonellidae, Stigmaeidae and Phytoseiidae. Lyallpur, University of Agriculture, 250p.
- Croft, B.A. 1970.** Comparative studies on four strains of *Typhlodromus occidentalis* (Acarina: Phytoseiidae). I. Hybridization and reproductive isolation studies. Ann. Entomol. Soc. Am. 63: 1558-1563.
- Cruickshank, R.H. 2002.** Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks. Syst. Appl. Acarol. 7: 3-14.

- de la Torre, P.E., A.S. González & A.I. González. 2010.** Presencia del ácaro *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) en Cuba. *Rev. Prot. Veg.* 25: 1-4.
- Domingos, C.A., L.O. Oliveira, E.G.F. de Moraes, D. Navia, G.J. de Moraes & M.G.C. Gondim Jr. 2013.** Comparison of two populations of the pantropical predator *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae) for biological control of *Raoiella indica* (Prostigmata: Tenuipalpidae). *Exp. Appl. Acarol.* 60: 83-93.
- Doreste, S.E. 1968.** El ácaro de la flor del cocotero (*Aceria guerreronis* Keifer) en Venezuela. *Agron. Trop.* 18: 370-386.
- Elwan, A.A. 2000.** Survey of the insect and mite pests associated with date palm trees in Al Dakhliya region, Sultanate of Oman. *Egypt. J. Agric. Res.* 78: 653-664.
- Estrada, J. & M. Gonzalez. 1975.** Danõs causados en coco por *Aceria guerreronis* (Acarina: Eriophyidae) en Cuba. *Ver. Agric.* 8: 30-34.
- Famah Sourassou, N., R. Hanna, I. Zannou, G.J. de Moraes, K. Negloh & M.W. Sabelis. 2011.** Morphological variation and reproductive incompatibility of three coconut-mite-associated populations of predatory mites identified as *Neoseiulus paspalivorus* (Acari: Phytoseiidae). *Exp. Appl. Acarol.* 53: 323-338.
- Famah Sourassou, N., R. Hanna, I. Zannou, J.A.J. Breeuwer, G.J. de Moraes & M.W. Sabelis. 2012.** Morphological, molecular and cross-breeding analysis of geographic populations of coconut-mite-associated predatory mites identified as *Neoseiulus baraki*: evidence for cryptic species? *Exp. Appl. Acarol.* 57: 15-36.
- FAOTAST. 2013.** Coconut. Disponível em <<http://faostat3.fao.org/faostagateway/go/to/download/Q/QC/E>>, acessado em 11/01/2014.
- Ferraz, M.V. 2000.** Estudo taxonômico e aspectos da biologia de *Coptotermes* Wasmann, (Isoptera, Rhinotermitidae) nas Américas. Tese de Doutorado, USP, São Paulo, 213p.
- Fernando, L.C.P., I.R. Wickramanada & N.S. Aratchige. 2002.** Status of coconut mite, *Aceria guerreronis* in Sri Lanka, p. 1-8. In L.C.P. Fernando, G.J. de Moraes, I.R. Wickramanada (eds.) *Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (Aceria guerreronis)*. Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.
- Fernando, L.C.P., K.P. Waidyarathne, K.F.G. Perera & P.H.P.R. de Silva. 2010.** Evidence for suppressing coconut mite, *Aceria guerreronis* by inundative release of the predatory mite, *Neoseiulus baraki*. *Biol. Control.* 53: 108-111.
- Fernando, L.C.P. & N.S. Aratchige. 2010.** Status of coconut mite *Aceria guerreronis* and biological control research in Sri Lanka, p. 379-384. In M.W. Sabelis & J. Bruin (eds.), *Trends in acarology*. Amsterdam, Springer, 670p.

- Ferreira, J.M.S., D.R.N. Warwick & L.A. Siqueira. 1998.** A cultura do coqueiro no Brasil. Aracaju, Embrapa-SPI, 292 p.
- Fisher, R.A. 1936.** The use multiple measurements in taxonomic problems. *Ann. Eugen.* 7: 179-188.
- Flechtmann, C.H.W. 1994.** *Amrineus cocofolius* n.g., n.sp. (Acari: Eriophyidae) from Brazil. *Int. J. Acarol.* 20: 57-59.
- Flechtmann, C.H.W. & J. Etienne. 2004.** The red palm mite, *Raoiella indica* Hirst, a threat to palms in the Americas (Acari: Prostigmata: Tenuipalpidae). *Syst. Appl. Acarol.* 9: 109-110.
- Fontes, H.R. & M. Wanderley. 2006.** Situação atual e perspectiva para a cultura do coqueiro no Brasil. Aracaju, Embrapa Tabuleiros Costeiros, 16p.
- Furtado, I.P. 1997.** Biossistemática e biologia de espécies de *Euseius* (Acari: Phytoseiidae) associadas à mandioca. Dissertação de Mestrado, ESALQ/USP, Piracicaba, 105p.
- Gallego, C.E., E.D. Aterrado & C.G. Batomalaque. 2003.** Biology of the false spider mite, *Rarosiella cocosae* Rimando, infesting coconut palms in Camiguin, northern Mindanao (Philippines). *Philipp. Entomol.* 17: 187-187.
- Gebri, S.A. 1985.** Evolution of ribosomal DNA, p. 487-497. In R.J. Macintyre (eds.), *Molecular evolutionary genetics*. New York, Plenum, 610p.
- Gerson, U., A. Venezian & D. Blumberg. 1983.** Phytophagous mites on date palms in Israel. *Fruits* 38: 133-135.
- Gondim Jr., M.G.C. & J.V. Oliveira. 2001.** Ácaros de fruteiras tropicais: importância econômica, identificação e controle, p. 317-355. In S.J. Michereff & R. Barros (eds.), *Proteção de plantas na agricultura sustentável*. Recife, UFRPE, Imprensa Universitária, 368p.
- Gondim Jr., M.G.C., T.M.M.G. Castro, A.L.Marsaro Jr., D. Navia, J.W.S. Melo, P.R. Demite & G.J. de Moraes. 2012.** Can the red palm mite threaten the Amazon vegetation? *Syst. Biodivers.* 10: 527-535.
- Gunn, B.F., L. Baudouin & K.M. Olsen. 2011.** Independent origins of cultivated coconut (*Cocos nucifera* L.) in the old world tropics. *PLoS ONE* 6: e21143.
- Haq, M.A. 2001.** Culture and rearing of *Aceria guerreronis* and its predators. *Entomon.* 26: 297-302.
- Haq, M.A., K. Sumangala & N. Ramani. 2002.** Coconut mite invasion, injury and distribution, p. 41-49. In L.C.P. Fernando, G.J. de Moraes & I.R. Wickramananda (eds.), *Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (Aceria guerreronis)*. Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.

- Hernández, R.F. 1977.** Combate químico del eriófito del cocotero *Aceria (Eriophyes) guerreronis* (K.) en la Costa de Guerrero. *Agric. Tec. México* 4: 23-38.
- Hillis, D.M. & M.T. Dixon. 1991.** Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *Q. Rev. Biol.* 66: 411-446.
- Hoy, M.A. 2012.** Overview of a classical biological control project directed against the red palm mite in Florida. *Exp. Appl. Acarol.* 57: 381-393.
- Howard, F.W., E. Abreu Rodríguez & H.A. Denmark. 1990.** Geographical and seasonal distribution of the coconut mite, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), in Puerto Rico and Florida, USA. *J. Agric. Univ. Puerto Rico* 74: 237-251.
- Howard, F.W., D. Moore, R.M. Giblin-Davis & R.G. Abad. 2001.** Insects on palms. Wallingford, CABI Publishing, 414p.
- Huang, K., T. Huang & C. Wang. 1996.** Morphometric analysis between *Spinacus pagonis* Keifer and its affined species (Acarina: Eriophyidae). *Zool. Stud.* 35: 178-187.
- James, F.C. & C.E. McCulloch. 1990.** Multivariate analysis in ecology and systematic: panacea or pandora's box? *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21: 129-166.
- Jeyaprakash, A. & M.A. Hoy. 2002.** Mitochondrial 12S rRNA sequences used to design molecular ladder assay to identify six commercially available phytoseiids (Acari: Phytoseiidae). *Biol. Control.* 25: 136-142.
- Julia, J.F. & D. Mariau. 1979.** Nouvelles recherches en Côte d'Ivoire sur *Eriophyes guerreronis* K., acarien ravageur des noix du cocotier. *Oléagineux* 34: 181-189.
- Kanouh, M., M.-S. Tixier, M. Okassa & S. Kreiter. 2010a.** Phylogenetic and biogeographic analysis of the genus *Phytoseiulus* (Acari: Phytoseiidae). *Zool. Scr.* 39: 450-461.
- Kanouh, M., M.-S. Tixier, S. Guichou, C. Brigitte & S. Kreiter. 2010b.** Two synonymy cases within the genus *Neoseiulella* (Acari: Phytoseiidae): is the molecular evidence so evident? *Biol. J. Linn. Soc.* 101: 323-344.
- Keifer, H.H. 1965.** Eriophyid studies B-14. Sacramento, Department of Agriculture Bureau of Entomology, 20p.
- Khattree, R. & Naik, D.N. 2000.** Multivariate data reduction and discrimination with SAS software. Cary, SAS Institute Inc., 558p.
- Lawson-Balagbo, L.M., M.G.C. Gondim Jr., G.J. de Moraes, R. Hana & P. Schausberger. 2007a.** Refuge use by the coconut mite *Aceria guerreronis*: Fine scale distribution and association with other mites under the perianth. *Biol. Control.* 43: 102-110.

- Lawson-Balagbo, L.M., M.G.C. Gondim Jr., G.J. de Moraes, R. Hana & P. Schausberger. 2007b.** Life history of the predatory mites *Neoseiulus paspalivorus* and *Proctolaelaps bickleyi*, candidates for biological control of *Aceria guerreronis*. *Exp. Appl. Acarol.* 43: 49-51.
- Lawson-Balagbo, L.M., M.G.C. Gondim Jr., G.J. de Moraes, R. Hanna & P. Schausberger. 2008.** Exploration of the acarine fauna on coconut palm in Brazil with emphasis on *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and its natural enemies. *Bull. Entomol. Res.* 98: 83-96.
- Lebrun, P., L. Grivet & L. Baudoin. 1998.** Dissemination et domestication du cocotier a la lumiere des marqueurs RFLP. *Plant. Rech. Dev.* 5: 233-245.
- Lepesme, P. 1947.** Les insectes des palmiers. Paris, Paul Lechevalier, 904p.
- Lima, D.B., J.W.S. Melo, M.G.C. Gondim Jr. & G.J. de Moraes. 2012.** Limitations of *Neoseiulus baraki* and *Proctolaelaps bickleyi* as control agents of *Aceria guerreronis*. *Exp. Appl. Acarol.* 56: 233-246.
- Lima, D.B., V.B. Monteiro, R.N.C. Guedes, H.A.A. Siqueira, A. Pallini & M.G.C. Gondim Jr. 2013.** Acaricide toxicity and synergism of fenpyroximate to the coconut mite predator *Neoseiulus baraki*. *BioControl* 58: 595-605.
- Lofego, A.C. & M.G.C. Gondim Jr. 2006.** A new species of *Steneotarsonemus* (Acari: Tarsonemidae) from Brazil. *Syst. Appl. Acarol.* 11: 195-203.
- Mariau, D. 1969.** *Aceria guerreronis* Keifer: récent ravageur de la cocoteraie Dahoméenne. *Oléagineux* 24: 269-272.
- Mariau, D. & J.F. Julia. 1970.** L'acariose a *Aceria guerreronis* (Keifer), ravageur du cocotier. *Oléagineux* 25: 459-464.
- Mariau, D. & H.M. Tchibozo. 1973.** Essais de lutte chimique contre *Aceria guerreronis* (Keifer). *Oléagineux* 28: 133-135.
- Mariau, D. 1977.** *Aceria (Eriophyes) guerreronis*: an important pest of African and American coconut groves. *Oléagineux* 32: 100-111.
- Mariau, D. 1986.** Comportement de *Eriophyes guerreronis* Keifer à l'égard de différentes variétés de cocotiers. *Oléagineux* 41: 499-505.
- McDonald, S.A. 1997.** Infestation patterns of the coconut mite, *Eriophyes guerreronis* (Keifer) (Acari: Eriophyidae), on coconuts and resulting yield loss in eastern Jamaica. Master Thesis, UWI, Mona, 96p.
- Mayr, E. 1977.** Populations, species, and evolution. Cambridge, Harvard University Press, 453p.

- Melo, J.W.S., C.A. Domingos, A. Pallini, J.E.M. Oliveira & M.G.C. Gondim Jr. 2012.** Removal of bunches or spikelets is not effective for the control of *Aceria guerreronis*. HortScience 47: 626-630.
- Monteiro, L.R. & S.F. Reis. 1999.** Princípios de morfometria geométrica. Ribeirão Preto, Holos, 198p.
- Monteiro, V.B., D.B. Lima, M.G.C. Gondim Jr. & H.A.A. Siqueira. 2012.** Residual bioassay to assess the toxicity of acaricides against *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) under laboratory conditions. J. Econ. Entomol. 105: 1419-1425.
- Moore, D., L. Alexander. 1987.** Aspects of migration and colonization of the coconut palm by the coconut mite, *Eriophyes guerreronis* (Keifer) (Acari: Eriophyidae). Bull. Entomol. Res. 77: 641-650.
- Moore, D., L. Alexander & R.A. Hall. 1989.** The coconut mite, *Eriophyes guerreronis* Keifer in St Lucia yield losses and attempts to control it with acaricide, polybutene and *Hirsutella* fungus. Trop. Pest Manag. 35: 83-89.
- Moore, D. & F.W. Howard. 1996.** Coconuts, p. 561-570. In E.E. Lindquist, M.W. Sabelis & J. Bruin (eds.), Eriophyoid mites: their biology, natural enemies and control. Amsterdam, Elsevier, 790p.
- Moore, D. 2000.** Non-chemical control of *Aceria guerreronis* on coconuts. Biocontrol News Infor. 21: 83-87.
- Moraes, G.J. de. 1987.** Importance of taxonomy in biological control. Insect Sci. Appl. 8: 841-844.
- Moraes, G.J. de, P.C. Lopes & L.C.P. Fernando. 2004.** Phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) of coconut growing areas in Sri Lanka, with descriptions of three new species. J. Acarol. Soc. Jpn. 13: 141-160.
- Moares, G.J. de & C.H.W. Flechtmann. 2008.** Manual de acarologia, acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas do Brasil. Ribeirão Preto, Holos, 308p.
- Moraes, G.J. de, T.M.M.G. Castro, S. Kreiter, S. Quilici, M.G.C. Gondim Jr. & L.A.N. Sá. 2012.** Search for natural enemies of *Raoiella indica* Hirst in Reunion Island (Indian Ocean). Acarologia 52: 129-134.
- Moreira, J.O.T. & A.R.P. Nascimento. 2002.** Avaliação da eficiência de acaricidas isolados e em mistura no controle do ácaro-da-necrose-do-coqueiro *Aceria guerreronis* Keifer, 1965 (Prostigmata: Eriophyidae) no Vale do São Francisco. Rev. Bras. Frutic. 24: 72-76.
- Mound, L.A., D.J. Tree & A. Goldarazena. 2010.** A new species of predatory *Scolothrips* (Thysanoptera, Thripidae) feeding on *Raoiella* mites (Tenuipalpidae) in Australia. Zootaxa 2620: 63-68.

- Muthiah, C . 2007.** Estimation of yield loss caused by eriophyid mite on coconut. *Ann. Plant Prot. Sci.* 15: 484-486.
- Moutia, L.A. 1958.** Contribution to the study of some phytophagous acarina and their predators in Mauritius. *Bull. Entomol. Res.* 49: 59-75.
- Mozes-Koch, R. & U. Gerson. 1998.** Separation of acarine species by enzymatic, immunological and molecular methods. *Syst. Appl. Acarol.* 3: 9-18.
- Nageshachandra, B.K. & G.P. ChannaBasavanna. 1983.** *Stethorus keralicus* (Coleoptera: Coccinellidae) feeding on *Raoiella macfarlanei* infesting roseapple. *Acarol. News.* 13: 3-3.
- Nair, C.P.R. 2002.** Status of eriophyid mite *Aceria guerreronis* Keifer in India, p. 9-12. In L.C.P. Fernando, G.J. de Moraes & I.R. Wickramananda (eds.), *Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (Aceria guerreronis)*. Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.
- Nair, M.G., T.B. Mathew, K. Saradamma & S. Naseema Beevi. 2002.** Infestation of coconut mite (*Aceria guerreronis* K.) in the Southern Indian State, Kerala, p. 32-40. In L.C.P. Fernando, G.J. de Moraes, I.R. Wickramanada (eds.), *Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (Aceria guerreronis)*. Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.
- Navajas, M., J. Lagnel, G. Fauvel & G.J. de Moraes. 1999.** Sequence variation of ribosomal internal transcribed spacers (ITS) in commercially important Phytoseiidae mites. *Exp. Appl. Acarol.* 23: 851-859.
- Navajas, M. & B. Fenton. 2000.** The application of molecular markers in the study of diversity in acarology: a review. *Exp. Appl. Acarol.* 24: 751-774.
- Navajas, M & P. Boursot. 2003.** Nuclear ribosomal differentiation between two closely mite species polyphyletic for mitochondrial DNA. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 270: 124-127.
- Navia, D., G.J. de Moraes, A.C. Lofego & C.H.W. Flechtmann. 2005.** Acarofauna asociada a frutos de coqueiro (*Cocos nucifera* L.) de algumas localidades das Américas. *Neotrop. Entomol.* 34: 349-354.
- Navia, D., G.J. de Moraes & R.B. Querino. 2006.** Geographic variation in the coconut mite, *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae): a geometric morphometric analysis. *Int. J. Acarol.* 32: 301-314.
- Navia, D., G.J. de Moraes & R.B. Querino. 2009.** Geographic pattern of morphological variation of the coconut mite, *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae), using multivariate morphometry. *Braz. J. Biol.* 69: 773-783.

- Navia, D., A.L. Marsaro Jr., F.R. Silva, M.G.C. Gondim Jr. & G.J. de Moraes. 2011.** First report of the red palm mite, *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae), in Brazil. *Neotrop. Entomol.* 40: 409-411.
- Navia, D., M.G.C. Gondim Jr., N.S. Aratchige & G.J. de Moraes. 2013.** A review of the status of the coconut mite, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), a major tropical mite pest. *Exp. Appl. Acarol.* 59: 67-94.
- Navia, D., C.A. Domingos, R.S. Mendonça, F. Ferragut, M.A.N. Rodrigues, E.G.F. de Morais, M.-S. Tixier & M.G.C. Gondim Jr. 2014.** Reproductive compatibility and genetic and morphometric variability among populations of the predatory mite, *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae), from Indian Ocean Islands and the Americas. *Biol. Control* 72: 17-49.
- Negloh, K., R. Hanna & P. Schausberger. 2008.** Comparative demography and diet breadth of Brazilian and African populations of the predatory mite *Neoseiulus baraki*, a candidate for biological control of coconut mite. *Biol. Control* 46: 523-531.
- Negloh, K., R. Hanna & P. Schausberger. 2010.** Season- and fruit age-dependent population dynamics of *Aceria guerreronis* and its associated predatory mite *Neoseiulus paspalivorus* on coconut in Benin. *Biol. Control* 54: 349-358.
- Negloh, K., R. Hanna & P. Schausberger. 2011.** The coconut mite, *Aceria guerreronis*, in Benin and Tanzania: occurrence, damage and associated acarine fauna. *Exp. Appl. Acarol.* 55: 361-374.
- Noronha, A.C.S. & G.J. de Moraes. 2004.** Reproductive incompatibility between mite populations previously identified as *Euseius concordis* (Acari: Phytoseiidae). *Exp. Appl. Acarol.* 32: 271-279.
- Okassa, M., M.-S. Tixier, B. Cheval & S. Kreiter. 2009.** Molecular and morphological evidence for new species status within the genus *Euseius* (Acari: Phytoseiidae). *Can. J. Zool.* 87: 689-698.
- Okassa, M., M.-S. Tixier & S. Kreiter. 2010.** Morphological and molecular diagnostics of *Phytoseiulus persimilis* and *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae). *Exp. Appl. Acarol.* 52: 291-303.
- Okassa, M., S. Kreiter, S. Guichou & M.-S. Tixier. 2011.** Molecular and morphological boundaries of the predator *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae). *Biol. J. Linn. Soc.* 104: 393-406.
- Oliveira, J.E. de M., J.W.S. Melo, C.A. Domingos & M.G.C. Gondim Jr. 2012.** Controle do ácaro-da-necrose-do-coqueiro. Petrolina, Embrapa Semiárido, 4p. (Circular Técnica *On Line* 97).

- Ortega, C.A., V.J. Rodriguez & C.V. Garibay. 1967.** Investigaciones preliminares sobre el eriófido del fruto del cocotero *Aceria guerreronis* Keifer, en la Costa Grande Guerrero (México). *Oléagineux* 6: 371-372.
- Paul, A. & T.B. Mathew. 2002.** Loss of husk, quality of fiber and COI<sub>r</sub> due to infestation of coconut eriophyid mite (*Aceria guerreronis* Keifer). *J. Plant. Crop* 30: 58-60.
- Peña, J.E., J.C.V. Rodrigues, A. Roda, D. Carrillo & L.S. Osborne. 2009.** Predator-prey dynamics and strategies for control of the red palm mite (*Raoiella indica*) (Acari: Tenuipalpidae) in areas of invasion in the Neotropics, p. 69-79. In E. Palevsky, P.G. Weintraub, U. Gerson & S. Simoni (eds.), Proceedings of the 2nd WG meeting of IOBC/WPRS. Florence, Italy, 134p.
- Pritchard, A.E. & W. Baker. 1958.** The false spider mite (Acarina: Tenuipalpidae). *Univ. Calif. Publ. Entomol.* 14: 175-274.
- Quilici, S., S. Kreiter, E.A. Ueckermann & D. Vincenot. 1997.** Predatory mites from various crops on Réunion Island. *Int. J. Acarol.* 23: 283-291.
- Ramaraju, K., K. Natarajan, P.C.S. Babu, S. Palnisamy & R.J. Rabindra. 2002.** Studies on coconut eriophyid mite, *Aceria guerreronis* Keifer in Tamil Nadu, Índia, p. 13-31. In L.C.P. Fernando, G.J. de Moraes & I.R. Wickramananda (eds.), Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (*Aceria guerreronis*). Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.
- Ramaraju, K., S. Palaniswamy, P. Annakodi, M.K. Varadarajan, M. Muthukumar & V. Bhaskaran. 2005.** Impact of coconut eriophyid mite, *Aceria guerreronis* K. (Acari: Eriophyidae) on the yield parameters of coconut. *Indian Coconut J.* 25: 12-15.
- Reis, A.C., M.G.C. Gondim Jr., G.J. de Moraes, R. Hanna, P. Schausberger, P. Schausberger & R. Barros. 2008.** Population dynamics of *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) and associated predators on coconut fruits in northeastern Brazil. *Neotrop. Entomol.* 37: 457-462.
- Reis, S.F. 1988.** Morfometria e estatística multivariada em biologia evolutiva. *Rev. Bras. Zool.* 5: 571-580.
- Rethinam, P., H.P. Singh, H. Vijayakumar & R. Gopalakrishnan. 2003.** Eriophyid mite in coconut. Índia, Coconut Development Board, 146p.
- Reyment, R.A., R.E. Blackith & N.A. Campbell. 1981.** Multivariate morphometry. New York, Academic Press, 233p.
- Robbs, C.F. & A.L. Peracchi. 1965.** Sobre a ocorrência de um ácaro prejudicial do coqueiro (*Cocos nucifera* L.), p. 65-70. In IX Reunião Fitossanitária, Rio de Janeiro, RJ.

- Rodrigues, J.C.V., R. Ochoa & E. Kane. 2007.** First report of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) and its damage to coconut palms in Puerto Rico and Culebra Islands. *Int. J. Acarol.* 33: 3-5.
- Rodrigues, J.C.V. & L.M.K. Antony. 2011.** First report of *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) in Amazonas state, Brazil. *Fla. Entomol.* 94: 1073-1074.
- Sayed, T. 1942.** Contribution to the knowledge of the Acarina of Egypt: the genus *Raoiella* Hirst (Pseudotetranychinae: Tetranychidae). *Bull. Soc. Fouad I. Ent.* 26: 81-91.
- Sathiamma, B. 1996.** Observations on the mite fauna associated with the coconut palm in Kerala, India. *J. Plantation Crop.* 24: 92-96.
- Sathiamma, B., C.P.R. Nair & P.K. Koshi. 1998.** Outbreak of a nut infesting eriophyid mite, *Eriophyes guerreronis* (K.) in coconut plantations in India. *Ind. Coconut J.* 29: 1-3.
- Sarkar, P.K. & A.K. Somchoudhury. 1988.** Evaluation of some pesticides against *Raoiella indica* Hirst on coconut palm in West Bengal. *Pesticides* 22: 21-22.
- Schlick-Steiner, B.C., F.M. Steiner, B. Seifert, C. Stauffer, E. Christian & R.H. Crozier. 2010.** Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring biodiversity. *Annu. Rev. Entomol.* 55: 421-438.
- Schliesske, J. 1988.** On the gall mite fauna (Acari: Eriophyidae) of *Cocos nucifera* L. in Costa Rica. *Nachr. Dtsch. Pflanzenschutzd.* 40: 124-127
- Seguni, Z. 2000.** Incidence, distribution and economic importance of the coconut eriophyid mite, *Aceria guerreronis* Keifer in Tanzanian coconut based cropping systems. In L.C.P. Fernando, G.J. de Moraes & I.R. Wickramananda (eds.), *Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (Aceria guerreronis)*. Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.
- Shaul-Yoshida, S.E. & D.A. Chant. 1995.** The identity of *Phytoseius macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae), with a note on its distribution. *Can. J. Zool.* 56: 55-65.
- Silva, F.R., G.J. de Moraes, M.W. Sabelis, R. Hanna, E.G. Estrada Venegas, N.C. Mesa & C. Vasquez. 2010.** The search for natural enemies of the coconut mite (*Aceria guerreronis* Keifer) in Latin America, p. 249-249. In G.J. de Moraes, R.C. Castilho & C.H.W. Flechtmann (eds.), *XIII International Congress of Acarology*. Recife, Pernambuco, 319p.
- Silva, V.F., G.V. França, J.W.S. Melo & M.G.C. Gondim Jr. 2013.** Brácteas de frutos de coco como fator limitante a ação de acaricidas sobre *Aceria guerreronis* Keifer. In *IV Simpósio Brasileiro de Acarologia*. Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul.
- Skoracka, A., L. Kuczynski & W. Magowski. 2002.** Morphological variation in different host populations of *Abacarus hystrix* (Acari: Prostigmata: Eriophyoidea). *Exp. Appl. Acarol.* 26: 187-193.

- Suarez, A. 1991a.** Estudios bioecologicos de *Eriophyes guerreronis* (Acarina, Eriophyidae) en condiciones de laboratorio. Prot. Plant 1: 47-51.
- Suarez, A. 1991b.** Distribución y evaluación de daños del acaro *Eriophyes guerreronis* en plantaciones de cocotero de la region de Baracoa. Prot. Plant 1: 75-81.
- Sujatha, A., D.A. Kumar & B. Srinivasulu. 2003.** Efficacy of certain pesticides against coconut eriophyid mite, *Aceria guerreronis* (K.) through root feeding. J. Appl. Zool. Res. 14: 51-53.
- Taylor, B., P.M. Rahman, S.T. Murphy & V.V. Sudheendrakumar. 2012.** Within-season dynamics of red palm mite (*Raoiella indica*) and phytoseiid predators on two host palm species in south-west India. Exp. Appl. Acarol. 57: 331-345.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, B. Cheval & P. Auger. 2003.** Morphometric variation between populations of *Kampimodromus aberrans*. Implications for the taxonomy of the genus. Invertebr. Syst. 17: 349-358.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, Z. Barbar, S. Ragusa & B. Cheval. 2006a.** The status of two cryptic species: *Typhlodromus exhilaratus* Ragusa and *Typhlodromus phialatus* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae): consequences for taxonomy. Zool. Scr. 35: 115-122.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, F. Ferragut & B. Cheval. 2006b.** The suspected synonymy of *Kampimodromus hmiminai* and *Kampimodromus adrianae* (Acari: Phytoseiidae): morphological and molecular investigations. Can. J. Zool. 84: 1216-1222.
- Tixier, M.-S., S. Guichou & S. Kreiter. 2008a.** Morphological variation of the species *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae): importance for diagnostic reliability and synonymies. Invert. Syst. 22: 453-469.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, B.A. Croft & B. Cheval. 2008b.** *Kampimodromus aberrans* (Acari: Phytoseiidae) from USA: morphological and molecular assessment of its density. Bull. Entomol. Res. 98: 125-134.
- Tixier, M.-S., M. Ferrero, M. Okassa, S. Guichou & S. Kreiter. 2010a.** On the specific identity of specimens of *Phytoseiulus longipes* Evans (Mesostigmata: Phytoseiidae) showing different feeding behaviours: morphological and molecular analyses. Bull. Entomol. Res. 100: 569-579.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, M. Okassa & B. Cheval. 2010b.** A new species of the genus *Euseius* Wainstein (Acari: Phytoseiidae) from France. J. Nat. Hist. 44: 241-254.
- Tixier, M.-S., H. Tsolakis, S. Ragusa, A. Poinso, M. Ferrero, M. Okassa & S. Kreiter. 2011.** Integrative taxonomy demonstrates the unexpected synonymy between two predatory mite species: *Cydnodromus idaeus* and *C. picanus* (Acari: Phytoseiidae). Invertebr. Syst. 25: 273-281.

- Tixier, M.-S., M. Okassa & S. Kreiter. 2012.** An integrative morphological and molecular diagnostics for *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae). *Zool. Scr.* 41: 68-78.
- Tsolakis, H., M.-S. Tixier, S. Kreiter & S. Ragusa. 2012.** The genus concept within the family Phytoseiidae (Acari: Parasitiformes). Historical review and phylogenetic analyses of the genus *Neoseiulus* Hughes. *Zool. J. Linn. Soc.* 165: 253-273.
- Vidovic', B., L. Stanisavljevic & R. Petanovic. 2010.** Phenotypic variability in five *Aceria* spp. (Acari: Prostigmata: Eriophyoidea) inhabiting *Cirsium* species (Asteraceae) in Serbia. *Exp. Appl. Acarol.* 52: 169-181.
- Wang, C., C. Kuo, M. Jeng & K. Huang. 2011.** Morphometric analyses reveal synonymy of two monotypic genera, *Huangiella* and *Tumoris* (Acari, Eriophyoidea, Eriophyidae). *Zoo Keys* 102: 1-11.
- Weekers, P.H., J.F. De Jonckheere & H.J. Dumont. 2001.** Phylogenetic relationships inferred from ribosomal its sequences and biogeographic patterns in representatives of the genus *Calopteryx* (Insecta: Odonata) of the West Mediterranean and adjacent West European zone. *Mol. Phylogenet. Evol.* 20: 89-99.
- Welbourn, C. 2009.** Pest alert: red palm mite, *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae). Disponível em <[www.freshfromflorida.com/pi/pest-alerts/raoiella-indica.html](http://www.freshfromflorida.com/pi/pest-alerts/raoiella-indica.html)>, acessado em 23/09/2014.
- Werren, J.H., W. Zhang & L.R. Guo. 1995.** Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods. *Proc. R. Soc.* 261: 55-71.
- Wickramananda, I.R., T.S.G. Peiris, M.T. Fernando, L.C.P. Fernando & S. Edgington. 2007.** Impact of the coconut mite (*Aceria guerreronis* Keifer) on the coconut industry in Sri Lanka. *Cord* 23: 1-16.
- Vásquez, C., M. Quiros, O. Aponte & D.M. Sandoval. 2008.** First report of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) in South America. *Neotrop. Entomol.* 37: 739-740.
- Zannou, I., K. Negloh, R. Hanna, S. Houadakpode & M. Sabelis. 2010.** Mite diversity in coconut habitat in West and East Africa, p. 295-295. In G.J. de Moraes, R.C. Castilho & C.H.W. Flechtmann (eds.), XIII International Congress of Acarology. Recife, Pernambuco, 319p.
- Zouba, A. & A. Raesi. 2010.** First report of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) in Tunisia, p.100-101. In M. Daami-Remadi (eds.), *The African Journal of Plant Science and Biotechnology*. Ikenobe, Global Science Books, 100p.
- Zelditch, M.L., D.L. Swiderski, H.D. Sheets & W.L. Fink. 2004.** Geometric morphometrics for biologists: a primer. San Diego, Elsevier Academic Press, 443p.

Zuluaga, C.I. & P.A. Sánchez. 1971. La ronã o escoriaci3n de los frutos del cocotero (*Cocos nucifera* L.) em Colombia. Acta Agron. 21: 133-139.

## CAPÍTULO 2

### ESTIMATIVA DAS PERDAS OCASIONADAS PELO ÁCARO-DA-NECROSE-DO-COQUEIRO E DOS CUSTOS DO SEU CONTROLE<sup>1</sup>

DANIELA D.M. REZENDE<sup>2</sup>, JOSÉ W.S. MELO<sup>2</sup>, JOSÉ E.M. OLIVEIRA<sup>3</sup> E MANOEL G.C. GONDIM JR<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

<sup>3</sup>Embrapa Semiárido, Entomologia, Br 428 Km 152, Caixa Postal 23, 56302-970, Petrolina, PE, Brasil.

---

<sup>1</sup>Rezende, D.D.M, J.W.S. Melo, J.E.M. Oliveira & M.G.C. Gondim Jr. Estimativa das perdas ocasionadas pelo ácaro-da-necrose-do-coqueiro e dos custos do seu controle. A ser submetido.

RESUMO – A redução dos prejuízos ocasionados por *Aceria guerreronis* Keifer têm sido uma tarefa árdua para os produtores. Contudo, não há estudos detalhados sobre as perdas, analisando vários parâmetros de forma simultânea e correlativa, tão pouco estudos que abordam a viabilidade econômica do controle químico, principal estratégia no manejo desta praga. O objetivo deste estudo foi realizar um detalhado levantamento das perdas ocasionadas por *A. guerreronis* em coqueiro anão verde e, adicionalmente, efetuar uma análise econômica dos custos envolvidos no controle químico. Para isto, foram avaliados os seguintes parâmetros: número e peso dos frutos, volume de albúmen líquido e destino dos frutos para comercialização em plantas com e sem pulverizações mensais de abamectina (três colheitas). Os custos envolvidos no controle químico de *A. guerreronis* também foram quantificados. A maior incidência de *A. guerreronis* sobre as plantas resultou na redução de 60% no número médio de frutos colhidos por cacho e de 28% no volume de albúmen líquido. O peso médio dos frutos não foi afetado. O destino dos frutos colhidos também foi afetado pela maior incidência de *A. guerreronis*. Plantas não tratadas, com maior intensidade de infestação por *A. guerreronis* apresentaram menor proporção de frutos destinadas à comercialização *in natura* e maior proporção de frutos destinados ao processamento industrial e não comercializáveis. Apesar dos custos envolvidos no controle de *A. guerreronis*, a diferença entre o lucro da área tratada e da área não tratada foi de R\$ 18123,50; este valor representa um lucro 69,08% superior na área tratada.

PALAVRAS-CHAVE: *Cocos nucifera*, *Aceria guerreronis*, abamectina, viabilidade econômica, produção

## ESTIMATED LOSSES CAUSED BY COCONUT MITE AND COST OF ITS CONTROL

ABSTRACT – The reduction of damage caused by *Aceria guerreronis* Keifer has been an arduous task for producers. However, no has detailed studies on losses, analyzing several parameters simultaneously and correlative, as few studies that address the economic viability of chemical control, main strategy for management of this pest. The objectives of this study were to conduct a detailed survey of losses caused by *A. guerreronis* in green dwarf coconut palms and additionally perform an economic analysis of the costs involved in the chemical control. For this, the following parameters were evaluated: number and fruit weight, volume and destination of coconut water fruit for marketing in plants with and without monthly sprays of abamectin (three harvest); and costs involved in the chemical control of *A. guerreronis* were quantified. The higher incidence of *A. guerreronis* on plants resulted in 60% reduction in the average number of fruits per plant and 28% in the volume of liquid albumen. The average weight of fruits per plant was not affected. The destition of harvested fruits was also affected by the higher incidence of *A. guerreronis*. Fruits with higher intensity of infestation by *A. guerreronis* presented less fruit to be marketed fresh and greater proportion of fruit intended for industrial processing and unmarketable. Despite the costs involved in the control of *A. guerreronis*, the difference between the profit of the treated area and untreated area was R\$ 18123.50; this value represents a 69.08% higher profit in the treated area.

KEY WORDS: *Cocos nucifera*, *Aceria guerreronis*, abamectin, economic viability, production

## Introdução

O coqueiro, *Cocos nucifera* L., é uma cultura tropical, amplamente distribuída na Ásia, África e América, sendo cultivado em aproximadamente 11,2 milhões de hectares em cerca de 90 países (FAO 2012). Estima-se que 96% da produção mundial seja oriunda de pequenos agricultores, com áreas de 0,2 a 4 hectares, sendo 70% dessa produção consumida internamente nos países produtores (Martin & Jesus Jr. 2011). A importância dessa palmeira, na maioria dos países produtores, se deve ao seu papel na produção de óleo de coco, como geradora de divisas, e como cultura de subsistência para pequenos agricultores, fornecendo alimento, bebidas, combustíveis, ração animal e abrigo (Foale 2003).

O ácaro-da-necrose-do-coqueiro, *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae), é uma das principais pragas desta palmeira nas Américas (Moore *et al.* 1989, Lawson-Balagbo *et al.* 2008), África (Negloh *et al.* 2011) e parte da Ásia (Haq *et al.* 2002, Fernando & Aratchige 2010). As colônias de *A. guerreronis* localizam-se no perianto, região meristemática do fruto que é coberta pelas brácteas (Moore & Howard 1996). A alimentação desta praga provoca, geralmente, manchas branco-amareladas de formato triangular na epiderme, que posteriormente se expandem e tornam-se necróticas (Moore & Howard 1996, Nair 2002). Com o crescimento dos frutos, surgem rachaduras longitudinais sobre a área necrótica e exsudações de resinas, podendo ocorrer deformação dos frutos (Cardona & Potes 1971) e abortamento (Doreste 1968, Nair 2002, Wickramananda *et al.* 2007). Frutos atacados por *A. guerreronis*, que não abortaram, podem apresentar perdas em vários parâmetros como redução no peso e tamanho dos frutos, redução no volume de albúmen líquido (água de coco) e peso do albúmen sólido (copra), além da redução do valor comercial (Moore *et al.* 1989, Haq *et al.* 2002, Paul & Mathew 2002). Há uma grande variação na estimativa de perdas ocasionadas por *A. guerreronis*, podendo chegar a valores superiores a 60% da produção (Doreste 1968, Hernández 1977, Julia & Mariau 1979, Moore *et al.*

1989, Moore 2000, Seguni 2000, Rethinam *et al.* 2003, Wickramananda *et al.* 2007). Uma das principais razões para essa grande variação são as diversas metodologias utilizadas para quantificação das perdas, o que dificulta as comparações entre os estudos (Navia *et al.* 2013). Nos estudos realizados até o momento, a quantificação das perdas restringe-se a alguns poucos parâmetros, não sendo estes avaliados de forma simultânea e correlativa, e tampouco traduzidos em valores econômicos.

A redução dos prejuízos ocasionados por *A. guerreronis* tem sido uma tarefa árdua para os produtores, uma vez que as colônias da praga são de difícil acesso, devido ao habitat protegido proporcionado pelas brácteas (Moore 2000, Ramaraju *et al.* 2002, Lawson-balagbo *et al.* 2007, Galvão *et al.* 2011, Lima *et al.* 2012). As brácteas do fruto atuam como uma barreira física, dificultando a ação direta dos acaricidas sobre a colônia no perianto (Mariau & Tchibozo 1973, Hernández 1977). A mortalidade dos ácaros se dá através do contato dos acaricidas durante sua dispersão dos ácaros (Silva *et al.* 2013), exigindo aplicações frequentes em intervalos curtos de tempo para o controle eficiente (Hernández 1977, Julia & Mariau 1979, Fernando *et al.* 2002). A necessidade de aplicações frequentes pode inviabilizar a implementação deste método para agricultores com baixa produtividade devido ao custo elevado (Mariau & Tchibozo 1973, Hernández 1977, Ramaraju *et al.* 2002). A eficácia de produtos químicos no controle de *A. guerreronis* tem sido relatada em alguns países (Mariau & Tchibozo 1973, Cabrera 1991, Muthiah *et al.* 2001, Moreira & Nascimento 2002, Ramaraju *et al.* 2002, Rethinam *et al.* 2003, Melo *et al.* 2012). Segundo Melo *et al.* (2012), o prazo entre as pulverizações de alguns acaricidas, como por exemplo abamectina, poderia ser aumentado, reduzindo assim os custos de controle. Ainda que alguns produtos mostrem-se eficientes, há uma carência de estudos que abordem a viabilidade econômica dessa estratégia de controle.

Atualmente, o Brasil é o quarto maior produtor mundial de coco com uma produção aproximada de 2,8 milhões de toneladas de coco em uma área colhida de 257 mil ha (FAOTAST 2012), sendo 84% desta área localizada na Região Nordeste (Aragão *et al.* 2009). A cultura do coqueiro é adaptada ao cultivo em solos arenosos do litoral nordestino, sendo amplamente cultivada ao longo da costa brasileira, e vêm se expandindo também para perímetros irrigados, como o semiárido nordestino (Cuenca *et al.* 2011). No presente estudo relata-se um detalhado levantamento das perdas ocasionadas por *A. guerreronis* em coqueiro anão verde no Nordeste do Brasil. As perdas ocasionadas por *A. guerreronis* foram estimadas, baseando-se nos seguintes parâmetros: (i) número de frutos colhidos/planta; (ii) peso médio dos frutos colhidos/planta; (iii) volume médio de albúmen líquido/fruto e (iv) destino para comercialização dos frutos colhidos (comercialização *in natura*, processamento industrial e não-comercializáveis). Adicionalmente, foi feita uma análise econômica dos custos envolvidos no uso do controle químico.

## Material & Métodos

**Local de estudo e sistema de manejo da cultura.** O estudo foi conduzido em uma plantação comercial de coqueiro da variedade anão verde, com plantas de aproximadamente 17 anos de idade e 5 m de altura, em Petrolina, Pernambuco, Brasil (08°58'S, 35°11'O), entre março e outubro de 2012. De acordo com a identificação de Köppen, o clima local enquadra-se como BSw<sup>h</sup>, região de clima árido (Kottek *et al.* 2006), com a estação das chuvas concentrada entre janeiro e abril, forte insolação (2800 horas/ano) e baixa umidade relativa do ar (abaixo de 55% nos meses mais quentes). Durante o estudo, todas as plantas receberam o mesmo volume de água (300 L . dia<sup>-1</sup> para cada planta, método de gotejamento) e foram fertilizadas por fertigação [810 gramas por planta por ano de cada nutriente: N (uréia) e K (cloreto de potássio)]. Após o início da fase reprodutiva em condições sub-ótimas de cultivo (condições da maioria dos cultivos no

mundo), o coqueiro anão verde usualmente produz uma inflorescência a cada 30 dias. Após a fecundação das flores, as inflorescências são chamados de cachos. Sete meses após a ântese os cachos atingem o ponto de colheita. Nas condições de cultivo do presente estudo, o ponto de colheita é reduzido de 7 para 4-5 meses e cada nova inflorescência é emitida em aproximadamente 20 dias.

**Pré-avaliação das plantas.** Grupos de 20 plantas foram arbitrariamente escolhidos, marcados e divididos em dois subgrupos de dez, sendo cada planta uma repetição. Os subgrupos foram separados por duas fileiras de plantas. Para cada repetição os seis cachos mais velhos foram amostrados (atribuindo zero para a inflorescência e contando os cachos seguintes cronologicamente). A partir de então, estes cachos foram referidos como cachos 2, 3, 4, 5, 6 e 7, respectivamente. Frutos do cacho 1 foram desconsiderados, devido a estes não apresentarem dano (Melo *et al.* 2012). Os níveis médios de danos causados por *A. guerreronis* foram estimados a partir de dois frutos coletados de cada cacho (cachos 2 a 6), através da escala diagramática descrita por Galvão *et al.* (2008). Nesta escala, a extensão da área necrosada causada por *A. guerreronis* foi determinada em relação à proporção da superfície total do fruto (Galvão *et al.* 2008). A escala diagramática baseia-se em níveis de danos de 1%, 2%, 4%, 8%, 16%, 32%, 48% e 70%. Todos os frutos do cacho 7 foram coletados e utilizados para avaliar os seguintes parâmetros: (i) número de frutos, (ii) peso dos frutos e (iii) volume de albúmen líquido por fruto. Além disso, esses frutos foram categorizados em três grupos de acordo com sua destinação comercial: comercialização *in natura*, processamento industrial e não comercializáveis. Para efetuar a categorização, todos os frutos foram inspecionados visualmente para verificar a intensidade de área necrosada. Frutos sem necrose foram categorizados como comercialização *in natura*, frutos com intensidade de necrose moderada (até 16% de área necrosada) foram categorizados como para o processamento industrial e frutos com danos moderados a alto (acima

de 16% de área necrosada) foram classificadas como frutos não-comercializáveis (Fig. 1). As médias de percentual de área necrosada, número de frutos, peso dos frutos e volume de albúmen líquido foram submetidos a teste de normalidade (teste de Kolmogorov) e homogeneidade de variância (teste de Bartlett), sendo posteriormente comparadas pelo teste *t* (método Pooled: igualdade de variância), usando o Proc TTEST (SAS Institute 2002). As análises entre as categorias dos frutos foram realizadas utilizando o teste não paramétrico de Wilcoxon, através do Proc Npar1way (SAS Institute 2002).

**Avaliação de perdas provocadas por *A. guerreronis*.** Para avaliar as perdas causadas por *A. guerreronis* os dois grupos de plantas previamente estabelecidos receberam tratamentos distintos. Um dos grupos teve todos os cachos pulverizados com o acaricida abamectina (Vertimec 18CE), na dose recomendada pelo fabricante ( $9\text{g} \cdot \text{ha}^{-1}$ ). As pulverizações foram dirigidas para os cachos em formação em intervalos mensais. No outro grupo de plantas nada foi aplicado, permitindo o livre desenvolvimento das populações de *A. guerreronis*. Os grupos foram separados por duas fileiras de plantas, e a direção do vento determinou as posições dos dois grupos dentro do campo para minimizar a deriva do acaricida de forma que não atingissem as plantas com cachos não pulverizados. Após um intervalo de quatro meses (período necessário para que a primeira inflorescência emitida após a primeira pulverização atingisse o ponto de colheita), todos os frutos do cacho 7 foram coletados em ambos os grupos de plantas e submetidos a avaliação dos mesmos parâmetros descritos no item anterior. Foram efetuadas mais duas colheitas nos dois meses subsequentes, avaliando-se um total de 3 colheitas. O número de frutos por planta, peso de frutos por planta e volume de albúmen líquido dos frutos por planta foram submetidos a testes de normalidade (Kolmogorov: teste normal) e homogeneidade de variância (teste de Bartlett), sendo os dados posteriormente submetidos à ANOVA do Modelo Linear Geral (GLM), através do indicador Wilks' lambda. Comparações entre as plantas tratadas e não tratadas para cada

parâmetro foram feitas pelo teste de Fisher e em cada tratamento ao longo do tempo pelo teste de Tukey a 5% de significância com ajuste de Bonferroni. Correlação de Pearson foi utilizada para avaliar as relações lineares entre o número médio de frutos por planta, peso médio de frutos por planta e o volume de albúmen líquido dos frutos por planta usando PROC CORR (SAS Institute 2002). As comparações entre as proporções de frutos em cada categoria (comercialização *in natura*, processamento industrial e não-comercializáveis) foram feitos com o teste não paramétrico de Wilcoxon, utilizando o Proc Npar1way (SAS Institute 2002).

**Avaliação dos custos associados ao controle químico.** Para a avaliação de custos do controle químico de *A. guerreronis* foi estimado o fluxo de caixa de um hectare de coqueiro anão verde (205 plantas) na mesma área de estudo. As despesas com o controle químico foram decorrentes pelo número de horas do trator (R\$/h máquina), que incluía todos os custos com combustível, depreciação, manutenção dos equipamentos e mão de obra, além de diárias para dois homens que auxiliavam na pulverização, e compra de insumos: óleo mineral (3,0L/ha), que atua como adjuvante aumentando a absorção do acaricida, e o acaricida Vertimec 18 CE (0,5L/ha). A receita foi estimada para 12 colheitas/ano, que corresponde a 18 cachos, uma vez que um cacho é emitido a cada 20 dias e a colheita é feita mensalmente e não exatamente quando os cachos atingem o ponto de colheita. Os custos envolvidos na receita líquida total de um hectare/ano referem-se a um total de 15 pulverizações, uma vez que após o início das pulverizações obtêm-se frutos no ponto de colheita totalmente cobertos pelas pulverizações somente após 4 meses da primeira pulverização.

## Resultados

**Pré-avaliação das plantas.** Não foram observadas diferenças significativas entre as plantas selecionadas para os parâmetros avaliados [número de frutos colhidos por cacho ( $x = 21,0 \pm 1,59$ ;

$t_{18} = -0,78$ ;  $P = 0,4472$ ), peso por fruto ( $x = 1,7 \pm 0,06$  kg;  $t_{18} = 0,87$ ;  $P = 0,3974$ ), volume de albúmen líquido por fruto ( $x = 294,6 \pm 17,75$  mL;  $t_{18} = 0,49$ ;  $P = 0,6295$ ), proporção de frutos por categoria (comercialização *in natura*,  $x = 0,44 \pm 0,04$  frutos;  $\chi^2 = 1,1371$ ; gl= 1;  $P = 0,2863$ ; processamento industrial,  $x = 0,51 \pm 0,04$  frutos;  $\chi^2 = 2,9170$ ; gl= 1;  $P = 0,0877$ ; não-comercializáveis;  $x = 0,05 \pm 0,02$  frutos;  $\chi^2 = 1,0510$ ; gl= 1;  $P = 0,3053$ ). Os níveis de danos dos frutos entre os grupos de plantas também não diferiram (frutos com  $10,88 \pm 1,75$  % de área danificada;  $\chi^2 = 1,8436$ ; gl= 1;  $P = 0,1745$ ), o que corresponde a aproximadamente 2700 ácaros por fruto de acordo com Galvão *et al.* (2008). Portanto, ambos grupos de plantas encontravam-se igualmente infestados por *A. guerreronis* antes do início da experimentação.

**Avaliação de perdas provocadas por *A. guerreronis*.** A média de frutos por cacho colhido foi afetada pela pulverização do acaricida ( $F_{1,18} = 100,58$ ;  $P < 0,0001$ ) não sendo detectado efeito significativo do tempo (Wilks' Lambda= 0,82;  $g_{l_{num}/den} = 2/17$ ;  $F = 1,81$ ;  $P = 0,1940$ ). A interação entre tempo e pulverização foi significativa (Wilks' Lambda= 0,51;  $g_{l_{num}/den} = 2/17$ ;  $F = 8,12$ ;  $P = 0,0033$ ). Plantas com cachos pulverizados apresentaram sempre um número maior de frutos por cacho do que as plantas com cachos não pulverizados (Fig. 2). O número de frutos colhidos por cacho dentro de cada grupo (plantas com cachos pulverizados e plantas com cachos não pulverizados) não diferiu ao longo das colheitas (Fig. 2). Os números médios de frutos colhidos por cacho variaram de 17,3 a 22,9 em plantas com cachos pulverizados e de 6,8 a 9,3 em plantas com cachos não pulverizados. Considerando-se as três colheitas conjuntamente, a redução no número de frutos por cacho foi de 60%.

O peso por fruto não foi afetado pelas pulverizações ( $F_{1,18} = 0,15$ ;  $P = 0,7026$ ), porém houve efeito significativo do tempo (Wilks' Lambda= 0,38;  $g_{l_{num}/den} = 2/17$ ;  $F = 13,79$ ;  $P = 0,0003$ ). A interação entre tempo e pulverização não foi significativa (Wilks' Lambda= 0,84;  $g_{l_{num}/den} = 2/17$ ;

$F = 1,54; P = 0,2435$ ). O peso por fruto em plantas tratadas variou de 1,6 a 1,9 kg ( $F_{2, 27} = 2,34; P = 0,1153$ ).

O volume de albúmen líquido por fruto foi afetado pelas pulverizações ( $F_{1, 18} = 18,38; P = 0,0004$ ), havendo também efeito significativo do tempo (Wilks' Lambda = 0,33;  $gl_{num/den} = 2 / 17; F = 17,40; P < 0,0001$ ). No entanto, a interação entre o tempo e pulverização não foi significativo (Wilks Lambda = 0,25;  $gl_{num/den} = 2/17; F = 2,12; P = 0,1511$ ). Na primeira e segunda colheita, plantas pulverizadas apresentaram um maior volume de albúmen líquido por fruto do que plantas não pulverizadas. Na terceira colheita diferenças significativas entre os grupos de plantas não foram observadas (Fig. 3). Em ambos os grupos de plantas, o volume de albúmen líquido aumentou ao longo das colheitas (Fig. 3). A redução no volume de albúmen líquido por fruto colhido em plantas não tratadas foi de 28% considerando-se as três colheitas.

Plantas com cachos não pulverizados apresentaram correlações positivas entre o número médio de frutos por cacho e o peso médio de frutos por cacho ( $r = 0,52; n = 30; P = 0,0032$ ; Fig. 4) e entre o número médio de frutos por cacho e o volume médio de albúmen líquido por fruto ( $r = 0,51; n = 30; P = 0,0036$ ; Fig. 5). No entanto, o inverso foi observado nas plantas com cachos pulverizados (número médio de frutos por cacho e o peso médio de frutos por cacho:  $r = -0,53; n = 30; P = 0,0024$ ; Fig. 4; e número de frutos por cacho e o volume de albúmen líquido por fruto:  $r = -0,42; n = 30; P = 0,0220$ ; Fig. 5). Para ambos os grupos de plantas, correlações positivas e significativas foram observadas entre o peso médio de frutos por cacho e o volume de albúmen líquido por fruto (plantas não tratadas:  $r = 0,91; n = 30; P < 0,0001$ ; plantas tratadas:  $r = 0,79; n = 30; P < 0,0001$ ) (Fig. 6).

Independentemente da colheita após o início das pulverizações, plantas com pulverizadas apresentaram maior proporção de frutos destinados a comercialização *in natura* do que plantas com não pulverizadas ( $\chi^2 > 5,36; gl = 1; P < 0,0206$ ) (Fig. 7), o inverso foi observado para os frutos

destinados para o processamento industrial ( $\chi^2 > 6,11$ ; gl= 1;  $P < 0,0134$ ) (Fig. 7). Plantas com cachos não pulverizados apresentaram também maiores proporções de frutos não comercializáveis ( $\chi^2 > 4,60$ ; gl= 1;  $P < 0,0319$ ) (Fig. 7).

**Avaliação dos custos associados ao controle químico.** O custo total estimado para pulverizações para o período de 1 ano em 1 hectare (205 plantas) de coqueiro foi de R\$ 4527,00, em que as despesas operacionais (hora máquina e diária de trabalhadores) representam 86,5% desse total e a obtenção de insumos 13,5% desse total. Detalhes podem ser observados na Tabela 1.

Considerando-se as três colheitas realizadas durante o estudo, plantas que receberam as pulverizações apresentaram em média 20,7 frutos por cacho colhido com um valor médio de 0,357 L de albúmen líquido por fruto, destes 81% foram destinados a comercialização *in natura* (R\$ 0,45/fruto), 14% foram destinados ao processamento industrial (R\$ 0,75/L de albúmen líquido) e 5% foram descartados. O que gerou uma receita bruta de R\$ 30761,59 (Tabela 2). A receita líquida obtida a partir da diferença entre receita bruta total e custos envolvidos com a pulverização foi de R\$ 26235,00. Plantas que não receberam as pulverizações apresentaram em média 8,1 frutos por cacho colhido com um valor médio de 0,297 L de albúmen líquido por fruto, destes 43% foram destinados a comercialização *in natura* (R\$ 0,45/fruto), 37% foram destinados ao processamento industrial (R\$ 0,75/L de albúmen líquido) e 21% foram descartados, gerando uma receita líquida (uma vez que não houve custos com pulverizações) de R\$ 8111,50. Portanto, a diferença entre o lucro da área tratada e da área não tratada foi de R\$ 18123,50; este valor representa um lucro 69,08% superior na área tratada.

## Discussão

Os resultados deste trabalho fornecem evidências consistentes das perdas ocasionadas por *A. guerreronis*, as quais compreendem redução no número de frutos, no volume de albúmen líquido

e comprometimento do destino final dos frutos com conseqüente redução do retorno econômico para os produtores. Adicionalmente, a viabilidade econômica do controle químico desta praga em cultivos de coqueiro anão verde foi confirmada.

Variações nas estimativas de perdas ocasionadas por *A. guerreronis* são encontradas na literatura. Estas são explicadas, em parte, pelo uso de diferentes metodologias empregadas, o que dificulta comparações diretas entre os estudos (Navia *et al.* 2013). Além disso, a percentagem de perdas pode variar em função da idade do fruto, variedade da planta, condições climáticas, ácaros predadores, práticas de controle e comercialização (Mariau & Julia 1970, Julia & Mariau 1979, Suarez 1991, Seguni 2000, Ramaraju *et al.* 2005, Howard 2006, Fernando & Aratchige 2010, Negloh *et al.* 2011). Segundo Howard (2006), o padrão de ataque de *A. guerreronis* pode ser afetado pelo arranjo das brácteas dos frutos, sendo estes menores quanto menor for o espaço entre a bráctea e a epiderme do fruto, sendo esta uma característica que pode ser explorada na busca de variedades resistentes (Variedade Cambodiam). Lawson-Balagbo *et al.* (2008) observou que longos períodos de estiagem e elevadas temperaturas parecem ser fatores decisivos na ocorrência e estabelecimento de *A. guerreronis*, sendo menor a incidência desta praga em regiões com alta pluviosidade. Chuvas regulares provavelmente reduzem as chances de sucesso dos ácaros atingirem novos frutos durante o processo de dispersão (Howard *et al.* 1990). A presença de predadores é outro fator que pode influenciar nas perdas ocasionadas por *A. guerreronis*, pois é sabido que a acarofauna é variável em diferentes regiões e que alguns predadores podem ser mais eficientes. Os predadores *Neoseiulus baraki* (Athias-Henriot) e *Neoseiulus paspalivorus* (De Leon) parecem morfologicamente mais adaptados para viver sob o perianto e, portanto os mais hábeis inimigos naturais de *A. guerreronis* (Lawson-balagbo *et al.* 2008, Lima *et al.* 2012). Tendências claras foram observadas na distribuição desses predadores de acordo com os fatores climáticos predominantes, *N. paspalivorus* predominando em regiões secas, e *N. baraki*

predominando em regiões úmidas (Lawson-balagbo *et al.* 2008). Em regiões com temperaturas mais amenas, como o extremo sul do Estado da Bahia e Estado de São Paulo (Brasil) não se constatou a ocorrência destes predadores (Souza *et al.* 2012, Oliveira *et al.* 2012).

A redução no número de frutos decorrente do abortamento é um dos problemas associados ao ataque de *A. guerreronis* (Doreste 1968, Nair 2002, Wickramananda *et al.* 2007). No presente estudo, *A. guerreronis* reduziu em 60% o número de frutos para a variedade anão verde. Moore *et al.* (1989) registrou reduções no número de frutos de 31% em St. Lucia (Caribe). No Sri Lanka, foram observadas perdas por queda prematura de frutos de 2,9% (Wickramananda *et al.* 2007). Mesmo quando não ocorre o abortamento, os frutos que permanecem no cacho podem sofrer reduções no volume de albúmen líquido, peso e tamanho (Moore *et al.* 1989, Haq *et al.* 2002, Paul & Mathew 2002). Há poucos estudos que quantificam perdas no volume de albúmen líquido (Ramajaru *et al.* 2005), haja visto que a maioria dos países produtores de coco do hemisfério oriental, detentores de 84% da produção mundial (FAOTAST 2012), têm sua produção destinada à comercialização de albúmen sólido. Neste trabalho, foram observadas reduções de 28% no volume de albúmen líquido em plantas atacadas por *A. guerreronis* na ausência de pulverizações. Perdas no volume de albúmen líquido também foram verificadas na Índia, alcançando redução de 67% (Ramajaru *et al.* 2005).

A variedade anão verde é cultivada para comercialização do albúmen líquido para consumo *in natura* ou para indústrias que fazem o envasamento deste. Na comercialização para consumo *in natura*, o aspecto externo do fruto é fundamental. As injúrias causadas por *A. guerreronis* afetam a estética do fruto e, dependendo da intensidade, podem inviabilizar sua venda até mesmo para o processamento industrial, uma vez que as áreas necrosadas dificultam o processo de industrialização durante a penetração de sondas no fruto para retirada do albúmen líquido. Frutos com extensa área necrosada por *A. guerreronis* são, normalmente, rejeitados pelos comerciantes,

inviabilizando totalmente a comercialização. Neste trabalho, verificou-se que plantas cujos cachos foram pulverizadas com abamectina obtiveram 81% dos frutos classificados como comercialização *in natura*. Em contrapartida, plantas cujos os cachos não foram pulverizados obtiveram apenas 43% dos frutos classificados nesta categoria, cujo valor comercial é superior às outras categorias. A ausência das pulverizações possibilitou o crescimento da população de *A. guerreronis*, ocasionando redução no valor comercial do produto evidenciado pela redução no número de frutos para comercialização *in natura* e aumento do número de frutos destinados ao processamento industrial e frutos não comercializáveis. Desta forma, pode-se concluir que o controle de *A. guerreronis* proporcionou uma maior rentabilidade na comercialização dos frutos.

O presente estudo mostra que o ataque de *A. guerreronis* pode alterar correlações naturais existentes em plantas de coqueiro. Plantas de coqueiro com baixas infestações de *A. guerreronis* (plantas tratadas) exibem correlações negativas entre o número de frutos colhidos e o peso dos frutos e entre o número de frutos colhidos e o volume de albúmen líquido, enquanto o inverso (correlações positivas) é observado em plantas sob o ataque de *A. guerreronis*. Esta variação pode ser explicada ao se analisar a distribuição de recursos assimilados pela planta entre os seus frutos. Plantas pulverizadas (menor ataque de *A. guerreronis*) apresentam um número maior de frutos que plantas não pulverizadas (maior ataque de *A. guerreronis*), assim frutos das plantas pulverizadas tendem a alocar menos recursos ao ganho de peso e volume de albúmen líquido para cada fruto uma vez que o recurso é dividido por um número maior de frutos, evidentemente o oposto é válido para plantas com maior ataque de *A. guerreronis*. No entanto, apesar das correlações negativas evidenciadas para as plantas pulverizadas, estas obtiveram maior volume de albúmen líquido que as plantas não pulverizadas. É válido ressaltar que, provavelmente, plantas sob intenso ataque de *A. guerreronis* tenham menos recursos para distribuir entre seus frutos, uma vez que partes destes podem ser empregadas na defesa (direta ou indireta) contra o ataque do

ácaro. É sabido que plantas de coqueiro sob o ataque de *A. guerreronis* liberam voláteis, os quais são percebidos por alguns agentes controladores de *A. guerreronis* como os ácaros predadores *N. baraki* e *Proctolaelaps bickleyi* (Bram) (Melo *et al.* 2011). Uma forma de tentar contornar estas correlações negativas em plantas tratadas e com populações de *A. guerreronis* sob controle é realizando o desbaste dos frutos.

Apesar de alguns estudos mostrarem que o controle químico é uma técnica eficaz no controle de *A. guerreronis* (Mariau & Tchibozo 1973, Cabrera 1991, Ramaraju *et al.* 2002, Rethinam *et al.* 2003, Muthiah *et al.* 2001, Moreira & Nascimento 2002, Melo *et al.* 2012), não há estudos que comprovem a viabilidade econômica da utilização destes métodos. Buscando preencher essa lacuna no conhecimento, neste trabalho foram quantificados os custos do controle de *A. guerreronis*, bem como a viabilidade do uso de abamectina no controle desta praga. Os resultados deste trabalho demonstram que o lucro na área tratada com abamectina foi 69,08% maior em relação à área não tratada, o que corresponde a uma diferença de retorno de R\$ 18123,50 na receita líquida por hectare no período de um ano para a área tratada em relação a área não tratada. Com base neste resultado, pode-se afirmar que o controle químico com abamectina em cultivos de coqueiro anão verde é viável economicamente e permite que o produtor atinja grandes margens de lucro. No entanto, estes resultados não se aplicam a outras variedades (híbridos e gigantes), devido às diferenças no porte da planta, número de frutos produzidos por planta, destinação comercial dos frutos, que podem inviabilizar este método de controle. Além disso, no perímetro irrigado onde o estudo foi conduzido (Petrolina-PE), os cachos são emitidos em um curto intervalo de tempo, o que não é a realidade da maior parte dos cultivos e poderia reduzir o retorno econômico. Um recente estudo sugere o aumento dos intervalos de aplicações, o que poderia reduzir os custos de controle e viabilizar o uso do controle químico em outras variedades, logo o intervalo de aplicação deve ser melhor investigado (Melo *et al.* 2012).

Os altos índices de perdas ocasionadas por *A. guerreronis* apresentados neste trabalho evidenciam a gravidade do problema causado por esta praga e a necessidade do seu controle. O controle químico foi eficiente para a variedade anão verde, permitindo que as plantas pulverizadas obtivessem maior número frutos, volume de albúmen líquido e melhor estética (possibilitando que grande parte dos frutos fosse categorizada como comercialização *in natura*) em relação a plantas não tratadas. Desta forma, o controle químico de *A. guerreronis* proporcionou uma maior rentabilidade na comercialização dos frutos, sendo um método lucrativo aos produtores. No entanto, estes resultados não se aplicam a outras variedades de *C. nucifera* e mais estudos devem ser conduzidos para investigar a viabilidade deste método nas demais variedades.

#### Agradecimentos

Ao Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (REUNI)/Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado ao primeiro autor. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro à pesquisa. A Embrapa Semiárido pelo suporte logístico. Ao Anderson Puker (Universidade Federal de Viçosa) pelas críticas na redação do capítulo.

#### Literatura Citada

- Aragão, W.M., J.M. Resende, E.M.O. Cruz, C.S. Reis, O.J. Saggin Junior, J.A. Alencar, W.A. Moreira, F.R. Paula & J.M.P. Lima Filho. 2002. Fruto do coqueiro para consumo natural, p. 19-25 In W.M. Aragão (eds.), Coco: Pós-colheita. Aracaju, Embrapa Tabuleiros Costeiros, 292p.
- Cabrera, R.I. 1991. El ácaro del cocotero *Eriophyes guerreronis* su importancia económica y métodos de lucha. Habana, Estación Nacional de Sanidad de los Cítricos y Otros Frutales, 40p.

- Cardona, I.Z. & A.S. Potes. 1971.** La ronã o escori3n de los frutos del cocotero (*Cocos nucifera* L.) en Col3mbia. Acta Agron. 21: 133-139.
- Cuenca, M.A.G., C.R. Martins & L.A. Jesus Filho. 2011.** Estatística de produç3o. Disponível em <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/coco/arvore/CONT000fo7hz6ox02wyiv8065610d6ky3ary.html>>, acessado em 11/01/2014.
- Doreste, S.E. 1968.** El 3caro de la flor del cocotero (*Aceria guerreronis* Keifer) en Venezuela. Agron. Trop. 18: 370-386.
- FAOSTAT. 2012.** Food and Agriculture Organization (United Nations). Agriculture database. Disponível em <<http://www.http://faostat3.fao.org/faostatgateway/go/to/download/Q/QC/E>>, acessado em 25/03/2014.
- Fernando, L.C.P., I.R. Wickramanada & N.S. Aratchige. 2002.** Status of coconut mite, *Aceria guerreronis* in Sri Lanka, p. 1-8. In L.C.P. Fernando, G.J. de Moraes & I.R. Wickramanada (eds.) Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (*Aceria guerreronis*). Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.
- Fernando, L.C.P. & N.S. Aratchige. 2010.** Status of coconut mite *Aceria guerreronis* and biological control research in Sri Lanka, p. 379-384. In M.W. Sabelis & J. Bruin (eds.), Trends in acarology. Amsterdam, Springer, 670p.
- Foale, M. 2003.** The coconut odyssey: the bounteous possibilities of the tree of life. Canberra, ACIAR Monograph, 132p.
- Galvão, A.S., M.G.C. Gondim Jr. & E.S.J. Michereff. 2008.** Escala diagramática de dano de *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) em Coqueiro. Neotrop. Entomol. 6: 723-728
- Galvão, A.S., M.G.C. Gondim Jr., G.J. de Moraes & J.W.S. Melo. 2011.** Distribution of *Aceria guerreronis* and *Neoseiulus baraki* among and within coconut bunches in northeast Brazil. Exp. Appl. Acarol. 54: 373-84.
- Haq, M.A., K. Sumangala & N. Ramani. 2002.** Coconut mite invasion, injury and distribution, p. 41-49. In L.C.P. Fernando, G.J. de Moraes & I.R. Wickramananda (eds.), Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (*Aceria guerreronis*). Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.
- Hernández, R.F. 1977.** Combate químico del eri3fido del cocotero *Aceria (Eriophyes) guerreronis* (K.) en la Costa de Guerrero. Agric. Tec. México 4: 23-38.
- Howard, F.W., E. Abreu Rodríguez & H.A. Denmark. 1990.** Geographical and seasonal distribution of the coconut mite, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), in Puerto Rico and Florida, USA. J. Agric. Univ. Puerto Rico 74: 237-251.
- Howard, F.W. 2006.** Featured creatures. Disponível em <[http://entnemdept.ufl.edu/creatures/orn/palms/Aceria\\_guerreronis.htm](http://entnemdept.ufl.edu/creatures/orn/palms/Aceria_guerreronis.htm)>, acessado em 09/10/2014.

- Julia, J.F. & D. Mariau. 1979.** Nouvelles recherches en Côte d'Ivoire sur *Eriophyes guerreronis* K., acarien ravageur des noix du cocotier. Oléagineux 34: 181-189.
- Kottek, M., J. Grieser, C. Beck, B. Rudolf & F. Rubel. 2006.** World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. Meteorol. Z. 15: 259-263.
- Lawson-Balagbo, L.M., M.G.C. Gondim Jr., G.J. de Moraes, R. Hana & P. Schausberger. 2007.** Refuge use by the coconut mite *Aceria guerreronis*: fine scale distribution and association with other mites under the perianth. Biol. Control 43: 102-110.
- Lawson-Balagbo, L.M., M.G.C. Gondim Jr., G.J. de Moraes, R. Hanna & P. Schausberger. 2008.** Exploration of the acarine fauna on coconut palm in Brazil with emphasis on *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and its natural enemies. Bull. Entomol. Res. 98: 83-96.
- Lima, D.B., J.W.S. Melo, M.G.C. Gondim & G.J. de Moraes. 2012.** Limitations of *Neoseiulus baraki* and *Proctolaelaps bickleyi* as control agents of *Aceria guerreronis*. Exp. Appl. Acarol. 56: 233-246.
- Mariau D. & J.F. Julia. 1970.** L'acariose a *Aceria guerreronis* (Keifer), ravageur du cocotier. Oléagineux 25: 459-464.
- Mariau, D. & H.M. Tchibozo. 1973.** Essais de lutte chimique contre *Aceria guerreronis* (Keifer). Oléagineux 28: 133-135.
- Martin, C.R. & L.A. Jesus Jr. 2011.** Evolução da produção de coco no Brasil e o comércio internacional: panorama 2010. Aracaju, Embrapa Tabuleiros Costeiros, 30p.
- Melo, J.W.S., D.B. Lima, A. Pallini, J.E.M. Oliveira & M.G.C. Gondim Jr. 2011.** Olfactory response of predatory mites to vegetative and reproductive parts of coconut palm infested by *Aceria guerreronis*. Exp. Appl. Acarol. 55: 191-202
- Melo, J.W.S., C.A. Domingos, A. Pallini, J.E.M. Oliveira & M.G.C. Gondim Jr. 2012.** Removal of bunches or spikelets is not effective for the control of *Aceria guerreronis*. HortScience 47: 626-630.
- Moore, D., L. Alexander & R.A. Hall. 1989.** The coconut mite, *Eriophyes guerreronis* Keifer in St Lucia yield losses and attempts to control it with acaricide, polybutene and *Hirsutella* fungus. Trop. Pest Manag. 35: 83-89.
- Moore, D. & F.W. Howard. 1996.** Coconuts, p. 561-570. In E.E. Lindquist, M.W. Sabelis & J. Bruin (eds.), Eriophyoid mites: their biology, natural enemies and control. Amsterdam, Elsevier, 790p.
- Moore, D. 2000.** Non-chemical control of *Aceria guerreronis* on coconuts. Biocontrol News Infor. 21: 83-87.

- Moreira, J.O.T. & A.R.P. Nascimento. 2002.** Avaliação da eficiência de acaricidas isolados e em mistura no controle do ácaro-da-necrose-do-coqueiro *Aceria guerreronis* Keifer, 1965 (Prostigmata: Eriophyidae) no Vale do São Francisco. Rev. Bras. Frutic. 24: 72-76.
- Muthiah, C., R. Bhaskaran & S. Kannaiyan. 2001.** Bioecology and control of eriophyid mite of coconut: an Indian experience. The Planter 77: 255-263.
- Nair, C.P.R. 2002.** Status of eriophyid mite *Aceria guerreronis* Keifer in India, p. 9-12. In L.C.P. Fernando, G.J. Moraes & I.R. Wickramananda (eds.), Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (*Aceria guerreronis*). Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.
- Navia, D., M.G.C. Gondim Jr., N.S. Aratchige & G.J. de Moraes. 2013.** A review of the status of the coconut mite, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), a major tropical mite pest. Exp. Appl. Acarol. 59: 67-94.
- Negloh, K., R. Hanna & P. Schausberger. 2011.** The coconut mite, *Aceria guerreronis*, in Benim and Tanzania: occurrence, damage and associated acarine fauna. Exp. Appl. Acarol. 55: 361-374.
- Oliveira, D.C., G.J. de Moraes & C.T.S. Dias. 2012.** Status of *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) as a pest of coconut in the state of São Paulo, Brazil. Neotrop. Entomol. 41: 315-323.
- Paul, A. & T.B. Mathew. 2002.** Loss of husk, quality of fiber and COI<sub>r</sub> due to infestation of coconut eriophyid mite (*Aceria guerreronis* Keifer). J. Plant. Crop. 30: 58-60.
- Ramaraju, K., K. Natarajan, P.C.S. Babu, S. Palnisamy & R.J. Rabindra. 2002.** Studies on coconut eriophyid mite, *Aceria guerreronis* Keifer in Tamil Nadu, Índia, p. 13-31. In L.C.P. Fernando, G.J. de Moraes & I.R. Wickramananda (eds.), Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (*Aceria guerreronis*). Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.
- Ramaraju, K., S. Palaniswamy, P. Annakodi, M.K. Varadarajan, M. Muthukumar & V. Bhaskaran. 2005.** Impact of coconut eriophyid mite, *Aceria guerreronis* K. (Acari: Eriophyidae) on the yield parameters of coconut. Indian Coconut J. 25: 12-15.
- Rethinam, P., H.P. Singh, H. Vijayakumar & R. Gopalakrishnan. 2003.** Eriophyid mite in coconut. Índia, Coconut Development Board, 146p.
- SAS Institute. 2002.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. Cary, SAS Institute Inc., 943p.
- Seguni, Z. 2000.** Incidence, distribution and economic importance of the coconut eriophyid mite, *Aceria guerreronis* Keifer in Tanzanian coconut based cropping systems. In L.C.P. Fernando, G.J. de Moraes & I.R. Wickramananda (eds.), Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (*Aceria guerreronis*). Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.

- Silva, V.F., G.V. França, J.W.S. Melo & M.G.C. Gondim Jr. 2013.** Brácteas de frutos de coco como fator limitante a ação de acaricidas sobre *Aceria guerreronis* Keifer. In IV Simpósio Brasileiro de Acarologia. Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul.
- Souza, I.V., M.G.C. Gondim Jr., A.L.R. Ramos, E.A. Santos, M.I.F. Ferraz & A.R. Oliveira. 2012.** Population dynamics of *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and other mites associated with coconut fruits in Una, state of Bahia, northeastern Brazil. Exp. Appl. Acarol. 58: 221-233.
- Suarez, A. 1991.** Distribución y evaluación de daños del acaro *Eriophyes guerreronis* en plantaciones de cocotero de la region de Baracoa. Prot. Plant. 1: 75-81.
- Wickramananda, I.R., T.S.G. Peiris, M.T. Fernando, L.C.P. Fernando & S. Edgington. 2007.** Impact of the coconut mite (*Aceria guerreronis* Keifer) on the coconut industry in Sri Lanka. Cord 23: 1-16.

Tabela 1. Despesas com a pulverização de abamectina em duas áreas de coqueiro anão verde: área tratada (controle químico) e área não tratada, para 1 hectare no período de um ano.

<b>Despesas</b>	<b>Tratada</b>	<b>Não Tratada</b>
Mão-de-obra e insumos	Preço R\$	Preço R\$
R\$/h Máquina	2.925,00	-
Diária	990,00	-
Óleo Mineral	243,00	-
Vertimec	369,00	-
Total (R\$)	4.527,00	0,00

Tabela 2. Receita bruta (RB) de duas áreas de coqueiro anão verde: área tratada (controle químico) e área não tratada, para 1 hectare no período de um ano.

Destino/Comercialização	Tratada			Não Tratada		
	Nº frutos	Preço (R\$)	RB parcial (R\$)	Nº frutos	Preço (R\$)	RB parcial (R\$)
Comercialização <i>in natura</i>	3444	0,45/fruto	27896,4	697	0,45/fruto	5645,7
Processamento industrial	594,5	0,75/L	2865,2	615	0,75/L	2465,8
RB total (R\$)			30761,60			8111,50

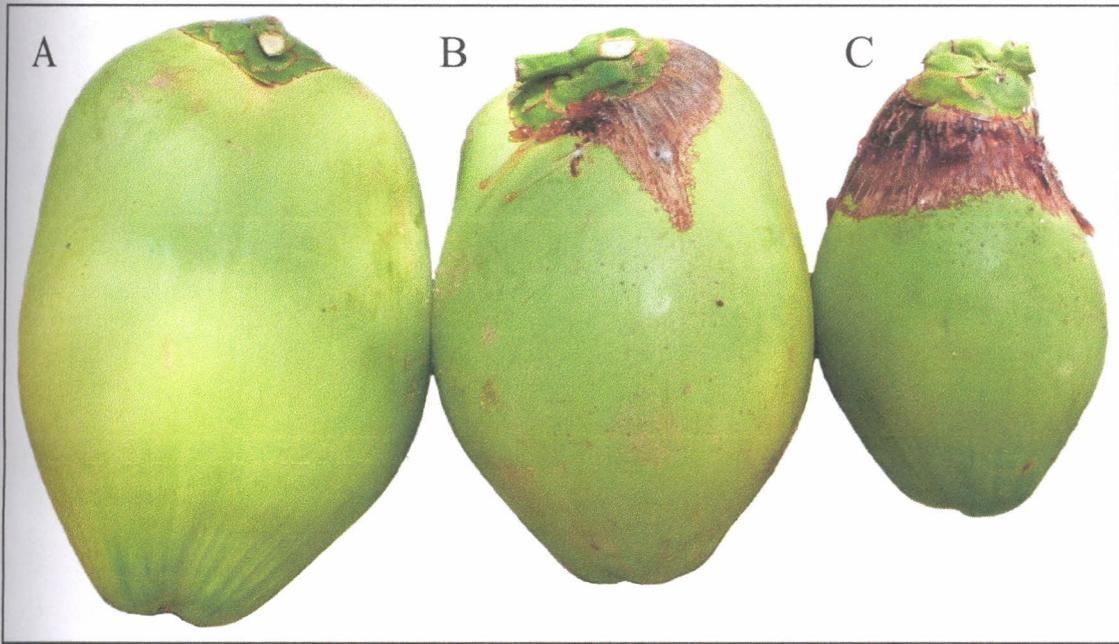


Figura 1. Frutos categorizados em: (A) Comercialização *in natura*, (B) processamento industrial e (C) não comercializáveis.

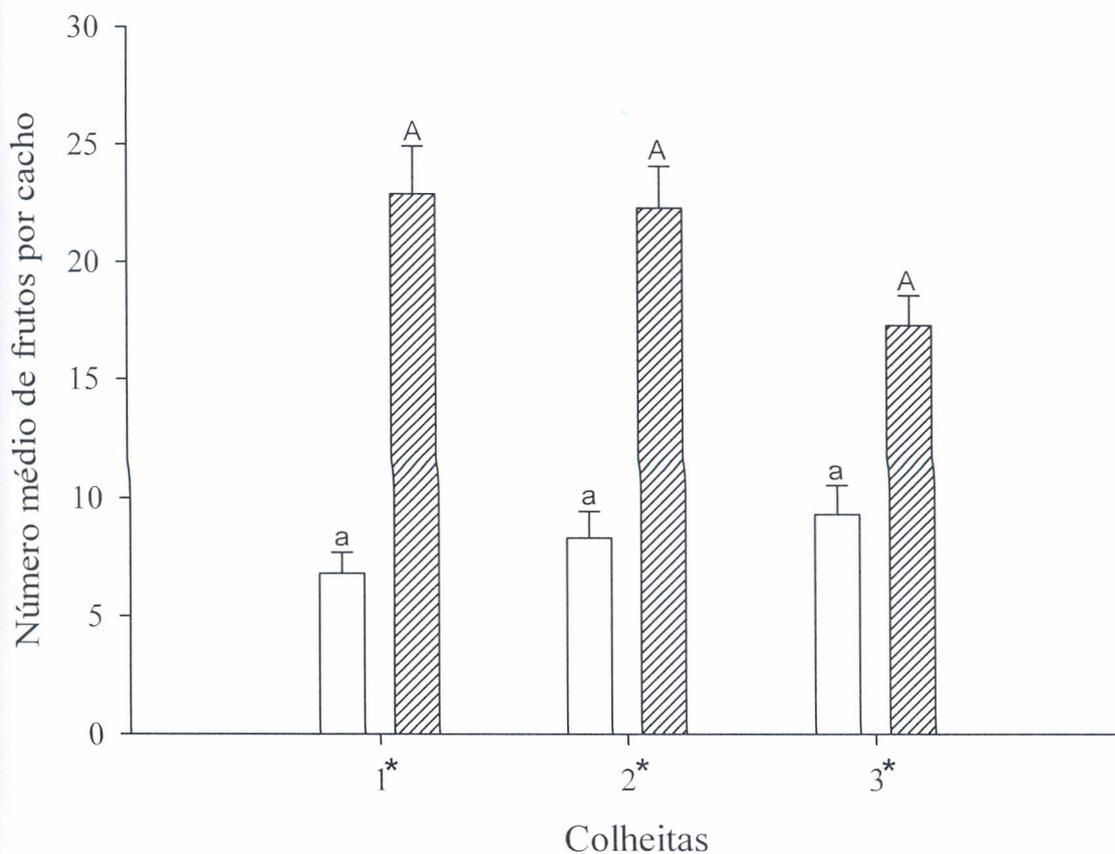


Figura 2. Número médio de frutos por cacho, no ponto de colheita, durante as colheitas mensais 1, 2 e 3. As barras brancas representam plantas não tratadas e as barras hachuradas plantas tratadas. Números com asterisco indicam diferença significativa entre os tratamentos dentro da colheita pelo teste de Fisher a 5% de probabilidade. Barras com a mesma letra entre as colheitas (letras minúsculas para as plantas tratadas e maiúsculas para plantas tratadas) não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

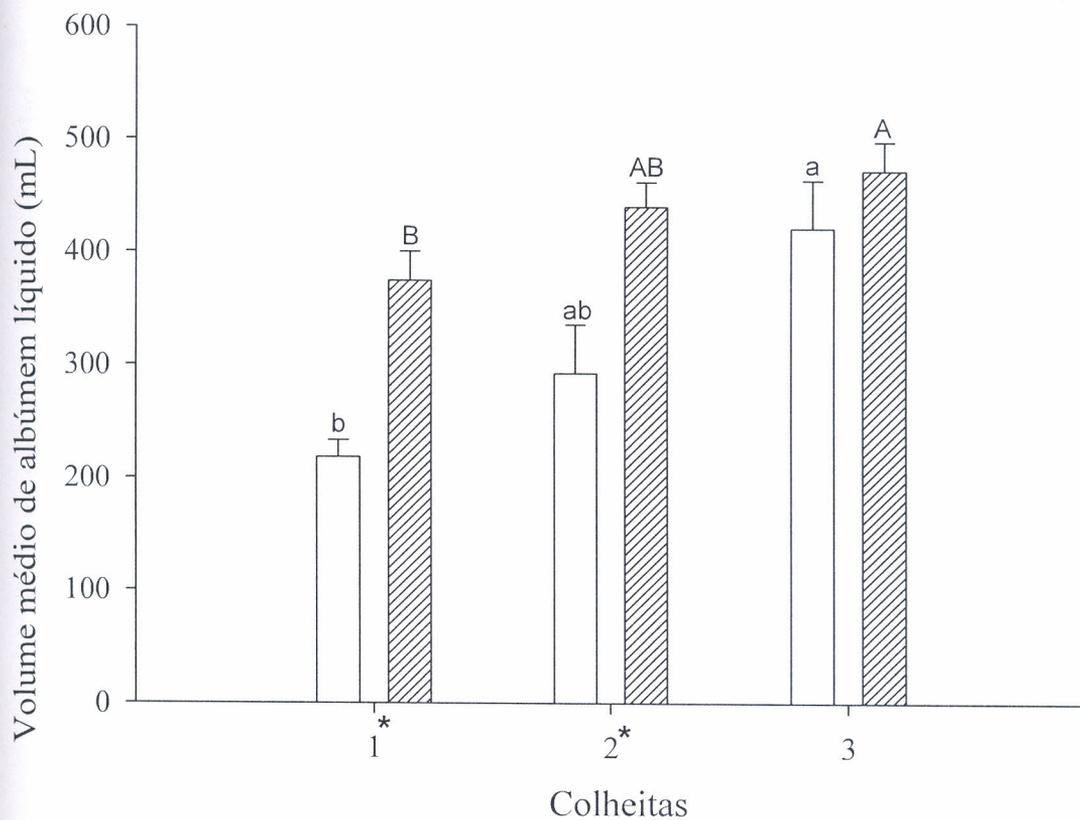


Figura 3. Volume médio de albúmem líquido (ml) por frutos nas colheitas mensais 1, 2 e 3. As barras brancas representam plantas não tratadas e as barras hachuradas plantas tratadas. Números com asterisco indicam diferença significativa entre os tratamentos dentro da colheita pelo teste de Fisher a 5% de probabilidade. Barras com a mesma letra entre as colheitas (letras minúsculas para as plantas tratadas e maiúsculas para plantas tratadas) não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

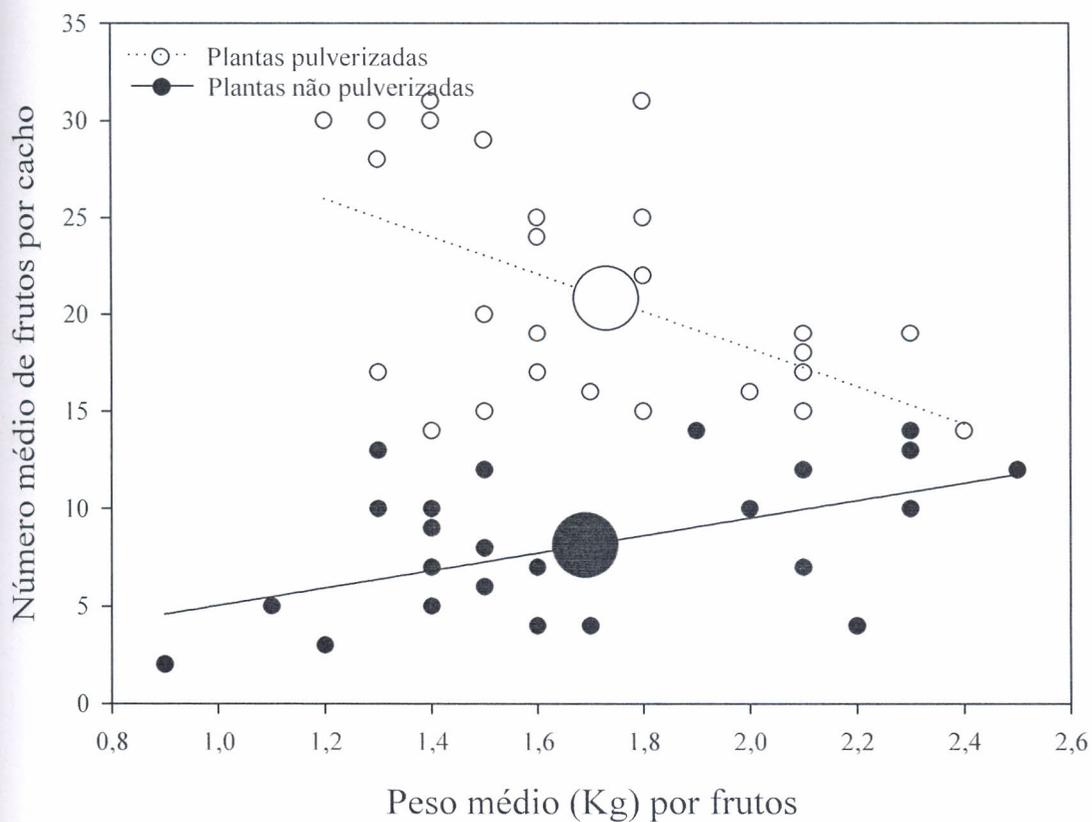


Figura 4. Correlações simples entre o número médio de frutos por cacho e o peso médio por frutos. Os círculos brancos e pretos referem-se as plantas tratadas e não tratadas, respectivamente. Os círculos grandes correspondem a média.

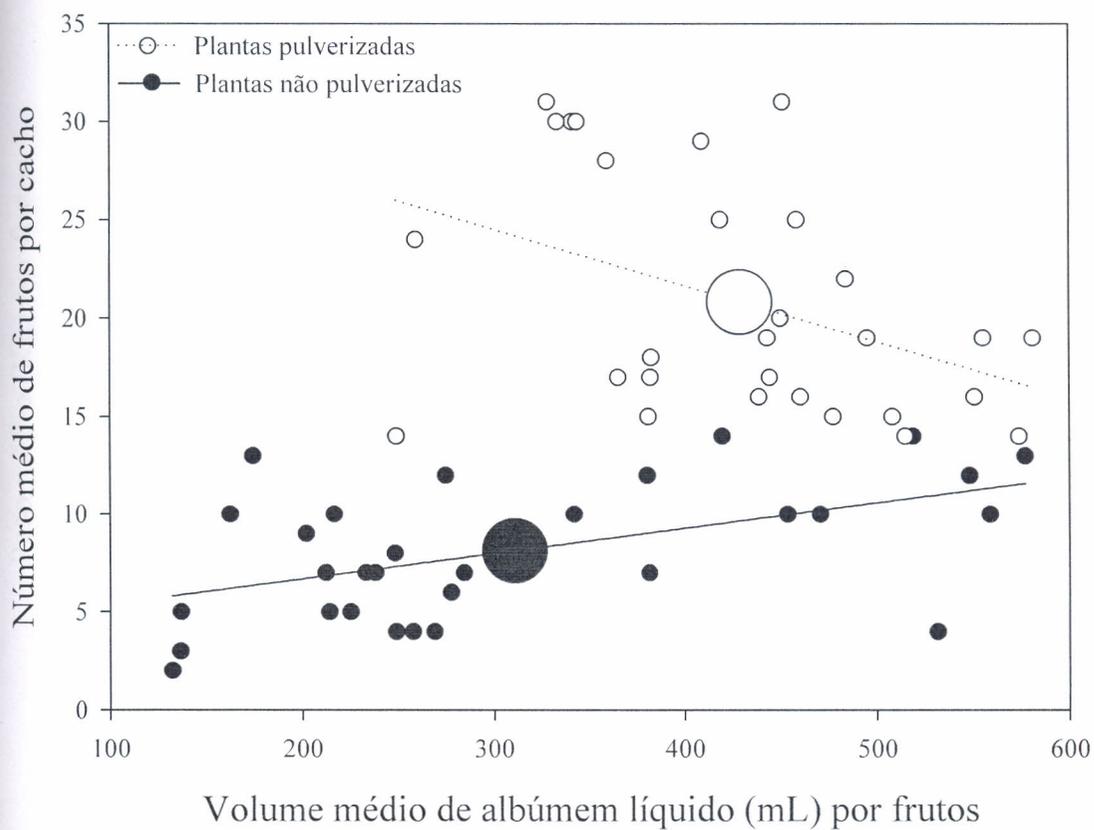


Figura 5. Correlações simples entre o número médio de frutos por cacho e o volume médio de albúmem líquido por frutos. Os círculos brancos e pretos referem-se as plantas tratadas e não tratadas, respectivamente. Os círculos grandes correspondem a média.

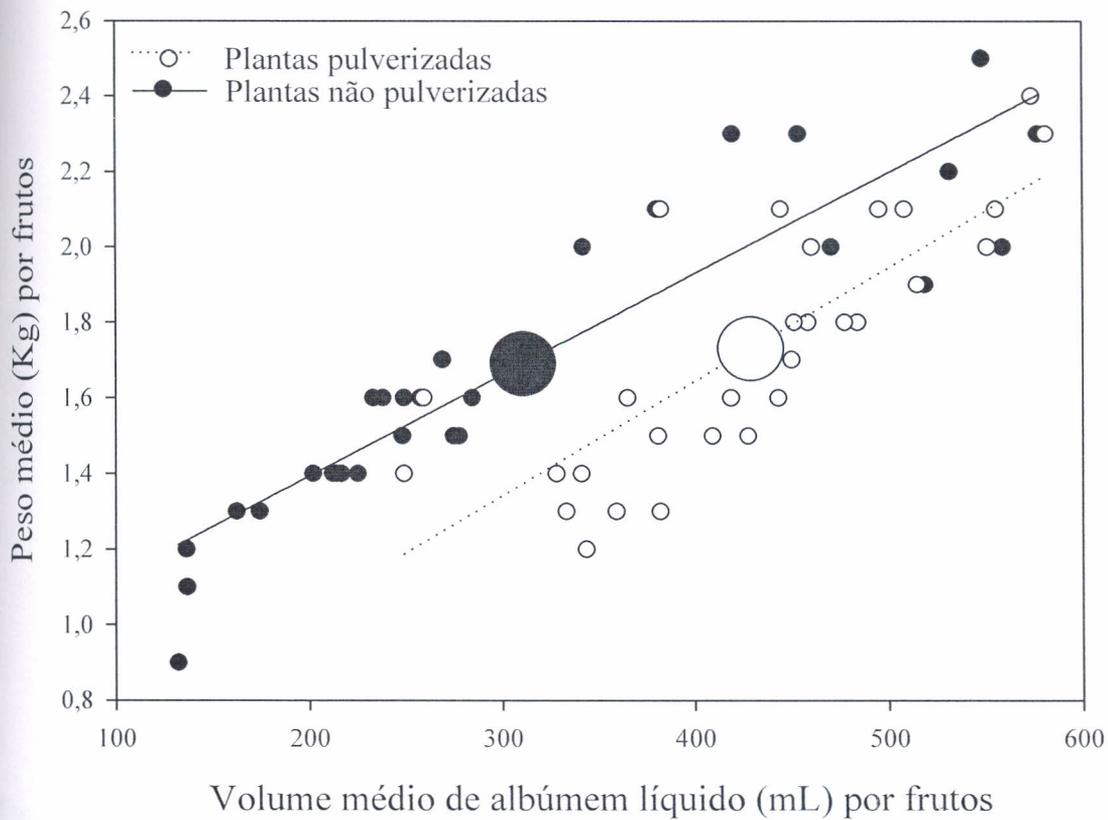


Figura 6. Correlações simples entre o peso médio e o volume médio de albúmem líquido por fruto. Os círculos brancos e pretos referem-se as plantas tratadas e não tratadas, respectivamente. Os círculos grandes correspondem a média.

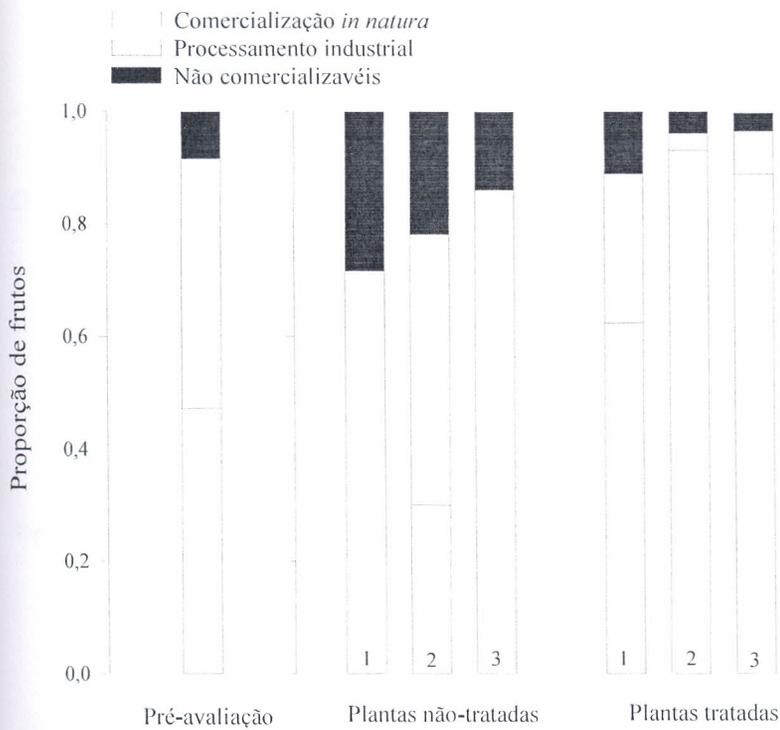


Figura 7. Proporção de frutos categorizados em: Comercialização *in natura* (barras brancas), processamento industrial (barras cinzas) e não comercializáveis (barras pretas). Comparação entre tratamentos para cada período de avaliação (pré-avaliação e colheitas 1, 2 e 3).

### CAPÍTULO 3

O ÁCARO PREDADOR *Neoseiulus paspalivous* (DE LEON) (PHYTOSEIIDAE) NO BRASIL:  
STATUS TAXONÔMICO, COMPATIBILIDADE REPRODUTIVA E VARIABILIDADE  
MORFOLÓGICA E MOLECULAR<sup>1</sup>

DANIELA D.M. REZENDE<sup>2</sup>, DENISE NAVIA<sup>3</sup>, RENATA SANTOS DE MENDONÇA<sup>3</sup>, JOSÉ W.S. MELO<sup>2</sup> E  
MANOEL G.C. GONDIM JR<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua  
Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

<sup>3</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, final Av. W5 Norte,  
s/No., Asa Norte, Caixa Postal 02372, 70770-917 Brasília, DF, Brasil.

---

<sup>1</sup>Rezende, D.D.M, D. Navia, R.S. Mendonça, J.W.S. Melo & M.G.C. Gondim Jr. O ácaro predador *Neoseiulus paspalivous* (De Leon) (Phytoseiidae) no Brasil: status taxonômico, compatibilidade reprodutiva e variabilidade morfológica e molecular. A ser submetido.

RESUMO - O ácaro predador *Neoseiulus paspalivorus* (De Leon) é frequentemente encontrado em associação ao ácaro-da-necrose-do-coqueiro, *Aceria guerreronis* Keifer, praga chave desta cultura. A identificação de inimigos naturais é essencial para a definição das estratégias de controle biológico. Assim, os nossos principais objetivos foram confirmar se populações identificadas como *N. paspalivorus* de diferentes estados brasileiros pertencem a mesma espécie, conhecer a variabilidade morfométrica e molecular e avaliar a compatibilidade reprodutiva entre as populações morfologicamente mais distintas. Utilizou-se uma abordagem integrativa, combinando análises morfológicas, moleculares e estudos biológicos de compatibilidade reprodutiva, envolvendo populações de cinco estados da região Nordeste: Ceará, Paraíba, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe. A variabilidade morfológica entre as populações foi avaliada através de análises morfométricas de 33 caracteres morfológicos. A compatibilidade reprodutiva das populações que mais se distanciaram morfometricamente (Rio Grande do Norte e Paraíba) foi avaliada através de cruzamentos e retrocruzamentos. Finalmente a variabilidade genética das cinco populações foi avaliada com base em dois fragmentos de DNA: ITS do rDNA e *COI* do mtDNA. Foram observadas variabilidades morfométricas intraespecíficas entre as cinco populações de *N. paspalivorus*. Os cruzamentos e retrocruzamentos envolvendo as populações do Rio Grande do Norte e Paraíba revelaram compatibilidade reprodutiva. A análise molecular indicou que as populações de *N. paspalivorus* pertencem ao mesmo táxon. Os resultados deste estudo corroboram a identificação prévia de *N. paspalivorus* para todas as populações estudadas, uma vez que o estudo morfométrico, molecular e biológico não revelou diferenças relevantes entre as populações.

PALAVRAS-CHAVE: *Cocos nucifera*, *Aceria guerreronis*, controle biológico, Nordeste brasileiro, marcadores moleculares, taxonomia integrativa

THE PREDATORY MITE *Neoseiulus paspalivorus* (DE LEON) (PHYTOSEIIDAE) IN BRAZIL:  
TAXONOMIC STATUS, REPRODUCTIVE COMPATIBILITY, MOLECULAR AND  
MORPHOLOGICAL VARIABILITY

ABSTRACT - The predatory mite *Neoseiulus paspalivorus* (De Leon) is often found in association with coconut mite, *Aceria guerreronis* Keifer, key pest of this crop. The identification of natural enemies is essential for the formulation and implementation of strategies for biological control. Thus, our main objectives were to confirm if populations identified as *N. paspalivorus* from different Brazilian states belong to the same species, know the morphometric and molecular variability and evaluate the reproductive compatibility between morphologically distinct populations. We used an integrative approach combining morphological, molecular and biological studies of reproductive compatibility analysis, involving populations of five states from Northeast region: Ceará, Paraíba, Piauí, Rio Grande do Norte and Sergipe. The morphological variability among populations was assessed by morphometric analysis of 33 morphological characters. Reproductive compatibility of populations most diverged morphometrically (Rio Grande do Norte and Paraíba) was assessed through crosses and backcrosses. Finally genetic variability of the five populations was evaluated based on two DNA fragments: ITS rDNA and *COI* mtDNA. Intraspecific variability morphometric were observed among five populations of *N. paspalivorus*. The crosses and backcrosses involving populations of Rio Grande do Norte and Paraíba shown reproductive compatibility. Molecular analysis indicated that populations of *N. paspalivorus* belong to the same taxon. These results corroborate the previous identification of *N. paspalivorus* for all populations studied, since the morphometric, molecular and biological studies revealed no relevant differences between populations.

KEY WORDS: *Cocos nucifera*, *Aceria guerreronis*, biological control, Northeast region of Brazil, molecular markers, integrative taxonomy

## Introdução

O ácaro-da-necrose-do-coqueiro, *Aceria guerreronis* Keifer (Eriophyidae), é uma das principais pragas desta palmeira no mundo (Moore & Howard 1996, Navia *et al.* 2013). Diversas pesquisas vêm sendo conduzidas na África (Negloh *et al.* 2008, 2010), Américas (Lawson-Balagbo *et al.* 2008, Reis *et al.* 2008, Silva *et al.* 2010) e Ásia (Haq 2001, Ramjaru *et al.* 2002, Moraes *et al.* 2004, Fernando *et al.* 2010) com o intuito de encontrar ácaros predadores que possam ser utilizados no manejo de populações desse eriofídeo.

As populações de *A. guerreronis* se desenvolvem no perianto do fruto do coqueiro (Moore & Howard 1996, Nair 2002, Lawson-balagbo *et al.* 2007), que consiste no espaço entre a superfície do fruto e o conjunto de brácteas que une este a espiguetas. A distância entre a extremidade distal das brácteas e a superfície dos frutos é suficiente para que *A. guerreronis* penetre no perianto, contudo limita o acesso de outros ácaros, incluindo alguns predadores. Dentre os ácaros predadores frequentemente associados a *A. guerreronis* em frutos de coqueiro destacam-se as espécies *Neoseiulus baraki* (Athias-Henriot) e *Neoseiulus paspalivorus* (De Leon) (Phytoseiidae). Esses ácaros possuem tamanho reduzido, corpo achatado e pernas curtas (Chant & McMurtry 2003, Moraes *et al.* 2004) se comparados às outras espécies de predadores também associadas a *A. guerreronis*, como *Proctolaelaps bickleyi* (Bram) e *Proctolaelaps bulbosus* Moraes, Reis e Gondim Jr. (Melicharidae) e aos fitoseídeos *Amblyseius largoensis* (Muma) e *Euseius alatus* De Leon que apresentam dimensões maiores. Este aspecto torna *N. baraki* e *N. paspalivorus* as espécies mais promissoras a serem utilizadas como agentes de controle biológico de *A. guerreronis* (Lima *et al.* 2012).

O fitoseídeo *N. paspalivorus* foi descrito a partir de amostra coletada em gramíneas do gênero *Paspalum* sp. na Flórida, EUA, em 1956 (De Leon 1957). Posteriormente, foi relatado na Ásia: Índia (Ghai & Gupta 1984), Filipinas (Schicha & Corpuz-Raros 1992) e no Sri Lanka em *C.*

*nucifera* (Moraes *et al.* 2004); na África: Benim, Gana e Tanzânia foi encontrado associado a *A. guerreronis* em frutos de coqueiro (Negloh *et al.* 2010, Famah Sourassou *et al.* 2011); e nas Américas: Jamaica (Denmark & Muma 1978), Guadalupe onde foi relatado em *Pluchea symphytifolia* (Miller) (Moraes *et al.* 2000), e no Brasil, foi encontrado em associação a *A. guerreronis* no perianto de frutos de coqueiro (Lawson-Balagbo *et al.* 2008, Reis *et al.* 2008). A distribuição de *N. paspalivorus* no Brasil é ampla, e sua ocorrência já foi relatada nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe (Lawson-Balagbo *et al.* 2008, Reis *et al.* 2008). Ocorre predominantemente em localidades caracterizadas por longos períodos de estiagem, temperatura média de 27-30°C, umidade relativa do ar entre 70-80% e precipitação de 600 a 1.500 milímetros (Lawson-Balagbo *et al.* 2008).

A identificação acurada de inimigos naturais é essencial como subsídio para a definição das estratégias de controle biológico. No entanto, a identificação de ácaros fitoseídeos é normalmente feita com base apenas em caracteres morfológicos (*e.g.* Chant & McMurtry 1994, 2006), o que pode ser limitante para alguns táxons. Uma vez que, a presença de espécies crípticas em Phytoseiidae tem sido relatada na literatura (Tixier 2006a), inclusive para espécies do gênero *Neoseiulus* (Famah Sourassou *et al.* 2012). Diferenças em características biológicas e na eficiência de predação em populações geográficas de fitoseídeos também já foram relatadas (Moraes & McMurtry 1985, Yaninek *et al.* 1993, Ferrero *et al.* 2007, Furtado *et al.* 2007, Domingos *et al.* 2013).

A utilização de uma abordagem integrativa, unindo o estudo das variações genéticas e biológicas em complemento aos estudos morfológicos, tem auxiliado na identificação de espécies e no entendimento das diferenças entre populações. Pesquisas abordando a taxonomia integrativa

em estudos taxonômicos de ácaros da família Phytoseiidae têm sido desenvolvidas, contribuindo no processo de identificação de fitoseídeos (*e.g.* Tixier *et al.* 2008a, Okassa *et al.* 2009, 2011).

A abordagem integrativa em estudos de fitoseídeos também tem sido uma ferramenta útil na resolução de problemas taxonômicos, como a existência de sinonímias e a presença de espécies crípticas. Famah Sourassou *et al.* (2011) realizaram análises morfométricas multivariadas e testes de cruzamentos em três populações de *N. paspalivorus* (Benim, Gana e Brasil) e concluíram que as populações estudadas constituem espécies diferentes, apesar de semelhança morfológica. Famah Sourassou *et al.* (2012) utilizaram análises morfométricas multivariadas, análises moleculares e testes de cruzamentos em populações de *N. baraki* de Benim, Tanzânia e Brasil, e os resultados das três etapas forneceram evidências da existência de espécies crípticas. Estudo semelhante foi realizado por Navia *et al.* (2014), envolvendo análises morfométricas, moleculares e testes de cruzamentos com o objetivo de determinar se as populações *A. largoensis* das ilhas do Oceano Índico e Américas são compostas por um mesmo táxon ou um grupo de espécies crípticas. Os autores concluíram que as populações pertencem à mesma entidade taxonômica, embora a dois grupos genéticos bem definidos.

O objetivo deste trabalho foi confirmar se populações identificadas como *N. paspalivorus* de diferentes estados brasileiros constituem um mesmo táxon, avaliar a compatibilidade reprodutiva entre as populações morfologicamente mais distintas e conhecer a variabilidade entre as mesmas. Para isso utilizou-se uma abordagem integrativa, combinando três métodos: análises morfométricas, análise da sequência de DNA e testes de cruzamentos.

## Material e Métodos

**Obtenção, identificação, criação e preservação dos ácaros para as análises.** Foram realizadas coletas de frutos de coqueiro com danos de *A. guerreronis* em todos os nove estados do nordeste

brasileiro, cobrindo uma extensão de aproximadamente 3000 Km ao longo do litoral. Foram amostradas aproximadamente 10 plantas por localidade. As coordenadas geográficas de cada local de coleta foram obtidas com o auxílio de um Global Positioning System (GPSMAP<sup>®</sup> 60CSx), para confecção do mapa de pontos de coleta pelo programa Diva-Gis. Foram inseridos apenas os locais onde espécimes de *N. paspalivorus* foram encontrados (Fig. 1).

Os frutos coletados foram colocados em sacos plásticos, e armazenados em caixa de isopor para transporte até o laboratório, por um período inferior a dois dias. No laboratório, os frutos foram armazenados em refrigerador, a aproximadamente 8°C, por no máximo sete dias até o processamento. As brácteas dos frutos foram removidas com auxílio de tesoura de poda e extrator de grampos. Os ácaros foram coletados com auxílio de um pincel, sob microscópio estereoscópico. Cerca de dez fêmeas de fitoseídeos de cada localidade foram montadas em lâminas de microscopia em meio de Hoyer. As lâminas foram acondicionadas em estufa de secagem ( $\pm 60$  °C) por cinco dias e, posteriormente, observadas em microscópio óptico Olympus BX41 (Olympus Corporation, Tóquio, Japão). A identificação foi realizada consultando a descrição original (De Leon 1957) e outros trabalhos taxonômicos (Chant & McMurtry 2003, Moraes *et al.* 2004). Quando os fitoseídeos foram classificados como *N. paspalivorus*, deu-se continuidade ao processamento da amostra. Dentre os nove estados do Nordeste brasileiro onde as coletas foram efetuadas, *N. paspalivorus* foi encontrado em cinco (Ceará, Paraíba, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe) dos nove estados do nordeste brasileiros (Fig. 1).

Foram estabelecidas criações de cada população com aproximadamente 100 indivíduos e mantidas isoladas em incubadoras (Tipo B.O.D.) sob condições controladas ( $25,0 \pm 1,0$  °C;  $70 \pm 10\%$  U.R. e 12 horas de fotofase). A unidade de criação foi constituída de disco de polipropileno preto de 1 mm de espessura, papel filtro, espuma de polietileno de 1 cm de espessura e placa de Petri, todos sobrepostos nesta sequência e com 16 cm de diâmetro. O polipropileno foi contornado

com algodão hidrófilo e mantido permanentemente úmido pela adição diária de água destilada, para evitar a fuga dos ácaros. Cinco fragmentos (aproximadamente 1 cm<sup>3</sup>) da epiderme do perianto de frutos de coqueiro infestados com *A. guerreronis* (cada fragmento possuía aproximadamente 80-100 indivíduos de diferentes estágios) foram fornecidos como alimento aos predadores, a cada dois dias.

Após o estabelecimento das criações, foram retiradas 25 fêmeas de cada colônia para realização de análises morfométricas e moleculares. Estas foram retiradas e montadas em lâminas de microscopia em meio de Hoyer para as análises morfométricas. Para as análises moleculares, foram retiradas 15 fêmeas e acondicionadas em álcool etílico absoluto, sendo posteriormente mantidas em freezer a -20 °C.

**Caracterização morfométrica.** Foram realizadas análises morfométricas para as cinco populações de *N. paspalivorus* coletadas no Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Piauí e Sergipe. De cada população foram selecionadas e medidas 20 fêmeas adultas. As medições foram realizadas em microscópio óptico Olympus, modelo BX41 (Olympus Corporation, Tóquio, Japão) com aumento de 400x e acoplado a um microcomputador para o procedimento de captura das imagens pelo programa Honestech TVR 2.5 (Honestech Inc., Austin, Texas, EUA). Foram mensurados 33 caracteres (Tabela 1), utilizando o software Motic Images Plus 2.0 (Motic China Group Co., Ltd, Xiamen, Fujian, CHN). As medidas são dadas em micrômetros.

Os espécimes medidos para as análises morfométricas foram depositados como espécimes *vouchers* na coleção de ácaros do Laboratório de Acarologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil e também na coleção de ácaros da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

As medições foram submetidas a análise de variância univariada (PROC ANOVA), seguida por Student-Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ). Para estimar a sobreposição dos caracteres entre as

populações foi utilizada a seguinte variável:  $\Delta x = \text{Minx} - \text{Maxx}$ , onde Minx é a menor medida do carácter x para a população que possui o maior valor médio e Maxx é a maior medida do carácter x para a população que possui o menor valor médio (Tixier 2012).

Análises multivariadas também foram realizadas, sendo inicialmente feita a análise discriminante para avaliar a reidentificação dos espécimes, baseando-se nas variações de cada população. Em seguida, foi feita a análise de variáveis canônicas (AVC) para determinar os padrões de variação morfológica e identificar os caracteres que mais contribuíram para esta variação entre as populações. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software SAS (SAS Institute 2002).

**Cruzamentos.** Os testes de compatibilidade reprodutiva foram feitos com as duas populações de *N. paspalivorus* que mais se distanciaram morfometricamente pela AVC, Paraíba e Rio Grande do Norte.

Para o início dos testes de cruzamentos, aproximadamente 100 fêmeas de *N. paspalivorus* de cada população foram transferidas para novas unidades de criação. Após 24 horas, as fêmeas foram retiradas, e os ovos obtidos durante este período foram mantidos nas unidades de criação para obtenção de indivíduos de mesma idade. A alimentação foi semelhante à das colônias de manutenção. Após cinco dias, as deutoninfas fêmeas resultantes foram individualizadas em unidades experimentais constituídas de um recipiente plástico ( $\text{O}=2 \text{ cm} \times \text{H}=1,8 \text{ cm}$ ), obtidas a partir da Bio-Serv Incorporation (Bioassay Tray 128 células). Os recipientes foram vedados com uma película adesiva transparente de plástico, visando evitar a fuga dos ácaros. De cada população estudada, dez fêmeas virgens foram mantidas isoladas por 10 dias, para verificar se fêmeas não acasaladas ovipositavam. Paralelamente, foram formados 10 casais homogâmicos e 10 casais heterogâmicos com espécimes das populações da Paraíba e Rio Grande do Norte. Os machos foram obtidos das criações de suas respectivas populações. Em caso de morte do macho,

durante o período de observação da oviposição, este era substituído por outro da colônia. Fêmeas resultantes dos cruzamentos heterogâmicos, foram retrocruzadas com machos das populações originais. No interior das unidades experimentais foi fornecido como alimento, a cada dois dias, um fragmento (aproximadamente 1 cm<sup>3</sup>) de epiderme do perianto de frutos infestados com *A. guerreronis*, (aproximadamente 80-100 indivíduos de diferentes estágios). Os casais foram avaliados por 10 dias após o início da oviposição. Para avaliação da razão sexual, a cada três dias os casais eram transferidos para novas unidades experimentais, e os ovos mantidos nas mesmas unidades até a obtenção dos adultos que eram então sexados. As unidades experimentais foram mantidas em câmaras climatizadas a 25 ± 1,0 °C, 75 ± 10% U.R. e 12h de fotofase.

Para avaliar as diferenças entre os cruzamentos e retrocruzamentos foi realizada uma análise de variância (PROC ANOVA) seguida por Student-Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ), usando o programa SAS (SAS Institute, 2002).

**Caracterização molecular.** Dois fragmentos do genoma de cinco populações de *N. paspalivorus* (Ceará, Paraíba, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe) foram sequenciados para o estudo da variabilidade genética. A região intergênica, Espaçador Interno Transcrito (ITS) que abrangeu as regiões ITS1, ITS2 e o gene 5,8S (ITS1-5,8S-ITS2) do genoma ribossômico nuclear (rDNA) e um fragmento do gene *citocromo c oxidase subunidade I (COI)* do genoma mitocondrial (mtDNA). Estes marcadores foram escolhidos para este estudo por serem marcadores independentes e complementares, com taxas evolutivas distintas. A região ITS tem sido utilizada em estudos da família Phytoseiidae, na elucidação de aspectos importantes relacionados à filogenia (Kanouh *et al.* 2010a, Tsolakis *et al.* 2012) e na confirmação do status taxonômico (*e.g.* Gotoh *et al.* 1998, Hillis & Dixon 1991, Navajas & Fenton 2000, Navajas *et al.* 1999). Além de ser utilizada para esclarecer sinonimias e verificar a ocorrência de espécies crípticas em fitoseídeos (Tixier *et al.* 2006a, Tixier *et al.* 2011, 2012b, Navia *et al.* 2014). A região *COI* têm sido utilizada na

confirmação de espécies de fitoseídeos (Tixier *et al.* 2008a, Okassa *et al.* 2009); e na resolução de problemas taxonômicos como sinonímias (Tixier *et al.* 2006ab, Tixier *et al.* 2011b) e presença de espécies crípticas para o gênero *Neoseiulus* (Famah Sourassou *et al.* 2012).

Extração de DNA: O DNA genômico das amostras de *N. paspalivorus* foi extraído de um indivíduo utilizando o kit de extração “DNeasy Blood and Tissue Kit” (Qiagen<sup>®</sup>, USA), seguindo o protocolo para cultura de células animais adaptado à extração de DNA total de pequenos artrópodes, conforme Mendonça *et al.* (2011), com os ajustes incorporados a partir do protocolo descrito por Kanouh *et al.* (2010b). Para cada população, 15 fêmeas foram individualizadas para extração. Os espécimes utilizados na extração de DNA, quando possível, tiveram seu exoesqueleto recuperado da membrana da coluna de extração, sendo montados em lâminas de microscopia em meio de Hoyer. Essas lâminas foram depositadas como espécimes *voucher* na coleção de ácaros do Laboratório de Acarologia da Universidade Federal do Pernambuco, Pernambuco, Brasil e na coleção de ácaros da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

Amplificação através da Reação em Cadeia da Polimerase - PCR (*Polymerase Chain Reaction*): Os primers utilizados para amplificação da região ITS foram 5'-AGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAG-3' (Navajas *et al.* 1999) e 5'-ATATGCTTAAATTCAGCGGG-3' (Navajas *et al.* 1998); e para o fragmento *COI* foram 5'-TGATTTTTTGGTCACCCAGAAG e 5'-TACAGCTCCTATAGATAAAAC, utilizados por Navajas *et al.* (1996).

A reação que permitiu a amplificação da região intergênica ITS de um indivíduo de *N. paspalivorus*, foi adaptada do protocolo proposto por Navia *et al.* (2014). O volume final da reação foi de 25 µL, contendo 2,5 µL de tampão 10x (Qiagen<sup>®</sup>), 0,125 un/µL (5 U/mL) de *Taq* DNA Polymerase (Qiagen<sup>®</sup>), 0,5 µL de dNTP (10 mM), 0,175 µL de cada oligonucleotídeo

iniciador *primer* (10  $\mu$ M), 1  $\mu$ l de  $MgCl_2$  (25 mM), 18,525  $\mu$ L de água MiliQ e 2  $\mu$ L do DNA. O termociclador (Eppendorf – Mastercycler pro S) utilizado na amplificação do DNA foi programado com o seguinte perfil de amplificação: as amostras foram desnaturadas a 94 °C durante 2 min. e submetidas a 30 ciclos de PCR, sendo 15 seg. de desnaturação a 94 °C, 45 seg. de anelamento a 51 °C e 1 min. de extensão a 72 °C, finalizando com um ciclo de 7 min. a 72 °C, baixando a 10 °C até a retirada das amostras.

A reação estabelecida para amplificação do fragmento da região *COI* de um indivíduo de *N. paspalivorus*, foi adaptada do protocolo proposto por Famah Sourassou *et al.* (2012). O volume final da reação foi de 25  $\mu$ L, contendo 2,5  $\mu$ L de tampão 10x (Qiagen<sup>®</sup>), 0,5 un/ $\mu$ L (5 U/mL) de *Taq* DNA Polymerase (Qiagen<sup>®</sup>), 2  $\mu$ L de dNTP (10 mM), 0,5  $\mu$ L de cada oligonucleotídeo iniciador *primer* (10  $\mu$ M), 1  $\mu$ l de  $MgCl_2$  (25 mM), 0,4  $\mu$ L de BSA, 15,6  $\mu$ L de água Depe e 2  $\mu$ L do DNA. O termociclador utilizado na amplificação do DNA foi programado com o seguinte perfil: as amostras foram desnaturadas a 95 °C durante 2 min e submetidas a 30 ciclos de PCR, sendo 2 min. de desnaturação a 92 °C, 1 min. de anelamento a 45 °C e 1 min. e 30 seg. de extensão a 72 °C, finalizando com um ciclo final de 5 min. a 72 °C, baixando a 10 °C até a retirada das amostras. O produto de PCR foi aplicado em gel de agarose a 1% e submetidos a eletroforese para separação e visualização dos fragmentos amplificados. Em seguida, o gel foi corado em solução GelRed<sup>®</sup> (Biotium) e visualizados em transiluminador (BioRad) acoplado a um computador com o programa Image Lab 3.0.

De cada população foram selecionadas quatro a seis amostras com maior intensidade de amplificação para a produção do DNA nas quantidades exigidas para o sequenciamento da região ITS e do fragmento *COI*. O produto de PCR foi enviado para sequenciamento direto em Plataforma ABI PRISM 3730 XL (Applied Biosystems Inc., Lille, França).

Análise das sequências: O alinhamento das sequências ITS (rDNA) e *COI* (mtDNA) foi conduzido pelo método de alinhamento múltiplo CLUSTAL W (Thompson *et al.* 1994) implementado no programa BioEdit. Não foram necessários ajustes manuais para o alinhamento das sequências. As sequências obtidas para cada população foram comparadas com sequências disponíveis no banco de dados americano “National Center for Biotechnology Information - NCBI” (GenBank), através do programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). A distribuição e a frequência das sequências variantes - haplótipos (*COI*) e genótipos (ITS) - para as espécimes de *N. paspalivorus* foram inferidas para os dois fragmentos estudados e estimados pelo programa DnaSP versão 5.10.1 (Librado & Rozas 2009).

## Resultados

**Caracterização morfológica.** Foram observadas diferenças significativas entre as cinco populações de *N. paspalivorus* para a maior parte dos caracteres medidos ( $P > 0,05$ ) (Tabela 2), com exceção da largura do escudo dorsal (LED), tamanho da seta J2 e distâncias entre as bases das setas esternais St1-St1. Sobreposições dos intervalos de variação foram observadas para a maioria dos caracteres estudados, com exceção do carácter St3-St3 entre a população do Rio Grande do Norte e as demais populações estudadas.

Na análise discriminante, as fêmeas provenientes da população do Rio Grande do Norte foram bem definidas, com 100% de identificação em sua população de origem. Para as demais populações essa porcentagem variou de 45% a 75%; sendo as maiores proporções de erros na identificação observadas para as populações do Ceará e do Piauí (Tabela 3).

As duas primeiras variáveis canônicas (CV1 e CV2) explicaram juntas 96,4% da variância total (CV1: 90,5%; CV2: 5,9%) (Fig. 2). Todos os indivíduos da população do Rio Grande do Norte foram plotados ao longo da seção positiva do eixo CV1, enquanto que as demais

populações foram plotados ao longo da seção negativa do mesmo eixo. Portanto, não houve nenhuma sobreposição entre a população do Rio Grande do Norte e as demais populações estudadas, indicando completa distinção morfométrica desta população (Fig. 2). A CV2 separou a população da Paraíba das outras populações estudadas, sendo plotada ao longo da seção positiva, enquanto as demais foram plotadas predominantemente na seção negativa. Apenas uma pequena sobreposição foi observada entre a população Paraíba e as populações do Ceará e Rio Grande do Norte. Houve grande sobreposição entre as populações do Ceará, Piauí e Sergipe, indicando similaridade morfométrica entre estas populações (Fig. 2).

Uma análise dos pesos das primeiras variáveis canônicas (Tabela 4) indicam que o comprimento das setas dorsais e a distância entre setas do escudo esternal são as principais características que diferenciam as populações de *N. paspalivorus*. Os pesos (autovalores) dos caracteres que influenciam as duas primeiras variáveis canônicas (Tabela 4) foram analisados em conjunto com as médias da análise univariada (ANOVA) (Tabela 2). A população de *N. paspalivorus* do Rio Grande do Norte se diferencia das demais por apresentar: maior distância entre as setas esternais St2-St2, St2-St3, maior largura do EVA-Post e menor distância entre as setas esternais St3-St3. A população de *N. paspalivorus* da Paraíba se distinguiu das demais ao longo da CV2 por apresentar maior comprimento das setas dorsais J5, r3, S4, Z4, s5 j5 e da macroseta StIV.

**Cruzamentos.** Fêmeas virgens não ovipositaram durante o período de observação. Nos cruzamentos (homogâmicos e heterogâmicos) e retrocruzamentos, entre as populações de Paraíba e Rio Grande do Norte, todas as fêmeas ovipositaram, com ausência de deformação nos ovos. Não foram observadas diferenças estatísticas entre os parâmetros avaliados (período de pré-oviposição, número de ovos por fêmea, viabilidade total e razão sexual) nos cruzamentos homogâmicos, heterogâmicos e retrocruzamentos.

**Caracterização molecular.** O sequenciamento da região ITS foi obtido para 29 sequências inéditas de *N. paspalivorus* coletados em cinco estados do Nordeste brasileiro (Ceará, Paraíba, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe). A população do Piauí só foi caracterizada para a região ITS. O comprimento do fragmento obtido variou de 613pb a 627pb. As sequências serão depositadas no Genbank, e os números de acesso disponibilizados posteriormente.

A composição média de nucleotídeos nas sequências ITS foi igual a T=32,7%, A=26,3%, C=19,4% e G=21,6%. O alinhamento múltiplo das sequências ITS mostrou ausência de variabilidade genética entre as populações de *N. paspalivorus* estudadas, com a presença de um único genótipo.

Para o fragmento do gene mitocondrial *COI* foram obtidas 10 sequências, representando as populações coletadas no Ceará, Paraíba, Rio Grande do Norte e Sergipe, essas sequências serão depositadas posteriormente no Genbank, e os números de acesso disponibilizados. O fragmento *COI* variou de 390pb a 450pb, correspondendo, respectivamente, às posições 712pb a 1102pb e 712pb a 1162pb no genoma mitocondrial completo do ácaro fitoseídeo *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, disponível no GenBank sob o número de acesso NC014049. As dez sequências *COI* foram alinhadas com êxito. Não foram observadas inserções ou exclusões de nucleotídeos no alinhamento. As sequências *COI* exibiram um perfil na composição de nucleotídeos cuja frequência média das bases foi T=45,71%, A=27,03%, C=10,99% e G=16,26%. A tradução da sequência de nucleotídeo resultou em uma sequência de 146 aminoácidos.

Foi observado pouco polimorfismo entre as dez sequências de *COI*, sendo identificados três haplótipos (H=3). A distância genética variou de 0-0,2%. O haplótipo H1 (n=8) foi coletado no Ceará, Paraíba, Rio Grande do Norte e Sergipe. Outros dois haplótipos (H2 e H3) foram identificados apenas no Ceará. Os haplótipos H2 e H3 apresentaram uma única alteração de

nucleotídeo, sendo a base A no lugar de G na posição 305 para H2 (n=1) e a base G no lugar de T na posição 180 para H3 (n=1).

### Discussão

Variabilidades morfométricas foram observadas entre as populações de *N. paspalivorus* estudadas, com uma clara distinção da população do Rio Grande do Norte. Variabilidade intraespecífica têm sido frequentemente relatada para ácaros fitoseídeos (e.g. Tixier *et al.* 2006ab, 2008bc). Interpretações equivocadas da variação intraespecífica podem levar a erros de identificação e, potencialmente, ocasionar descrições errôneas de novas espécies (Tixier *et al.* 2008b). Visando minimizar possíveis erros de identificação, Tixier (2012) propôs uma abordagem estatística que estabelece limites para distinguir entre variabilidade intra e interespecífica baseada nos comprimentos de setas de fitoseídeos. O estudo foi baseado em 14 espécies de cinco gêneros (*Euseius* Wainstein, *Neoseiulus* Hughes, *Phytoseiulus* Evans, *Kampimodromus* Nesbitt e *Typhlodromus* (*Typhlodromus*) Scheuten). A diferença mínima entre os valores médios de amostras pertencentes a duas espécies distintas devem ser de 10,58  $\mu\text{m}$  (para setas < 65  $\mu\text{m}$ ) e 33,99  $\mu\text{m}$  (para setas > 65  $\mu\text{m}$ ) (Tixier 2012). De acordo com esta abordagem, a variabilidade encontrada entre as populações de *N. paspalivorus* estudadas refletem uma variabilidade intraespecífica. Além disto, as sobreposições dos intervalos de variação dos caracteres encontradas neste trabalho indicam grande semelhança morfológica entre as populações. Apenas para St3-St3 não se observou sobreposição dos intervalos de variação entre a população do Rio Grande do Norte e as demais populações estudadas. Apesar da variabilidade deste caráter na população de *N. paspalivorus* do Rio Grande do Norte, o mesmo apresenta pouca importância na diferenciação das espécies (Chant & McMurtry 2003, Moraes *et al.* 2004). As medições das populações de *N. paspalivorus* estudadas também foram semelhantes às do holótipo (De Leon

1957) e às de outras populações do Sri Lanka (Moraes *et al.* 2004), Benim, Gana e Brasil (Itamaracá) (Famah Sourassou *et al.* 2011).

Vários autores já relataram diferenças morfométricas entre populações da mesma espécie (e.g. Chant 1955, Ragusa & Tsolakis 1994, Tixier *et al.* 2006ab, 2008ab), no entanto, pouco se sabe sobre os fatores que podem causar variabilidade morfométrica em artrópodes. Estudos têm demonstrado que populações de artrópodes da mesma espécie podem sofrer variações morfológicas ao longo de sua distribuição geográfica (Saunders 1982). Em ácaros, casos de variações morfológicas em eriofídeos já foram associados à especificidade hospedeira, e alguns estudos mostraram que os caracteres variam de acordo com a estrutura da planta hospedeira (Skoracka *et al.* 2002). Estudo com ácaros da família Phytoseiidae, *Euseius mesembrinus* (Dean), atribuíram as variações morfológicas encontradas em populações da Flórida e Texas (EUA) a fatores geográficos ou nutricionais, já que foram verificadas apenas em indivíduos provenientes do campo, pois em condições de laboratório, onde as fontes de alimento e outros fatores ecológicos foram controlados a variação não aparece (Abou-Setta *et al.* 1991). Furtado (1997) levantou a hipótese de que o alimento pudesse interferir no tamanho de caracteres de *Euseius citrifolius* Denmark & Muma, sob condições de laboratório. No entanto, não houve nenhuma diferença considerável entre fêmeas criadas em diferentes tipos de alimento. Neste estudo, a população do Rio Grande do Norte foi a que mais se distanciou morfometricamente. Este Estado brasileiro ocupa posição intermediária entre os locais de coletas, logo é provável que a variabilidade encontrada não esteja relacionada à distância geográfica. Muito pouco ainda se sabe sobre a ecologia de *N. paspalivorus*, pois o relato desta espécie no Brasil se limita ao coqueiro, e em associação com *A. guerreronis*. Contudo é provável que *N. paspalivorus* tenha outros hospedeiros e presas ainda desconhecidos, e a ocorrência disto ao longo do litoral do Nordeste pode não ser contínuo e uniforme, uma vez que o clima, sobretudo a precipitação, ao longo do

litoral é variável. Portanto, mais investigações são necessárias, visando elucidar a ecologia desta espécie e os fatores associados à variabilidade morfométrica.

A ausência de oviposição em fêmeas não acasaladas de *N. paspalivorus* confirmam a necessidade da reprodução sexuada para essa espécie (Famah Sourassou *et al.* 2011), assim como para a maioria dos fitoseídeos (Croft 1970, McMurtry 1980, Moraes & McMurtry 1981, Noronha & Moraes 2002, 2004). A inexistência de isolamento reprodutivo entre as populações de *N. paspalivorus* que mais se afastaram morfometricamente (Rio Grande do Norte e Paraíba) reforça a hipótese de que as populações estudadas pertencem a um único táxon, de acordo com o conceito biológico de espécie (Mayr 1977). Estudos anteriores já relataram incompatibilidade reprodutiva entre três populações de *N. paspalivorus* geograficamente distantes (Benim, Gana e Brasil), em decorrência da associação com diferentes endossimbiontes. As populações de Benim e Brasil abrigam diferentes cepas de *Wolbachia*, enquanto a população de Gana abriga *Cardinium* (Famah Sourassou *et al.* 2011, 2014). A ausência de isolamento reprodutivo observada neste trabalho, além de confirmar a coespecificidade entre as populações, pode estar relacionada à ausência de endossimbiontes ou presença da mesma cepa em todas as populações. Portanto, como perspectiva futura, estudos de triagem de endossimbiontes para as populações de *N. paspalivorus* do Nordeste brasileiro devem ser conduzidos, podendo esta informação ser útil no controle biológico de *A. guerreonis*, e evitar a introdução de populações com cepas que causem incompatibilidade reprodutiva.

Além da compatibilidade reprodutiva observada, a caracterização molecular com base no marcador ITS não revelou nenhuma variabilidade genética. Para o *COI*, a distância genética variou de 0-0,2%, que corresponde às distâncias intraespecíficas já relatada em populações de *N. paspalivorus* de Benim, Gana e Brasil, cuja distância entre as populações também variou de 0-0,2% (Famah Sourassou *et al.* 2014), e em outras espécies da família Phytoseiidae (Tixier *et al.*

2008b, Famah Sourassou *et al.* 2012). Apesar da presença de dois haplótipos no Ceará o que sugere maior variabilidade genética entre os exemplares dessa população, é possível que esses dois sítios polimórficos representem um evento único e isolado, e nesse caso a supervalorização do evento deve ser evitada. Além disso, morfometricamente esta população se mostrou uniforme. A baixa variabilidade genética entre as populações estudadas sugere que *N. paspalivorus* não seja uma espécie nativa no Brasil, e que tenha sido introduzida, possivelmente em único evento ou em várias introduções de um mesmo local (Gasparich *et al.* 1997). No entanto, estudos filogenéticos e filogeográficos com a inclusão de mais populações devem ser conduzidos para confirmação dessa hipótese e para designação do centro de origem de *N. paspalivorus*.

Os resultados deste trabalho corroboram a identificação prévia de *N. paspalivorus* para todas as populações estudadas (Ceará, Paraíba, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe), uma vez que o estudo morfométrico, molecular e biológico (compatibilidade reprodutiva) não revelou diferenças relevantes entre as populações. Este estudo salienta a importância da identificação precisa de predadores através da taxonomia integrativa e aplica esta ferramenta na identificação de populações de *N. paspalivorus*. Além disso, contribui para a sistemática de Phytoseiidae, uma vez que fornece informações sobre a variabilidade morfométrica de populações brasileiras de *N. paspalivorus*.

### **Agradecimentos**

Ao Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (REUNI), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia pelo suporte logístico.

### Literatura Citada

- Abou-Setta, M.M., C.C. Childers, H.A. Denmark & H.W. Browning. 1991.** Comparative morphology and reproductive compatibility between populations of *Euseius mesembrinus* (Acari: Phytoseiidae) from Florida and Texas. *Exp. Appl. Acarol.* 10: 213-220.
- Chant, D.A. 1955.** Notes on mites of the genus *Typhlodromus* Scheuten, 1857 (Acarina: Laelaptidae), with descriptions of the male of some species and the female of a new species. *Can. Entomol.* 87: 496-503.
- Chant, D.A. & J.A. McMurtry. 1994.** A review of the subfamilies Phytoseiinae and Typhlodrominae (Acari: Phytoseiidae). *Int. J. Acarol.* 20: 223-310.
- Chant, D.A. & J.A. McMurtry. 2003.** A review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae). Part I. Neoseiulini new tribe. *Int. J. Acarol.* 29: 3-46.
- Chant, D.A. & J.A. McMurtry. 2006.** A review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae) Part IX. An overview. *Int. J. Acarol.* 32: 125-152.
- Croft, B.A. 1970.** Comparative study on four strains of *Typhlodromus occidentalis* (Acarina: Phytoseiidae). I. Hybridization and reproductive isolation studies. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 1559-1563.
- De Leon, D. 1957.** Three new *Typhlodromus* from southern Florida (Acarina: Phytoseiidae). *Fla. Entomol.* 40: 141-144.
- Denmark, H.A. & M.H. Muma. 1978.** Phytoseiidae of Jamaica, an annotated list (Acari: Mesostigmata). *Int. J. Acarol.* 4: 1-22.
- Domingos, C.A., L.O. Oliveira, E.G.F. de Moraes, D. Navia, G.J. de Moraes & M.G.C. Gondim Jr. 2013.** Comparison of two populations of the pantropical predator *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae) for biological control of *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae). *Exp. Appl. Acarol.* 60: 83-93.
- Famah Sourassou, N., R. Hanna, I. Zannou, G.J. de Moraes, K. Negloh & M.W. Sabelis. 2011.** Morphological variation and reproductive incompatibility of three coconut-mite-associated populations of predatory mites identified as *Neoseiulus paspalivorus* (Acari: Phytoseiidae). *Exp. Appl. Acarol.* 53: 323-338.
- Famah Sourassou, N., R. Hanna, I. Zannou, J.A.J. Breeuwer, G.J. de Moraes & M.W. Sabelis. 2012.** Morphological, molecular and cross-breeding analysis of geographic populations of coconut-mite-associated predatory mites identified as *Neoseiulus baraki*: evidence for cryptic species? *Exp. Appl. Acarol.* 57: 15-36.
- Famah Sourassou, N., R. Hanna, J.A.J. Breeuwer, K. Negloh, G.J. de Moraes & M.W. Sabelis. 2014.** The endosymbionts *Wolbachia* and *Cardinium* and their effects in three populations of the predatory mite *Neoseiulus paspalivorus*. *Exp. Appl. Acarol.* 64: 207-221.

- Fernando, L.C.P. & N.S. Aratchige. 2010.** Status of coconut mite *Aceria guerreronis* and biological control research in Sri Lanka, p. 379-384. In M.W. Sabelis & J. Bruin (eds.), Trends in acarology. Springer, Amsterdam, 670p.
- Ferrero, M., G.J. de Moraes, S. Kreiter, M.-S. Tixier & M. Knapp. 2007.** Life tables of the predatory mite *Phytoseiulus longipes* feeding on *Tetranychus evansi* at four temperatures (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). Exp. Appl. Acarol. 41: 45-53.
- Furtado, I.P. 1997.** Biossistemática e biologia de espécies de *Euseius* (Acari: Phytoseiidae) associadas à mandioca. Dissertação de Mestrado, ESALQ/USP, São Paulo, 105p.
- Furtado, I.P., G.J. de Moraes, S. Kreiter, M.-S. Tixier & M. Knapp. 2007.** Potential of a Brazilian population of the predatory mite *Phytoseiulus longipes* as a biological control agent of *Tetranychus evansi* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). Biol. Control 42: 139-147.
- Gasparich, G.E., J.G. Silva, H.Y. Han, B.A. McPheron, G.J. Steck, & W.S. Sheppard. 1997.** Population genetic structure of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) and implications for worldwide colonization patterns. Ann. Entomol. Soc. Am. 90: 790-797.
- Ghai, S. & S.K. Gupta. 1984.** A new species of *Treatia* Krantz and Khot (Acari: Otopheidomenidae) with a new record of *Amblyseius berlese* (Acari: Phytoseiidae) from India. Bull. Zool. Surv. India 6: 171-175.
- Gotoh, T., J. Gutierrez & M. Navajas. 1998.** Molecular comparison of the sibling species *Tetranychus pueraricola* Ehara and Gotoh and *T. urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Entomol. Sci. 1: 55-57.
- Hall, T.A. 1999.** BIOEDIT: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. Nucleic Acids. Symposium Ser. 41: 95-98.
- Haq, M.A. 2001.** Culture and rearing of *Aceria guerreronis* and its predators. Entomon 26: 297-302.
- Hillis, D.M. & M.T. Dixon. 1991.** Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. Q. Rev. Biol. 66: 411-453.
- Kanouh, M., M.-S. Tixier, M. Okassa & S. Kreiter. 2010a.** Phylogenetic and biogeographic analysis of the genus *Phytoseiulus* (Acari: Phytoseiidae). Zool. Scr. 39: 450-461.
- Kanouh, M., M.-S. Tixier, S. Guichou & S. Kreiter. 2010b.** Two synonymy cases within the genus *Neoseiulella* (Acari: Phytoseiidae): is the molecular evidence so evident? Biol. J. Linn. Soc. 101: 323-344.
- Lawson-Balagbo, L.M., M.G.C. Gondim Jr, G.J. de Moraes, R. Hana & P. Schausberger. 2007.** Refuge use by the coconut mite *Aceria guerreronis*: fine scale distribution and association with other mites under the perianth. Biol. Control 43: 102-110.

- Lawson-Balagbo, L.M., M.G.C. Gondim Jr., G.J. de Moraes, R. Hanna & P. Schausberger. 2008. Exploration of the acarine fauna on coconut palm in Brazil with emphasis on *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and its natural enemies. *Bull. Entomol. Res.* 98: 83-96.
- Librado, P. & J. Rozas. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinf.* 25: 1451-1452.
- Lima, D.B., J.W.S. Melo, M.G.C. Gondim Jr. & G.J. de Moraes. 2012. Limitations of *Neoseiulus baraki* and *Proctolaelaps bickleyi* as control agents of *Aceria guerreronis*. *Exp. Appl. Acarol.* 56: 233-246.
- Mayr, E. 1977. Populations, species, and evolution. Cambridge, Harvard University Press, 453p.
- Mendonça, R.S., D. Navia, I.R. Diniz, P. Auger & M. Navajas. 2011. A critical review on some closely related species of *Tetranychus sensu stricto* (Acari: Tetranychidae) in the public DNA sequences databases. *Exp. Appl. Acarol.* 55: 1-23.
- Moore, D. & F.W. Howard. 1996. Coconuts, p. 561-570. In E.E. Lindquist, M.W. Sabelis & J. Bruin (eds.), *Eriophyoid mites: their biology, natural enemies and control*. Amsterdam, Elsevier, 790p.
- Moraes, G.J. de & J.A. McMurtry. 1981. Biology of *Amblyseius citrifolius* (Denmark and Muma) (Acarina-Phytoseiidae). *Hilgardia* 49: 1-29.
- Moraes, G.J. de & J.A. McMurtry. 1985. Comparison of *Tetranychus evansi* and *T. urticae* (Acari: Tetranychidae) as prey for eight species of phytoseiid mites. *Entomophaga* 30: 393-397.
- Moraes, G.J. de, S. Kreiter & A.C. Lofego. 2000. Plant mites (Acari) of the French Antilles. 3. Phytoseiidae (Gamasida). *Acarologia* 40: 237-264.
- Moraes, G.J. de, P.C. Lopes & L.C.P. Fernando. 2004. Phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) of coconut growing areas in Sri Lanka, with descriptions of three new species. *J. Acarol. Soc. Jpn.* 13: 141-160.
- Nair, C.P.R. 2002. Status of eriophyid mite *Aceria guerreronis* Keifer in India, p. 9-12. In L.C.P. Fernando, G.J. de Moraes & I.R. Wickramananda (eds.), *Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (Aceria guerreronis)*. Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.
- Navajas, M., M. Gutierrez & J. Langnel. 1996. Mitochondrial Cytochrome Oxidase I in tetranychid mites: a comparison between molecular phylogeny and change of morphological and life history traits. *Bull. Entomol. Res.* 86: 407-417.
- Navajas, M., J. Langnel, M. Gutierrez & P. Boursot. 1998. Species wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider-mite *Tetranychus urticae* contrasts with extensive mitochondrial *COI* polymorphism. *Heredity* 87: 742-752.

- Navajas, M., J. Lagnel, G. Fauvel & G.J. de Moraes. 1999. Sequence variation of ribosomal Internal Transcribed Spacers (ITS) in commercially important Phytoseiidae mites. *Exp. Appl. Acarol.* 23: 851-859.
- Navajas, M. & B. Fenton. 2000. The application of molecular markers in the study of diversity in Acarology: a review. *Exp. Appl. Acarol.* 24: 751-774.
- Navia, D., M.G.C. Gondim Jr., N.S. Aratchige & G.J. de Moraes. 2013. A review of the status of the coconut mite, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), a major tropical mite pest. *Exp. Appl. Acarol.* 59: 67-94.
- Navia, D., C.A. Domingos, R.S. Mendonça, F. Ferragut, M.A.N. Rodrigues, E.G.F. De Moraes, M.-S. Tixier & M.G.C. Gondim Jr. 2014. Reproductive compatibility and genetic and morphometric variability among populations of the predatory mite, *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae), from Indian Ocean Islands and the Americas. *Biol. Control* 72: 17-49.
- Negloh, K., R. Hanna & P. Schausberger. 2008. Comparative demography and diet breadth of Brazilian and African populations of the predatory mite *Neoseiulus baraki*, a candidate for biological control of coconut mite. *Biol. Control* 46: 523-531.
- Negloh, K., R. Hanna & P. Schausberger. 2010. Season- and fruit age-dependent population dynamics of *Aceria guerreronis* and its associated predatory mite *Neoseiulus paspalivorus* on coconut in Benim. *Biol. Control* 54: 349-358.
- Noronha, A.C.S. & G.J. de Moraes. 2002. Variações morfológicas intra e interpopulacionais de *Euseius citrifolius* Denmark & Muma e *Euseius concordis* Chant (Acari: Phytoseiidae). *Rev. Bras. Zool.* 19: 1111-1122.
- Noronha, A.C.S. & G.J. de Moraes. 2004. Reproductive compatibility between mite populations previously identified as *Euseius concordis* (Acari: Phytoseiidae). *Exp. Appl. Acarol.* 32: 271-279.
- Okassa, M., M.-S. Tixier, B. Cheval & S. Kreiter. 2009. Molecular and morphological evidence for new species status within the genus *Euseius* (Acari: Phytoseiidae). *Can. J. Zool.* 87: 689-698.
- Okassa, M., S. Kreiter, S. Guichou & M.-S. Tixier. 2011. Molecular and morphological boundaries of the predator *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae). *Biol. J. Linn. Soc.* 104: 393-406.
- Ragusa, S. & H. Tsolakis. 1994. Revision of the genus *Kampimodromus* Nesbitt, 1951 (Parasitiformes, Phytoseiidae) with a description of a new species. *Acarologia* 35: 305-322.
- Ramaraju, K., K. Natarajan, P.C.S. Babu, S. Palnisamy & R.J. Rabindra. 2002. Studies on coconut eriophyid mite, *Aceria guerreronis* Keifer in Tamil Nadu, Índia, p. 13-31. In L.C.P. Fernando, G.J. de Moraes & I.R. Wickramananda (eds.), *Proceedings of the International*

- Workshop on Coconut Mite (*Aceria guerreronis*). Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.
- Reis, A.C., M.G.C. Gondim Jr., G.J. de Moraes, R. Hanna, P. Schausberger, P. Schausberger & R. Barros. 2008.** Population dynamics of *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) and associated predators on coconut fruits in northeastern Brazil. *Neotrop. Entomol.* 37: 457-462.
- SAS Institute. 2002.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. Cary, SAS Institute Inc., 943p.
- Saunders, D.S. 1982.** Insect clocks. New York, Pergamom Press, 409p.
- Schicha, E. & L.A. Corpuz-Raros. 1992.** Phytoseiidae of the Philippines. Indira Publishing House, West Bloomfield, Michigan, 190p.
- Silva, F.R., G.J. de Moraes, M.W. Sabelis, R. Hanna, E.G. Estrada Venegas, N.C. Mesa & C. Vasquez. 2010.** The search for natural enemies of the coconut mite (*Aceria guerreronis* Keifer) in Latin America, p. 249-249. In XIII International Congress of Acarology, Recife, Pernambuco.
- Skoracka, A., L. Kuczynski & W. Magowski. 2002.** Morphological variation in different host populations of *Abaracus hystrix* (Acari: Prostigmata: Eriophyoidea). *Exp. Appl. Acarol.* 26: 187-193.
- Staden, R., K.F. Beal & J.K. Bonfield. 1998.** The Staden package, p. 115-130. In S. Misener, S. & S.A. Krawetz (eds.), *Computer Methods in Molecular Biology*. Totowa, The Humana Press Inc, 132p.
- Thompson, J.D., D.G. Higgins & T.J. Gibson. 1994.** Clustal-W improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22: 4673-4680.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, Z. Barbar, S. Ragusa & B. Cheval. 2006a.** The status of two cryptic species: *Typhlodromus exhilaratus* Ragusa and *Typhlodromus phialatus* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae): consequences for taxonomy. *Zool. Scr.* 35: 115-122.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, F. Ferragut & B. Cheval. 2006b.** The suspected synonymy of *Kampimodromus hmiminai* and *Kampimodromus adrianae* (Acari: Phytoseiidae): morphological and molecular investigations. *Can. J. Zool.* 84: 1216-1222.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, B.A. Croft & B. Cheval. 2008a.** *Kampimodromus aberrans* (Acari: Phytoseiidae) from USA: morphological and molecular assessment of its density. *Bull. Entomol. Res.* 98: 125-134

Tabela 1. Nomenclatura utilizada para abreviação dos caracteres morfológicos de *N.*

*paspalivorus*.

Caracteres morfológicos	Abreviatura
Comprimento do escudo dorsal	CED
Largura do escudo dorsal	LED
Comprimento da seta dorsal j1	j1
Comprimento da seta dorsal j3	j3
Comprimento da seta dorsal j4	j4
Comprimento da seta dorsal j5	j5
Comprimento da seta dorsal j6	j6
Comprimento da seta dorsal z2	z2
Comprimento da seta dorsal z4	z4
Comprimento da seta dorsal z5	z5
Comprimento da seta dorsal s4	s4
Comprimento da seta dorsal r3	r3
Comprimento da seta dorsal J2	J2
Comprimento da seta dorsal J5	J5
Comprimento da seta dorsal Z1	Z1
Comprimento da seta dorsal Z4	Z4
Comprimento da seta dorsal Z5	Z5
Comprimento da seta dorsal S2	S2
Comprimento da seta dorsal S4	S4
Comprimento da seta dorsal S5	S5
Comprimento da seta dorsal R1	R1
Comprimento da seta ventral 5	JV5
Distâncias entre as bases das setas esternais 1	St1-St1
Distâncias entre as bases das setas esternais 2	St2-St2
Distâncias entre as bases das setas esternais 3	St3-St3
Distâncias entre as bases das setas esternais 1 e 3	St1-St3
Distâncias entre as bases das setas esternais 2 e 3	St2-St3
Comprimento do escudo ventrianal	EVA-Com
Largura anterior do escudo ventrianal na altura da seta ZV2	EVA-Ant
Largura posterior do escudo ventrianal na altura do ânus	EVA-Post
Distâncias entre as bases das setas genitais	G-G
Comprimento da macroseta do tarso da perna IV	StIV
Comprimento do dígito móvel da quelícera	DM

Tabela 2. Média, erro padrão, e variação de 33 caracteres morfométricos mensurados a partir de fêmeas adultas de cinco

populações brasileiras identificadas como *N. paspalivorus*. (Abreviaturas dos caracteres morfológicos de acordo com a Tabela 1).

Caracteres Morfológicos	Ceará (CE)		Paraíba (PB)		Piauí (PI)		Rio Grande do Norte (RN)		Sergipe (SE)		Holótipo (De Leon 1957)
	Média ±EP	Min-Máx	Média ±EP	Min-Máx	Média ±EP	Min-Máx	Média ±EP	Min-Máx	Média ±EP	Min-Máx	
CED	326,0±2,76b <sup>2</sup>	307,9-357,3	364,2±6,69a	309,7-405,5	332,7±3,26b	301,3-364,5	338,0±2,41b	324,0-367,4	324,6±2,18b	309,5-346,3	340
LED	131,9±1,47a	121,9-146,0	135,4±1,09a	125,9-144,7	132,1±1,67a	119,3-145,9	135,0±1,06a	126,9-142,2	131,2±0,93a	125,6-140,7	140
j1	9,4±0,16b	8,0-10,6	10,4±0,19a	8,5-11,9	9,2±0,11b	8,2-10,0	9,6±0,19b	8,3-11,3	9,5±0,13b	8,4-10,6	11
j3	9,1±0,15b	7,2-10,1	9,9±0,23a	8,0-11,8	9,3±0,19ab	7,8-10,9	9,8±0,14a	8,9-10,8	9,6±0,11ab	8,6-10,5	11
j4	8,0±0,15b	6,4-8,9	8,5±0,15a	7,3-9,6	7,6±0,11b	6,9-8,5	8,0±0,12b	6,8-8,8	7,9±0,12b	7,0-8,9	9
j5	7,8±0,13a	6,9-8,9	8,2±0,18a	7,1-9,8	7,3±0,19b	5,3-8,8	8,1±0,12a	7,0-8,9	7,9±0,12a	7,1-9,1	10
j6	8,4±0,14b	7,2-10,2	9,2±0,14a	8,2-10,4	8,1±0,18b	6,7-9,4	9,0±0,13a	8,1-10,6	8,3±0,15b	7,4-9,7	11
J2	8,7±0,17a	7,6-10,1	9,3±0,29a	6,4-11,8	8,8±0,13a	7,8-9,7	9,3±0,12a	8,0-10,2	9,1±0,14a	7,8-10,3	11
J5	7,6±0,11b	7,0-8,7	8,5±0,21a	6,4-9,9	8,0±0,21ab	6,8-9,9	7,8±0,12b	7,1-8,8	8,0±0,12ab	6,9-8,9	9
z2	9,1±0,18b	7,6-10,7	9,8±0,21a	7,7-11,3	8,7±0,14b	7,9-10,2	9,1±0,14b	7,8-10,3	8,7±0,15b	7,1-9,9	11
z4	9,1±0,13b	8,1-10,4	10,2±0,23a	8,5-12,2	9,1±0,15b	7,7-10,2	9,7±0,14b	8,0-10,5	9,4±0,16b	8,3-10,9	11
z5	7,7±0,14bc	6,7-8,7	8,6±0,17a	6,8-9,4	7,7±0,11bc	6,7-8,8	8,1±0,13b	7,1-9,3	7,6±0,13c	6,4-8,5	9
Z1	9,2±0,17b	8,2-11,1	10,1±0,19a	8,9-12,2	9,2±0,19b	8,0-11,1	9,6±0,18b	8,0-11,4	9,1±0,17b	7,5-10,7	11
Z4	13,6±0,23a	11,4-15,2	14,6±0,32a	11,9-16,7	12,5±0,31b	8,7-14,6	14,2±0,17a	12,8-15,5	13,7±0,23a	11,9-15,4	17
Z5	46,8±0,84b	41,9-58,6	53,6±0,88a	46,3-59,4	48,2±0,67b	43,9-55,7	48,3±0,46b	43,2-51,3	47,2±0,56b	41,0-53,2	52
s4	10,3±0,20bc	8,1-12,0	11,2±0,23a	8,8-12,6	9,9±0,23c	7,9-11,4	10,8±0,14ab	9,3-12,1	10,5±0,16bc	9,0-11,4	12
S2	10,7±0,16b	9,4-11,8	12,4±0,25a	10,2-14,3	10,5±0,20b	8,5-12,5	11,1±0,12b	10,1-12,4	10,8±0,15b	9,9-12,0	14
S4	12,0±0,21b	9,5-13,3	13,3±0,33a	9,1-15,7	12,5±0,17b	10,8-13,8	12,4±0,12b	11,5-13,2	12,3±0,16b	10,7-13,3	15
S5	15,3±0,36c	11,0-17,7	17,7±0,36a	14,8-20,9	15,9±0,36bc	11,0-18,5	16,5±0,19b	14,6-18,0	16,4±0,30b	13,5-18,9	19
r3	10,0±0,18bc	8,6-11,4	11,0±0,15a	9,6-11,9	9,5±0,22c	8,0-12,0	10,3±0,20b	7,7-11,9	10,0±0,20bc	7,9-11,5	11
R1	8,1±0,16bc	6,5-9,7	9,2±0,23a	7,4-11,1	7,9±0,16c	6,7-9,4	8,7±0,14b	7,3-9,6	8,5±0,15b	6,7-10,1	10
StV	16,8±0,26b	14,9-18,5	18,1±0,35a	14,6-20,6	16,4±0,21b	14,9-18,2	16,9±0,29b	15,0-20,7	16,2±0,23b	14,5-18,5	-
St1-St3	80,7±0,40b	78,7-84,4	90,9±1,38a	80,2-99,1	82,1±0,50b	77,1-85,5	83,3±0,44b	80,0-86,8	81,8±0,38b	78,9-85,9	-
St2-St3	34,6±0,38c	31,4-37,5	38,6±0,62b	33,8-42,7	35,1±0,28c	31,9-36,8	50,3±0,28a	48,0-52,5	34,5±0,38c	31,6-37,8	-
EVA-Com	101,1±1,23b	90,9-113,1	113,2±2,43a	90,6-131,9	104,8±1,40b	90,4-117,0	104,8±1,01b	95,2-114,8	99,8±1,13b	90,7-110,9	-
EVA-Ant	76,2±0,86b	70,2-83,3	77,3±0,77ab	69,9-82,0	78,3±1,16ab	66,6-85,6	80,0±0,54a	76,7-86,0	76,3±0,86b	69,8-84,4	-
EVA-Post	71,4±0,85b	64,0-79,2	72,3±0,68ab	66,8-76,7	71,8±0,90ab	64,2-77,8	74,4±0,67a	69,6-80,7	70,9±0,81b	65,4-78,6	-
G-G	54,3±0,61b	49,6-60,5	55,3±0,56ab	50,5-60,7	55,9±0,56ab	50,0-59,5	56,9±0,43a	52,9-60,0	55,1±0,54ab	49,0-59,1	-
DM	23,1±0,16bc	21,9-24,4	25,6±0,42a	22,1-29,1	23,8±0,26b	22,5-27,7	23,9±0,18b	22,8-25,7	22,6±0,21c	21,2-25,0	-
St1-St1	38,1±0,42a	35,4-41,8	38,0±0,24a	36,4-40,3	38,1±0,40a	35,8-43,1	37,4±1,94a	1,0-41,4	38,2±0,39a	33,6-41,2	-
St2-St2	49,4±0,47b	45,8-52,9	49,1±0,29b	46,8-51,0	50,1±0,51b	45,9-54,5	53,2±0,42a	49,7-56,7	49,3±0,24b	46,5-50,6	-
St3-St3	51,9±0,54a	47,5-56,2	52,5±0,56a	49,1-58,3	52,4±0,44a	47,9-55,5	35,0±0,31b	32,6-38,3	52,4±0,40a	49,4-55,6	-
JV5	19,7±0,33d	16,7-22,1	23,9±0,50a	20,0-27,9	20,5±0,29cd	18,2-23,2	21,8±0,31b	18,1-23,8	20,9±0,28bc	19,1-24,5	-

<sup>1</sup>Médias dadas em micrômetros.

<sup>2</sup>Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem significativamente (teste SNK, P > 0,05).

Tabela 3. Identificação baseada na análise discriminante de 33 caracteres morfológicos de fêmeas pertencentes a cinco populações geográficas de *N. paspalivourus*.

Estado	% Bem classificada <sup>1</sup>	Ceará	Paraíba	Piauí	Rio Grande do Norte	Sergipe
Ceará	50	10	2	6	0	2
Paraíba	65	3	13	1	0	3
Piauí	45	8	0	9	0	3
Rio Grande do Norte	100	0	0	0	20	0
Sergipe	75	2	1	2	0	15
Total	67	23	16	18	20	23

<sup>1</sup>Percentagem de indivíduos bem classificados na população de origem.

Tabela 4. Análise de variáveis canônicas para fêmeas de cinco populações de *N. paspalivorus* do nordeste brasileiro. Os primeiros dez caracteres morfológicos (autovetores) com pesos mais elevados (autovalores) para duas variáveis canônicas (CV1 e CV2), em ordem decrescente de valores absolutos.

Caracteres morfológicos	CV1 peso	Caracteres morfológicos	CV2 peso
z5	-0,5707	J2	-0,7396
St2-St3	0,5052	J5	-0,4089
St3-St3	-0,4955	j6	0,4076
St2-St2	0,4909	r3	0,4019
j3	0,2641	StIV	0,3783
R1	0,2628	S4	-0,3348
j1	-0,2534	EVA-Post	-0,2921
J5	0,2469	z4	0,2681
j6	0,2277	s4	-0,2571
EVA-Post	0,2196	j5	0,2546

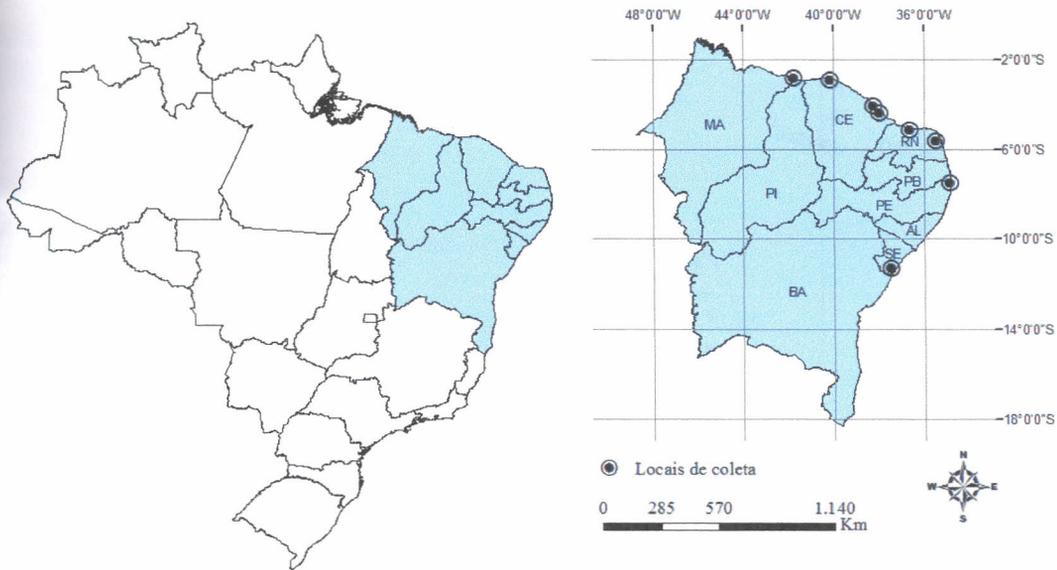


Figura 1. Locais de coletas das populações de *N. paspalivorus* do nordeste brasileiro.

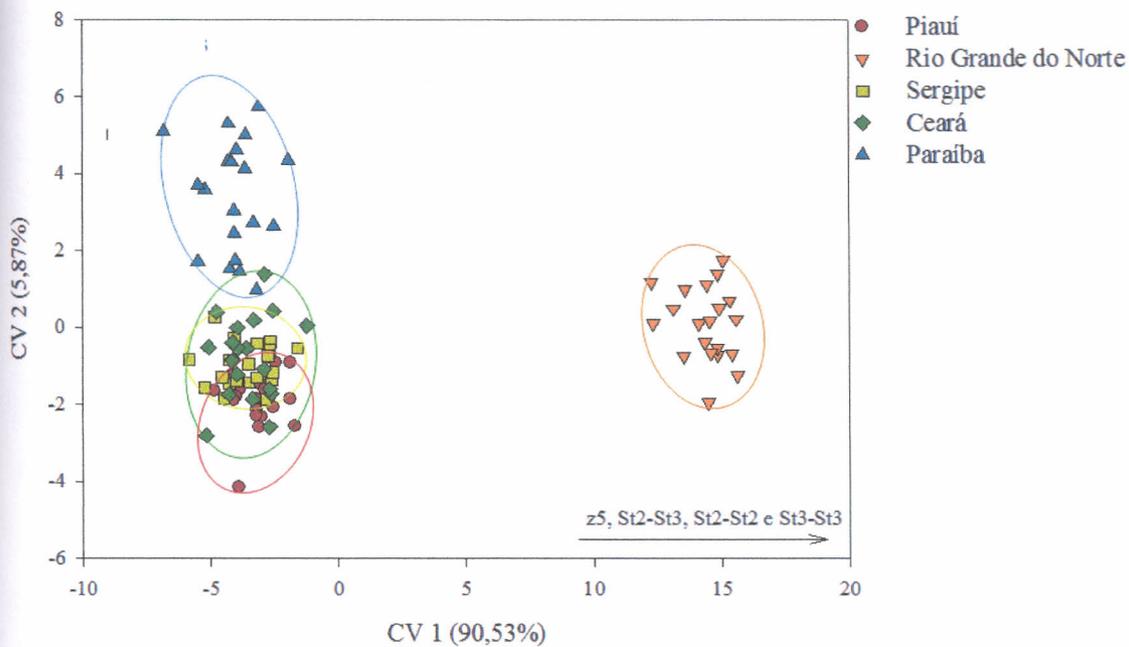


Figura 2. Análise de variáveis canônicas de 33 caracteres morfológicos de fêmeas pertencentes a cinco populações geográficas de *N. paspalivourus*. Círculos formados com base na projeção de indivíduos de cada população para a variável canônica (CV) 1 e 2, a variação explicada pelas duas variáveis canônicas é mostrada entre parênteses.

## CAPÍTULO 4

### TAXONOMIA INTEGRATIVA APLICADA A POPULAÇÕES DO ÁCARO PREDADOR

*Neoseiulus baraki* (ATHIAS-HENRIOT) (PHYTOSEIIDAE)<sup>1</sup>

DANIELA D.M. REZENDE<sup>2</sup>, DENISE NAVIA<sup>3</sup>, RENATA SANTOS DE MENDONÇA<sup>3</sup>, JOSÉ W.S. MELO<sup>2</sup>,

NAYANNIE S. ARATCHIGE<sup>4</sup> E MANOEL G.C. GONDIM JR<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

<sup>3</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, final Av. W5 Norte, s/No., Asa Norte, Caixa Postal 02372, 70770-917 Brasília, DF, Brasil.

<sup>4</sup>Crop Protection Division, Coconut Research Institute of Sri Lanka, Lunuwila 61150, Sri Lanka.

---

<sup>1</sup>Rezende, D.D.M, D. Navia, R.S. Mendonça, J.W.S. Melo, N.S. Aratchige & M.G.C. Gondim Jr. Taxonomia integrativa aplicada a populações de *Neoseiulus baraki* (Athias-Henriot) (Phytoseiidae). A ser submetido.

RESUMO – O ácaro predador *Neoseiulus baraki* (Athias-Henriot) é um potencial agente de controle biológico do ácaro-da-necrose-do-coqueiro, *Aceria guerreronis* Keifer. Estudos recentes apontam a ocorrência de espécies crípticas entre populações da África e do Brasil identificadas como *N. baraki*. Assim, os objetivos deste estudo foram confirmar o status taxonômico de populações brasileiras e asiáticas identificadas como *N. baraki*, e conhecer a variabilidade entre ela. Além disso, comparar geneticamente essas populações com outras de origem africana. Foram estudadas seis populações brasileiras (Alagoas, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte) e duas da Ásia (Sri Lanka). Para isso, a variabilidade morfológica entre as populações foi avaliada através de análises morfométricas de 33 caracteres morfológicos. A compatibilidade reprodutiva das populações brasileiras que mais se distanciaram morfometricamente (Pernambuco e Rio Grande do Norte) foi avaliada através de cruzamentos e retrocruzamentos. Além disso, as populações brasileiras foram comparadas com populações asiáticas, e africanas (Benim e Tanzânia), com base em dados moleculares de dois fragmentos de DNA: ITS rDNA (exceto África) e *COI* mtDNA. Foi observada variabilidade morfométrica intraespecífica entre as populações de *N. baraki*. Os cruzamentos e retrocruzamentos envolvendo as populações do Rio Grande do Norte e Pernambuco revelaram compatibilidade reprodutiva. A análise molecular indicou variabilidade intraespecífica entre as populações de *N. baraki*, exceto para a população de Benim que apresentou variabilidade interespecífica. Em conclusão, os resultados indicaram que as populações de *N. baraki* do Brasil, Ásia e África (Tanzânia) pertencem a mesma espécie e a população de Benim a uma espécie distinta.

PALAVRAS-CHAVE: *Aceria guerreronis*, controle biológico, morfometria, marcador molecular, cruzamentos, taxonomia integrativa

## INTEGRATIVE TAXONOMY APPLIED TO POPULATIONS OF PREDATOR MITE

### *Neoseiulus baraki* (ATHIAS-HENRIOT) (PHYTOSEIIDAE)

ABSTRACT - The predatory mite *Neoseiulus baraki* (Athias-Henriot) is a promising agent for biological control of coconut mite, *Aceria guerreronis* Keifer. Recent studies have indicated the occurrence of cryptic species among populations from Africa and Brazil identified as *N. baraki*. Thus, their main objectives were to confirm the taxonomic status of Brazilian and Asian populations identified as *N. baraki*, and know the variability between them. In addition, compare these populations genetically with others of African origin. Six Brazilian populations (Alagoas, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco and Rio Grande do Norte) and two from Asia (Sri Lanka) were studied. For this, the morphological differences between populations were assessed by morphometric analysis of 33 morphological characters. Reproductive compatibility of populations most diverged morphometrically (Pernambuco and Rio Grande do Norte) was evaluated through crosses and backcrosses. Furthermore, Brazilian populations were compared with Asian and African (Benin, Tanzania) populations, based on molecular data from two DNA fragments: ITS rDNA (except Africa) and COI mtDNA. Intraspecific morphological variability among populations of *N. baraki* was observed. The crosses and backcrosses involving populations of Rio Grande do Norte and Pernambuco shown reproductive compatibility. Molecular analysis showed intraspecific variability among populations of *N. baraki* except for the population from Benin. In conclusion, the results indicated that populations of *N. baraki* from Brazil, Asia and Africa (Tanzania) belong to the same species, and the population of Benin to a distinct species.

KEY WORDS: *Aceria guerreronis*, biological control, morphology, molecular markers, crosses, integrative taxonomy

## Introdução

O ácaro-da-necrose-coqueiro, *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae), é uma das pragas mais importantes desta palmeira (*Cocos nucifera* L.) em todo mundo (Moore & Howard 1996, Navia *et al.* 2013). Devido ao tamanho diminuto (aproximadamente 150 µm de comprimento), este consegue penetrar no perianto a partir da fecundação dos frutos, onde alimenta-se e forma colônias, causando necrose, redução de tamanho, deformação e abortamento dos frutos (Moore & Alexander 1987, Haq *et al.* 2002, Navia *et al.* 2013). Os predadores de *A. guerreronis* (ácaros das famílias Phytoseiidae e Melicharidae) não conseguem acessar este refúgio simultaneamente com sua presa (Lima *et al.* 2012). A maioria dos ácaros predadores comumente associados ao coqueiro, dentre eles *Amblyseius largoensis* (Muma), *Euseis alatus* (De Leon), *Proctolaelaps bickleyi* (Bram) e *Proctolaelaps bulbosus* Moraes, Reis and Gondim Jr. (Lawson-Balagbo *et al.* 2008) são retidos fora do perianto, não conseguindo ultrapassar o pequeno espaço que existe entre a extremidade das brácteas e a superfície dos frutos, Entretanto, algumas espécies de menor dimensão, como *Neoseiulus baraki* (Athias-Henriot), conseguem penetrar no perianto (Lima *et al.* 2012).

O ácaro *N. baraki* é uma das espécies da família Phytoseiidae encontrada com maior frequência em associação a *A. guerreronis* nas Américas (Lawson-Balagbo *et al.* 2008, Reis *et al.* 2008, Silva *et al.* 2010), África (Negloh *et al.* 2008, 2011) e Ásia (Fernando *et al.* 2004, 2010). *Neoseiulus baraki* foi descrito a partir de amostras coletadas em plantas do gênero *Phalaris* sp. (Poaceae) em Alger, Algeria (Athias-Henriot 1966). Posteriormente, foi relatado no continente asiático: Tailândia (Ehara & Bhandhufalck, 1977), Taiwan (Tseng 1983), China (Wu *et al.* 1991) e Sri Lanka (Moraes *et al.* 2004), onde foi encontrado associado a *A. guerreronis* em plantas de coqueiro. Na África foi primeiro relatado em Moçambique, em mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) (Zannou *et al.* 2005). Um ano depois, foi relatado também no Quênia em *Lantana camara*

L., Benim em *Andropogon gayanus* Kunth e *Pennisetum pedicellatum* Trin., e em Burundi em *Setaria* sp. (Zannou *et al.* 2006). Recentemente, foi relatado na Tanzânia em coqueiro (Famah Sourassou *et al.* 2012). Nas Américas, *N. baraki* foi relatado em Cuba, em cultivos de arroz (*Oriza sativa* L.) (Ramos & Rodriguez 2004); no Panamá e em Costa Rica, em associação a *Stenotarsonemus spinki* Smiley (Tarsonemidae), em plantios de arroz (Quirós-McIntire & Rodríguez 2010, Rodríguez-Morell *et al.* 2013). No Brasil, onde-se encontra amplamente distribuído e em associação com *A. guerreronis* em coqueiro, sendo relatado nos Estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Pará, Paraíba, Pernambuco e Maranhão (Lawson-Balagbo *et al.* 2008).

A acurada identificação de inimigos naturais é fundamental em programas de controle biológico, pois identificações imprecisas podem resultar em insucessos (Moraes 1987). No entanto, a identificação de ácaros fitoseídeos é normalmente feita com base apenas em caracteres morfológicos (*e.g.* Chant & McMurtry 1994, 2006). Estudos recentes têm constatado variações intraespecíficas superiores ao esperado para o comprimento de cerdas dorsais, o que coloca em questionamento a validade de algumas espécies e a confiabilidade dos caracteres atualmente utilizados para diferenciá-los (Tixier *et al.* 2006ab, 2008ab, 2011). A utilização exclusiva da morfologia pode ser limitante na identificação de espécies. Variações podem ser constatadas ao nível biológico e genético (Famah Sourassou *et al.* 2012), como a ocorrência de espécies crípticas, já observadas em Phytoseiidae (Tixier *et al.* 2006a, Famah Sourassou *et al.* 2012).

A utilização de uma abordagem integrativa, unindo o estudo das variações genéticas e biológicas em complemento aos estudos morfológicos, tem auxiliado em estudos taxonômicos de ácaros da família Phytoseiidae, sobretudo na resolução de problemas taxonômicos, como a existência de sinônimas e a presença de espécies crípticas. Famah Sourassou *et al.* (2012) relataram variabilidade morfométrica, diferença molecular ao nível de espécie e incompatibilidade

reprodutiva entre populações de *N. baraki* oriundas de Benim e Tanzânia (África) e Brasil (América do Sul), concluindo que se tratava de espécies crípticas.

O objetivo deste trabalho foi confirmar o status taxonômico de populações brasileiras e asiáticas identificadas como *N. baraki*, conhecer a variabilidade entre as mesmas, e comparar geneticamente essas populações com outras de origem africana. Para isso, foi utilizada a integração de uma avaliação morfométrica (por meio de análises univariadas e multivariadas), biológica (testes de cruzamentos e retrocruzamentos para avaliar a compatibilidade reprodutiva entre as populações brasileiras) e molecular, utilizando os marcadores: ITS (rDNA) e *COI* (mtDNA).

### Material e Métodos

**Obtenção, identificação, criação e preservação dos ácaros para as análises.** Foram realizadas coletas de frutos de coqueiro com sintomas de danos de *A. guerreronis* em todos os estados do nordeste brasileiro, cobrindo uma extensão de aproximadamente 3000 Km ao longo do litoral. Foram amostradas aproximadamente 10 plantas por localidade. As coordenadas geográficas de cada local de coleta, no Brasil, foram obtidas com o auxílio de um Global Positioning System (GPSMAP<sup>®</sup> 60CSx), para confecção do mapa de pontos de coleta pelo programa Diva-Gis (Fig. 1).

Os frutos coletados foram colocados em sacos plásticos, e armazenados em caixa de isopor durante o transporte até o laboratório, por um período de no máximo dois dias. No laboratório, os frutos foram armazenados em refrigerador, a aproximadamente 8 °C, por no máximo sete dias, até o processamento. Os ácaros foram coletados abaixo do perianto com auxílio de pincel e de um microscópio estereoscópico. Cerca de dez fêmeas de fitoseídeos de cada localidade foram montadas em lâminas de microscopia em meio Hoyer. Estas foram mantidas em estufa de

secagem ( $\pm 60$  °C) por cinco dias e, posteriormente, observadas em microscópio óptico Olympus BX41 (Olympus Corporation, Tóquio, Japão). A identificação morfológica foi realizada consultando a descrição original (Athias-Henriot 1966) e outras publicações (Chant & McMurtry 2003, Moraes *et al.* 2004). Quando os fitoseídeos foram classificados como *N. baraki*, deu-se continuidade ao processamento da amostra. Dentre os nove estados do nordeste brasileiro onde foram efetuadas coletas, *N. baraki* foi encontrado em seis: Alagoas, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte (Fig. 1).

As populações do Sri Lanka foram coletadas e enviadas pela pesquisadora N.S. Aratchige da "Coconut Research Institute of Sri Lanka". Os espécimes foram coletados em duas localidades do Distrito de Puttalam: Lunuwila ( $7^{\circ} 20' 46''N$ ,  $79^{\circ} 51' 48''L$ ) e Mundel ( $7^{\circ} 48' 05''N$ ,  $79^{\circ} 48' 26''L$ ), e acondicionadas em álcool etílico 70% e absoluto, para caracterização morfométrica e molecular, respectivamente. Os espécimes de Mundel foram armazenados apenas para a caracterização molecular, devido ao número restrito de espécimes coletados nesta região.

Foram estabelecidas criações de cada população de *N. baraki* do Nordeste brasileiro, com um número inicial de 100 indivíduos cada, as quais foram mantidos isolados em incubadoras (Tipo B.O.D.) sob condições controladas ( $25,0 \pm 1,0$  °C;  $70 \pm 10\%$  U.R. e 12 horas de fotofase). A unidade de criação foi constituída de poliestireno preto (PVC) de 1 mm de espessura, papel filtro, espuma de polietileno de 1 cm de espessura e placa de Petri, todos sobrepostos nesta sequência e com 16 cm diâmetro. O PVC foi contornado com algodão hidrófilo e mantido permanentemente úmido pela adição diária de água destilada, para evitar a fuga dos ácaros. Foram fornecidos como alimento aos predadores, cinco fragmentos (aproximadamente  $1 \text{ cm}^3$ ) da epiderme do perianto de frutos de coqueiro infestados com *A. guerreronis* (aproximadamente 80-100 indivíduos de diferentes estágios), a cada dois dias. Foram retiradas 25 fêmeas de cada criação, para as análises morfométricas e montadas em lâminas de microscopia em meio Hoyer.

Para as análises moleculares, foram retiradas 15 fêmeas, as quais foram acondicionadas em álcool etílico absoluto no interior de tubos eppendorf (2 ml), e mantidas em freezer a -20 °C.

**Caracterização morfológica.** A caracterização morfológica foi realizada para sete populações de *N. baraki* coletadas no Brasil (Alagoas, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte) e uma do Sri Lanka (Lunuwila). Para cada população estudada foram selecionadas e medidas 20 fêmeas adultas de *N. baraki*, exceto para a população do Sri Lanka, da qual foram medidas 15 fêmeas. As medições foram realizadas em microscópio óptico Olympus BX41 (Olympus Corporation, Tóquio, Japão) com aumento de 400x acoplado a um microcomputador para o procedimento de captura das imagens pelo programa Honestech TVR 2.5 (Honestech Inc., Austin, Texas, EUA). Foram mensurados 33 caracteres utilizando o software Motic Images Plus 2.0 (Motic China Group Co., Ltd, Xiamen, Fujian, CHN), a nomenclatura segue Lindquist & Evans (1965). As medidas são apresentadas em micrômetros.

Os espécimes medidos para as análises morfológicas foram depositados como espécimes *vouchers* na coleção de ácaros do Laboratório de Acarologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil e na coleção de ácaros da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

As medições foram submetidas a uma análise de variância univariada (PROC ANOVA), seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ). Para estimar a sobreposição dos caracteres entre as populações foi utilizado a seguinte variável:  $\Delta x = \text{Minx} - \text{Maxx}$ , onde Minx é a menor medida do carácter x para a população que possui o maior valor médio e Maxx é a maior medida do carácter x para a população que possui o menor valor médio (Tixier 2012).

Análises multivariadas também foram realizadas, sendo inicialmente feita uma análise de componentes principais (ACP), para examinar possíveis descontinuidade morfológicas entre os espécimes estudados. Em seguida, foi feita uma análise de variáveis canônicas (AVC) para

determinar os padrões de variação morfológica e identificar os caracteres que mais contribuíram para esta variação entre as populações. Por último foi realizada uma análise discriminante para avaliar a reidentificação dos dados, baseando-se nas variações de cada população. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software SAS (SAS Institute 2002).

**Cruzamentos.** Os testes de compatibilidade reprodutiva foram feitos para duas populações brasileiras de *N. baraki* previamente selecionadas a partir dos resultados obtidos na análise morfométrica. Foram selecionadas as duas populações que mais se distanciaram morfometricamente pela AVC (Pernambuco e Rio Grande do Norte).

Para o início dos testes de cruzamentos, aproximadamente 100 fêmeas de *N. paspalivorus* de cada população foram transferidas para novas unidades de criação. Após 24 horas as fêmeas foram retiradas, e os ovos obtidos foram mantidos nas unidades de criação para obtenção de indivíduos de mesma idade. A alimentação foi semelhante a das colônias de manutenção. Após cinco dias, as deutoninfãs fêmeas resultantes foram individualizadas em unidades experimentais constituídas de um recipiente plástico ( $\varnothing=2$  cm x H=1,8 cm), obtidas a partir da Bio-Serv Incorporation (Bioassay Tray<sup>®</sup> 128 células). Os recipientes foram vedados com uma película adesiva transparente de plástico, visando evitar a fuga dos ácaros. Dez fêmeas virgens, de cada população estudada, foram mantidas isoladas por 10 dias, para verificar se estas ovipositavam. Paralelamente, foram formados 10 casais homogâmicos e 10 casais heterogâmicos com espécimes das populações Pernambuco e Rio Grande do Norte. Os machos foram obtidos das criações de suas respectivas populações. Para os cruzamentos heterogâmicos que geraram descendentes fêmeas, foram feitos retrocruzamentos destas com machos das populações originais. Em caso de morte do macho, durante o período de observação da oviposição, este foi substituído por outro da colônia. No interior das unidades experimentais foi fornecido como alimento, a cada dois dias, um fragmento (aproximadamente 1 cm<sup>3</sup>) de epiderme do perianto de frutos infestados com *A.*

*guerreronis*, (aproximadamente 80-100 indivíduos de diferentes estágios). Os casais foram avaliados por 10 dias após o início da oviposição. A cada três dias, os casais foram transferidos para novas unidades experimentais, e os ovos obtidos foram mantidos nas mesmas unidades até os indivíduos atingirem a fase adulta para determinação da razão sexual. As unidades experimentais foram mantidas em câmaras climatizadas a  $25 \pm 1,0$  °C,  $75 \pm 10\%$  U.R. e 12h de fotofase. Para avaliar as diferenças entre os cruzamentos e retrocruzamentos foi realizada uma análise de variância (PROC ANOVA) seguida por Student-Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ) usando o programa SAS (SAS Institute, 2002).

**Caracterização molecular.** A variabilidade genética e as relações filogenéticas entre populações de *N. baraki* foram estudadas a partir de sete populações da região nordeste do Brasil (Alagoas, Ceará, Maranhão, Piauí, Paraíba, Pernambuco, e Rio Grande do Norte), duas do Sri Lanka (Lunuwila e Mundel) e duas da África (Benim e Tanzânia) para dois fragmentos do genoma. A região intergênica, Espaçador Interno Transcrito (ITS) que abrangeu as regiões ITS1, ITS2 e o gene 5,8S (ITS1-5,8S-ITS2) do genoma ribossômico nuclear (rDNA) (exceto Piauí e África) e um fragmento do gene *citocromo c oxidase subunidade I (COI)* do genoma mitocondrial (mtDNA). A região ITS tem sido utilizada em estudos da família Phytoseiidae, na elucidação de aspectos importantes relacionados à filogenia (Kanouh *et al.* 2010a, Tsolakis *et al.* 2012); e na confirmação do status taxonômico (*e.g.* Gotoh *et al.* 1998, Hillis & Dixon 1991, Navajas & Fenton 2000, Navajas *et al.* 1999). Além de ser utilizada para esclarecer sinonímias e ocorrência de espécies crípticas em fitoseídeos (Tixier *et al.* 2006a, Tixier *et al.* 2011, 2012a, Navia *et al.* 2014). A região COI têm sido utilizada na confirmação do status taxonômico em fitoseídeos (Tixier *et al.* 2008a, Okassa *et al.* 2009); e na resolução de problemas taxonômicos como sinonímias (Tixier *et al.* 2006ab, Tixier *et al.* 2012a) e presença de espécies crípticas para o gênero *Neoseiulus* (Famah

Sourassou *et al.* 2012). Estes marcadores foram escolhidos porque são independentes e complementares com taxas evolutivas distintas.

Extração de DNA: O DNA genômico foi extraído de seis populações de *N. baraki* do nordeste do Brasil (Alagoas, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, e Rio Grande do Norte) e duas do Sri Lanka (Lunuwila e Mundel). A extração foi realizada utilizando o kit de extração “DNeasy Blood and Tissue Kit” (Qiagen<sup>®</sup>), seguindo o protocolo para cultura de células animais adaptado à extração de DNA total de pequenos artrópodes conforme Mendonça *et al.* (2011) com os ajustes incorporados a partir do protocolo descrito por Kanouh *et al.* (2010b). Para cada população 15 fêmeas foram individualizadas para extração. Os espécimes utilizados na extração de DNA, quando possível, tiveram seu exoesqueleto recuperado da membrana da coluna de extração e foram montados em lâminas de microscopia em meio de Hoyer. Essas lâminas foram depositadas como espécimes *voucher* na coleção de ácaros do Laboratório de Acarologia da Universidade Federal do Pernambuco, Pernambuco, Brasil e na coleção de ácaros da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Amplificação através da Reação em Cadeia da Polimerase - PCR (Polymerase Chain Reaction): Os primers utilizados para amplificação da região ITS foram 5'-AGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAG-3' (Navajas *et al.* 1999) e 5'-ATATGCTTA AATTCAGCGGG-3' (Navajas *et al.* 1998); e para o fragmento *COI* os primers 5'-TGATTTTTTGGTCACCCAGAAG e 5'-TACAGCTCCTATAGATA AAAC (Navajas *et al.* 1996).

A reação que permitiu a amplificação da região ITS de um indivíduo de *N. barak*, foi adaptada do protocolo proposto por Navia *et al.* (2014). O volume final da reação foi de 25 µL contendo 2,5 µL de tampão 10x (Qiagen<sup>®</sup>), 0,125 un/µL (5 U/mL) de *Taq* DNA Polymerase (Qiagen<sup>®</sup>), 0,5 µL de dNTP (10 mM), 0,175 µL de cada oligonucleotídeo iniciador *primer* (10

$\mu\text{M}$ ), 1  $\mu\text{l}$  de  $\text{MgCl}_2$  (25 mM), 18,525  $\mu\text{L}$  de água MilliQ e 2  $\mu\text{L}$  do DNA. O termociclador (Eppendorf – Mastercycler pro S) utilizado na amplificação do DNA foi programado com o seguinte perfil de amplificação: as amostras foram desnaturadas a 94 °C durante 2 min. e submetidas a 30 ciclos de PCR, sendo 15 seg. de desnaturação a 94 °C, 45 seg. de anelamento a 51 °C e 1 min. de extensão a 72 °C, finalizando com um ciclo de 7 min. a 72 °C, baixando a 10 °C até a retirada das amostras.

A reação para amplificação do fragmento da região *COI* de um indivíduo de *N. baraki*, foi adaptada do protocolo proposto por Famah Sourassou *et al.* (2012). O volume final da reação foi de 25  $\mu\text{L}$ , contendo 2,5  $\mu\text{L}$  de tampão 10x (Qiagen®), 0,5 un/ $\mu\text{L}$  (5 U/mL) de *Taq* DNA Polymerase (Qiagen®), 2  $\mu\text{L}$  de dNTP (10 mM), 0,5  $\mu\text{L}$  de cada oligonucleotídeo iniciador (*primer*) (10  $\mu\text{M}$ ), 1  $\mu\text{l}$  de  $\text{MgCl}_2$  (25 mM), 0,4  $\mu\text{L}$  de albumina de soro bovino (BSA) (10 mg/mL), 15,6  $\mu\text{L}$  de água Depc e 2  $\mu\text{L}$  do DNA. O termociclador utilizado na amplificação do DNA foi programado com o seguinte perfil: as amostras foram desnaturadas a 95 °C durante 2 min e submetidas a 30 ciclos de PCR, sendo 2 min. de desnaturação a 92 °C, 1 min. de anelamento a 45 °C e 1 min. e 30 seg. de extensão a 72 °C, finalizando com um ciclo final de 5 min. a 72 °C, baixando a 10 °C até a retirada das amostras. O produto de PCR foi aplicado em gel de agarose a 1% e submetido a eletroforese para separação e visualização dos fragmentos amplificados. Em seguida, o gel foi corado em solução GelRed® (Biotium) e visualizados em transiluminador (BioRad) acoplado a um computador com o programa Image Lab 3.0.

De cada população foram selecionadas quatro a seis amostras com maior intensidade de amplificação para a produção do DNA nas quantidades exigidas para o sequenciamento da região ITS e do fragmento *COI*. O produto de PCR foi enviado para sequenciamento direto em Plataforma ABI PRISM 3730 XL (Applied Biosystems Inc., Lille, França).

Análises e edição das sequências: O programa BioEdit versão 7.0.4 (Hall, 1999) foi utilizado para a análise dos eletroferogramas e das sequências brutas. A edição da sequência consenso foi realizada com o auxílio do programa Staden Package versão 1.6.0 (Staden *et al.* 1998). O alinhamento das sequências ITS (rDNA) e *COI* (mtDNA) foi conduzido pelo método de alinhamento múltiplo CLUSTAL W (Thompson *et al.* 1994) implementado no programa BioEdit. Não foram necessários ajustes manuais para o alinhamento das sequências. As sequências obtidas para cada população foram comparadas com sequências disponíveis no GenBank através do programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). A distribuição e a frequência das sequências variantes - haplótipos (*COI*) e genótipos (ITS) - para as espécies de *Neoseiulus* incluídas no estudo foram inferidas para os dois fragmentos estudados e estimados pelo programa DnaSP versão 5.10.1 (Librado & Rozas 2009).

Análises filogenéticas: Nas análises filogenéticas para a região ITS, além de populações de *N. baraki* coletadas no Brasil e Sri Lanka foram incluídas sequências de populações de *N. paspalivorus*, espécie próxima de *N. baraki*, provenientes de cinco estados do Nordeste brasileiro: Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Piauí e Sergipe (Cap. 3) (Tabela 1). As sequências da região ITS de *N. baraki* e *N. paspalivorus* obtidas nesse estudo são as primeiras depositadas no banco de dados americano “National Center for Biotechnology Information - NCBI” (GenBank). No total foram analisadas oito populações de *N. baraki*. Outras espécies de *Neoseiulus* recuperadas do GenBank foram adicionadas ao conjunto de dados para o marcador ITS: *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Kanouh *et al.* 2010, Tsolakis *et al.* 2012) e *Neoseiulus idaeus* Denmark & Muma (Okassa *et al.* 2011, Tsolakis *et al.* 2012) (Tabela 1). Sequências de outros fitoseídeos foram incluídas na análise para orientar a definição dos limites de divergência que sugerem a presença de linhagem dentro de *N. baraki*. Os agrupamentos observados na filogenia nortearam a definição dos grupos para o cálculo da distância inter e intraespecífica e possibilitaram a comparação dos

valores obtidos para grupos conhecidos com os valores do grupo investigado. Assim, além de sequências de espécies de *Neoseiulus*, foram inseridas sequências do gênero *Euseius* (Phytoseiidae: Amblyseiinae): *Euseius stipulatus* (Athias-Henriot) (Pérez-Sayas *et al.* 2011), *Euseius concordis* (Chant) (Navajas *et al.* 1999), *Euseius finlandicus* (Oudemans) (Yli-Mattila *et al.* 2000), *Euseius sojaensis* (Ehara) (Sonoda *et al.* 2012), *Euseius ovalis* (Evans) (Pham *et al.* não publicado, Tixier *et al.* 2012b, Tsolakis *et al.* 2012), *Euseius nicholsi* (Ehara & Lee) (Yang *et al.* 2012, Xia *et al.* não publicado) e uma sequência no gênero *Typhlodromus* (Phytoseiidae: Typhlodrominae), *Typhlodromus (Typhlodromus) phialatus* Athias-Henriot (Tsolakis *et al.* 2012) (Tabela 1). As espécies selecionadas como grupo externo na filogenia foram as mesmas indicadas em Tixier *et al.* (2012) e pertencem a família Laelapidae: *Tropilaelaps koenigerum* Delfinado-Baker & Baker e *Tropilaelaps thaii* (Anderson & Morgan) (Tabela 1). Todas as sequências ITS do conjunto de dados se alinham com as sequências dos espécimens *voucher* definidos em Tixier *et al.* (2012).

Nas análises filogenéticas para o fragmento do gene *COI* (mtDNA), foi possível a comparação das populações do Brasil e Sri Lanka, obtidas nesse estudo, com as de Benim e Tanzânia (Famah Sourassou *et al.* 2012). Foram adicionadas no alinhamento sequências de uma população do Piauí (Brasil). Populações de *N. paspalivorus*, coletadas em quatro estados do nordeste brasileiro (Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Sergipe) foram sequenciadas (Cap. 3) e incluídas no conjunto de dados, juntamente com sequências de *N. californicus* (Hinomoto *et al.* 2010) recuperadas do GenBank (Tabela 2). Como nas análises da região ITS, sequências de outros taxa de Amblyseiinae foram agregadas: *E. stipulatus*, *Euseius gallicus* Kreiter & Tixier e *E. finlandicus* (Okassa *et al.* 2009) (Tabela 2). Todas as sequências *COI* (mtDNA) das espécies selecionadas para compor o conjunto de dados agruparam-se no mesmo clado que o fragmento correspondente do gene *COI* do genoma mitocondrial completo de *Phytosiulus persimilis* Athias-

Henriot (Dermauw *et al.* 2010) (NC014049) disponível no GenBank (Filogenia não apresentada). O alinhamento correspondeu às posições 712 e 1122 pb do genoma de *P. persimilis*. Sequências de espécies do gênero *Typhlodromus* não foram incluídas nas análises de *COI* (mtDNA) por que a maioria encontra correspondência com a sequência do genoma completo de *P. persimilis* entre as posições 50 e 711 pb (Tixier *et al.* 2012b), portanto, em uma faixa diferente das sequências obtidas nesse estudo. Duas sequências de *Typhlodromus* depositadas no GenBank (Tixier *et al.* 2008, Roy *et al.* 2009) que embora localizadas na mesma região, apresentaram uma faixa de sobreposição muito pequena com a sequência *COI* de *P. persimilis*, 250 pb e 301 pb, respectivamente. Por esse motivo, *Typhlodromus* não foi incluído nas análises *COI*. A espécie *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) (Walter & Campbell 2003) da família Laelapidae foi selecionada como grupo externo (Tixier *et al.* 2012b) (Tabela 2).

As análises filogenéticas das sequências ITS e *COI* foram conduzidas nos programas MEGA versão 6 (Tamura *et al.* 2013), jModeltest versão 3.7 (Darriba *et al.* 2012) e PhyML versão 3.0 (Guindon *et al.* 2010). Primeiramente, foi selecionado o modelo evolutivo para cada um dos fragmentos com o auxílio do programa jModeltest versão 3.7 (Darriba *et al.* 2012). O número de substituições de nucleotídeos foi ajustado para 11, de forma que o melhor modelo para os dados moleculares foi procurado entre os 88 modelos possíveis. O critério de informação Akaike (Akaike 1973), Akaike corrigido (Sugiura 1978, Hurvich & Tsai 1989), e de informação Bayesiana (Schwarz 1978) foram estimados.

Definido o melhor modelo, os arquivos de sequências foram submetidos separadamente para análise filogenética à versão *online* do algoritmo PhyML (Guindon *et al.* 2010). As árvores filogenéticas foram estimadas por máxima verossimilhança (Maximum-Likelihood estimation - ML) e a construção e edição foi executada no MEGA versão 6 (Tamura *et al.* 2013) utilizando o arquivo no formato newick gerado pelo programa PhyML 3.0 (Guindon *et al.* 2010). Para a

determinação dos limites de confiança nas ramificações geradas durante a construção das filogenias, os dados foram submetidos ao teste de bootstrap (Felsenstein 1985) para 1000 replicações e os valores estão apresentados em porcentagem próximos aos ramos das árvores filogenéticas. O teste da razão de verossimilhança aproximada (aIrt) para a função PhyML (Anisimova & Gascuel 2006) também foi usado para testar comparativamente a precisão de cada ramo. Apenas os valores de bootstrap são apresentados e os cladogramas com suporte inferior a 50% foram omitidos. Adicionalmente, foi testada a árvore pelo algoritmo de neighbor-joining (NJ) com o parâmetro K2P (Kimura 1980) implementado no MEGA v. 6 e pela inferência Bayesiana (BI), *online* no *site* phylogeny.fr: análise filogenética para não especialista (<http://phylogeny.lirmm.fr/phylo.cgi/index.cgi>), com o programa MrBayes versão 3.12 (Huelsenbeck & Ronquist 2001). As topologias estimadas por ML, NJ e BI foram semelhantes e apenas a construção ML é apresentada. Para a edição da árvore, uma sequência representante de cada população foi incluída no alinhamento. Quando sequências idênticas de uma mesma população foram encontradas, tanto no Genbank quanto nas obtidas nesse estudo, apenas uma foi incluída nos alinhamentos e o número de vezes que essas sequências se repetiram foi anotado, entre parênteses, ao lado da sequência selecionada.

Distância genética: O programa MEGA versão 6.0 (Tamura *et al.* 2013) foi utilizado para estimar a distribuição e a frequência da distância genética entre os pares ordenados de nucleotídeos para os dois fragmentos sequenciados para todas as espécies de *Neoseiulus* e grupos externos obtidas nesse estudo e para aquelas recuperadas do GenBank.

## Resultados

**Caracterização morfológica.** Diferenças significativas foram observadas entre os caracteres mensurados ( $P > 0,05$ ) (Tabela 3), exceto para a distância entre as bases das setas genitais G-G.

Sobreposições dos intervalos de variação foram observadas para a maioria dos caracteres estudados, com exceção dos caracteres comprimento da seta Z5 (entre a população do Rio Grande do Norte e as populações do Sri Lanka, Paraíba, Ceará e Alagoas), e da distância entre as setas St1-St3 entre as populações do Rio Grande do Norte e Maranhão com as demais populações estudadas, assim como a distância entre as setas St2-St3 entre a população do Rio Grande do Norte e a população do Sri Lanka.

Na ACP, os dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) explicaram juntos 57,56% da variância total (CP1: 46,96% e CP2: 10,62%) (Fig. 2A). Na AVC, as duas primeiras variáveis canônicas (CV1 e CV2) explicaram juntas 89,1% da variância total (CV1: 80,36%; CV2:8,75%) (Fig. 2B). As populações do Rio Grande do Norte e Maranhão foram plotadas ao longo da seção positiva do eixo CV1. As demais populações foram plotadas ao longo da seção negativa do mesmo eixo, indicando clara distinção entre as fêmeas da população do Rio Grande do Norte e Maranhão em relação às das demais populações estudadas (Fig. 2B).

Uma análise dos pesos das primeiras variáveis canônicas (Tabela 4) indicam que o comprimento das setas e a distância entre setas do escudo esternal são as principais características que distinguem as populações de *N. baraki*. Comparando os caracteres que compõem as primeiras variáveis canônicas (Tabela 4) com os dados morfométricos (ANOVA) (Tabela 3) é possível observar que a população de *N. baraki* do Rio Grande do Norte tem maior comprimento das setas j3, j5, R1, maior distância entre as setas esternais St1-St3, e maior largura posterior do escudo ventrianal (EVA-Ant, EVA-Post).

A identificação das populações de *N. baraki*, com base na análise discriminante, mostrou que a identificação na população de origem variou de 65 a 90%, sendo a maior proporção de erros na identificação para a população do Rio Grande do Norte, e a menor para as populações do Maranhão e Ceará.

**Cruzamentos.** Fêmeas virgens não ovipositaram durante o período de observação. Nos cruzamentos (homogâmicos e heterogâmicos) e retrocruzamentos, todas as fêmeas observadas ovipositaram, com ausência de deformação nos ovos. O período de pré-oviposição variou de 1,2 a 2,0; 1,1 a 2,1 e 0,7 a 1,1 para cruzamentos homogâmicos, heterogâmicos e retrocruzamentos, respectivamente. Não foram observadas diferenças no número de ovos por fêmea. A viabilidade total e razão sexual foram menores para alguns retrocruzamentos (Tabela 5).

**Caracterização molecular.** ITS rDNA: Foram obtidas 37 sequências da região ITS de *N. baraki*, sendo 29 do Brasil (de Alagoas, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte, Piauí) e oito do Sri Lanka (Lunuwila e Mundel) (Tabela 1). O comprimento das sequências ITS variou de 612 pb a 621 pb. Entre as sequências de Lunuwila, uma sequência apresentou 466 pb.

As populações de *N. baraki* do nordeste brasileiro foram identificados três genótipos (G1, G2 e G3), e dois entre as populações do Sri Lanka (G1 e G4) (Tabela 1). O genótipo G1 foi observado no Brasil e no Sri Lanka (Tabela 1). Um único nucleotídeo localizado na posição 450 separa o genótipo G1(T) do G2 (A). O genótipo G3, além da base A na posição 450, tem a base T em substituição a C na posição 552. O Genótipo G4 encontrado apenas em Lunuwila possui 14 sítios variáveis e duas deleções. A composição média de nucleotídeos nas sequências ITS foi: T= 31,30%, A= 26,10%, C= 22,60% e G= 26,01%.

A árvore filogenética foi construída com o critério de máxima verossimilhança (ML) e modelo Tamura Nei (TN93 + G) (Tamura & Nei 1993) com o parâmetro gama de 0,4010. As topologias dos ramos principais para árvores NJ, ML e BIC foram semelhantes, e, por conseguinte, para a clareza de apresentação, apenas a filogenia ML é apresentada (Fig. 3). Todas as amostras de *Neoseiulus* formaram um grupo monofilético. As populações de *N. baraki* do nordeste brasileiro e Sri Lanka foram agrupadas no mesmo clado, o que é suportado pelo valor de bootstrap de 95%, no entanto, este clado foi separado em três grupos, com suportes de bootstrap

de 58%, 62% e 91%, respectivamente. No primeiro grupo estão apenas populações do Brasil (*N. baraki* Br), no segundo, populações do Brasil e Sri Lanka (Mundel e Lunuwilla) (*N. baraki* Br Mu Lu), e no terceiro grupo populações de Lunuwilla (*N. baraki* Lu). O único genótipo de *N. paspalivorus* permaneceu em um clado à parte de *N. baraki* suportado pelo valor de bootstrap de 96% (Fig. 3).

A distância entre os pares de bases das sequências ITS, incluindo o grupo externo, variou de 0,81% a 33,95% (Tabela 6A). A distância média dentro das populações de *N. baraki* e *N. paspalivorus* foi de 0,27% e 0,00%, respectivamente (Tabela 6A). Os valores estimados para a variação média intraespecífica entre os pares de sequência de *N. baraki* (*N. baraki* Br, *N. baraki* Br Mu Lu e *N. baraki* Lu), foram de 0,00%, 0,05% e 0,00%, respectivamente (Tabela 6B). As distâncias entre os clados *N. baraki* Br e *N. baraki* Br Mu Lu foi de 0,31%, dos clados *N. baraki* Br e *N. baraki* Lu foi de 1,41% e, entre *N. baraki* Br e *N. baraki* Lu foi de 1,15% (Tabela 6B). A distância entre os três grupos de *N. baraki* juntos e o clado de *N. paspalivorus* variou de 2,86% a 3,15% (Tabela 6B).

COI mtDNA: O comprimento do fragmento *COI* obtido para as populações de *N. baraki* foi de 411pb. Entre as sequências de Lunuwila uma sequência apresentou 381 pb. Foram obtidas 31 sequências do fragmento *COI* de *N. baraki* do Brasil (Alagoas, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí e Rio Grande do Norte) e Sri Lanka (Lunuwila e Mundel).

Um único haplótipo (H1) foi identificado entre as 31 sequências de *N. baraki* do Nordeste brasileiro e para *N. baraki* do Brasil (JQ609092) e da Tanzânia (JQ609093). Quatro haplótipos (H2-H5) foram encontrados entre as 15 sequências do Sri Lanka. A sequência de *N. baraki* de Benim (JQ609094) formou o haplótipo seis (H6). Três nucleotídeos localizados nas posições 195, 301 e 318 separam o haplótipo H1(T, T e C) do H4 (C, C e T). O haplótipo H3, tem 13 e 14 sítios variáveis para espécimes SrLu.15 e SrLu.4 (Lunuwila), respectivamente, enquanto os haplótipos

H2 e H5 tem 15 e 4 sítios variáveis, respectivamente, e duas deleções para H5. O haplótipo H6 encontrado apenas em Benim (JQ609094) tem 50 sítios variáveis. A composição média de nucleotídeos nas sequências *COI* foi: T= 43,8 %, A= 26,6 %, C= 11,3 % e G= 18,3 %.

O modelo Hasegawa, Kishino e Yano (HKY + I + G) (Hasegawa *et al.* 1985) foi escolhido para a construção da filogenia, tanto pelo critério de máxima verossimilhança (ML) como para inferência Bayesiana e neighbor-join (NJ), com a proporção  $Ti/Tv= 2,7419$  e o parâmetro de distribuição  $\text{gama}=0,4280$ . As topologias dos ramos principais para todas as árvores foram semelhantes e, apenas a árvore ML é apresentada (Fig. 4). As espécies de *Neoseiulus* formaram um grupo monofilético. O clado contendo a maioria dos haplótipos de *N. baraki* dividiu-se em dois grupos principais, o primeiro formado pelo haplótipo H1 mais os haplótipos H4 e H5 de Mundel (Sri Lanka) e o segundo, que agrupou unicamente os haplótipos de Lunuwila (Sri Lanka) (H2 e H3), os valores de bootstrap foram 98% e 99%, respectivamente. Além disso, dentro do primeiro grupo foi observada a separação em dois clados, um para o haplótipo H1 e outro para os haplótipos de Mundel (H4 e H5), com valores de bootstrap de 92% e 80%, respectivamente. No segundo grupo, o haplótipo H2 (SRLu.2 e SRLu.13) (Lunuwila) permaneceu separado do H3 em um clado suportado pelo valor de bootstrap de 95%. O haplótipo de *N. baraki* de Benim (H6) permaneceu isolado dos demais haplótipos desta espécie, assim como os haplótipos de *N. paspalivorus* (Fig. 4).

A distância entre os pares de sequências *COI* (incluindo grupo externo) variou de 0% a 36,42% (Tabela 7A). A variabilidade dentro das populações de *N. baraki* e *N. paspalivorus* foi de 2,21% e 0,13%, respectivamente (Tabela 7A). Os valores estimados para a variação média entre os pares de sequência dentro de cada clado de *N. baraki* variou de 0,00% a 0,16% (Tabela 8B). As distâncias entre o clado *N. baraki* e os demais clados foram de 1,04% para *N. baraki* Mu; 3,60%

para *N. baraki* Lu1; 4,62% para *N. baraki* Lu2; 15,68% para *N. baraki* Bj (Benim) e 13,61% para *N. paspalivorus* (Tabela 7B).

### Discussão

Abordagens integrativas combinando morfologia, análise molecular e compatibilidade reprodutiva são necessárias na identificação de inimigos naturais, sobretudo quando há ocorrência de espécies crípticas (Famah Sourassou *et al.* 2012). Neste trabalho, populações de diferentes localidades geográficas do Brasil e da Ásia (Sri Lanka) previamente identificadas como *N. baraki* foram submetidas a uma abordagem integrativa baseada em análise morfológica e testes de cruzamentos; e a análises moleculares juntamente com populações da África (Tanzânia e Benim). As estratégias adotadas indicam que as populações de *N. baraki* do Brasil, Ásia e África (Tanzânia) pertencem ao mesmo táxon e a população de Benim a um táxon distinto.

A análise multivariada de 33 caracteres morfométricos mostrou diferenças entre as populações de *N. baraki* estudadas. Variabilidade morfométrica intraespecífica tem sido frequentemente observada entre fitoseídeos (*e.g.* Chant 1955, Ragusa & Tsolakis 1994, Tixier *et al.* 2006ab, 2008ab), dificultando a identificação específica neste grupo. Interpretações equivocadas da variação intraespecífica podem levar a erros de identificação e, potencialmente, ocasionar descrições de sinônimos júnior (Tixier *et al.* 2008b). Tixier (2012) propôs uma abordagem estatística que estabelece limites para distinguir entre variabilidade intra e interespecífica baseada nos comprimentos de setas de fitoseídeos. Este estudo foi baseado em 14 espécies de cinco gêneros (*Euseius* Wainstein, *Neoseiulus* Hughes, *Phytoseiulus* Evans, *Kampimodromus* Nesbitt e *Typhlodromus* (*Typhlodromus*) Scheuten). A diferença mínima entre os valores médios de amostras pertencentes a duas espécies distintas devem ser de 10,58 µm (para setas < 65 µm) e 33,99 µm (para setas > 65 µm). De acordo com esta abordagem a variabilidade

encontrada entre as populações de *N. baraki* estudadas refletem uma variabilidade intraespecífica. Além disso, o afastamento observado na AVC entre as populações do Maranhão e Rio Grande do Norte em relação as demais populações foi baseado em caracteres que têm pouca importância na diferenciação das espécies, como distância entre setas esternais (St1-St3, St2-St2), largura do escudo posterior (EVA-Post) e tamanho das setas j5 e R1. As medições das populações de *N. baraki* estudadas também foram semelhantes a outras populações do Sri Lanka (Moraes *et al.* 2004).

Pouco se sabe sobre os fatores que podem causar variabilidade morfológica em ácaros. Variações morfológicas em ácaros eriofídeos já foram associados à especificidade hospedeira, e alguns estudos mostraram que os caracteres variam de acordo com a estrutura da planta hospedeira (Skoracka *et al.* 2002). Estudo com ácaros da família Phytoseiidae, *Euseius mesembrinus* (Dean), associaram as variações morfológicas encontradas em populações da Flórida e Texas (EUA) a fatores geográficos ou nutricionais (Abou-Setta *et al.* 1991). Neste estudo, as populações de *N. baraki* do Sri Lanka foram mais próximas morfometricamente das populações de Alagoas, Ceará, Paraíba e Pernambuco do que as populações do Maranhão e Rio Grande do Norte, logo é provável que a variabilidade encontrada não esteja relacionada à distância geográfica. O relato desta espécie no Brasil se limita ao coqueiro, e em associação com *A. guerreronis*. Contudo é provável que *N. baraki* tenha outros hospedeiros e presas ainda desconhecidos, e a ocorrência disto ao longo do litoral do Nordeste pode não ser contínuo e uniforme, uma vez que o clima, sobretudo a precipitação, ao longo do litoral é variável. Portanto, mais investigações são necessárias, visando elucidar a ecologia desta espécie e os fatores associados à variabilidade morfométrica.

Fêmeas de *N. baraki* não acasaladas não ovipositaram, confirmando os resultados observados por Famah Sourassou *et al.* (2012), com o sabido até o momento para a maioria dos

fitoseídeos (Croft 1970, McMurtry 1980, Moraes & McMurtry 1981, Noronha & Moraes 2002, 2004). Compatibilidade reprodutiva foi observada entre as populações de *N. baraki* que mais se afastaram morfometricamente (Rio Grande do Norte e Pernambuco), no entanto diferenças foram observadas nos parâmetros: período de pré-oviposição, viabilidade total e razão sexual, sobretudo, em retrocruzamentos. Apesar das diferenças encontradas houve uma tendência de maior número de descendentes fêmeas em todos os cruzamentos. Estes resultados indicam que as duas populações pertencem a mesma espécie, de acordo com o conceito de espécie biológica (Mayr & Ashlock 1991). Estudos anteriores já relataram incompatibilidade reprodutiva de populações de *N. baraki* geograficamente distantes (Benim, Tanzânia e Brasil), possivelmente, associada à presença de endossimbiontes (Famah Sourassou *et al.* 2012). Famah Sourassou *et al.* (2014), relatou incompatibilidade reprodutiva associada a presença de diferentes endossimbiontes (*Wolbachia* e *Cardinium*) em populações de *N. paspalivorus* de Benim, Gana e Brasil. A ausência de isolamento reprodutivo observada neste trabalho também pode estar relacionada a ausência de endossimbiontes ou à presença da mesma cepa nas populações estudadas. Famah Sourassou *et al.* (2014), relatou incompatibilidade reprodutiva associada a presença de diferentes endossimbiontes (*Wolbachia* e *Cardinium*) em populações de *N. paspalivorus* de Benim, Gana e Brasil.

Os resultados das análises moleculares corrobora os resultados da análise morfométrica, indicando que as populações de *N. baraki* do nordeste brasileiro, Sri Lanka e Tanzânia pertencem a mesma espécie. A população de Benim, provavelmente representa uma espécie diferente, como já evidenciado por Famah Sourassou *et al.* (2012). Embora pertencendo a mesma espécie, a população de Lunuwila do Sri Lanka constituiu um agrupamento genético distinto na filogenia, usando ambos os marcadores genéticos (ITS e *COI*). Além disso, foram observados quatro genótipos (ITS) e seis haplótipos (*COI*) entre as populações de *N. baraki* estudadas (Tabela 1, 2). A variabilidade genética encontrada na população de *N. baraki* do Sri Lanka, em relação as

demais populações pode estar relacionada a um processo de especiação, possivelmente associado ao isolamento geográfico e a ausência de fluxo gênico entre as populações. Contudo, testes de cruzamentos devem ser realizados entre estas populações para confirmar se há população do Sri Lanka e isolada reprodutivamente das demais populações.

As distâncias genéticas obtidas neste estudo para as sequências ITS e *COI* se encaixam dentro das distâncias intraespecíficas de outras espécies de fitoseídeos que têm sido relatados na literatura. A distância entre as sequências ITS das populações de *N. baraki* do clado “*N. baraki* Br” (populações do nordeste brasileiro) e “*N. baraki* Br Mu Lu” (populações do Maranhão, Ceará, Mundel e Lunuwila) ( $0,31\% \pm 0,003$ ) é comparável com as distâncias intraespecíficas determinadas para outras espécies do gênero *Neoseiulus* (0,00% a 0,4%) (Okassa *et al.* 2011), *Neoseiulella* (0,00% a 1,00%) (Kanouh *et al.*, 2010), *Typhlodromus* 0,00% a 1,2% (Tixier *et al.* 2006a, 2012a) e *Amblyseius* (0,00% a 0,16%) (Navia *et al.* 2014), confirmando que as populações *N. baraki* pertencem à mesma espécie. Para o clado “*N. baraki* Lu”, as distâncias entre os pares de nucleotídeos em relação os cladogramas “*N. baraki* Br” (1,41%) e “*N. baraki* Br Mu Lu” (1,15%), foram superiores as distâncias intraespecíficas frequentemente relatadas em outras espécies. No entanto, este valor foi inferior ao encontrado em espécies crípticas, como relatado em populações do gênero *Typhlodromus* (2,8-3,1%) (Tixier *et al.* 2006a). A distância interespecífica das espécies *N. baraki* e *N. paspalivorus* (5,83%) para as sequências ITS deste estudo, foi semelhante ao obtido para espécies do gênero *Amblyseius* (5,86%) (Navia *et al.* 2014) e por vários outros autores (Navajas *et al.* 1999, Tixier *et al.* 2006a, 2012b, Kanouh *et al.* 2010, Okassa *et al.* 2011). Estes valores de distância interespecíficas foram maiores do que a distância entre os espécimes do clado “*N. baraki* Lu” e os dos cladogramas “*N. baraki* Br” e “*N. Baraki* Br Mu Lu”.

A distância genética baseada em sequências *COI* entre as populações *N. baraki* do Brasil e as populações de Mundel (1,04%), Lunuwila (SrLuSR.4 e SrLuSR.15) (3,60%) e Lunuwila

(SRLuSr.2 e SRLuSR.13) (4,62%) é comparável ou até mesmo menor do que distâncias intraespecíficas observadas para outras espécies de fitoseídeos, como exemplo *E. finladicus* (1,4-5%) (Okassa *et al.* 2009) e *Kampimodromus aberrans* (Oudemans) (6,00%) (Tixier *et al.* 2006b). Famah Sourassou *et al.* (2012) observaram distâncias intraespecíficas de 0-0,2% entre populações de *N. baraki* do Brasil e Tanzânia; 12,6-12,9% entre as populações de Benim e Tanzânia; e de 12,6% entre populações de Benim e Brasil. A distância encontrada pelo autor para a população de *N. baraki* de Benim, foi superior às distâncias intraespecíficas relatadas para fitoseídeos, sugerindo a ocorrência de espécies crípticas. Neste trabalho, foram inseridas nas análises as seqüências *COI* de *N. baraki* do Brasil (JQ609092), Tanzânia (JQ609093) e Benim (JQ609094) (Famah Sourassou *et a.* 2012), e observou-se que as populações do Brasil e Tanzânia foram agrupadas com as populações do Nordeste brasileiro, com ausência de variabilidade intraespecífica, enquanto a população de Benim obteve uma distância de 15,82% deste grupo. Esse valor foi superior a distância estimada entre as espécies *N. baraki* e *N. paspalivorus* (13,54%), reforçando a suspeita de presença de espécie críptica.

Todas as metodologias utilizadas neste estudo indicaram que as populações de *N. baraki* do Nordeste brasileiro e Sri Lanka pertencem a mesma espécie, apesar da variabilidade morfológica e genética observada. A variabilidade genética de ácaros fitoseídeos da mesma espécie tem sido relacionada a diferenças no desempenho biológico. Domingos *et al.* (2013) observaram diferenças em parâmetros biológicos (período de oviposição, consumo de presas e taxa líquida de reprodução) de populações de *A. largoensis* de diferentes áreas geográficas, que apresentaram variabilidade genética (Navia *et al.* 2014). Diferenças biológicas em populações de *Phytoseilus longipes* Evans foi associada à variabilidade no fragmento 12S rDNA ( Tixier *et al.* 2010). Pesquisas adicionais devem ser realizadas com o objetivo de relacionar a variabilidade genética encontrada para as populações de *N. baraki* a parâmetros biológicos, visando obter

informações sobre as possíveis variações na eficiência destas populações no controle de *A. guerreronis*.

### Agradecimentos

Ao Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (Reuni), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro. A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa-CENARGEN) pelo suporte logístico.

### Literatura Citada

- Abou-Setta, M.M., C.C. Childers, H.A. Denmark & H.W. Browning. 1991.** Comparative morphology and reproductive compatibility between populations of *Euseius mesembrinus* (Acari: Phytoseiidae) from Florida and Texas. *Exp. Appl. Acarol.* 10: 213-220.
- Akaike, H. 1973.** Information theory and an extension of the maximum likelihood principle, p. 267-281. In B.N. Petrov & F. Csaki (eds.), *Second International Symposium on Information Theory*. Budapest, Akademiai Kiado, 451p.
- Anderson, D.L. & M.J. Morgan. 2007.** Genetic and morphological variation of bee-parasitic *Tropilaelaps* mites (Acari: Laelapidae): new and re-defined species. *Exp. Appl. Acarol.* 43: 1-24.
- Anisimova, M. & O. Gascuel. 2006.** Approximate likelihood ratio test for branches: a fast, accurate and powerful alternative. *Syst. Biol.* 55: 539-552.
- Athias-Henriot, C. 1966.** Contribution a l' etude des *Amblyseius palearctiques* (Acariens anactinotriches, Phytoseiidae). *Bull. Sci. Bourgone* 24: 181-230.
- Chant, D.A. 1955.** Notes on mites of the genus *Typhlodromus* Scheuten, 1857 (Acarina: Laelaptidae), with descriptions of the male of some species and the female of a new species. *Can. Entomol.* 87: 496-503.
- Chant, D.A. & J.A. McMurtry. 1994.** A review of the subfamilies Phytoseiinae and Typhlodrominae (Acari: Phytoseiidae). *Int. J. Acarol.* 20: 223-310.

- Chant, D.A. & J.A. McMurtry. 2003.** A review of the subfamily Amblyseinae Muma (Acari: Phytoseiidae). Part I. Neoseiulini new tribe. *Int. J. Acarol.* 29: 3-46.
- Chant, D.A. & J.A. McMurtry. 2006.** A review of the subfamily Amblyseinae Muma (Acari: Phytoseiidae) Part IX. An overview. *Int. J. Acarol.* 32: 125-152.
- Croft, B.A. 1970.** Comparative study on four strains of *Typhlodromus occidentalis* (Acarina: Phytoseiidae). I. Hybridization and reproductive isolation studies. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 1559-1563.
- Darriba, D., G.L. Taboada, R. Doallo & D. Posada. 2012.** jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Methods* 9: 772-772.
- Dermauw, W., B. Vanholme, L. Tirry & T. van Leeuwen. 2010.** Mitochondrial genome analysis of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* and a revisit of the *Metaseiulus occidentalis* mitochondrial genome. *Genome* 53: 285-301.
- Domingos, C.A., J.W.S. Melo, M.G.C. Gondim Jr., G.J. de Moraes, R. Hanna, L.M. Lawson-Balagbo & P. Schausberger. 2010.** Diet-dependent life history, feeding preference and thermal requirements of the predatory mite *Neoseiulus baraki* (Acari: Phytoseiidae). *Exp. Appl. Acarol.* 50: 201-215.
- Domingos, C.A., L.O. Oliveira, E.G.F. de Moraes, D. Navia, G.J. de Moraes & M.G.C. Gondim Jr. 2013.** Comparison of two populations of the pantropical predator *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae) for biological control of *Raoiella indica* (Prostigmata: Tenuipalpidae). *Exp. Appl. Acarol.* 60: 83-93.
- Ehara, S. & A. Bhandhufalck. 1977.** Phytoseiid mites of Thailand (Acarina: Mesostigmata). *J. Fac. Educ.* 27: 43-82.
- Famah Sourassou, N., R. Hanna, I. Zannou, J.A.J. Breeuwer, G.J. de Moraes & M.W. Sabelis. 2012.** Morphological, molecular and cross-breeding analysis of geographic populations of coconut-mite-associated predatory mites identified as *Neoseiulus baraki*: evidence for cryptic species? *Exp. Appl. Acarol.* 57: 15-36.
- Famah Sourassou, N., R. Hanna, J.A.J. Breeuwer, K. Negloh, G.J. de Moraes & M.W. Sabelis. 2014.** The endosymbionts *Wolbachia* and *Cardinium* and their effects in three populations of the predatory mite *Neoseiulus paspalivorus*. *Exp. Appl. Acarol.* 64: 207-221.
- Felsenstein, J. 1985.** Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Fernando, L.C.P., I.R. Wickramanada & N.S. Aratchige. 2002.** Status of coconut mite, *Aceria guerreronis* in Sri Lanka, p. 1-8. In L.C.P. Fernando, G.J. de Moraes & I.R. Wickramanada (eds.) *Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (Aceria guerreronis)*. Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.

- Fernando, L.C.P. & N.S. Aratchige. 2010.** Status of coconut mite *Aceria guerreronis* and biological control research in Sri Lanka, p. 379-384. In M.W. Sabelis & J. Bruin (eds.), Trends in acarology. Amsterdam, Springer, 670p.
- Gotoh, T., J. Gutierrez & M. Navajas. 1998.** Molecular comparison of the sibling species *Tetranychus pueraricola* Ehara and Gotoh and *T. urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Entomol. Sci. 1: 55-57.
- Guindon, S., J.F. Dufayard, V. Lefort, M. Anisimova, W. Hordijk & O. Gascuel. 2010.** New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. Syst. Biol. 59: 307-321.
- Hasegawa, M., H. Kishino & T. Yano. 1985.** Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. J. Mol. Evol. 22: 160-74.
- Hall, T.A. 1999.** BIOEDIT: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. Nucleic Acids. Symposium Ser. 41: 95-98.
- Haq, M.A., K. Sumangala & N. Ramani. 2002.** Coconut mite invasion, injury and distribution, p. 41-49. In L.C.P. Fernando, G.J. Moraes & I.R. Wickramananda (eds.), Proceedings of the International Workshop on Coconut Mite (*Aceria guerreronis*). Sri Lanka, Coconut Research Institute, 117p.
- Hillis, D.M. & M.T. Dixon. 1991.** Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. Q. Rev. Biol. 66: 411-453.
- Hinomoto, N., T. Shintaku & H. Amano. 2010.** Comparison of genetic diversity among three Phytoseiid mite species in Japan by mitochondrial DNA sequence analysis. J. Acarol. Soc. Jpn. 19: 9-14.
- Huelsenbeck, J.P. & F. Ronquist. 2001.** MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. Bioinformatics 17: 754-5.
- Hurvich, C.M. & C.-L. Tsai. 1989.** Regression and time series model selection in small samples. Biometrika 76: 297-307.
- Kanouh, M., M.-S. Tixier, M. Okassa & S. Kreiter. 2010a.** Phylogenetic and biogeographic analysis of the genus *Phytoseiulus* (Acari: Phytoseiidae). Zool. Scr. 39: 450-461.
- Kanouh, M., M.-S. Tixier, S. Guichou, C. Brigitte & S. Kreiter. 2010b.** Two synonymy cases within the genus *Neoseiulella* (Acari: Phytoseiidae): is the molecular evidence so evident? Biol. J. Linn. Soc. 101: 323-344.
- Lawson-Balagbo, L.M., M.G.C. Gondim Jr., G.J. de Moraes, R. Hana & P. Schausberger. 2007.** Life history of the predatory mites *Neoseiulus paspalivorus* and *Proctolaelaps bickleyi*, candidates for biological control of *Aceria guerreronis*. Exp. Appl. Acarol. 43: 49-51.

- Lawson-Balagbo, L.M., M.G.C. Gondim Jr., G.J. de Moraes, R. Hanna & P. Schausberger. 2008.** Exploration of the acarine fauna on coconut palm in Brazil with emphasis on *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and its natural enemies. *Bull. Entomol. Res.* 98: 83-96.
- Librado, P. & J. Rozas. 2009.** DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinf.* 25: 1451-1452.
- Lima, D.B., J.W.S. Melo, M.G.C. Gondim & G.J. de Moraes. 2012.** Limitations of *Neoseiulus baraki* and *Proctolaelaps bickleyi* as control agents of *Aceria guerreronis*. *Exp. Appl. Acarol.* 56: 233-246.
- Mendonça, R.S., D. Navia, I.R. Diniz, P. Auger & M. Navajas. 2011.** A critical review on some closely related species of *Tetranychus sensu stricto* (Acari: Tetranychidae) in the public DNA sequences databases. *Exp. Appl. Acarol.* 55: 1-23.
- Moore, D., L. Alexander & R.A. Hall. 1989.** The coconut mite, *Eriophyes guerreronis* Keifer in St Lucia yield losses and attempts to control it with acaricide, polybutene and *Hirsutella* fungus. *Trop. Pest Manag.* 35: 83-89.
- Moore, D. & F.W. Howard. 1996.** Coconuts, p. 561-570. In E.E. Lindquist, M.W. Sabelis & J. Bruin (eds.), *Eriophyoid mites: their biology, natural enemies and control*. Amsterdam, Elsevier, 790p.
- Moraes, G.J. de & J.A. McMurtry. 1981.** Biology of *Amblyseius citrifolius* (Denmark and Muma) (Acarina-Phytoseiidae). *Hilgardia* 49: 1-29.
- Moraes, G.J. de. 1987.** Importance of taxonomy in biological control. *Insect Sci. Appl.* 8: 841-844.
- Moraes, G.J. de, P.C. Lopes & L.C.P. Fernando. 2004.** Phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) of coconut growing areas in Sri Lanka, with descriptions of three new species. *J. Acarol. Soc. Jpn.* 13: 141-160.
- Moraes, G.J. de, T.M.M.G. Castro, S. Kreiter, S. Quilici, M.G.C. Gondim Jr. & L.A.N. Sá. 2012.** Search for natural enemies of *Raoiella indica* Hirst in Reunion Island (Indian Ocean). *Acarologia* 52: 129-134.
- Navajas, M. & B. Fenton. 2000.** The application of molecular markers in the study of diversity in acarology: a review. *Exp. Appl. Acarol.* 24: 751-774.
- Navajas, M., J. Lagnel, G. Fauvel & G.J. de Moraes. 1999.** Sequence variation of ribosomal Internal Transcribed Spacers (ITS) in commercially important Phytoseiidae mites. *Exp. Appl. Acarol.* 23: 851-859.
- Navajas, M., J. Lagnel, M. Gutierrez & P. Boursot. 1998.** Species wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider-mite *Tetranychus urticae* contrasts with extensive mitochondrial COI polymorphism. *Heredity* 87: 742-752.

- Navajas, M., M. Gutierrez & J. Langnel. 1996.** Mitochondrial Cytochrome Oxidase I in tetranychid mites: a comparison between molecular phylogeny and change of morphological and life history traits. *Bull. Entomol. Res.* 86: 407-417.
- Navia, D., M.G.C. Gondim Jr., N.S. Aratchige & G.J. de Moraes. 2013.** A review of the status of the coconut mite, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), a major tropical mite pest. *Exp. Appl. Acarol.* 59: 67-94.
- Navia, D., C.A. Domingos, R.S. Mendonça, F. Ferragut, M.A.N. Rodrigues, E.G.F. de Morais, M.-S. Tixier & M.G.C. Gondim Jr. 2014.** Reproductive compatibility and genetic and morphometric variability among populations of the predatory mite, *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae), from Indian Ocean Islands and the Americas. *Biol. Control* 72: 17-49.
- Negloh, K., R. Hanna & P. Schausberger. 2008.** Comparative demography and diet breadth of Brazilian and African populations of the predatory mite *Neoseiulus baraki*, a candidate for biological control of coconut mite. *Biol. Control* 46: 523-531.
- Negloh, K., R. Hanna & P. Schausberger. 2011.** The coconut mite, *Aceria guerreronis*, in Benin and Tanzania: occurrence, damage and associated acarine fauna. *Exp. Appl. Acarol.* 55: 361-374.
- Noronha, A.C.S. & G.J. de Moraes. 2002.** Variações morfológicas intra e interpopulacionais de *Euseius citrifolius* Denmark & Muma e *Euseius concordis* Chant (Acari, Phytoseiidae). *Rev. Bras. Zool.* 19: 1111-1122.
- Noronha, A.C.S. & G.J. de Moraes. 2004.** Reproductive compatibility between mite populations previously identified as *Euseius concordis* (Acari: Phytoseiidae). *Exp. Appl. Acarol.* 32: 271-279.
- Okassa, M., M.-S. Tixier, B. Cheval & S. Kreiter. 2009.** Molecular and morphological evidence for a new species status within the genus *Euseius* (Acari: Phytoseiidae). *Can. J. Zool.* 87: 689-698.
- Okassa, M., S. Kreiter, S. Guichou & M.-S. Tixier. 2011.** Molecular and morphological boundaries of the predatory mite *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). *Biol. J. Linn. Soc.* 104: 393-406.
- Quirós-McIntire, E. & H. Rodríguez. 2010.** Ácaros depredadores asociados a *Steneotarsonemus pinki* Smiley (Acari: Tarsonemidae) em Panamá. *Rev. Prot. Veg.* 25: 103-107.
- Ragusa, S. & H. Tsolakis. 1994.** Revision of the genus *Kampimodromus* Nesbitt, 1951 (Parasitiformes, Phytoseiidae) with a description of a new species. *Acarologia* 35: 305-322.
- Ramos, M. & N. Rodriguez. 2004.** Descripción cualitativa y cuantitativa de la biodiversidad de ácaros depredadores em diferentes agroecosistemas em Cuba. *Fitosanidad* 8: 55-61.

- Reis, A.C., M.G.C. Gondim Jr., G.J. de Moraes, R. Hanna, P. Schausberger, P. Schausberger & R. Barros. 2008.** Population dynamics of *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) and associated predators on coconut fruits in northeastern Brazil. *Neotrop. Entomol.* 37: 457-462.
- Rodríguez-Morell, H., E.I. Quirós-McIntire & I. Camargo-Buitrago. 2013.** Ácaros depredadores asociados a *Steneotarsonemus spinki* Smiley (Acari: Tarsonemidae) em Costa Rica, Nicaragua y Panamá. *Métodos Ecol. Sist.* 8: 29-40.
- Roy, L., A.P. Dowling, C.M. Chauve & T. Buronfosse. 2009.** Delimiting species boundaries within *Dermanyssus duges*, 1834 (Acari: Dermanyssidae) using a total evidence approach. *Mol. Phylogenet. Evol.* 50: 446-470.
- SAS Institute. 2002.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. Cary, SAS Institute Inc., 943p.
- Schwarz, G. 1978.** Estimating the dimension of a model. *Ann. Stat.* 6: 461-464.
- Silva, F.R., G.J. de Moraes, M.W. Sabelis, R. Hanna, E.G. Estrada Venegas, N.C. Mesa & C. Vasquez. 2010.** The search for natural enemies of the coconut mite (*Aceria guerreronis* Keifer) in Latin America, p. 249-249. In G.J. de Moraes, R.C. Castilho & C.H.W. Flechtmann (eds.), XIII International Congress of Acarology. Recife, Pernambuco, 319p.
- Skorack, A., L. Kuczynski & W. Magowski. 2002.** Morphological variation in different host populations of *Abaracus hystrix* (Acari: Prostigmata: Eriophyoidea). *Exp. Appl. Acarol.* 26: 187-193.
- Sonoda, S., Y. Kohara, Siqingerile, S. Toyoshima, H. Kishimoto & N. Hinomoto. 2012.** Phytoseiid mite species composition in Japanese peach orchards estimated using quantitative sequencing. *Exp. Appl. Acarol.* 56: 9-22.
- Staden, R., K.F. Beal & J.K. Bonfield. 1998.** The staden package, p. 115-130. In S. Misener, S. & S.A. Krawetz (eds.), *Computer Methods in Molecular Biology*. Totowa, The Humana Press Inc., 132p.
- Sugiura, N. 1978.** Further analysis of the data by Akaike's information criterion and the finite corrections. *Commun. Stat. A-Theor.* 7: 13-26.
- Tamura, K. & M. Nei. 1993.** Estimation of the number of the nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* 10: 512-526.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipinski & S. Kumar. 2013.** MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725-2729.
- Tangjingjai, W., P. Verakalasa, S. Sittipraneed, S. Klinbunga & C. Lekprayoon. 2003.** Genetic differences between *Tropilaelaps clareae* and *Tropilaelaps koenigerum* in Thailand based on ITS and RAPD analyses. *Apidologie* 34: 513-524.

- Thompson, J.D., D.G. Higgins & T.J. Gibson. 1994.** Clustal-W improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22: 4673-4680.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, Z. Barbar, S. Ragusa & B. Cheval. 2006a.** Status of two cryptic species: *Typhlodromus exhilaratus* Ragusa and *Typhlodromus phialatus* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae): consequences for taxonomy. *Zool. Scr.* 35: 115-122.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, F. Ferragut & B. Cheval. 2006b.** The suspected synonymy of *Kampimodromus hmiminai* and *Kampimodromus adrianae* (Acari: Phytoseiidae): morphological and molecular investigations. *Can. J. Zool.* 84: 1216-1222.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, B.A. Croft & B. Cheval. 2008a.** *Kampimodromus aberrans* (Acari: Phytoseiidae) from USA: morphological and molecular assessment of its density. *Bull. Entomol. Res.* 98: 125-134.
- Tixier, M.-S., S. Guichou & S. Kreiter. 2008b.** Morphological variation of the species *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae): importance for diagnostic reliability and synonymies. *Invert. Syst.* 22: 453-469.
- Tixier, M.-S., M. Ferrero, M. Okassa, S. Guichou & S. Kreiter. 2010.** On the specific identity of specimens of *Phytoseiulus longipes* Evans (Mesostigmata: Phytoseiidae) showing different feeding behaviours: morphological and molecular analyses. *Bull. Entomol. Res.* 17: 1-11.
- Tixier, M.-S., H. Tsolakis, S. Ragusa, A. Poinso, M. Ferrero, M. Okassa & S. Kreiter. 2011.** Integrative taxonomy demonstrates the unexpected synonymy between two predatory mite species: *Cydnodromus idaeus* and *C. picamus* (Acari: Phytoseiidae). *Invertebr. Syst.* 25: 273-281.
- Tixier, M.-S. 2012.** Statistical approaches for morphological continuous characters: a conceptual model applied to Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). *Zool. Scr.* 42: 327-334.
- Tixier, M.-S., M. Okassa & S. Kreiter. 2012a.** An integrative morphological and molecular diagnostics for *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae). *Zool. Scr.* 41: 68-78.
- Tixier, M.-S., F.A. Hernandez, S. Guichou & S. Kreiter. 2012b.** The puzzle of DNA sequences of Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) in the public GenBank database. *Invertebr. Syst.* 25: 389-406.
- Tseng, H. 1983.** Further study on phytoseiid mites from Taiwan (Acarina: Mesostigmata). *Chin. J. Entomol.* 3: 33-74.
- Tsolakis, H., M.-S. Tixier, S. Kreiter & S. Ragusa. 2012.** The concept of genus within the family Phytoseiidae (Acari: Parasitiformes): historical review and phylogenetic analyses of the genus *Neoseiulus* Hughes. *Zool. J. Linn. Soc.* 165: 253-273.

- Walter, D.E. & N.J.H. Campbell. 2003.** Exotic vs endemic biocontrol agents: would the real *Stratiolaelaps* mites (Berlese) (Acari: Mesostigmata: Laelapidae), please stand up? *Biol. Control* 26: 253-269.
- Wu, W., Y. Liu & W. Lan. 1991.** The phytoseiid mites of rice and its brief description from south scientific notes China. *Nat. Enemies Insects* 13: 144-150.
- Yang, C., Y.-X. Li, X.-M. Yang, J.-T. Sun, X.-N. Xu & X.-Y. Hong. 2012.** Genetic variation among natural populations of *Euseius nicholsi* (Acari: Phytoseiidae) from China detected using mitochondrial *cox1* and nuclear rDNAITS sequences. *Syst. Appl. Acarol.* 17: 171-181.
- Yli-Mattila, T., S. Paavanen-Huhtala, B. Fenton & T. Tuovinen. 2000.** Species and strain identification of the predatory mite *Euseius finlandicus* by RAPD-PCR and ITS sequences. *Exp. Appl. Acarol.* 24: 863-880.
- Zannou, I.D., R. Hanna, G.J. de Moraes, S. Kreiter, G. Phiri & A. Jone. 2005.** Mites in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) habitat in southern Africa. *Int. J. Acarol.* 31: 1-16.
- Zannou, I.D., G.J. de Moraes, E.A. Ueckermann, A.R. Oliveira, J.S. Yaninek & R. Hanna. 2006.** Phytoseiid mites of the genus *Neoseiulus* Hughes (Acari: Phytoseiidae) from sub-Saharan Africa. *Int. J. Acarol.* 32: 241-276.

Tabela 1. Características das populações de *N. baraki* e espécies dos grupos interno e externo estudados e seus números de acesso no GenBank para ITS.

Espécie	Código	Nº de sequências	País/Estado	Hospedeiro		Genótipo	Acesso Genbank
				Espécie	Família		
<i>N. baraki</i>	BrMaB1	4	Brasil, Maranhão	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	G1, G2	A ser submetida
	BrAIB2	5	Brasil, Alagoas	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	G2	A ser submetida
	BrPbB3	5	Brasil, Paraíba	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	G2	A ser submetida
	BrRnB4	5	Brasil, Rio Grande do Norte	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	G2	A ser submetida
	BrPeB5	5	Brasil, Pernambuco	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	G2	A ser submetida
	BrCeB6	5	Brasil, Ceará	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	G1-G3	A ser submetida
	LkLu	5	Sri Lanka, Lunuwila	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	G1, G4	A ser submetida
	LkMu	3	Sri Lanka, Mundel	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	G1	A ser submetida
<i>N. paspalivorus</i>	BrSeP1	6	Brasil, Sergipe	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	G5	A ser submetida
	BrPbP2	6	Brasil, Paraíba	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	G5	A ser submetida
	BrPiP3	6	Brasil, Piauí	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	G5	A ser submetida
	BrRnP4	5	Brasil, Rio Grande do Norte	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	G5	A ser submetida
	BrCeP5	6	Brasil, Ceará	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	G5	A ser submetida HQ404806, GU591680, GU591681*
<i>N. californicus</i>	-	2	Unidade de criação	-	-	G6	HQ404807* GU591680, GU591681*
	-	2	Itália	<i>Fragaria vesca</i>	Rosaceae	G6, G7	GU591681*
<i>N. idaeus</i>	-	2	Argentina, Buenos Aires	<i>Sida</i> sp.	Malvaceae	G8	JF279120*, JF279121
	-	2	Unidades de criação	<i>Citrus</i> sp.	Rutaceae	G8	HQ404809, HQ404810 AB618064*, AB618065*
<i>E. sojaensis</i>	-	2	Japão, Nagasaki	-	-	G9, G10	AB618065*
<i>E. ovalis</i>	-	1	Holanda	-	-	G11	FJ515687*
	-	1	Inglaterra	-	-	G11	JN020166
	-	1	Unidade de criação	-	-	G11	HQ404801
<i>E. nicholsi</i>	-	14	China	-	-	G12-G17	JQ864563*-JQ864568 JQ864570, JQ864571* JQ864574*, JQ864577* JQ864573*-JQ864578*
	-	1		-	-	G12	GU244501 AF202993*, AF209337
<i>E. finlandicus</i>	-	2	Finlândia, Jokioinen	-	-	G18	AF209337
<i>E. stipulatus</i>	-	1	França, Montpellier	<i>Citrus</i> sp.	Rutaceae	G19	JN020167*
	-	1	Espanha, Valência	-	-	G22	GU565290*
<i>E. concordis</i>	-	1	Estados Unidos, Califórnia	-	-	G20	Y18270*
<i>T. phialatus</i>	-	1	França, Restinclières	<i>Viburnum tinus</i>	Adoxaceae	G21	HQ404829*
<i>T. thaii</i>	-	1	Vietnã	<i>Apis laboriosa</i>	Apidae	G23	EF025477*
<i>T. koenigerum</i>	-	1	Tailândia, Samut Sakorn	<i>Apis dorsata</i>	Apidae	G24	AF544014*

\*Sequências representativas dos haplótipos na filogenia.

Tabela 2. Características das populações de *N. baraki* e espécies dos grupos internos e externos estudados e seus números de acesso no GenBank para *COI*.

Espécie	Código	Nº de sequências	País/Estado	Hospedeiro		Haplótipo	Acesso Genbank
				Espécie	Família		
<i>N. baraki</i>	BrMaB1	4	Brasil, Maranhão	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H1	A ser submetida
	BrAIB2	5	Brasil, Alagoas	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H1	A ser submetida
	BrPbB3	5	Brasil, Paraíba	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H1	A ser submetida
	BrRnB4	5	Brasil, Rio Grande do Norte	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H1	A ser submetida
	BrPeB5	5	Brasil, Pernambuco	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H1	A ser submetida
	BrCeB6	5	Brasil, Ceará	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H1	A ser submetida
	BrPiB	2	Brasil, Piauí	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H1	A ser submetida
	LkLu	10	Sri Lanka, Lunuwila	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H2, H3	A ser submetida
	LkMu	4	Sri Lanka, Mundel	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H4, H5	A ser submetida
	Br	1	Brasil, Pernambuco	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H1	JQ609092*
	Tz	1	Tanzânia, Nachenjele	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H1	JQ609093*
	Bj	1	Benim, Singino	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H6	JQ609094*
<i>N. paspalivorus</i>	BrSeP1	2	Brasil, Sergipe	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H7	A ser submetida
	BrPbP2	1	Brasil, Paraíba	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H7	A ser submetida
	BrRnP4	4	Brasil, Rio Grande do Norte	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H7	A ser submetida
	BrCeP5	3	Brasil, Ceará	<i>C. nucifera</i>	Arecaceae	H7-H9	A ser submetida
<i>N. californicus</i>	-	5	Japão, Funao	<i>Vitis</i> sp.	Vitaceae	H10, H11	AB500127-AB500131 AB500128*, B500129* AB500130*
<i>E. gallicus</i>	-	2	França	<i>Viburnum tinus</i>	Adoxaceae	H12	FJ404589, FJ404590*
<i>E. stipulatus</i>	-	2	Espanha	<i>Citrus</i> sp.	Rutaceae	H13	FJ404587*, FJ404588
<i>E. finlandicus</i>	-	2	França	<i>Prunus cerasus</i>	Rosaceae	H14-H15	FJ404591*, FJ404592*
<i>S. scimitus</i>	-	1	Austrália, New South Wales	-	-	H16	AY184367*

\*Sequências representativas dos haplótipos na filogenia.

Tabela 3. Valores médios ( $\pm$  erro padrão), mínimos e máximos observados ( $\mu\text{m}$ ) de 33 caracteres morfológicos mensurados a partir de fêmeas adultas de sete populações identificadas como *N. baraki*.

Caracteres Morfológicos	Alagoas (AL)		Ceará (CE)		Maranhão (MA)		Paraíba (PB)	
	Média $\pm$ EP	Mín-Máx	Média $\pm$ EP	Mín-Máx	Média $\pm$ EP	Mín-Máx	Média $\pm$ EP	Mín-Máx
CED	360,7 $\pm$ 2,19 c <sup>1</sup>	351,1-383,5	349,5 $\pm$ 2,26 c	330,0-370,0	413,6 $\pm$ 3,78 a	382,8-453,2	357,7 $\pm$ 2,45 b	341,5-378,4
LED	156,4 $\pm$ 1,15 bcd	147,9-164,9	154,8 $\pm$ 1,21 cd	145,0-167,5	158,3 $\pm$ 0,91 abc	150,5-165,0	155,8 $\pm$ 0,92 cd	146,7-162,5
j1	14,6 $\pm$ 0,21 b	13,1-16,0	14,3 $\pm$ 0,16 b	13,0-15,0	15,5 $\pm$ 0,20 a	13,3-16,8	13,5 $\pm$ 0,18 c	11,8-14,9
j3	17,5 $\pm$ 0,27 a	15,0-19,1	16,9 $\pm$ 0,19 ab	15,0-18,0	17,1 $\pm$ 0,35 ab	14,4-19,5	16,3 $\pm$ 0,18 b	14,9-17,8
j4	10,6 $\pm$ 0,18 b	9,0-11,6	10,4 $\pm$ 0,13 bc	10,0-11,2	11,4 $\pm$ 0,16 a	9,8-12,6	9,8 $\pm$ 0,17 d	8,6-11,4
j5	10,8 $\pm$ 0,12 ab	9,6-11,5	10,8 $\pm$ 0,15 ab	10,0-12,5	10,9 $\pm$ 0,16 ab	9,4-12,2	10,3 $\pm$ 0,16 bc	8,0-11,3
j6	13,1 $\pm$ 0,22 bc	10,3-14,0	13,0 $\pm$ 0,19 bc	12,5-15,0	13,6 $\pm$ 0,24 ab	12,1-15,0	11,6 $\pm$ 0,20 e	9,8-13,5
J2	11,5 $\pm$ 0,23 cd	9,6-13,1	11,9 $\pm$ 0,15 bc	10,5-12,5	12,4 $\pm$ 0,24 ab	10,3-14,8	10,9 $\pm$ 0,21 b	8,2-12,3
J5	10,6 $\pm$ 0,20 bc	7,5-11,7	10,9 $\pm$ 0,21 b	10,0-12,5	12,3 $\pm$ 0,18 a	10,1-13,3	9,7 $\pm$ 0,18 d	8,0-11,1
z2	11,3 $\pm$ 0,22 b	7,5-12,2	11,6 $\pm$ 0,24 b	10,0-12,5	12,4 $\pm$ 0,26 a	10,0-14,3	10,2 $\pm$ 0,19 c	8,8-11,5
z4	13,7 $\pm$ 0,28 b	11,5-15,2	13,6 $\pm$ 0,26 b	12,5-15,0	14,6 $\pm$ 0,22 ab	12,4-16,3	12,7 $\pm$ 0,25 c	10,2-14,4
z5	10,3 $\pm$ 0,13 a	9,0-11,1	10,8 $\pm$ 0,23 a	10,0-13,7	11,0 $\pm$ 0,22 a	9,3-13,4	9,6 $\pm$ 0,21 b	7,4-10,8
Z1	13,5 $\pm$ 0,25 a	11,1-15,0	12,6 $\pm$ 0,15 b	11,2-13,7	14,0 $\pm$ 0,31 a	11,7-16,3	12,2 $\pm$ 0,34 bc	9,2-14,3
Z4	21,1 $\pm$ 0,43 b	18,5-26,6	19,8 $\pm$ 0,31 cd	17,5-22,5	22,1 $\pm$ 0,37 a	19,6-24,6	18,6 $\pm$ 0,30 e	16,5-21,0
Z5	71,8 $\pm$ 0,77 c	64,5-78,2	71,3 $\pm$ 0,76 cd	65,0-75,0	81,3 $\pm$ 0,97 b	69,3-87,2	69,2 $\pm$ 0,56 cd	64,0-74,4
s4	16,5 $\pm$ 0,20 ab	14,8-18,3	15,7 $\pm$ 0,22 b	15,0-17,5	16,6 $\pm$ 0,18 a	14,9-18,6	14,9 $\pm$ 0,25 c	12,6-16,6
S2	15,7 $\pm$ 0,16 b	13,9-16,9	15,7 $\pm$ 0,24 b	15,0-17,5	16,5 $\pm$ 0,25 b	14,6-18,5	14,4 $\pm$ 0,20 c	12,9-16,1
S4	25,5 $\pm$ 0,30 b	22,5-27,2	24,5 $\pm$ 0,30 bc	22,5-27,5	27,4 $\pm$ 0,36 a	23,4-29,4	23,8 $\pm$ 0,35 c	20,6-26,7
S5	24,3 $\pm$ 0,32 c	22,2-26,9	23,6 $\pm$ 0,34 cd	20,0-25,5	26,5 $\pm$ 0,27 b	24,4-28,6	23,7 $\pm$ 0,32 cd	20,7-26,4
r3	15,1 $\pm$ 0,22 b	13,2-16,9	14,7 $\pm$ 0,17 b	13,0-16,2	16,1 $\pm$ 0,21 a	14,6-17,7	14,5 $\pm$ 0,17 b	13,1-15,6
R1	14,0 $\pm$ 0,14 bc	13,0-15,4	14,4 $\pm$ 0,22 ab	12,5-15,5	14,7 $\pm$ 0,13 ab	13,7-15,9	13,5 $\pm$ 0,15 cd	12,0-14,7
StIV	40,4 $\pm$ 0,53 c	32,3-43,5	39,2 $\pm$ 0,38 c	35,5-41,2	42,9 $\pm$ 0,41 b	39,3-46,6	38,6 $\pm$ 0,44 c	35,2-41,9
St1-St3	86,9 $\pm$ 0,34 b	84,2-89,7	85,8 $\pm$ 0,38 bc	81,2-88,7	97,6 $\pm$ 0,50 a	92,4-101,0	85,7 $\pm$ 0,30 bc	83,7-87,7
St2-St3	37,4 $\pm$ 0,28 b	35,6-40,9	36,0 $\pm$ 0,30 c	33,7-38,7	40,6 $\pm$ 0,41 a	37,5-44,8	36,2 $\pm$ 0,31 c	34,4-38,9
EVA-Com	116,4 $\pm$ 0,90 b	108,2-121,8	110,4 $\pm$ 1,01 c	105,0-120,0	133,1 $\pm$ 1,22 a	117,5-140,5	113,8 $\pm$ 1,31 bc	103,0-123,0
EVA-Ant	98,1 $\pm$ 0,75 a	92,9-102,7	93,0 $\pm$ 1,00 b	85,0-102,5	96,2 $\pm$ 1,07 ab	83,2-103,6	95,7 $\pm$ 1,06 ab	87,4-104,0
EVA-Post	84,2 $\pm$ 0,49 ab	80,4-88,3	82,4 $\pm$ 0,61 b	75,0-85,0	82,4 $\pm$ 0,85 b	75,0-93,0	81,9 $\pm$ 0,57 b	77,1-85,5
G-G	61,6 $\pm$ 0,45 a	58,4-65,7	60,4 $\pm$ 0,52a	56,2-65,0	61,1 $\pm$ 0,64 a	57,0-70,5	60,2 $\pm$ 0,42 a	57,1-62,8
DM	31,2 $\pm$ 0,18 c	29,9-32,7	31,2 $\pm$ 0,23 c	30,0 $\pm$ 32,5	35,2 $\pm$ 0,29 a	32,4-37,8	31,3 $\pm$ 0,19 c	29,8-32,6
St1-St1	40,9 $\pm$ 0,29 ab	38,0-42,6	41,0 $\pm$ 0,39ab	38,7-46,2	40,2 $\pm$ 0,27 b	38,0-42,6	41,2 $\pm$ 0,26 ab	38,4-42,5
St2-St2	53,6 $\pm$ 0,28 bc	50,4-55,8	53,6 $\pm$ 0,44bc	51,2-57,5	52,6 $\pm$ 0,35 c	49,7-54,9	54,5 $\pm$ 0,39 b	50,8-57,1
St3-St3	57,9 $\pm$ 0,62 b	53,6-64,6	59,1 $\pm$ 0,38b	55,0-62,5	57,7 $\pm$ 0,59b	48,9-61,6	59,6 $\pm$ 0,47 b	55,4-63,5
JV5	29,3 $\pm$ 0,37 b	24,8-32,7	26,7 $\pm$ 0,32 c	22,5-28,7	30,6 $\pm$ 0,61 a	24,8-35,6	26,9 $\pm$ 0,28 c	25,0-29,4

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem significativamente (teste SNK.  $P > 0,05$ ).

(Continuação)

Caracteres Morfológicos	Pernambuco (PE)		Rio Grande do Norte (RN)		Sri Lanka (Lk)	
	Média ±EP	Mín-Máx	Média ±EP	Mín-Máx	Média ±EP	Mín-Máx
CED	354,1±2,89 c	335,5-389,6	415,2±4,27 a	363,4-458,1	415,2±4,27 a	363,4-458,1
LED	153,6 ±1,33 d	143,7-165,3	160,1±0,83 ab	150,1-166,8	160,1±0,83 ab	150,1-166,8
j1	13,5±0,13 c	12,0-14,9	15,7±0,20 a	13,7-17,1	15,7±0,20 a	13,7-17,1
j3	16,1±0,24 b	14,3-17,8	17,7±0,30 a	14,8-20,1	17,7±0,30 a	14,8-20,1
j4	9,7±0,18 d	8,2-11,0	11,4±0,15 a	10,2-12,7	11,4±0,15 a	10,2-12,7
j5	9,9±0,14 c	8,8-11,3	11,5±0,20 a	9,9-13,3	11,5±0,20 a	9,9-13,3
j6	12,0±0,15 de	10,3-13,4	13,9±0,20 a	12,0-15,5	13,9±0,20 a	12,0-15,5
J2	10,9±0,18 b	9,3-12,4	13,0±0,22 a	11,0-14,6	13,0±0,22 a	11,0-14,6
J5	10,2±0,20 cd	8,4-11,5	11,8±0,16 a	10,5-13,0	11,8±0,16 a	10,5-13,0
z2	10,6±0,13 c	9,7-11,7	12,7±0,18 a	10,9-13,9	12,7±0,18 a	10,9-13,9
z4	12,4±0,21 c	11,0-14,0	15,2±0,32 a	12,5-17,6	15,2±0,32 a	12,5-17,6
z5	9,3±0,19 b	8,1-10,8	10,9±0,19 a	9,3-12,4	10,9±0,19 a	9,3-12,4
Z1	11,6±0,26 c	8,5-13,8	14,1±0,30 a	12,0-16,8	14,1±0,30 a	12,0-16,8
Z4	19,3±0,27 de	17,0-21,2	15,2±0,32 a	19,8-24,2	15,2±0,32 a	19,8-24,2
Z5	70,0±1,05 cd	62,7-80,3	84,1±0,66 a	78,7-87,9	84,1±0,66 a	78,7-87,9
s4	14,7±0,29 c	10,5-16,1	17,2±0,24 a	15,6-19,1	17,2±0,24 a	15,6-19,1
S2	14,5±0,26 c	12,7-16,6	17,5±0,32 a	14,0-19,5	17,5±0,32 a	14,0-19,5
S4	23,6±0,35 c	20,2-26,2	28,0±0,47 a	20,1-30,3	28,0±0,47 a	20,1-30,3
S5	23,1±0,27 d	21,1-25,1	27,5±0,31 a	23,8-29,3	27,5±0,31 a	23,8-29,3
r3	14,5±0,19 b	13,1-15,8	16,2±0,27 a	12,6-18,1	16,2±0,27 a	12,6-18,1
R1	12,7±0,27 e	10,9-14,9	14,9±0,23 a	12,8-16,5	14,9±0,23 a	12,8-16,5
StIV	38,9±0,55 c	34,1-42,0	45,2±0,70 a	38,8-49,4	45,2±0,70 a	38,8-49,4
St1-St3	85,0±0,37 c	82,4-89,1	97,9±0,36 a	95,7-100,7	97,9±0,36 a	95,7-100,7
St2-St3	36,2±0,26 c	34,5-38,6	40,6±0,32 a	38,0-42,9	40,6±0,32 a	38,0-42,9
EVA-Com	113,2± 1,33 bc	102,2-125,4	132,4±1,78 a	103,0-139,4	132,4±1,78 a	103,0-139,4
EVA-Ant	95,2 ±1,08 ab	87,2-104,4	97,8±0,43 a	94,8-103,6	97,8±0,43 a	94,8-103,6
EVA-Post	81,8±0,69 b	76,2-87,5	82,2±0,79 b	75,6-93,8	82,2±0,79 b	75,6-93,8
G-G	61,4±0,54 a	57,3-65,2	62,2±0,79 a	57,9-72,4	62,2±0,79 a	57,9-72,4
DM	30,7±0,29 c	27,7-32,8	34,4±0,31 b	32,1-38,1	34,4±0,31 b	32,1-38,1
St1-St1	41,7±0,66 ab	38,0-51,5	41,6±0,36 ab	38,6-44,7	41,6±0,36 ab	38,6-44,7
St2-St2	52,1±0,43 c	48,6-56,5	53,5±0,34 ab	51,1-56,7	53,5±0,34 ab	51,1-56,7
St3-St3	57,5±0,56 b	53,4-61,9	58,1±0,36 b	53,8-61,3	58,1±0,36 b	53,8-61,3
JV5	27,7±0,42 c	25,2-30,9	31,7±0,50 a	28,7-35,6	31,7±0,50 a	28,7-35,6

Tabela 4. Análise de variáveis canônicas para fêmeas de sete populações de *N. baraki* do Nordeste brasileiro. Os primeiros dez caracteres morfológicos (autovetores) com pesos mais elevados (autovalores) para duas variáveis canônicas (CV1 e CV2), em ordem decrescente de valores absolutos.

Caracteres morfológicos	CV1 peso	Caracteres morfológicos	CV2 peso
St1-St3	0,3872	j1	-0,5729
EVA-Post	-0,2670	z2	0,4374
St2-St2	-0,2208	z5	0,4079
j5	0,2154	s4	0,3855
R1	0,2029	S5	-0,2936
J5	0,1961	DM	-0,2061
DM	0,1841	StIV	-0,1938
EVA-Ant	-0,1821	LED	-0,1845
StIV	0,1400	j6	0,1538
j3	0,1398	J2	0,1394

Tabela 5. Médias ( $\pm$  EP) do período de pré-oviposição, número de ovos/fêmea, viabilidade total e razão sexual dos descendentes de cruzamentos e retrocruzamentos de dez casais procedentes das populações do Rio Grande do Norte (RN) e Pernambuco (PE) identificadas como *N. baraki*.

<i>Cruzamento</i>	Pré-oviposição <sup>1</sup>	Nº de ovos /fêmea	Viabilidade total (%)	Razão sexual (%)
<i>Fêmea X Macho</i>				
<i>Cruzamentos homogâmicos</i>				
PE X PE	2,0 $\pm$ 0,29 a <sup>2</sup>	17,3 $\pm$ 1,48 a	83,8 $\pm$ 2,91 a	79 $\pm$ 3,21 ab
RN X RN	1,2 $\pm$ 0,24 ab	14,3 $\pm$ 1,38 a	81,6 $\pm$ 6,09 a	82 $\pm$ 2,51 ab
<i>Cruzamentos homogâmicos</i>				
PE X RN	1,1 $\pm$ 0,17 ab	16,3 $\pm$ 1,38 a	84,4 $\pm$ 3,62 a	74 $\pm$ 2,02 ab
RN X PE	2,1 $\pm$ 0,34 a	13,7 $\pm$ 0,81 a	71,5 $\pm$ 4,37 ab	82 $\pm$ 2,07 ab
<i>Retrocruzamentos</i>				
F1 (PE X RN) X PE	0,7 $\pm$ 0,21 b	15,5 $\pm$ 1,13 a	71,2 $\pm$ 3,71 ab	79 $\pm$ 2,2 ab
F1 (PE X RN) X RN	0,7 $\pm$ 0,15 b	13,9 $\pm$ 1,55 a	77,8 $\pm$ 4,17 a	80 $\pm$ 2,2 ab
F1 (RN X PE) X PE	1,1 $\pm$ 0,23 ab	13,9 $\pm$ 1,19 a	58,6 $\pm$ 6,01 b	86 $\pm$ 3,4 a
F1 (RN X PE) X RN	1,1 $\pm$ 0,10 ab	16,0 $\pm$ 1,43 a	66,5 $\pm$ 6,91 ab	72 $\pm$ 4,3 b

<sup>1</sup>EP: Erro padrão da média.

<sup>2</sup>Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente (SNK, P >0,05).

Tabela 6. Distância genética calculada para ITS entre as sequências de *N. baraki*, incluindo as espécies dos grupos internos e externos usando a correção de dois parâmetros de Kimura. As populações de *N. baraki* foram analisadas um único táxon (A) ou táxons diferentes (B).

(A)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
1	<i>N.baraki</i>	0,27%														
2	<i>N.paspalivorus</i>	5,83%	0,00%													
3	<i>N.californicus</i>	14,38%	12,59%	0,28%												
4	<i>N.idaeus</i>	14,50%	13,74%	2,42%	0,00%											
5	<i>E.concordis</i>	14,49%	14,04%	12,75%	12,02%	n/c										
6	<i>E.stipulatus</i>	15,67%	14,94%	13,32%	13,20%	4,40%	n/c									
7	<i>E.finlandicus</i>	13,83%	13,73%	12,45%	12,02%	2,29%	3,87%	0,00%								
8	<i>E.ovalis</i>	13,83%	13,14%	12,75%	12,64%	2,55%	4,67%	1,26%	0,00%							
9	<i>E.sojensis</i>	14,31%	13,90%	12,31%	12,20%	2,43%	4,00%	1,14%	0,88%	0,28%						
10	<i>E.nicholsi</i>	13,73%	13,32%	12,06%	11,94%	2,22%	4,58%	1,47%	1,21%	0,81%	0,19%					
11	<i>T.phyalatus</i>	17,56%	16,84%	14,99%	16,50%	17,49%	17,80%	16,52%	16,52%	16,69%	16,60%	n/c				
12	<i>T.koenigerum</i>	32,01%	32,14%	30,80%	31,23%	32,26%	33,51%	29,73%	30,68%	30,83%	31,00%	33,62%	n/c			
13	<i>T.thaii</i>	33,37%	33,95%	30,12%	30,56%	31,77%	33,00%	30,09%	31,47%	31,19%	30,94%	32,94%	6,28%	n/c		
(B)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	<i>N.baraki</i> Br	0,00%														
2	<i>N. baraki</i> Br Mu Lu	0,31%	0,05%													
3	<i>N.baraki</i> Lu	1,41%	1,15%	0,00%												
4	<i>N.paspalivorus</i>	2,86%	3,18%	3,15%	0,00%											
5	<i>N.californicus</i>	9,46%	9,80%	9,76%	8,71%	0,28%										
6	<i>N.idaeus</i>	9,60%	9,94%	9,90%	9,93%	2,72%	0,00%									
7	<i>E.concordis</i>	11,23%	11,58%	11,53%	10,56%	9,80%	9,02%	n/c								
8	<i>E.stipulatus</i>	11,23%	11,58%	11,53%	10,56%	10,47%	10,35%	2,29%	n/c							
9	<i>E.finlandicus</i>	10,23%	10,58%	10,54%	9,90%	9,15%	8,69%	2,00%	2,00%	0,00%						
10	<i>E.ovalis</i>	9,90%	10,25%	10,21%	9,90%	9,80%	9,68%	2,29%	2,29%	0,85%	0,00%					
11	<i>E.sojensis</i>	10,39%	10,74%	10,37%	10,07%	9,64%	9,51%	2,15%	2,15%	0,71%	0,42%	0,28%				
12	<i>E.nicholsi</i>	9,93%	10,28%	9,92%	9,61%	9,22%	9,09%	2,05%	2,64%	1,21%	0,92%	0,78%	0,19%			
13	<i>T.phyalatus</i>	13,50%	13,86%	13,18%	11,51%	10,28%	11,86%	13,22%	13,22%	12,20%	12,20%	12,37%	12,27%	n/c		
14	<i>T.koenigerum</i>	28,64%	28,62%	28,64%	28,76%	26,46%	26,90%	30,71%	30,71%	28,37%	29,76%	29,52%	29,71%	29,37%	n/c	
15	<i>T.thaii</i>	29,56%	29,53%	29,56%	29,69%	26,56%	27,02%	29,76%	30,23%	28,37%	29,76%	29,52%	29,24%	28,58%	6,15%	n/c

Tabela 7. Distância genética calculada para *COI* entre as sequências de *N. baraki*, incluindo as espécies dos grupos internos e externos usando a correção de dois parâmetros de Kimura. As populações de *N. baraki* foram analisadas um único táxon (A) ou táxons diferentes (B).

(A)		1	2	3	4	5	6	7				
1	<i>N. baraki</i>	2,21%										
2	<i>N. paspalivorus</i>	13,54%	0,13%									
3	<i>N. californicus</i>	20,31%	21,89%	0,25%								
4	<i>E. gallicus</i>	22,28%	21,19%	26,58%	0,00%							
5	<i>E. stipulatus</i>	27,67%	23,76%	26,86%	20,71%	0,00%						
6	<i>E. finlandicus</i>	26,68%	23,87%	32,81%	16,87%	24,97%	4,26%					
7	<i>S. scimitus</i>	29,24%	27,73%	32,67%	29,01%	36,42%	33,66%	n/c				
(B)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	<i>N. baraki</i>	0,00%										
2	<i>N. baraki</i> Mu	1,04%	0,16%									
3	<i>N. baraki</i> Lu1	3,60%	3,34%	0,00%								
4	<i>N. baraki</i> Lu2	4,62%	4,37%	0,96%	0,00%							
5	<i>N. baraki</i> Bj	15,82%	16,12%	15,83%	15,83%	n/c						
6	<i>N. paspalivorus</i>	13,61%	13,91%	12,47%	13,24%	15,14%	0,13%					
7	<i>N. californicus</i>	20,17%	20,59%	20,16%	20,58%	22,63%	21,89%	0,25%				
8	<i>E. gallicus</i>	22,50%	22,84%	21,15%	21,58%	21,11%	21,19%	26,58%	0,00%			
9	<i>E. stipulatus</i>	27,34%	27,70%	27,79%	29,25%	26,90%	23,76%	26,86%	20,71%	0,00%		
10	<i>E. finlandicus</i>	27,12%	26,76%	25,50%	25,50%	23,73%	23,87%	32,81%	16,87%	24,97%	4,26%	
11	<i>S. scimitus</i>	29,64%	29,76%	26,75%	27,68%	32,43%	27,73%	32,67%	29,01%	36,42%	33,66%	n/c

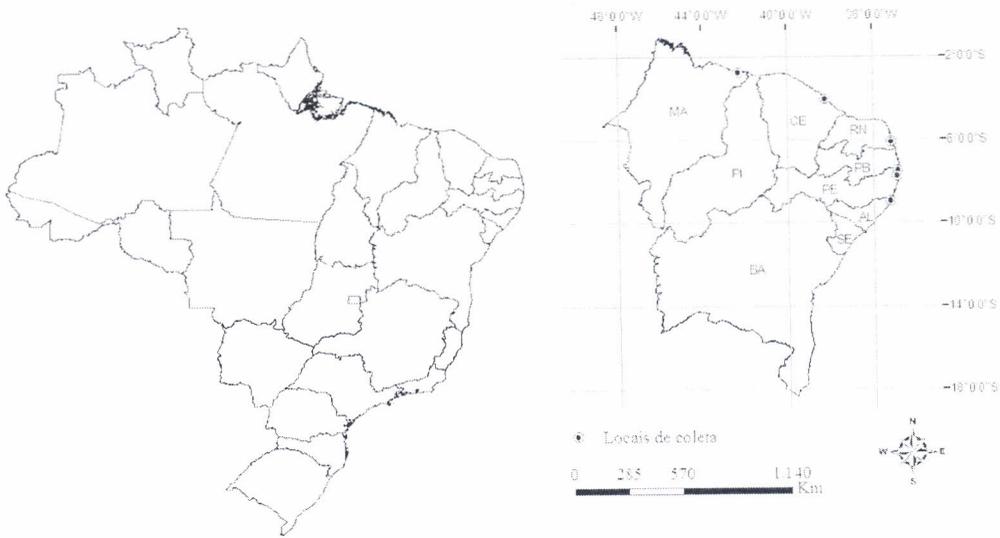


Figura 1. Locais de coletas das populações de *N. baraki* do nordeste brasileiro.

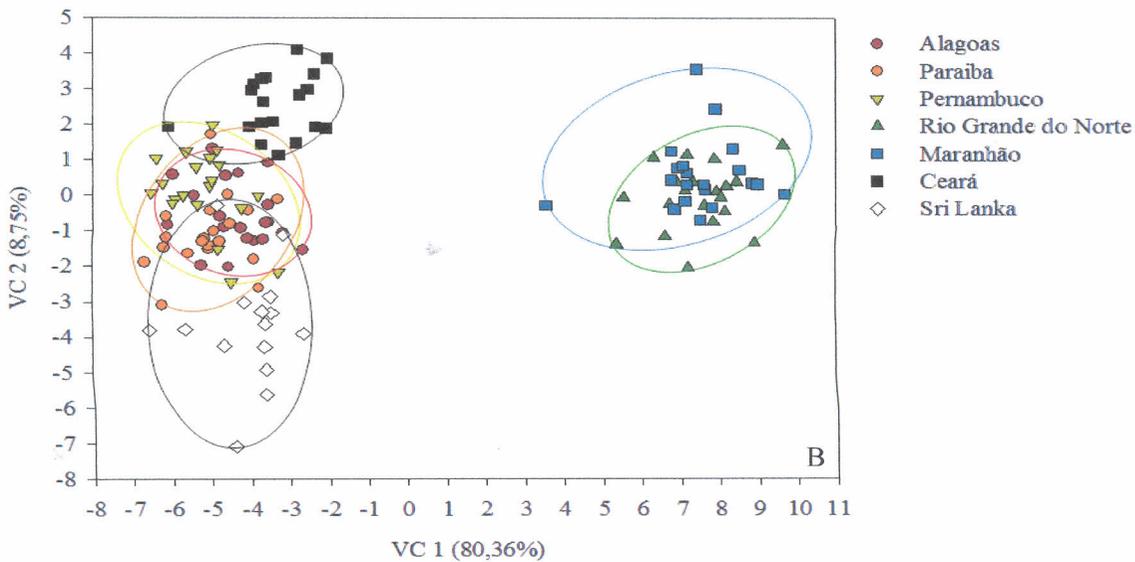
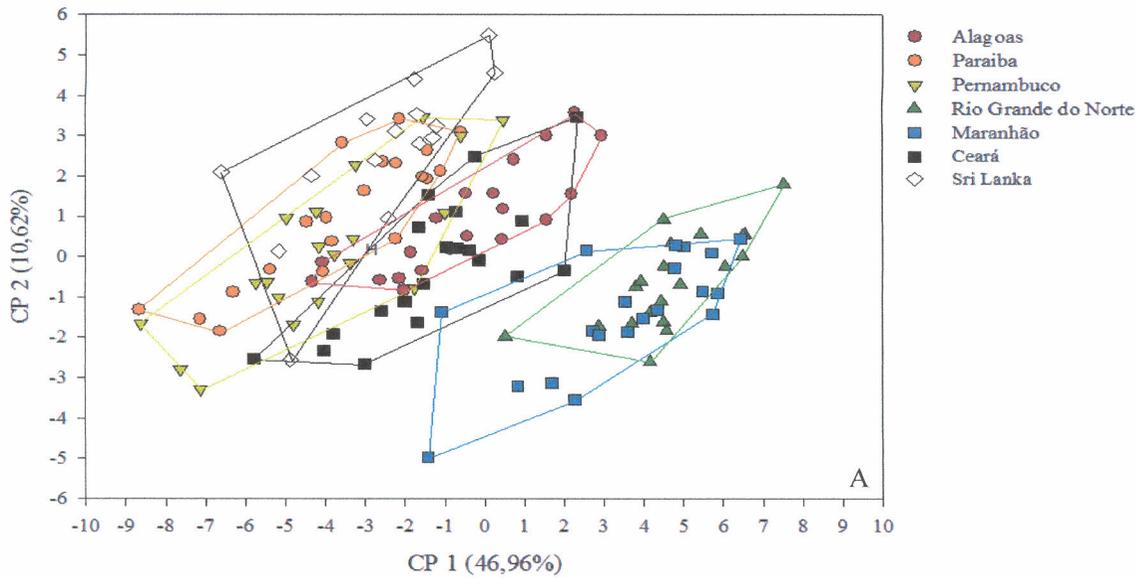


Figura 2. (A) ACP de 32 caracteres morfológicos de fêmeas pertencentes a sete populações de *N. baraki*. Polígonos formados com base na projeção de indivíduos de cada população para o CP 1 e 2, a variação explicada pelos dois componentes principais é mostrado entre parênteses. (B) AVC de 32 caracteres morfológicos de fêmeas pertencentes a sete populações de *N. baraki*. Círculos

formados com base na projeção de indivíduos de cada população para VC 1 e 2, a variação explicada pelas duas variáveis canônicas é mostrada entre parênteses.

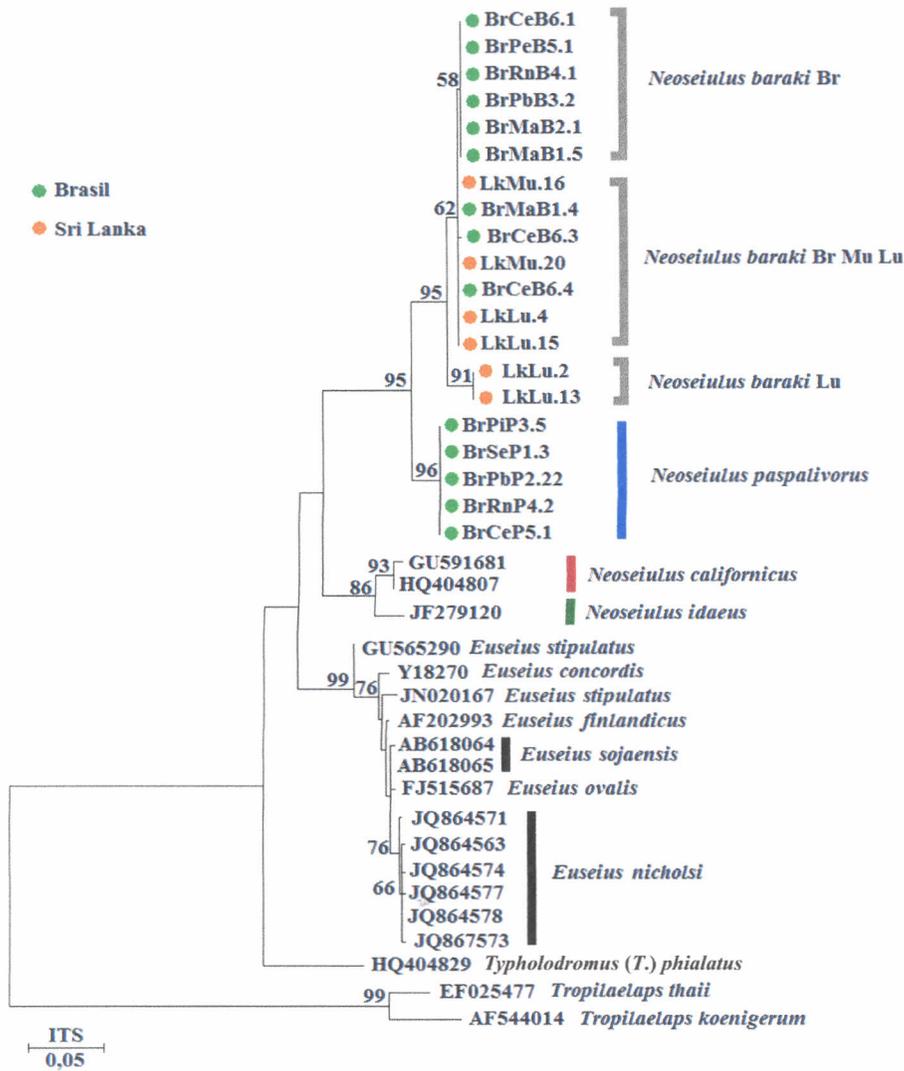


Figura 3. Árvore ITS: Árvore filogenética ML (TN93 + G) inferida a partir de sequências da região ITS de espécies do gênero *Neoseiulus* obtidas neste estudo, e sequências de grupos internos e externos recuperadas do Genbank. Informações sobre a composição dos genótipos na Tabela 1. O número de vezes que cada genótipo foi encontrado nas amostras está entre parênteses. Os valores de bootstrap estão localizados sobre os ramos. A identificação da espécie está à direita dos grupos.

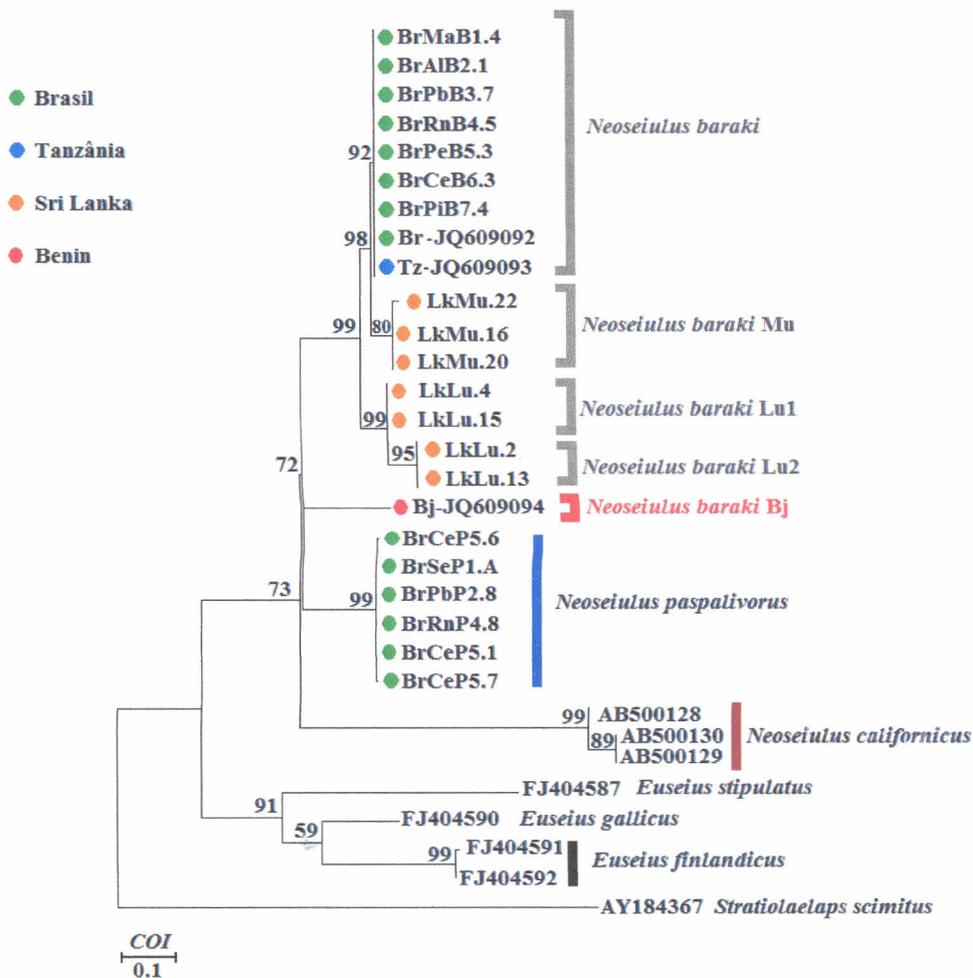


Figura 4. Árvore *COI*: Árvore filogenética ML (HKY + I+ G) inferida a partir de sequências de um fragmento do gene *COI* (mtDNA) para espécies de *Neoseiulus* recuperadas do Genbank e obtidas nesse estudo. Informações sobre a composição dos haplótipos na Tabela 2. O número de vezes que cada haplótipo foi encontrado nas amostras está entre parênteses. Os valores de bootstrap estão localizados sobre os ramos. A identificação da espécie está à direita dos grupos.

## CAPÍTULO 5

### CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE POPULAÇÕES DO ÁCARO PREDADOR *Amblyseius largoensis* (MUMA) (PHYTOSEIIDAE) DA ÁSIA, AMÉRICAS E ILHAS DO OCEANO ÍNDICO<sup>1</sup>

DANIELA D.M. REZENDE<sup>2</sup>, DENISE NAVIA<sup>3</sup>, RENATA S. DE MENDONÇA<sup>3</sup>, DANIEL C. OLIVEIRA<sup>4</sup>,  
GILBERTO J. DE MORAES<sup>4</sup>, MARIE-STÉPHANE TIXIER<sup>5</sup> E MANOEL G.C. GONDIM JR<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

<sup>3</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, PqEB, Av. W5 Norte, Caixa Postal 02372, 70770-917 Brasília, DF, Brasil.

<sup>4</sup>Departamento de Entomologia e Acarologia, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Av. Pádua Dias, 11, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

<sup>5</sup>Montpellier SupAgro, The Center for Biology and Management of Populations, Montferrier-sur-Lez 30016, Montpellier, França.

---

<sup>1</sup>Rezende, D.D.M, D. Navia, R.S. Mendonça, D.C. Oliveira, G.J. de Moraes, M.-S. Tixier & M.G.C. Gondim Jr. Caracterização morfológica e molecular de *Amblyseius largoensis* (Muma) (Phytoseiidae) da Ásia, Américas e ilhas do Oceano Índico. A ser submetido.

RESUMO – Como parte de um programa de controle biológico clássico do ácaro-vermelho-das-palmeiras (*Raoiella indica* Hirst) no Brasil, populações do ácaro predador *Amblyseius largoensis* (Muma) das ilhas do Oceano Índico e Ásia (Tailândia) foram introduzidos no país. Os objetivos deste estudo foram confirmar a identidade de uma população de *A. largoensis* da Tailândia introduzida no Brasil e avaliar a variabilidade entre essa população e populações das Américas e ilhas do Oceano Índico. Análises morfométricas univariadas e multivariadas foram realizadas para 36 caracteres morfológicos das populações da Ásia, Américas e ilhas do Oceano Índico. Análises moleculares foram realizadas com base em dois fragmentos de DNA, ITS e 12S, amplificadas e sequenciadas para a população da Ásia e comparadas com sequências de *A. largoensis* das Américas e ilhas do Oceano Índico, disponíveis no Genbank. Foram observadas diferenças morfométricas entre os espécimes de *A. largoensis* da Ásia e as demais populações analisadas. As distâncias entre pares de bases das sequências ITS e 12S das populações estudadas refletem variabilidade intraespecífica. Na região 12S, a distância entre as populações de Ásia e Américas (2,53%) foi menor do que entre as populações da Ásia e das ilhas do Oceano Índico (7,23%). Dois genótipos foram identificados para ITS, sendo o genótipo asiático idêntico ao das populações das Américas e diferente daquele da população das ilhas do Oceano Índico. Os resultados obtidos devem ser considerados na busca de estratégias para o controle biológico de *R. indica* no Brasil e em outros países das Américas onde a praga foi introduzida.

PALAVRAS-CHAVE: Acari, *Raoiella indica*, Tailândia, controle biológico clássico, taxonomia integrativa

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *Amblyseius largoensis*  
(MUMA) (PHYTOSEIIDAE) FROM ASIA, AMERICAS AND INDIAN OCEAN ISLANDS

ABSTRACT - As part of a classic red palm mite biological control program (*Raoiella indica* Hirst) in Brazil, populations of predatory mite *Amblyseius largoensis* (Muma) from Indian Ocean island and Asia (Thailand) were introduced in the country. The objectives of this study were to confirm the identity of a population of *A. largoensis* from Thailand introduced in Brazil and assess the variability among this population and populations from Americas and Indian Ocean islands. Univariate and multivariate morphometric analyzes were performed for morphological characters of 36 populations from Asia, Americas and Indian Ocean islands. Molecular analyzes were performed using two DNA fragments: ITS rDNA and 12S mtDNA, which were amplified and sequenced for the populations from Asia and compared with sequences of *A. largoensis* from Americas and the Indian Ocean islands, available in GenBank. Morphometric differences between specimens of *A. largoensis* from Asia and other populations were observed. The distances between pairs of 12S and ITS sequences of the populations studied reflect intraspecific variability. In the region 12S, the distance among populations from Asia and the Americas (2.53%) was lower than that observed among Asia and Indian Ocean islands (7.23%). Two genotypes were identified for ITS, being the Asian genotype identical to the populations from Americas and different of populations from Indian Ocean islands. Our results should be considered in the search of strategies for the biological control of *R. indica* in Brazil and other countries in the Americas where the pest was introduced.

KEY WORDS: Acari, *Raoiella indica*, Thailand, classical biological control, integrative taxonomy

## Introdução

O ácaro-vermelho-das-palmeiras, *Raoiella indica* Hirst (Tenuipalpidae), têm se destacado como ácaro invasor de rápida disseminação na América, onde tem ampliado o número de hospedeiros. O primeiro relato desta praga nas Américas ocorreu em 2004, na ilha caribenha de Martinica (Flechtmann & Etienne 2004), espalhando-se rapidamente para outras ilhas do Caribe (Etienne & Flechtmann 2006, Rodrigues *et al.* 2007, Welbourn 2009, de la Torre 2010, CABI 2014). Em 2007 foi relatado na América do Norte (Welbourn 2009) e América do Sul (Venezuela) (Vásquez *et al.* 2008). No Brasil, sua presença foi constatada em 2009, em Boa Vista, Roraima (Navia *et al.* 2011), sendo em 2011 detectado também em Manaus no estado do Amazonas (Rodrigues & Antony 2011).

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) é a principal planta hospedeira de *R. indica* nas Américas. Elevadas infestações desta praga podem causar amarelecimento das folhas, seguido de necrose dos tecidos (Flechtmann & Etienne 2004), reduções na produtividade da planta, comprometimento do desenvolvimento de coqueiros jovens e até mesmo morte da planta (Sarkar & Somchoudhury 1988).

*Raoiella indica* ainda não afetou áreas de grande produção de coco no Brasil, situadas, sobretudo, no litoral do Nordeste do país. No entanto, grande atenção deve ser dada ao impacto eminente que pode causar, caso seja disseminada para estas áreas (Navia *et al.* 2014). Pesquisas visando à definição de medidas de controle para minimizar os danos causados por *R. indica* nas áreas invadidas da América vem sendo realizadas, destacando-se o controle biológico com ácaros predadores (Carrillo *et al.* 2010, Mound *et al.* 2010, Carrillo & Peña 2011, Carrillo *et al.* 2011, Domingos *et al.* 2013). Grande empenho vem sendo dedicado à identificação e avaliação de potenciais agentes de controle biológico de *R. indica* para regiões neotropicais (Hoy 2012, Taylor *et al.* 2012). O ácaro predador *Amblyseius largoensis* (Muma) (Phytoseiidae) destaca-se por ser

encontrado com grande frequência e abundância em associação a *R. indica*, e por estar amplamente distribuído em áreas tropicais e subtropicais do mundo (Gallego *et al.* 2003, Etienne & Flechtmann 2006, Peña *et al.* 2009, Taylor *et al.* 2012, Carrillo *et al.* 2012, Moraes *et al.* 2012), incluindo o Estado de Roraima (Gondim Jr. *et al.*, 2012).

A acurada identificação de inimigos naturais é fundamental em programas de controle biológico, pois identificações imprecisas podem resultar no insucesso dos mesmos (Moraes 1987). A integração de métodos moleculares e biológicos é fundamental para auxiliar na identificação de espécies, e no entendimento das diferenças entre populações. Variações no comportamento alimentar e nas características biológicas tem sido relatada entre populações de fitoseídeos de diferentes origens geográficas (Famah Sourassou *et al.* 2011, Domingos *et al.* 2013). Tais variações podem estar relacionadas a diferenças de eficiência de controle da praga alvo entre as populações de predadores.

Como resultado da prospecção de agentes de controle biológico para *R. indica* em regiões onde a praga encontra-se em equilíbrio, uma população de *A. largoensis* oriunda da Ilha da Reunião foi introduzida no Brasil (Moraes *et al.* 2012). Essa população foi comparada, em condições de laboratório e semi-campo, com uma população de Roraima, sendo avaliados o desenvolvimento, reprodução e predação. Os resultados foram bastante promissores e mostraram que o período de oviposição, o consumo de presas e a taxa líquida de reprodução da população da Ilha da Reunião foram significativamente maiores em relação à população do Brasil (Domingos *et al.* 2013).

A presença de espécies crípticas pode ser detectada, entre populações morfológicamente semelhantes, através de observações de diferenças biológicas e genéticas. Hipóteses sobre a ocorrência de espécies crípticas em populações de *A. largoensis* foram levantadas por alguns autores (Bowman & Hoy 2012, Carrillo *et al.* 2012). Bowman e Hoy (2012) avaliaram a

variabilidade genética entre populações de *A. largoensis* da Ilha Mauritius e do sul da Flórida (EUA); os resultados apontaram variabilidade, no entanto, foram inconclusivos para a afirmação de presença de espécies crípticas. Navia *et al.* (2014) realizaram análises morfométricas, moleculares e testes de cruzamentos incluindo populações de *A. largoensis* das ilhas do Oceano Índico (Ilha da Reunião e Mauritius) e das Américas (Brasil, EUA, Trinidad & Tobago), e concluindo que as populações pertencem à mesma espécie, embora as populações das ilhas do Oceano Índico constituíssem uma linhagem genética distinta daquela Américas.

Como continuidade de um programa de controle biológico clássico de *R. indica* no Brasil, uma população identificada como *A. largoensis* da Ásia (Tailândia) foi introduzida no país recentemente, e está sendo avaliada quanto a seus parâmetros biológicos e potencial de predação. O objetivo deste estudo é confirmar a identidade de *A. largoensis* da Tailândia introduzida no Brasil, através de análises morfológicas e moleculares, e avaliar a variabilidade entre essa população e populações das Américas (Brasil, EUA, Trinidad & Tobago) e ilhas do Oceano Índico (Ilha da Reunião e Mauritius).

### Material e Métodos

**Caracterização morfométrica.** A caracterização morfométrica foi realizada para uma população de *A. largoensis*, coletada em Kamphaeng Saen (14°1'41"N, 99°57'41"L), Tailândia. Cerca de 30 espécimes foram montados em lâminas de microscopia em meio Hoyer, sendo selecionadas e medidas 20 fêmeas adultas. Foram mensurados 36 caracteres (Tabela 1), normalmente utilizados para a identificação de ácaros fitoseídeos (*e.g.* Chant & McMurtry, 1994, 2005, 2007). A nomenclatura das setas segue Lindquist & Evans (1965). As medidas foram obtidas através de um microscópio de contraste de fase (Nikon Eclipse 80i, Nikon, Tokyo, Japão), com um micrômetro ocular e uma ampliação de 400x. Todas as medidas são apresentadas em micrômetros. Os

espécimes mensurados nas análises morfométricas foram depositados como espécimes *vouchers* na coleção de ácaros da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

Os dados morfométricos obtidos para a população de *A. largoensis* da Tailândia foram analisados conjuntamente com dados morfométricos de populações da Ilha da Reunião, Brasil (Pernambuco e Roraima) e Trinidad & Tobago, obtidos anteriormente e analisados em Navia *et al.* (2014) (Tabela 1). Foi realizada uma análise de variância univariada (PROC ANOVA), seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ). Três análises estatísticas multivariadas também foram realizadas. Primeiro foi realizada uma análise de componentes principais (ACP) para revelar possíveis discontinuidades na variação morfológica entre as amostras provenientes de diferentes áreas geográficas. Depois foi realizada uma análise de variáveis canônicas (AVC) para determinar os padrões de variação morfológica e identificar as características morfológicas que mais contribuíram para a diferenciação entre as populações. Por último, uma análise da função discriminante foi realizada para avaliar se os indivíduos tinham sido corretamente atribuídos às populações originais. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software SAS (SAS Institute 2002).

**Caracterização molecular.** Para o estudo da variabilidade genética e das relações filogenéticas entre populações de *A. largoensis*, foram sequenciados dois fragmentos do genoma. A região intergênica, Espaçador Interno Transcrito (ITS), que abrangeu as regiões ITS1 e ITS2 e o gene 5,8S (ITS1-5,8S-ITS2) do genoma ribossômico nuclear (rDNA) e a região mitocondrial 12S rRNA (mtDNA). Essas mesmas regiões haviam sido sequenciadas para o estudo de populações de *A. largoensis* por Navia *et al.* (2014) e por Bowman e Hoy (2012) neste último caso, somente a região 12S.

A região ITS tem sido utilizada em estudos da família Phytoseiidae, na elucidação de aspectos importantes relacionados à filogenia (Kanouh *et al.* 2010a, Tsolakis *et al.* 2012), e na confirmação de espécies (*e.g.* Gotoh *et al.* 1998, Hillis & Dixon 1991, Navajas & Fenton 2000, Navajas *et al.* 1999), além de ser utilizada para esclarecer sinônimas e ocorrência de espécies crípticas em fitoseídeos (Tixier *et al.* 2006a, 2011, 2012a, Navia *et al.* 2014). A região 12S também tem sido utilizada com sucesso no esclarecimentos de sinônimas e na confirmação de espécies da família Phytoseiidae (Murrel *et al.* 2001, Jeyaprakash & Hoy 2002, Okassa *et al.* 2009, 2010, 2011, Kanouh *et al.* 2010b, Tixier *et al.* 2010b, 2011, 2012ab). Estes marcadores foram escolhidos para este estudo, por serem independentes e complementares, com taxas evolutivas distintas.

Extração de DNA: O DNA genômico das amostras de *A. largoensis* foi extraído de um indivíduo utilizando o kit de extração “DNeasy Blood and Tissue Kit” (Qiagen<sup>®</sup>, USA), seguindo o protocolo para cultura de células animais adaptado à extração de DNA total de pequenos artrópodes, conforme Mendonça *et al.* (2011), com os ajustes incorporados a partir do protocolo descrito por Kanouh *et al.* (2010b). Para cada população, 15 fêmeas foram individualizadas para extração. Os espécimes utilizados na extração de DNA, quando possível, tiveram seu exoesqueleto recuperado da membrana da coluna de extração e foram montados em lâminas de microscopia em meio de Hoyer. Essas lâminas foram depositadas como espécimes *voucher* na coleção de ácaros do Laboratório de Acarologia da Universidade Federal do Pernambuco, Pernambuco, Brasil e na coleção de ácaros da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Brasil.

Amplificação através da Reação em Cadeia da Polimerase - PCR (*Polymerase Chain Reaction*): Os primers utilizados para amplificação da região ITS foram 5'-AGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAG-3' (Navajas *et al.* 1999) e 5'-ATATGCTTA

AATTCAGCGGG-3' (Navajas *et al.* 1998); e para a região 12S, os primers 5'-TACTATGTTACGACTTAT-3' e 5'-AAACTAGGATTAGATACCC-3' (Jeyaprakash & Hoy 2002).

A reação que permitiu a amplificação do fragmento da região intergênica ITS de um indivíduo de *A. largoensis* foi realizada com base na adaptação do protocolo proposto por Navia *et al.* (2014). O volume final da reação foi de 25 µL, contendo 2,5 µL de tampão 10x (Qiagen<sup>®</sup>), 0,125 un/µL (5 U/mL) de *Taq* DNA Polymerase (Qiagen<sup>®</sup>), 0,5 µL de dNTP (10 mM), 0,175 µL de cada oligonucleotídeo iniciador *primer* (10 µM), 1 µl de MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 18,525 µL de água MiliQ e 2 µL do DNA. O termociclador (Eppendorf – Mastercycler pro S) utilizado na amplificação do DNA foi programado com o seguinte perfil de amplificação: as amostras foram desnaturadas a 94 °C durante 2 min. e submetidas a 35 ciclos de PCR, sendo 15 seg. de desnaturação a 94 °C, 45 seg. de anelamento a 50 °C e 1 min. de extensão a 72 °C, finalizando com um ciclo de 7 min. a 72 °C, baixando a 10 °C até a retirada da amostras.

A reação estabelecida para amplificação do fragmento da região 12S rRNA de um indivíduo de *A. largoensis*, foi realizada com base na adaptação do protocolo proposto por Navia *et al.* (2014). O volume final da reação foi de 25 µL, contendo 2,5 µL de tampão 10x (Qiagen<sup>®</sup>), 0,25 un/µL (5 U/mL) de *Taq* DNA Polymerase (Qiagen<sup>®</sup>), 0,5 µL de dNTP (10 mM), 0,175 µL de cada oligonucleotídeo iniciador *primer* (10 µM), 1 µl de MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0,4 µL de albumina de soro bovino (BSA), 18,00 µL de água MiliQ e 2 µL do DNA. O termociclador utilizado na amplificação do DNA foi programado com o seguinte perfil: as amostras foram desnaturadas a 95 °C durante 1 min e submetidas a 40 ciclos de PCR, sendo 30 seg. de desnaturação a 94 °C, 30 seg. de anelamento a 40 °C e 1 min. de extensão a 72 °C, finalizando com um ciclo de 5 min. a 72 °C, baixando a 10 °C até a retirada da amostras. O produto de PCR foi aplicado em gel de agarose a

1% e submetidos a eletroforese para separação e visualização dos fragmentos amplificados. Em seguida, o gel foi corado em solução GelRed<sup>®</sup> (Biotium) e visualizado em transiluminador (BioRad) acoplado a um computador com o programa Image Lab 3.0. Foram selecionadas oito amostras com maior intensidade de amplificação para a produção do DNA nas quantidades exigidas para o sequenciamento das regiões ITS e 12S. O produto de PCR foi enviado para sequenciamento direto em Plataforma ABI PRISM 3730 XL (Applied Biosystems Inc., Lille, França).

Análises e edição das sequências: O programa BioEdit versão 7.0.4 (Hall, 1999) foi utilizado para a análise dos eletroferogramas e das sequências brutas. A edição da sequência consenso foi realizada com o auxílio do programa Staden Package versão 1.6.0 (Staden *et al.* 1998). O alinhamento das sequências ITS (rDNA) e 12S (mtDNA) foi conduzido pelo método de alinhamento múltiplo CLUSTAL W (Thompson *et al.* 1994) implementado no programa BioEdit. Não foram necessários ajustes manuais para o alinhamento das sequências. As sequências obtidas para cada população foram comparadas com sequências disponíveis no GenBank através do programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). A distribuição e a frequência das sequências variantes - haplótipos (12S) e genótipos (ITS) - para as espécies de *Amblyseius* incluídas no estudo foram inferidas para os dois fragmentos estudados com o auxílio do programa DnaSP versão 5.10.1 (Librado & Rozas 2009).

Análises filogenéticas: Nas análises filogenéticas foram incluídas sequências de *A. largoensis* das regiões ITS e 12S disponíveis no banco de dados americano do “National Center for Biotechnology Information – NCBI” (GenBank). Para inclusão nas análises da região ITS foram recuperadas sequências de *A. largoensis* das ilhas do Oceano Índico (Ilha da Reunião) e Américas (Trinidad & Tobago e Brasil: Amapá, Pernambuco e Roraima), conforme apresentado por Navia *et al.* (2014), (Tabela 2). Para inclusão nas análises da região 12S foram recuperadas

sequências, das ilhas do Oceano Índico (Ilha da Reunião e Ilhas Maurítius) e das Américas (Trinidad & Tobago, Estados Unidos: Flórida e Brasil: Amapá, Pernambuco e Roraima) (Navia *et al.* 2014, Bowman & Hoy 2012) (Tabela 2). Populações de *Amblyseius cinctus* Corpuz & Rimando da Tailândia e *Amblyseius tamatavensis* Blommers do Brasil foram sequenciadas (ITS e 12S) e incluídas na análise de dados como grupo interno. Outras sequências de espécies de *Amblyseius* recuperadas do GenBank foram adicionadas ao conjunto de dados como grupo interno (ITS e 12S): *Amblyseius herbicolus* (Chant) das Ilhas Canárias, Nova Caledônia e Ilha da Reunião obtidas no GenBank (Navia *et al.* 2014) (Tabela 2). Além disso, sequências das regiões ITS e 12S do gênero *Neoseiulus* (Phytoseiidae: Amblyseiinae): *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Kanouh *et al.* 2010a, Tsolakis *et al.* 2012) e *Neoseiulus idaeus* Demark & Muma (Okassa *et al.* 2011, Tsolakis *et al.* 2012), e do gênero *Typhlodromus* (Phytoseiidae: Typhlodrominae): *Typhlodromus (Typhlodromus) phialatus* Athias-Henriot e *Typhlodromus (Typhlodromus) exhilaratus* Ragusa (Tsolakis *et al.* 2012.), foram recuperadas do GenBank e incluídos nas análises como grupos externos (Tabela 2).

As análises filogenéticas para as sequências dos fragmentos ITS e 12S foram conduzidas no programa MEGA versão 6 (Tamura *et al.* 2013), jModeltest versão 3.7 (Darriba *et al.* 2012) e PhyML versão 3.0 (Guindon *et al.* 2010). Primeiramente, foi selecionado o modelo evolutivo para cada um dos fragmentos com o auxílio do programa jModeltest versão 3.7 (Darriba *et al.* 2012). O número de substituições de nucleotídeos foi ajustado para 11, de forma que o melhor modelo para os dados moleculares foi procurado entre os 88 modelos possíveis. O critério de informação Akaike (Akaike 1973), Akaike corrigido (Sugiura 1978, Hurvich & Tsai 1989), e de informação Bayesiana (Schwarz 1978) foram estimados.

Uma vez definido o melhor modelo, os arquivos de sequências foram submetidos separadamente para análise filogenética à versão *online* do algoritmo PhyML (Guindon *et al.*

2010). As árvores filogenéticas foram estimadas por máxima verossimilhança (Maximum-Likelihood estimation - ML) e a construção e edição foi executada pelo programa MEGA versão 6 (Tamura *et al.* 2013) utilizando o arquivo no formato newick gerado pelo programa PhyML 3.0 (Guindon *et al.* 2010). Para a determinação dos limites de confiança nas ramificações geradas durante a construção das filogenias, os dados foram submetidos ao teste de bootstrap (Felsenstein 1985) para 1000 replicações e os valores estão apresentados em porcentagem próximos aos ramos das árvores filogenéticas. Os valores de bootstrap são apresentados apenas para os clados com suporte superior a 50%. Adicionalmente, foi executada a análise de inferência Bayesiana (BI) submetida *online* no *site* [phylogeny.fr](http://phylogeny.lirmm.fr/): análise filogenética para não especialista (<http://phylogeny.lirmm.fr/phylo.cgi/index.cgi>), utilizando o programa MrBayes versão 3.12 (Huelsenbeck e Ronquist 2001). As topologias estimadas por ML e BI foram semelhantes e apenas a construção ML é apresentada. Para a edição da árvore uma sequência representante de cada população foi incluída no alinhamento. Todos os haplótipo/genótipos de cada população foram incluídos na análise. Quando sequências idênticas de uma mesma população foram encontradas, tanto no Genbank<sup>2</sup> quanto nas obtidas nesse estudo, apenas uma foi incluída nos alinhamentos e o número de vezes que essas sequências se repetiram foi anotado, entre parênteses, ao lado da sequência selecionada. Esse número indica quantas sequências idênticas foram encontradas no conjunto de dados para cada uma das amostras analisadas.

Distância genética: O programa MEGA versão 6.0 (Tamura *et al.* 2013) foi utilizado para estimar a distribuição e a frequência da distância genética entre os pares ordenados de nucleotídeos para os dois fragmentos sequenciados para todas as espécies de *Amblyseius* obtidas nesse estudo e para aquelas recuperadas do GenBank.

## Resultados

**Caracterização morfológica.** Foram observadas diferenças significativas nos valores médios de todos os caracteres mensurados entre as cinco populações de *A. largoensis* ( $P > 0,05$ ) (Tabela 1). As ACP e AVC revelaram variações morfológicas entre as populações estudadas. Aproximadamente 43% da variabilidade morfológica total foi explicada por dois componentes principais (PC1: 25,8%; PC2: 17,1%). Sobreposição parcial das populações foram observadas (Fig. 1), sem descontinuidade morfométrica entre as mesmas. As duas primeiras variáveis canônicas (CV1 e CV2) explicaram juntas 72,9% da variância total (CV1: 46,6%; CV2: 26,3%) (Fig. 2). A primeira variável canônica separou os espécimes da Ilha da Reunião dos demais espécimes estudadas. Uma análise dos pesos das primeiras variáveis canônicas (Tabela 3) indicam que o comprimento das setas é a principal características que diferencia as populações de *A. largoensis*. Comparando os caracteres que compõem as primeiras variáveis canônicas (Tabela 3) com os dados morfométricos (ANOVA) (Tabela 1) observou-se que os espécimes da Ilha da Reunião tem maior comprimento da seta JV5 e da macroseta do tarso IV; maior distância entre as setas esternais St1-St1 e menor comprimento da seta z5 em relação as demais populações. Os espécimes da Tailândia e Roraima se distanciaram das demais ao longo da CV2 por terem menor comprimento da seta JV5 e menor distância entre as setas esternais St2-St3.

A identificação dos espécimes com base na análise discriminante mostrou que, em média, 91% das amostras foram classificadas na população de origem, sendo 85% classificadas corretamente na população de Roraima e Tailândia e 95% na população da Ilha da Reunião, Recife e Trinidad & Tobago. Três erros de identificação ocorreram nas populações de Roraima e Tailândia. Para as demais populações apenas um erro de identificação foi observado.

**Caracterização molecular. ITS rDNA:** Foram obtidas oito sequências da região ITS de *A. largoensis* da Tailândia, com comprimento de 620 pb. Para *A. cinctus* foram obtidas seis sequências (610 pb), e para *A. tamatavensis* quatro sequências (611 pb).

Nas sequências da região ITS de *A. largoensis* foram identificados dois genótipos (G1 e G2), sendo o genótipo G1 compartilhado entre as populações da Ásia (Tailândia) e Américas (Brasil, Trinidad & Tobago). O genótipo G2 foi encontrado exclusivamente entre as populações das ilhas do Oceano Índico (Ilha da Reunião). Um único nucleotídeo localizado na posição 148 do alinhamento separa o genótipo G1(C) do G2(T). Esse sítio variável corresponde ao descrito por Navia *et al.* (2014). A composição média de nucleotídeos nas sequências ITS foi igual a T= 31,0 %, A= 26,8 %, C= 20,0 % e G= 23,2 %.

A árvore filogenética foi construída com o critério de máxima verossimilhança (ML) e modelo de Tamura 3 Parâmetros (T92) (Tamura 1992) com o parâmetro de distribuição gama igual a 0,42. As topologias dos ramos principais para árvores ML e BIC foram semelhantes, e, por conseguinte, apenas a filogenia ML é apresentada (Fig. 3). Todas as amostras de *Amblyseius* formaram um grupo monofilético. As populações de *A. largoensis* formaram um clado fortemente suportado pelo valor de bootstrap de 100%. No entanto, este clado formou dois agrupamentos: o das populações da Ásia e das Américas (G1) e o das ilhas do Oceano Índico (G2), ambos com suporte de bootstrap de 63% (Fig. 3).

A distância dos pares de sequências ITS (incluindo grupo externo) variou de 3,67% a 43,43% (Tabela 4A). A variabilidade intraespecífica dentro das populações de *A. largoensis* foi de 0,02% (Tabela 4A). A distância entre os pares de bases de *A. largoensis* e as espécies *A. herbicolus*, *A. tamatavensis* e *A. cinctus* foi de 3,87%, 11,75% e 11,22% (Tabela 4A), respectivamente. Não houve variação intraespecífica entre os pares de bases de sequência de *A. largoensis* das Américas (Brasil e Trinidad & Tobago) e Ásia (Tailândia) (Tabela 4B). As

distância das populações de *A. largoensis* das Américas e Ásia em relação a população das ilhas do Oceano Índico (Ilha da Reunião) foi de 0,16% (Tabela 4B).

12S rDNA: Foram obtidas sete sequências da região 12S de *A. largoensis* da Tailândia, com comprimento de 406 pb. Para *A. cinctus* e *A. tamatavensis* foram obtidas cinco sequências. O comprimento variou de 390 a 399 pb.

Entre as sequências da região 12S de *A. largoensis* foram identificados 11 haplótipos (Tabela 2). O haplótipo da população da Ásia (Tailândia) (H1) diferiu dos haplótipos compartilhados entre populações da Américas (Brasil, Trinidad & Tobago e Estados Unidos) (H2, H5-H7) em 11 a 13 nucleotídeos, e dos demais haplótipos observados entre as populações das ilhas do Oceano Índico (Ilhas da Reunião e Maurícius) (H3, H4, H8-H11) em mais de 25 nucleotídeos. A composição média de nucleotídeos nas sequências 12S foi igual a T= 41,9% %, A= 34,0 %, C= 9,3 % e G= 14,8 %.

A árvore filogenética foi construída com o critério de máxima verossimilhança (ML) e modelo Tamura 3 Parâmetros (T92) (Tamura 1992). As topologias dos ramos principais para árvores ML e BIC foram semelhantes, para clareza da apresentação, apenas a filogenia ML é apresentada (Fig. 4). Todas as amostras de *Amblyseius* formaram um grupo monofilético. As populações de *A. largoensis* das ilhas do Oceano Índico ficaram isoladas em um clado fortemente suportado pelo valor de bootstrap de 100%. As populações das Américas e Ásia agruparam-se em um mesmo clado cujo valor de bootstrap foi de bootstrap de 79%. Dentro deste clado a população da Ásia se manteve separada das populações das Américas e formaram clados internos com bootstrap de 99% e 81%, respectivamente (Fig. 4).

A distância dos pares de sequências 12S (incluindo grupo externo) variou de 13,10% a 45,56% (Tabela 5A). A variabilidade intraespecífica dentro das populações de *A. largoensis* foi de 3,83% (Tabela 5A). A distância entre *A. largoensis* e as espécies *A. herbicolus*, *A. tamatavensis* e

*A. cinctus* foi de 26,14%, 25,16% e 23,84% (Tabela 5A), respectivamente. A variabilidade intraespecífica dentro das populações de *A. largoensis* das Américas (Brasil, Estados Unidos e Trinidad & Tobago), ilhas do Oceano Índico (Ilhas da Reunião e Ilhas Mauritiuss) e Ásia (Tailândia), foi de 0,031%; 0,061% e 0,00%, respectivamente. As distâncias entre os pares de bases das sequências de *A. largoensis* da Ásia e das Américas e Ásia e ilhas do Oceano Índico foram de 2,53% e 7,23%, respectivamente, e entre Américas e ilhas do Oceano Índico de 6,82% (Tabela 5B).

### Discussão

Abordagens integrativas combinando análises morfológicas e moleculares determinaram que populações previamente identificadas como *A. largoensis* coletadas na Ásia, Américas e ilhas do Oceano Índico pertencem a mesma espécie, embora tenha sido constadadas variabilidades morfométricas e moleculares entre essas populações.

Variabilidade intraespecífica em ácaros fitoseídeos tem sido observada com frequência (*e.g.* Tixier *et al.* 2006a, 2006b, 2008a, 2008b). Interpretações equivocadas da variação intraespecífica podem levar a erros de identificação e, potencialmente, ocasionar descrições errôneas de novas espécies (Tixier *et al.* 2008b). Tixier (2012) propôs uma abordagem estatística que estabelece limites para distinguir entre variabilidade intra e interespecífica baseada nos comprimentos de setas de fitoseídeos. Este estudo foi baseado em 14 espécies de cinco gêneros (*Euseius* Wainstein, *Neoseiulus* Hughes, *Phytoseiulus* Evans, *Kampimodromus* Nesbitt e *Typhlodromus* (*Typhlodromus*) Scheuten). A diferença mínima entre os valores médios de amostras pertencentes a duas espécies distintas devem ser de 10,58  $\mu\text{m}$  (para setas < 65  $\mu\text{m}$ ) e 33,99  $\mu\text{m}$  (para setas > 65  $\mu\text{m}$ ) (Tixier 2012). De acordo com esses valores a variabilidade encontrada entre a população de *A. largoensis* da Tailândia e as demais populações estudadas reflete uma variabilidade

intraespecífica. Na AVC, as populações da Ásia e Américas permaneceram próximas, enquanto a população das ilhas do Oceano Índico se manteve afastada pela CVI. O afastamento entre as populações da América e ilhas do Oceano Índico já foi evidenciado por Navia *et al.* (2014).

Os resultados da AVC corrobora a filogenia apresentada para ambos os marcadores (12S e ITS), nos quais a população de *A. largoensis* da Ásia foi agrupada mais próxima das populações americanas em comparação com às populações das ilhas do Oceano Índico. As distâncias entre as populações na filogenia foram mais acentuadas para 12S, como já observado por outros autores (Bowman & Hoy 2012, Navia *et al.* 2014).

Os resultados da análise molecular foram consistentes com a análise morfométrica. As populações de *A. largoensis* da Ásia pertencem a mesma espécie das populações americanas e das ilhas do Oceano Índico observadas em Navia *et al.* (2014) e Bowman & Hoy (2012). Apesar de pertecerem a mesma espécie, a população de *A. largoensis* da Ásia apresenta diferenças genéticas em relação às populações das Américas e das ilhas do Oceano Índico, mas para ambos os fragmentos a população da Ásia foi agrupada mais próxima às populações das Américas. Entre as sequências ITS as populações de *A. largoensis* da Ásia e Américas, não apresentaram variabilidade intraespecífica, e a distância entre os pares de bases destas populações para as populações *A. largoensis* das ilhas do Oceano Índico (0,16 %) é comparável com as distâncias intraespecíficas determinadas para outras espécies de fitoseídeos dos gêneros *Neoseiulus* (0,00% a 0,4%) (Okassa *et al.* 2011), *Neoseiulella* (0,00% a 1,00% (Kanouh *et al.* 2010b) e *Typhlodromus* (0,00% a 1,2%) (Tixier *et al.* 2006a, 2012b), confirmando que estas populações pertencem à uma mesma espécie. A distância interespecífica entre *A. largoensis* e *A. herbicolus* (3,87%), foi significativamente maior que a distância encontrada entre as populações de *A. largoensis* para ITS. Da mesma forma, a distância genética entre as populações de *A. largoensis* da Ásia e as populações das Américas (2,53%) e ilhas do Oceano Índico (7,23%) para as sequências 12S, são

comparáveis com as distâncias intraespecíficas observadas para outras espécies de fitoseídeos gêneros *Euseius* (2,00%-17,00%) (Okassa *et al.* 2009) e *Typhlodromus* (3,1%-4,7%) (Tixier *et al.* 2012a). Além disso, os valores de distâncias obtidos para as populações de *A. largoensis* são inferiores às distâncias interespecíficas para espécies do mesmo gênero, como a distância encontrada neste estudo para *A. largoensis* e *A. herbicolus* (26,14 %), e entre espécies do gênero *Typhlodromus* (6,7-25,5%) (Tixier *et al.* 2012a), *Euseius* (14-22 %) (Okassa *et al.* 2009) e *Neoseiulus* (9%-12,5%) (Jeyaprakash & Hoy 2002, Okassa *et al.* 2011).

Estudos recentes tem associado diferenças genéticas a variação no desempenho biológico de populações da mesma espécie em ácaros da família Phytoseiidae. Navia *et al.* (2014) levantaram a hipótese de que as diferenças genéticas observadas entre populações de *A. largoensis* do Brasil e Ilha da Reunião podem estar relacionadas a diferenças biológicas relatadas por Domingos *et al.* (2013). Variações no período de oviposição, consumo de presas e taxa líquida de reprodução foram observadas entre populações da Ilha da Reunião e do Brasil, sendo estes parâmetros significativamente maiores para a população da Ilha da Reunião (Domingos *et al.* 2013). Diferenças no desempenho biológico de populações também foram relatadas em *Phytoseiulus longipes* Evans, tendo uma população da África do Sul considerada ineficaz no controle de *Tetranychus evansi* Baker e Pritchard (Moraes & McMurtry 1985), mas para populações do Brasil e Argentina, *T. evansi* é considerado um alimento adequado (Ferrero *et al.* 2007, Furtado *et al.* 2007). Tixier *et al.* (2010) associaram esta diferença biológica entre populações de *P. longipes* à variabilidade no fragmento 12S. É provável que devido à maior proximidade genética das populações de *A. largoensis* da Ásia em relação as populações americanas, estas sejam também mais semelhantes biologicamente, se comparadas as populações das ilhas do Oceano Índico. Baseando-se nas diferenças morfológicas e genéticas encontradas entre as populações de *A. largoensis* da Ásia e as populações das Américas e ilhas do Oceano Índico, e imprescindível que

mais estudos sejam realizados, visando elucidar o desempenho biológico da população da Ásia sob condições de laboratório e campo em comparação as populações das Américas e ilhas do Oceano Índico.

Este estudo destaca a importância da caracterização detalhada de populações de inimigos naturais eficientes. Além disso, determina a variabilidade morfológica e molecular entre populações de *A. largoensis* de diferentes continentes, fornecendo informações básicas para o acompanhamento da colonização das populações da Ásia no continente americano, caso programas de controle biológico de *R. indica* sejam implementados.

#### Agradecimentos

Ao Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (REUNI), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro. A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa-CENARGEN) pelo suporte logístico. Ao PhD José Wagner da Silva Melo pela colaboração nas análises estatísticas.

#### Literatura Citada

- Akaike, H. 1973.** Information theory and an extension of the maximum likelihood principle, p. 267-281. In B.N. Petrov & F. Csaki (eds.), Second International Symposium on Information Theory. Budapest, Akademiai Kiado, 451p.
- Anisimova, M. & O. Gascuel. 2006.** Approximate likelihood ratio test for branches: a fast, accurate and powerful alternative. *Syst. Biol.* 55: 539-552.
- Bowman, H.M. & Hoy, M.A. 2012.** Molecular discrimination of phytoseiids associated with the red palm mite *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) from Mauritius and South Florida. *Exp. Appl. Acarol.* 57: 395-407.

- CABI. 2014.** Invasive species compendium: *Raoiella indica*. Disponível <[www.cabi.org/isc/?compid=5&dsid=46792&loadmodule=datasheet&page=481&site=144#](http://www.cabi.org/isc/?compid=5&dsid=46792&loadmodule=datasheet&page=481&site=144#)>, acessado em 23/09/2014.
- Carrillo, D., J.E.P. Peña, M.A. Hoy & J.H. Frank. 2010.** Development and reproduction of *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae) feeding on pollen, *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae), and other microarthropods inhabiting coconuts in Florida, USA. *Exp. Appl. Acarol.* 52: 119-129.
- Carrillo, D. & J.E. Peña. 2011.** Prey-stage preferences and functional and numerical responses of *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae) to *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae). *Exp. Appl. Acarol.* 57: 361-72.
- Carrillo, D., M.E. de Coss, M.A. Hoy & J.E. Peña. 2011.** Variability in response of four populations of *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae) to *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) and *Tetranychus gloveri* (Acari: Tetranychidae) eggs and larvae. *Biol. Control* 60: 39-45.
- Carrillo, D., J.H. Frank, J.C.V. Rodrigues & J. Peña. 2012.** A review of the natural enemies of the red palm mite, *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae). *Exp. Appl. Acarol.* 57: 347-360.
- Chant, D.A. & J.A. McMurtry. 1994.** A review of the subfamilies Phytoseiinae and Typhlodrominae (Acari: Phytoseiidae). *Int. J. Acarol.* 20: 223-310.
- Chant, D.A. & J.A. McMurtry. 2005.** Review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae) Part IV. The tribe Euseiini N. tribe, subtribes Typhlodromalina, N. subtribe, Euseiina N. subtribe and Ricoseiina N. subtribe. *Int. J. Acarol.* 31: 187-222.
- Chant, D.A. & J.A. McMurtry. 2007.** Illustrated keys and diagnoses for the genera and subgenera of the Phytoseiidae of the world (Acari: Mesostigmata). West Bloomfield, Indira Publishing House, 220p.
- Darriba, D., G.L. Taboada, R. Doallo & D. Posada. 2012.** jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Methods* 9: 772-772.
- de la Torre, P.E., A.S. González & A.I. González. 2010.** Presencia del ácaro *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) en Cuba. *Rev. Prot. Veg.* 25: 1-4.
- Domingos, C.A., L.O. Oliveira, F. de Moraes, D. Navia, G.J. de Moraes & M.G.C. Gondim Jr. 2013.** Comparison of two populations of the pantropical predator *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae) for biological control of *Raoiella indica* (Prostigmata: Tenuipalpidae). *Exp. Appl. Acarol.* 60: 83-93.
- Etienne, J. & C.H.W. Flechtmann. 2006.** First record of *Raoiella indica* (Hirst, 1924) (Acari: Tenuipalpidae) in Guadeloupe and Saint Martin, West Indies. *Int. J. Acarol.* 32: 331-332.

- Famah Sourassou, N., R. Hanna, I. Zannou, G.J. de Moraes, K. Negloh & M.W. Sabelis. 2011.** Morphological variation and reproductive incompatibility of three coconut-mite-associated populations of predatory mites identified as *Neoseiulus paspalivorus* (Acari: Phytoseiidae). *Exp. Appl. Acarol.* 53: 323-338.
- Felsenstein, J. 1985.** Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Ferrero, M., G.J. de Moraes, S. Kreiter, M.-S. Tixier & M. Knapp. 2007.** Life tables of the predatory mite *Phytoseiulus longipes* feeding on *Tetranychus evansi* at four temperatures (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.* 41: 45-53.
- Flechtmann, C.H.W. & J. Etienne. 2004.** The red palm mite, *Raoiella indica* Hirst, a threat to palms in the Americas (Acari: Prostigmata: Tenuipalpidae). *Syst. Appl. Acarol.* 9: 109-110.
- Furtado, I.P., G.J. de Moraes, S. Kreiter, M.-S. Tixier & M. Knapp. 2007.** Potential of a Brazilian population of the predatory mite *Phytoseiulus longipes* as a biological control agent of *Tetranychus evansi* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). *Biol. Control* 42: 139-147.
- Gallego, C.E., E.D. Aterrado & C.G. Batomalaque. 2003.** Biology of the false spider mite, *Rarosiella cocosae* Rimando, infesting coconut palms in Camiguin, northern Mindanao (Philippines). *Philipp. Entomol.* 17: 187-187.
- Gondim Jr., M.G.C., T.M.M.G. Castro, A.L. Marsaro Jr., D. Navia, J.W.S. Melo, P.R. Demite & G.J. de Moraes. 2012.** Can the red palm mite threaten the Amazon vegetation? *Syst. Biodivers.* 10: 527-535.
- Gotoh, T., J. Gutierrez & M. Navajas. 1998.** Molecular comparison of the sibling species *Tetranychus pueraricola* Ehara and Gotoh and *T. urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Entomol. Sci.* 1: 55-57.
- Guindon, S., J.F. Dufayard, V. Lefort, M. Anisimova, W. Hordijk & O. Gascuel. 2010.** New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst. Biol.* 59: 307-321.
- Hall, T.A. 1999.** BIOEDIT: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 41: 95-98.
- Hillis, D.M. & M.T. Dixon. 1991.** Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *Q. Rev. Biol.* 66: 411-453.
- Hoy, M.A. 2012.** Overview of a classical biological control project directed against the red palm mite in Florida. *Exp. Appl. Acarol.* 57: 381-393.
- Huelsenbeck, J.P. & F. Ronquist. 2001.** MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-5.

- Hurvich, C.M. & C.-L. Tsai. 1989.** Regression and time series model selection in small samples. *Biometrika* 76: 297-307.
- Jeyaprakash, A. & M.A. Hoy. 2002.** Mitochondrial 12S rRNA sequences used to design a molecular ladder assay to identify six commercially available phytoseiids (Acari: Phytoseiidae). *Biol. Control* 25: 136-142.
- Kanouh, M., M.-S. Tixier, M. Okassa & S. Kreiter. 2010a.** Phylogenetic and biogeographic analysis of the genus *Phytoseiulus* (Acari: Phytoseiidae). *Zool. Scr.* 39: 450-461.
- Kanouh, M., M.-S. Tixier, S. Guichou, C. Brigitte & S. Kreiter. 2010b.** Two synonymy cases within the genus *Neoseiulella* (Acari: Phytoseiidae): is the molecular evidence so evident? *Biol. J. Linn. Soc.* 101: 323-344.
- Kimura, M. 1980.** A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide-sequences. *J. Mol. Evol.* 16: 111-120.
- Librado, P. & J. Rozas. 2009.** DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.
- Lindquist, E.E. & G.O. Evans. 1965.** Taxonomic concept in the Ascidae, with a modified setal nomenclature for the idiosoma of the Gamasina (Acari: Mesostigmata). *Mem. Entomol. Soc. Can.* 47: 1-64.
- Mendonça, R.S., D. Navia, I.R. Diniz, P. Auger & M. Navajas. 2011.** A critical review on some closely related species of *Tetranychus sensu stricto* (Acari: Tetranychidae) in the public DNA sequences databases. *Exp. Appl. Acarol.* 55: 1-23.
- Moraes, G.J. de & J.A. McMurtry. 1985.** Comparison of *Tetranychus evansi* and *T. urticae* (Acari: Tetranychidae) as prey for eight species of phytoseiid mites. *Entomophaga* 30: 393-397.
- Moraes, G.J. de. 1987.** Importance of taxonomy in biological control. *Insect Sci. Appl.* 8: 841-844.
- Moraes, G.J. de, T.M.M.G. Castro, S. Kreiter, S. Quilici, M.G.C. Gondim Jr. & L.A.N. Sá. 2012.** Search for natural enemies of *Raoiella indica* Hirst in Reunion Island (Indian Ocean). *Acarologia* 52: 129-134.
- Mound, L.A., D.J. Tree & A. Goldarazena. 2010.** A new species of predatory *Scolothrips* (Thysanoptera, Thripidae) feeding on *Raoiella* mites (Tenuipalpidae) in Australia. *Zootaxa* 2620: 63-68.
- Navajas, M., J. Lagnel, J. Gutierrez & P. Boursot. 1998.** Species-wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider mite *Tetranychus urticae* contrasts with extensive mitochondrial COI polymorphism. *Heredity* 80: 742-752.

- Navajas, M., J. Lagnel, G. Fauvel & G.J. de Moraes. 1999.** Sequence variation of ribosomal Internal Transcribed Spacers (ITS) in commercially important Phytoseiidae mites. *Exp. Appl. Acarol.* 23: 851-859.
- Navajas, M. & B. Fenton. 2000.** The application of molecular markers in the study of diversity in acarology: a review. *Exp. Appl. Acarol.* 24: 751-774.
- Navia, D., A.L. Marsaro Jr., F.R. da Silva, M.C.G. Gondim Jr. & G.J. de Moraes. 2011.** First report of the red palm mite, *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae), in Brazil. *Neotrop. Entomol.* 40: 409-411.
- Navia, D., C.A. Domingos, R.S. Mendonça, F. Ferragut, M.A.N. Rodrigues, E.G.F. de Morais, M.-S. Tixier & M.G.C. Gondim Jr. 2014.** Reproductive compatibility and genetic and morphometric variability among populations of the predatory mite, *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae), from Indian Ocean Islands and the Americas. *Biol. Control* 72: 17-29.
- Okassa, M., M.-S. Tixier, B. Cheval & S. Kreiter. 2009.** Molecular and morphological evidence for new species status within the genus *Euseius* (Acari: Phytoseiidae). *Can. J. Zool.* 87: 689-698.
- Okassa, M., M.-S. Tixier & S. Kreiter. 2010.** Morphological and molecular diagnostics of *Phytoseiulus persimilis* and *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae). *Exp. Appl. Acarol.* 52: 291-303.
- Okassa M., S. Kreiter, S. Guichou, M.-S. Tixier. 2011.** Molecular and morphological boundaries of the predator *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae). *Biol. J. Linn. Soc.* 104: 393-406.
- Peña, J.E., J.C.V. Rodrigues, A. Roda, D. Carrillo & L.S. Osborne. 2009.** Predator-prey dynamics and strategies for control of the red palm mite (*Raoiella indica*) (Acari: Tenuipalpidae) in areas of invasion in the Neotropics, p. 69-79. In E. Palevsky, P.G. Weintraub, U. Gerson & S. Simoni (eds.), *Proceedings of the 2nd WG meeting of IOBC/WPRS. Florence, Itália, 134p.*
- Rodrigues, J.C.V. & L.M.K. Antony. 2011.** First report of *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) in Amazonas state, Brazil. *Fla. Entomol.* 94: 1073-1074.
- Rodrigues, J.C.V., R. Ochoa & E. Kane. 2007.** First report of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) and its damage to coconut palms in Puerto Rico and Culebra Islands. *Int. J. Acarol.* 33: 3-5.
- Sarkar, P.K. & A.K. Somchoudhury. 1988.** Evaluation of some pesticides against *Raoiella indica* Hirst on coconut palm in West Bengal. *Pesticides* 22: 21-22.
- SAS Institute. 2002.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. Cary, SAS Institute Inc., 943p.

- Schwarz, G. 1978.** Estimating the dimension of a model. *Ann. Stat.* 6: 461-464.
- Staden, R., K.F. Beal & J.K. Bonfield. 1998.** The staden package, p. 115-130. In: S. Misener & S.A. Krawetz (eds.), *Methods in Molecular Biology*. Totowa, The Humana Press Inc., 491p.
- Sugiura, N. 1978.** Further analysis of the data by Akaike's information criterion and the finite corrections. *Commun. Stat. A.-Theor.* 7: 13-26.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski & S. Kumar. 2013.** MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725-2729.
- Tamura, K. 1992.** Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G + C-content biases. *Mol. Biol. Evol.* 9: 678-687.
- Taylor, B., P.M. Rahman, S.T. Murphy & V.V. Sudheendrakumar. 2012.** Within-season dynamics of red palm mite (*Raoiella indica*) and phytoseiid predators on two host palm species in south-west India. *Exp. Appl. Acarol.* 57: 331-345.
- Thompson, J.D., D.G. Higgins & T.J. Gibson. 1994.** Clustal-W improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22: 4673-4680.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, Z. Barbar, S. Ragusa & B. Cheval. 2006a.** The status of two cryptic species: *Typhlodromus exhilaratus* Ragusa and *Typhlodromus phialatus* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae): consequences for taxonomy. *Zool. Scr.* 35: 115-122.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, F. Ferragut & B. Cheval. 2006b.** The suspected synonymy of *Kampimodromus hmiminai* and *Kampimodromus adrianae* (Acari: Phytoseiidae): morphological and molecular investigations. *Can. J. Zool.* 84: 1216-1222.
- Tixier, M.-S., S. Kreiter, G.J. de Moraes. 2008a.** Biogeographic distribution of the mites of the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). *Biol. J. Linn. Soc.* 93: 845-856.
- Tixier, M.-S., S. Guichou & S. Kreiter. 2008b.** Morphological variation of the species *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae): importance for diagnostic reliability and synonymies. *Invert. Syst.* 22: 453-469.
- Tixier, M.-S., M. Ferrero, M. Okassa, S. Guichou & S. Kreiter. 2010.** On the specific identity of specimens of *Phytoseiulus longipes* Evans (Mesostigmata: Phytoseiidae) showing different feeding behaviours: morphological and molecular analyses. *Bull. Entomol. Res.* 100: 569-579.
- Tixier, M.-S., H. Tsolakis, S. Ragusa, A. Poinso, M. Ferrero, M. Okassa & S. Kreiter. 2011.** Integrative taxonomy demonstrates the unexpected synonymy between two predatory mite species: *Cydnodromus idaeus* and *C. picanus* (Acari: Phytoseiidae). *Invertebr. Syst.* 25: 273-281.

- Tixier, M.-S. 2012.** Statistical approaches for morphological continuous characters: a conceptual model applied to Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). *Zool. Scr.* 42: 327-334.
- Tixier, M.-S., M. Okassa & S. Kreiter. 2012a.** An integrative morphological and molecular diagnostics for *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae). *Zool. Scr.* 41: 68-78.
- Tixier, M.-S., F.A. Hernandez, S. Guichou & S. Kreiter. 2012b.** The puzzle of DNA sequences of Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) in the public GenBank database. *Invertebr. Syst.* 25: 389-406.
- Tsolakis, H., M.-S. Tixier, S. Kreiter & S. Ragusa. 2012.** The concept of genus within family Phytoseiidae (Acari: Parasitiformes): historical review and phylogenetic analyses of the genus *Neoseiulus* Hughes. *Zool. J. Linn. Soc.* 165: 253-273.
- Vásquez, C., M. Quiros, O. Aponte & D.M. Sandoval. 2008.** First report of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) in South America. *Neotrop. Entomol.* 37: 739-740.
- Welbourn, C. 2009.** Pest alert: red palm mite, *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae). Disponível em <[www.freshfromflorida.com/pi/pest-alerts/raoiella-indica.html](http://www.freshfromflorida.com/pi/pest-alerts/raoiella-indica.html)>, acessado em 23/09/2014.

Tabela 1. Valores médios ( $\pm$  erro padrão), mínimos e máximos observados ( $\mu\text{m}$ ) de 36 caracteres morfométricos mensurados a partir de fêmeas adultas de cinco populações identificadas como *A. largoensis*.

Características morfológicas	Tailândia		Ilha da Reunião <sup>2</sup>		Recife, Brasil <sup>2</sup>	
	Média $\pm$ EP	Min-Máx	Média $\pm$ EP	Min-Máx	Média $\pm$ EP	Min-Máx
Comprimento do escudo dorsal	364,1 $\pm$ 2,65 b <sup>1</sup>	340,0-395,0	371,1 $\pm$ 3,50 b	337,5-397,5	362,0 $\pm$ 3,61 b	320,0-377,5
Largura do escudo dorsal	224,6 $\pm$ 2,79 b	192,5-245,0	222,5 $\pm$ 2,70 b	200,0-240,0	225,6 $\pm$ 2,08 b	212,5-242,5
Distância St1-St1	63,2 $\pm$ 0,43 c	60,0-67,5	71,1 $\pm$ 0,53 a	67,5-75,0	67,4 $\pm$ 0,53 b	62,5-70,0
Distância St2-St2	66,8 $\pm$ 0,50 d	62,5-71,2	72,8 $\pm$ 0,54 a	70,0-77,5	68,8 $\pm$ 0,43 c	67,5-72,5
Distância St3-St3	72,0 $\pm$ 0,67 c	65,0-76,2	76,5 $\pm$ 0,70 a	72,5-85,0	72,4 $\pm$ 0,50 c	70,0-75,0
Distância St1-St3	62,9 $\pm$ 0,50 b	58,7-67,5	67,4 $\pm$ 0,42 a	62,5-70,0	67,6 $\pm$ 0,38 a	65,0-70,0
Distância St2-St3	29,8 $\pm$ 0,35 c	27,5-35,0	30,9 $\pm$ 0,38 bc	30,0-35,0	33,5 $\pm$ 0,42 a	30,0-37,5
Distância St4-St4	79,4 $\pm$ 0,95 c	71,2 $\pm$ 87,5	81,9 $\pm$ 0,96 ab	75,0-87,5	76,2 $\pm$ 0,56 c	70,0-80,0
Distância St5-St5	68,0 $\pm$ 1,02 c	57,5-78,5	75,1 $\pm$ 0,59 a	70,0-80,0	70,6 $\pm$ 0,57 b	67,5-75,0
Comprimento do escudo ventrianal	110,4 $\pm$ 1,02 c	102,5-122,5	118,5 $\pm$ 1,70 a	105,0-130,0	116,4 $\pm$ 1,26 ab	107,5-125,0
Largura do escudo ventrianal (ZV2)	46,7 $\pm$ 0,68 b	42,5-52,5	47,5 $\pm$ 1,01 ab	40,0-55,0	50,1 $\pm$ 0,70 a	45,0-55,0
Largura de escudo ventrianal (ânus)	68,7 $\pm$ 0,71 c	62,5-77,5	72,9 $\pm$ 1,27 ab	62,5-82,5	70,6 $\pm$ 0,68 bc	65,0-75,0
Comprimento da seta j1	35,5 $\pm$ 0,36 c	32,5-37,5	38,9 $\pm$ 0,64 a	35,0-45,0	36,4 $\pm$ 0,61 bc	32,5-40,0
Comprimento da seta j3	51,5 $\pm$ 0,73 b	47,5-60,0	53,9 $\pm$ 0,46 a	50,0-57,5	53,4 $\pm$ 0,52 a	50,0-57,5
Comprimento da seta j4	6,4 $\pm$ 0,21 b	5,0-7,5	6,1 $\pm$ 0,29 b	5,0-7,5	8,1 $\pm$ 0,25 a	7,5-10,0
Comprimento da seta j5	4,5 $\pm$ 0,17 b	3,0-5,0	5,3 $\pm$ 0,13 ab	5,0-7,5	5,7 $\pm$ 0,26 a	5,0-7,5
Comprimento da seta j6	7,6 $\pm$ 0,11 b	6,2-8,7	7,0 $\pm$ 0,23 b	5,0-7,5	9,1 $\pm$ 0,38 a	7,5-12,5
Comprimento da seta J2	9,5 $\pm$ 0,25 c	7,5-12,5	9,3 $\pm$ 0,26 c	7,5-10,0	11,8 $\pm$ 0,32 a	7,5-12,5
Comprimento da seta J5	9,2 $\pm$ 0,22 b	7,5-11,25	9,0 $\pm$ 0,33 b	7,5-12,5	11,0 $\pm$ 0,28 a	10,0-12,5
Comprimento da seta z2	10,8 $\pm$ 0,27 b	8,0-12,5	9,9 $\pm$ 0,29 c	7,5-12,5	12,0 $\pm$ 0,23 a	10,0-12,5
Comprimento da seta z4	9,3 $\pm$ 0,20 b	7,5-10,5	8,6 $\pm$ 0,29 b	7,5-10,0	10,8 $\pm$ 0,27 a	10,0-12,5
Comprimento da seta z5	6,5 $\pm$ 0,18 b	5,5-7,5	5,4 $\pm$ 0,20 c	5,0-7,5	8,5 $\pm$ 0,28 a	7,5-10,0
Comprimento da seta Z1	10,5 $\pm$ 0,26 b	9,7-12,5	11,3 $\pm$ 0,29 b	10,0-12,5	13,4 $\pm$ 0,13 a	10,0-12,5
Comprimento da seta Z4	94,5 $\pm$ 0,82 c	87,5-100,0	106,4 $\pm$ 0,7 a	102,5-112,5	97,8 $\pm$ 0,72 b	92,5-102,5
Comprimento da seta Z5	275,9 $\pm$ 1,52 d	260,0-287,5	285,5 $\pm$ 2,34 bc	270,0-307,5	290,8 $\pm$ 2,02 b	277,5-307,5
Comprimento da seta s4	95,8 $\pm$ 0,85 c	90,0-105,0	106,6 $\pm$ 1,08 a	100,0-117,5	96,8 $\pm$ 0,83 c	90,0-105,0
Comprimento da seta S2	12,5 $\pm$ 0,30 bc	10,0-15,0	12,5 $\pm$ 0,18 bc	10,0-15,0	15,0 $\pm$ 0,41 a	12,5-17,5
Comprimento da seta S4	12,1 $\pm$ 0,27 b	10,0-15,0	11,5 $\pm$ 0,28 bc	10,0-12,5	14,1 $\pm$ 0,33 a	12,5-17,5
Comprimento da seta S5	10,8 $\pm$ 0,34 bc	7,5-12,5	10,0 $\pm$ 0,31 c	7,5-12,5	13,1 $\pm$ 0,36 a	10,0-15,0
Comprimento da seta r3	11,6 $\pm$ 0,26 b	10,0-13,7	12,5 $\pm$ 0,18 b	10,0-15,0	14,1 $\pm$ 0,33 a	12,5-17,5
Comprimento da seta R1	11,4 $\pm$ 0,27 bc	10,0-13,7	11,38 $\pm$ 0,29 bc	10,0-12,5	13,1 $\pm$ 0,25 a	12,5-15,0
Comprimento da seta JV5	61,7 $\pm$ 0,76 d	55,0-67,5	78,0 $\pm$ 0,88 a	70,0-87,5	69,8 $\pm$ 0,91 c	62,5-77,5
Cálce da espermateca	30,2 $\pm$ 0,32 b	27,5-32,5	32,1 $\pm$ 0,50 a	27,5-35,0	32,8 $\pm$ 0,68 a	30,0-37,5
Comprimento macroseta do genu IV	123,3 $\pm$ 1,00 c	112,5-132,5	132,3 $\pm$ 0,91 b	125,0-137,5	133,0 $\pm$ 1,08 b	125,0-142,5
Comprimento macroseta da tibia IV	94,1 $\pm$ 1,01 b	85,0-100,0	103,3 $\pm$ 1,00 a	97,5-112,5	100,8 $\pm$ 1,00 a	95,0-110,0
Comprimento macroseta do tarso IV	63,3 $\pm$ 0,76 c	57,5-68,7	72,1 $\pm$ 0,84 a	67,5-77,5	68,4 $\pm$ 0,60 b	65,0-72,5

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem significativamente (teste SNK,  $P > 0,05$ ).

<sup>2</sup>Caracterização morfométrica de *A. largoensis* disponível em Navia *et al.* (2014).

(Continuação)

Características morfológicas	Roraima, Brasil <sup>2</sup>		Trinad & Tobago <sup>2</sup>	
	Média ± EP	Min-Máx	Média ± EP	Min-Máx
Comprimento do escudo dorsal	368,8 ± 3,60 b	312,5–387,5	383.0 ± 3.73 a	340.0–407.5
Largura do escudo dorsal	229,25 ± 1,72 b	212,5–242,5	236.3 ± 0.94 a	225.0–242.5
Distância St1-St1	68,5 ± 0,52 b	65,0–72,5	68.3 ± 0.63 b	62.5–72.5
Distância St2-St2	70,6 ± 0,44 b	67,5–72,5	71.7 ± 0.57 ab	67.5–75.0
Distância St3-St3	74,4 ± 0,75 b	67,5–80,0	76.7 ± 0.51 a	72.5–80.0
Distância St1-St3	67,1 ± 0,49 a	62,5–70,0	68.0 ± 0.53 a	65.0–72.5
Distância St2-St3	32,1 ± 0,33 b	30,0–35,0	32.1 ± 0.44 b	30.0–35.0
Distância St4-St4	81,1 ± 1,41 ab	72,5–92,5	83.6 ± 0.84 a	80.0–90.0
Distância St5-St5	72,3 ± 0,68 b	67,5–77,5	70.5 ± 0.70 b	65.0–75.0
Comprimento do escudo ventrianal	113,0 ± 1,48 bc	100,0–122,5	120.7 ± 1.50 a	112.5–135.0
Largura do escudo ventrianal (ZV2)	49,3 ± 0,81 ab	42,5–57,5	47.5 ± 0.81 ab	40.0–52.5
Largura de escudo ventrianal (ânus)	75,5 ± 0,53 a	72,5–80,0	74.1 ± 0.80 a	70.0–80.0
Comprimento da seta j1	34,6 ± 0,58 c	30,0–40,0	37.6 ± 0.30 ab	35.0–40.0
Comprimento da seta j3	53,8 ± 0,38 a	50,0–57,5	54.7 ± 0.57 a	50.0–60.0
Comprimento da seta j4	8,0 ± 0,23 a	7,5–10,0	6.6 ± 0.28 b	5.0–7.5
Comprimento da seta j5	5,90 ± 0,27 a	5,0–7,5	5.1 ± 0.13 ab	5.0–7.5
Comprimento da seta j6	7,6 ± 0,13 b	7,5–10,0	7.8 ± 0.30 b	5.0–10.0
Comprimento da seta J2	9,5 ± 0,40 c	7,5–12,5	10.7 ± 0.30 b	10.0–12.5
Comprimento da seta J5	9,1 ± 0,27 b	7,5–10,0	10.5 ± 0.24 a	10.0–12.5
Comprimento da seta z2	10,6 ± 0,25 b	10,0–12,5	10.9 ± 0.28 b	10.0–12.5
Comprimento da seta z4	9,0 ± 0,28 b	7,5–10,0	9.3 ± 0.30 b	7.5–10.0
Comprimento da seta z5	7,1 ± 0,20 b	5,0–7,5	6.6 ± 0.30 b	5.0–7.5
Comprimento da seta Z1	10,8 ± 0,26 b	10,0–12,5	12.2 ± 0.18 a	10.0–12.5
Comprimento da seta Z4	94,1 ± 1,25 c	87,5–102,5	100.1 ± 0.82 b	90.0–105.0
Comprimento da seta Z5	283,4 ± 2,90 c	262,5–320,0	301.3 ± 1.46 a	292.5–315.0
Comprimento da seta s4	97,5 ± 0,85 c	90,0–102,5	100.70 ± 1.01 b	92.5–107.5
Comprimento da seta S2	11,90 ± 0,25 c	10,0–12,5	13.4 ± 0.28 b	12.5–15.0
Comprimento da seta S4	11,13 ± 0,29 c	10,0–12,5	13.6 ± 0.30 a	12.5–15.0
Comprimento da seta S5	11,4 ± 0,29 b	10,0–12,5	11.6 ± 0.30 b	10.0–12.5
Comprimento da seta r3	12,3 ± 0,40 b	10,0–15,0	13.4 ± 0.28 a	12.5–15.0
Comprimento da seta R1	10,6 ± 0,25 c	10,0–12,5	12.1 ± 0.35 b	10.0–15.0
Comprimento da seta JV5	63,1 ± 0,80 d	57,5–67,5	72.2 ± 0.90 b	65.0–77.5
Cálice da espermateca	33,6 ± 0,60 a	30,0–37,5	30.53 ± 0.45 b	27.5–35.0
Comprimento macroseta do genu IV	131,4 ± 1,40 b	125,0–142,5	137.5 ± 0.83 a	132.5–145.0
Comprimento macroseta da tibia IV	100,3 ± 0,92 a	90,0–107,5	100.5 ± 0.85 a	95.0–110.0
Comprimento macroseta do tarso IV	63,3 ± 0,63 c	57,5–67,5	67.1 ± 0.64 c	62.5–72.5

Tabela 2. Características das populações de *A. largoensis*, *A. cinctus* e *A. tamatavensis*, espécies ingroups e outgroup estudadas e seus números de acesso no GenBank para ITS e 12S rRNA. O asterisco indica as sequências representativas dos haplótipos na filogenia.

Espécie	Código	País/Estado	Planta hospedeira		Genótipo/Haplótipo		Acesso Genbank	
			Espécie	Família	ITS	12S	ITS	12S
<i>A. largoensis</i>	Ala TH	Tailândia, Nakhon Pathom	<i>Cocos nucifera</i>	Arecaceae	G1	H1	A ser submetido	A ser submetido
	BR PE	Brasil, Pernambuco	<i>Cocos nucifera</i>	Arecaceae	G1	H2	KF219618*	KF234098*
	BR RR	Brasil, Roraima	<i>Cocos nucifera</i> <sup>ψ</sup>	Arecaceae	G1	H2	KF219625*	KF234101*
	BR AP	Brazil, Amapá	<i>Cocos nucifera</i>	Arecaceae	G1	H2	KF219645*	KF234118*
	TT	Trinidad & Tobago, Saint George	<i>Cocos nucifera</i>	Arecaceae	G1	H2	KF219631*	KF234104
	TT	Trinidad & Tobago, Nariva	<i>Cocos nucifera</i>	Arecaceae	G1	H2	KF219634	KF234107*
	TT	Trinidad & Tobago, Nariva	<i>Musa sp.</i>	Musaceae	G1	H2	KF219637*	KF234110*
	TT	Trinidad & Tobago, Saint David	<i>Cocos nucifera</i>	Arecaceae	G1	H2	KF219639	KF234112
	RE	Ilha da Reunião	<i>Cocos nucifera</i>	Arecaceae	G2	H3	KF219649*-KF219655	KF234122*
	RE	Ilha da Reunião, Saint Joseph	<i>Cocos nucifera</i>	Arecaceae		H4	-	KF234129*
	US	EUA, Flórida (Hollywood)	-	-		H2	-	GU807437
	US	EUA, Flórida (Lake Worth)	-	-		H2, H5, H6, H7	-	GU807438*, GU807440*, GU807442* GU807443*
	MU	Ilha Mauritius, Flic em Flac	-	-		H3	-	GU807448*-GU807451
	MU	Ilha Mauritius, North of Port Luis	-	-		H3, H8, H9	-	GU807452*, GU807453*, GU807454*
MU	Ilha Mauritius, Trou d'Eau Douce	-	-		H3, H10, H11	-	GU807460*, GU807467*, GU807476*	
<i>A. tamatavensis</i>	Ata BR SP	Brasil, São Paulo			G3	H12	A ser submetido	A ser submetido
<i>A. cinctus</i>	Aci TH	Tailândia, Nakhon Pathom	<i>Cocos nucifera</i>	Arecaceae	G4	H13	A ser submetido	A ser submetido
<i>A. herbicolus</i>	ES	Espanha, Ilhas Canárias	<i>Viburnum rigidum</i>	Caprifoliaceae	G5	H14	KF219656*	KF234130-KF234132
<i>N. californicus</i>		Unidades de criação	-	-	G6	H15, H16	HQ404806, HQ404807*	HQ404836, HQ404838, HQ404841* HQ404842
		Itália, Sicily	<i>Fragaria vesca</i>	Rosaceae	G6		GU591680	-
<i>N. idaeus</i>		Unidades de criação	-	-	G7	H17	HQ404809, HQ404810*	HQ404844*, HQ404845

(Continuação)

Espécie	Código	País/Estado	Planta hospedeira		Genótipo/Haplótipo		Acesso Genbank	
			Espécie	Família	ITS	12S	ITS	12S
<i>N. idaeus</i>		Argentina, Buenos Aires	<i>Sida</i> sp.	Malvaceae	G7		JF279120, F279121	-
<i>T. exhilaratus</i>		França	<i>Vitis vinifera</i>	Vitaceae	G8	H19	HQ404830*	HQ404831*
<i>T. phialatus</i>		França	<i>Viburnum tinus</i>	Caprifoliaceae	G9	H18	HQ404829*	HQ404861*

Tabela 3. Análise de variáveis canônicas para fêmeas de cinco populações de *A. largoensis*. Os primeiros dez caracteres morfológicos (autovetores) com pesos mais elevados (autovalores) para duas variáveis canônicas (CV1 e CV2), em ordem decrescente de valores absolutos.

Caracteres morfológicos	CV1 peso	Caracteres morfológicos	CV2 peso
z5	-0,3923	S2	0,5448
j6	-0,3195	z2	-0,4670
S5	-0,2230	Z1	0,4009
j4	0,2205	z4	-0,4001
S4	-0,2063	z5	-0,3452
j5	0,2009	r3	0,3493
Macroseta do tarso IV	0,1959	J5	0,3038
JV5	0,1814	JV5	0,2044
z4	-0,1612	St2-St3	0,1947
St1-St1	0,1592	S4	0,1915

Tabela 4. Distância genética calculada para ITS entre as sequências de *A. largoensis*, incluindo as espécies dos grupos internos e externos usando a correção de dois parâmetros de Kimura. As populações de *A. largoensis* foram analisadas um único táxon (A) ou táxons diferentes (B).

A	1	2	3	4	5	6	7	8	
1 <i>A. largoensis</i>	0,02%								
2 <i>A. herbicolus</i>	3,87%	n/c							
3 <i>A. tamatavensis</i>	11,75%	10,56%	0,00%						
4 <i>A. cinctus</i>	11,22%	9,45%	6,50%	0,04%					
5 <i>N. californicus</i>	15,83%	13,56%	14,50%	11,74%	0,35%				
6 <i>N. idaeus</i>	14,98%	12,72%	12,45%	11,38%	3,67%	0,24%			
7 <i>T. phialatus</i>	43,00%	39,64%	37,84%	37,41%	32,75%	38,08%	n/c		
8 <i>T. exhilaratus</i>	43,43%	39,17%	39,23%	36,20%	35,16%	38,32%	5,38%	n/c	
B	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 <i>A. largoensis</i> Américas e Ásia	0,00%								
2 <i>A. largoensis</i> ilhas do Oceano Índico	0,16%	n/c							
3 <i>A. herbicolus</i>	3,86%	4,03%	n/c						
4 <i>A. tamatavensis</i>	11,75%	11,73%	10,56%	0,00%					
5 <i>A. cinctus</i>	11,22%	11,21%	9,45%	6,50%	0,04%				
6 <i>N. californicus</i>	15,85%	15,63%	13,56%	14,50%	11,74%	0,35%			
7 <i>N. idaeus</i>	14,98%	14,98%	12,72%	12,45%	11,38%	3,67%	0,24%		
8 <i>T. phialatus</i>	43,03%	42,54%	39,64%	37,84%	37,41%	32,75%	38,08%	n/c	
9 <i>T. exhilaratus</i>	43,46%	43,08%	39,17%	39,23%	36,20%	35,16%	38,32%	5,38%	n/c

Tabela 5. Distância genética calculada para 12S entre as sequências de *A. largoensis*, incluindo as espécies dos grupos internos e externos usando a correção de dois parâmetros de Kimura. As populações de *A. largoensis* foram analisadas um único táxon (A) ou táxons diferentes (B).

A		1	2	3	4	5	6	7	8		
1	<i>A. largoensis</i>	3,83%									
2	<i>A. herbicolus</i>	26,14%	0,00%								
3	<i>A. tamatavensis</i>	25,16%	23,23%	0,00%							
4	<i>A. cinctus</i>	23,84%	25,83%	24,66%	0,00%						
5	<i>N. californicus</i>	33,24%	31,82%	29,73%	32,83%	0,23%					
6	<i>N. idaeus</i>	33,20%	30,22%	26,80%	34,70%	14,38%	0,00%				
7	<i>T. phialatus</i>	35,43%	39,31%	37,28%	38,22%	38,29%	36,70%	n/c			
8	<i>T. exhilaratus</i>	36,83%	45,56%	38,06%	39,66%	36,67%	41,54%	13,10%	n/c		
B		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	<i>A. largoensis</i> Américas	0,31%									
2	<i>A. largoensis</i> ilhas do Oceano Índico	6,82%	0,61%								
3	<i>A. largoensis</i> Ásia	2,53%	7,23%	0,00%							
4	<i>A. herbicolus</i>	22,86%	25,00%	24,03%	0,00%						
5	<i>A. tamatavensis</i>	24,10%	27,71%	27,61%	25,83%	0,00%					
6	<i>A. cinctus</i>	24,18%	26,88%	24,64%	24,66%	23,23%	0,00%				
7	<i>N. californicus</i>	33,51%	32,20%	34,11%	32,83%	31,82%	29,73%	0,23%			
8	<i>N. idaeus</i>	31,07%	36,01%	33,25%	34,70%	30,22%	26,80%	14,38%	0,00%		
9	<i>T. phialatus</i>	33,35%	38,14%	35,52%	38,22%	39,31%	37,28%	38,29%	36,70%	n/c	
10	<i>T. exhilaratus</i>	34,93%	39,85%	36,23%	39,66%	45,56%	38,06%	36,67%	41,54%	13,10%	n/c

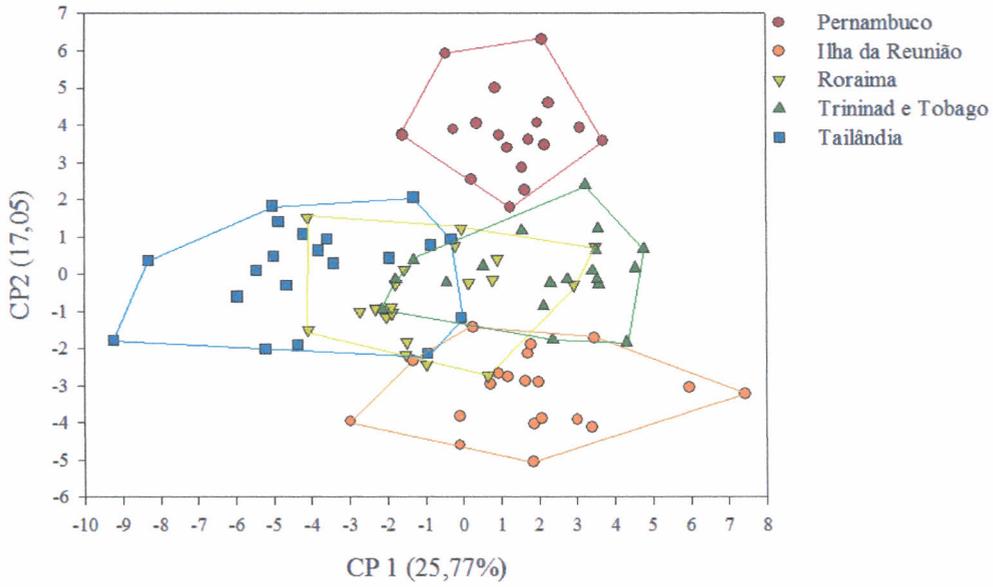


Figura 1. Análise de componentes principais de 36 caracteres morfológicos de fêmeas pertencentes a cinco populações de *A. largoensis*. Polígonos formados com base na projeção de indivíduos de cada população para o CP 1 e 2 (variação explicada pelos dois componentes principais é mostrado entre parênteses).

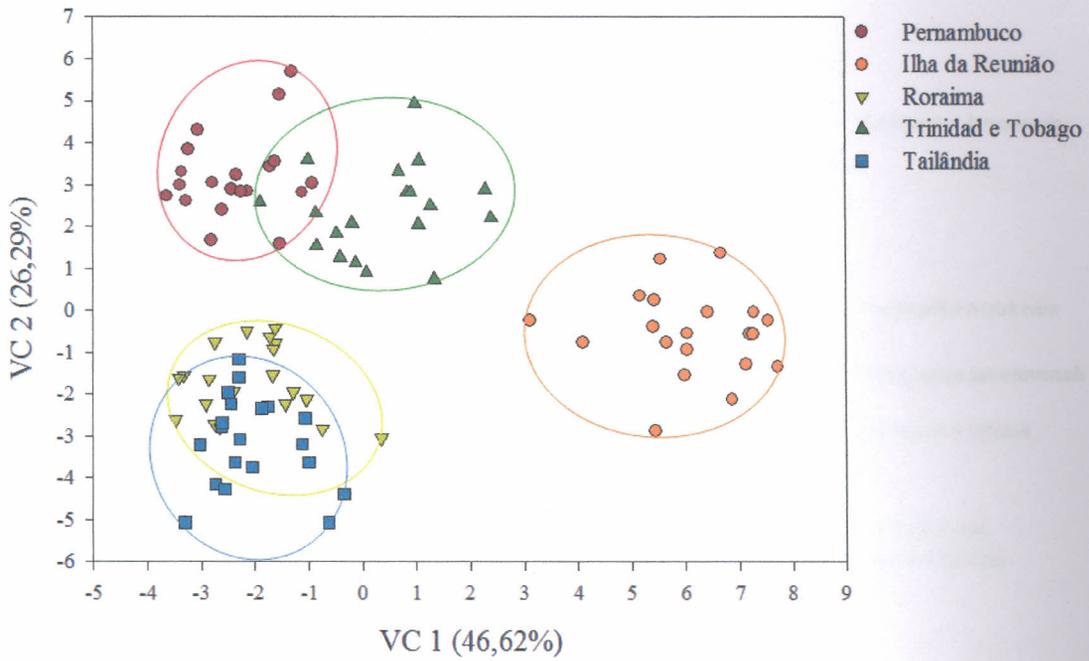


Figura 2. Análise de variáveis canônicas de 36 caracteres morfológicos de fêmeas pertencentes a cinco populações de *A. largoensis*. Círculos formados com base na projeção de indivíduos de cada população para VC 1 e 2 (variação explicada pelas duas variáveis canônicas é mostrada entre parênteses).

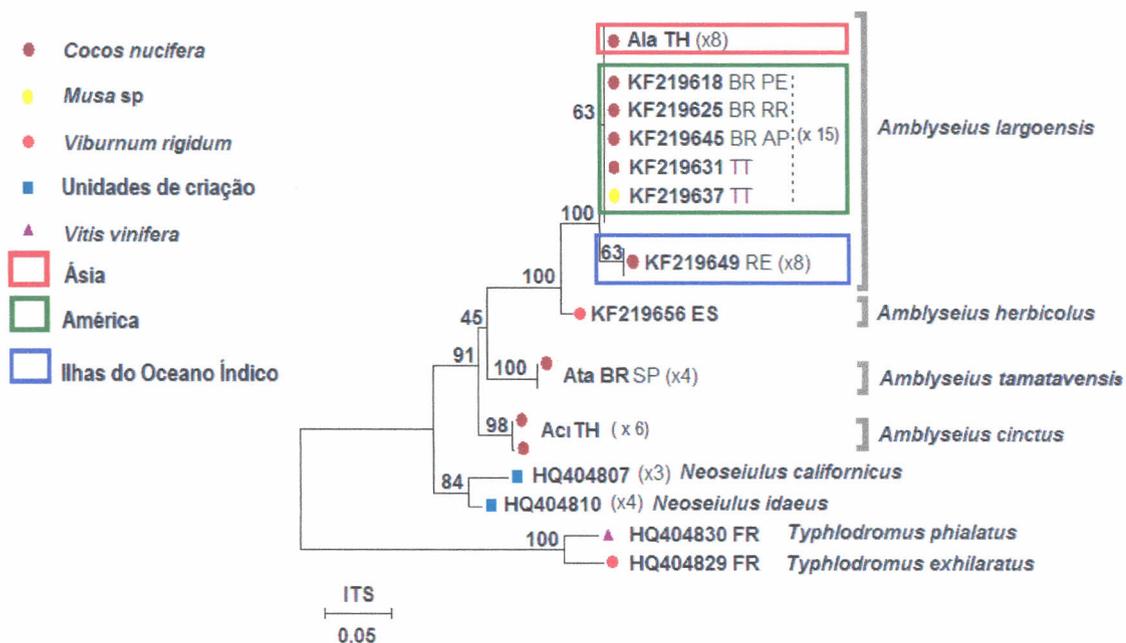


Figura 3. Árvore ITS: Árvore filogenética ML (TN93 + G) inferida a partir de sequências da região ITS de espécies do gênero *Amblyseius* obtidas neste estudo, e sequências de grupos internos e externos recuperadas do Genbank. Informações sobre a composição dos genótipos na Tabela 2. O número de vezes que cada genótipo foi encontrado nas amostras está entre parênteses. Os valores de bootstrap estão localizados sobre os ramos. A identificação da espécie está à direita dos grupos.

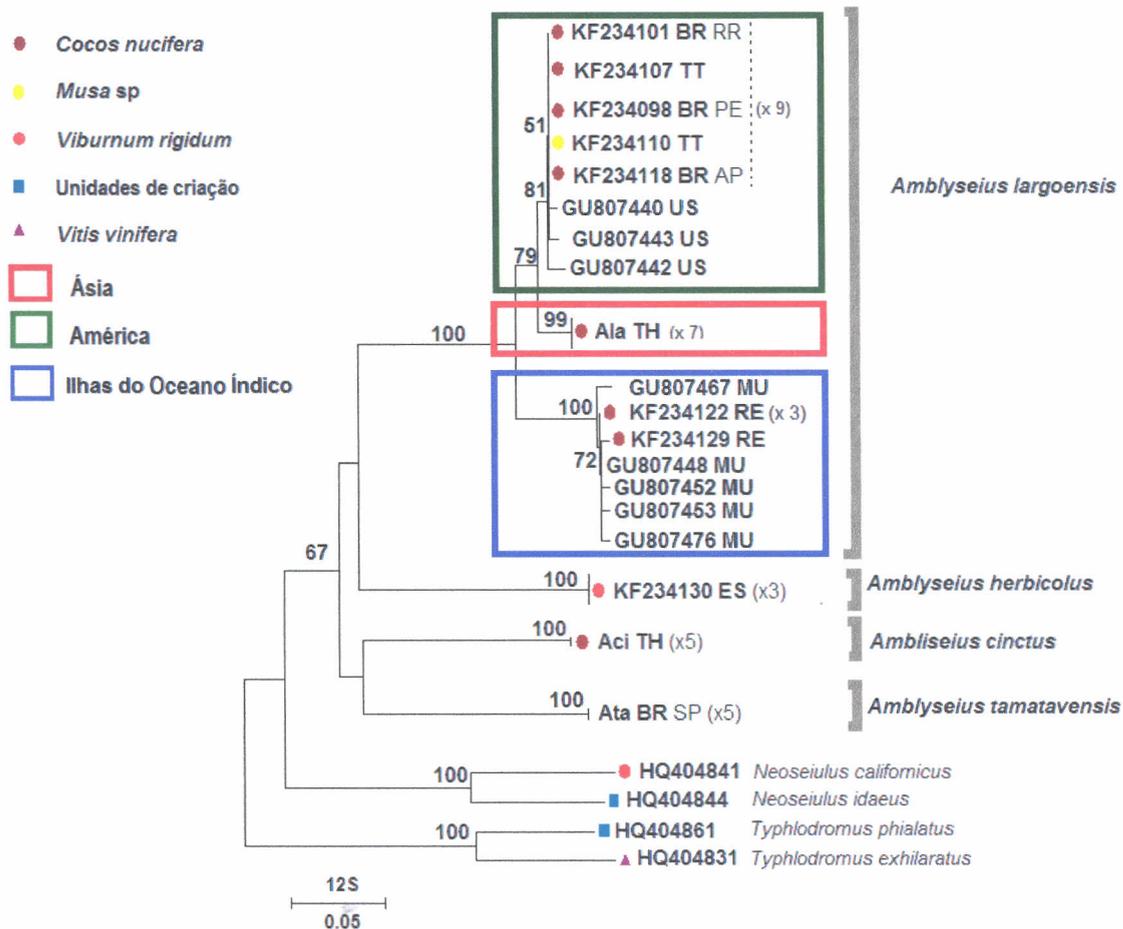


Figura 4. Árvore 12S. Árvore filogenética ML (HKY + G) inferida a partir de sequências da região 12S de espécies do gênero *Amblyseius* obtidas neste estudo, e sequências de grupos internos e externos recuperadas do Genbank. Informações sobre a composição dos genótipos na Tabela 2. O número de vezes que cada genótipo foi encontrado nas amostras está entre parênteses. Os valores de bootstrap estão localizados sobre os ramos. A identificação da espécie está à direita dos grupos.