



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Izadora Cristina Romão Pitombeira

Estudo de diversidade genética de moscas-minadoras isoladas de cultivos comerciais de meloeiro utilizando marcadores ISSR

MOSSORÓ

2025

Izadora Cristina Romão Pitombeira

Estudo de diversidade genética de moscas-minadoras isoladas de cultivos comerciais de meloeiro utilizando marcadores ISSR

Monografia apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Prof. Dra. Ioná Santos Araújo
Holanda

MOSSORÓ

2025

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998 . O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

R681e Romão Pitombeira, Izadora Cristina.
Estudo de diversidade genética de moscas-
minadoras isoladas de cultivos comerciais de
meloeiro utilizando marcadores ISSR /
Izadora Cristina Romão Pitombeira. - 2025.
52 f. : il.

Orientadora: Ioná Santos Araújo Holanda.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Biotecnologia, 2025.

1. Liriomyza spp.. 2. Biotecnologia. 3.
Genética molecular. 4. Cucumis melo. I. Santos
Araújo Holanda, Ioná, orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo autor(a).

Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência

Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva

CRB: 15/120

Izadora Cristina Romão Pitombeira

Estudo de diversidade genética de moscas-minadoras isoladas de cultivos comerciais de meloeiro utilizando marcadores ISSR

Monografia apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Defendida em: 21/ 07/2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Ioná Santos Araújo Holanda (UFERSA)
Presidente

Prof. Dr. Maurício Sekiguchi de Godoy (UFERSA)
Membro Examinador

Dr. Jorge Alves da Silva Neto (UFERSA)
Membro Examinador

A minha mãe, minha eterna morada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me permitir chegar até aqui. No final, é tudo sobre Ele.

Agradeço aos meus pais, José Leonardo e Izabel Cristina por terem sido meu primeiro e verdadeiro amor. Me deram a vida e a experiência de vivê-la sem tantos problemas, pois lutaram arduamente para que isso acontecesse.

Agradeço à minha orientadora Profa. Dra. Ioná Holanda por todas as contribuições. Sua vasta experiência e frases motivadoras foram um divisor de águas para que esse estudo existisse.

Aos membros da Banca, Dr. Maurício Sekiguchi e Dr. Jorge Alves, agradeço pelas considerações e correções durante as etapas do projeto. O engajamento demonstrado por ambos evidencia a confiança na relevância deste estudo para a comunidade científica e para os produtores.

Agradeço aos meus companheiros do Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Gilsivan, Talison, Karem, Maria de Fátima, Sarah, Aline, Ismaelle e Ruanna, por me ajudarem nos experimentos e na vida. Também sou profundamente grata aos membros do Laboratório de Ecotoxicologia à Artrópodes, especialmente Edson Anselmo que me ensinou muito sobre Entomologia.

Agradeço aos meus amigos de turmas que compartilharam a experiência da graduação e deixaram ela mais leve. Obrigada Amanda, Layza, Caio, Pedro, Maely e Sérvulo por tudo.

Aos amigos da vida, Leda, Isabelle, Ana Beatriz, Larissa, Adailton, Giselle, Wendyla, Cosmo, Gean, Gabriel, Dam, Ana Livia e Gabriela, vocês foram essenciais para que eu entendesse que existia uma vida para além dos experimentos.

Agradeço a Philipe, meu namorado e melhor amigo, por me escutar e acolher em todas as situações.

E o futuro é uma astronave que tentamos
pilotar. Não tem tempo, nem piedade, nem tem
hora de chegar.

Vinicius de Moraes e Toquinho.

RESUMO

Moscas-minadoras (*Liriomyza* spp.) são insetos dípteros consideradas pragas-chave do meloeiro. Os danos em culturas comerciais estão relacionados ao hábito herbívoro das larvas e a formação de puncturas pelas fêmeas, diminuindo a taxa fotossintética e o conteúdo de sólidos solúveis, comprometendo assim a produtividade. O sucesso das táticas de controle implementadas, como uso de químicos sintéticos e produtos biológicos, dependem diretamente da variação genética, que favorece a resistência a pressões seletivas. Dessa forma, estudar a diversidade genética é uma importante ferramenta para entender o sucesso de infestação e gerar novas informações para essas estratégias. O presente estudo teve como objetivo avaliar a diversidade e diferenciação genética em populações de moscas-minadoras isoladas de cultivos comerciais de melão amarelo na principal região produtora do Brasil, que é o Estado do Rio Grande do Norte, a partir de marcadores ISSR (*Inter-simple sequence repeats*). Neste sentido, folhas de meloeiro contendo larvas foram coletadas de fazendas localizadas em Mossoró-RN (ABJM), Baraúna-RN (ABAB) e Caraúbas-RN (AAGC) e foram encaminhadas ao Laboratório de Ecotoxicologia (LECT) à Artrópodes da UFRSA (Universidade Federal Rural do Semi-árido) para desenvolvimento até a fase adulta. Dez indivíduos de cada população tiveram seu DNA extraído a partir do método de Doyle e Doyle adaptado com SDS. Para amplificação via Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foram utilizados 28 *primers* comerciais seguida da análise em gel de agarose, submetidos a eletroforese a 2% e corados com Brometo de Etídeo sob luz ultravioleta, com posterior registro das imagens em fotodocumentador para construção das matrizes binárias 0 e 1. Na análise de eficiência dos *primers*, os seguintes parâmetros foram avaliados: tamanho do fragmento (pb), número de fragmentos, número de fragmentos polimórficos, porcentagem de polimorfismo, conteúdo de informação polimórfica, razão multiplex efetiva e índice de marcador. A diversidade genética nas populações foi mensurada pelos índices de Nei e Shannon. O índice de similaridade entre indivíduos de Jaccard serviu para análise de agrupamento pelo método UPGMA na visualização gráfica, que também foi realizada pelo método de coordenadas principais (PCoA). Análise de variância molecular e índice de Mantel serviram para determinar a proporção de variação genética entre e dentro de populações e sua relação com as distâncias geográficas entre as fazendas. Como principais resultados encontrados, foi possível observar que houve sucesso na análise de PCR-ISSR a partir de 18 *primers* selecionados para análise do DNA de moscas-minadoras, com fragmentos gerados que variaram de 180 a 1800 pb e porcentagem de polimorfismo de 88%, indicando alta diversidade genética nas populações avaliadas. A análise UPGMA gerou três grupos distintos, com a proximidade clara entre indivíduos ABJM e ABAB. Com a população AAGC isolada em um grupo único, indicando relação, ainda que fraca, da diversidade genética com distâncias geográficas, demonstrada por Mantel (de $r^2 = 0,1709$ e $p < 0,05$). A proximidade entre as elipses geradas por PCoA e valores de índices de Nei e Shannon, revelou baixa diferenciação entre as populações, confirmada por AMOVA que identificou proporções de variação interpopulacional de 12,34% e dentro das populações de 87,66%. Neste sentido, o presente estudo sugere que a alta diversidade genética existente justifica o sucesso de infestação frente a estratégias de controle. Contudo, devido a baixa diferenciação entre as populações, a partir da identificação de um método efetivo para uma área de produção, será passível de ser utilizado em outras regiões devido a possível fisiologia compartilhada, reforçando a necessidade e importância de pesquisas aprofundadas nessa área.

Palavras-chave: *Liriomyza* spp.; biotecnologia; genética molecular; *Cucumis melo*.

ABSTRACT

Leafminer flies (*Liriomyza* spp.) are dipteran insects considered key pests of melon crops. Damage to commercial plantations is associated with the herbivorous behavior of the larvae and the puncture formation by females, which reduces photosynthetic rate and soluble solids content, thereby compromising productivity. The success of implemented control strategies, such as the use of synthetic chemicals and biological products, depends directly on genetic variation, which promotes resistance to selective pressures. Therefore, studying genetic diversity is an important tool to understand infestation success and generate new information to support these strategies. The present study aimed to assess the genetic diversity and differentiation among populations of leafminer flies collected from commercial yellow melon fields in Brazil's main producing region, Rio Grande do Norte state, using ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) markers. In this context, melon leaves containing larvae were collected from farms located in Mossoró-RN (ABJM), Baraúna-RN (ABAB), and Caraúbas-RN (AAGC), and transferred to the Arthropod Ecotoxicology Laboratory (LECT) at UFERSA (Federal Rural University of the Semi-arid Region) for rearing to the adult stage. DNA was extracted from ten individuals using the Doyle and Doyle method adapted with SDS. For Polymerase Chain Reaction (PCR) amplification, 28 commercial primers were used. The PCR products were applied to agarose gel and subjected to 2% electrophoresis and stained with Ethidium Bromide. The gels were revealed in a UV photodocumenter. The absence and presence of fragments between the samples were converted into a binary data table 0 and 1. To check primer efficiency, the following parameters were evaluated: fragment size (bp), number of fragments, number of polymorphic fragments, percentage of polymorphism, polymorphic information content, effective multiplex ratio, and marker index. Genetic diversity among populations was measured using Nei's and Shannon's indices. Jaccard similarity index among individuals was used for cluster analysis through the UPGMA method for graphical visualization, which was also carried out using Principal Coordinates Analysis (PCoA). Molecular variance analysis (AMOVA) and Mantel test were used to determine the proportion of genetic variation among and within populations and its relationship with the geographic distances between farms. The main results showed that the PCR-ISSR analysis was successful using 18 selected primers for analyzing leafminer fly DNA, generating fragments ranging from 180 to 1800 bp and a polymorphism percentage of 88%, indicating high genetic diversity in the evaluated populations. The UPGMA analysis resulted in three distinct groups, with a clear proximity between ABJM and ABAB individuals. The AAGC population was isolated in a single group, indicating a weak relationship between genetic diversity and geographic distance, as demonstrated by the Mantel test ($r^2 = 0.1709$; $p < 0.05$). The proximity between PCoA-generated ellipses and values from Nei's and Shannon's indices revealed low differentiation among populations, which was confirmed by AMOVA, identifying interpopulation variation of 12.34% and intrapopulation variation of 87.66%. In this regard, the present study suggests that the existing high genetic diversity explains the infestation success in the face of control strategies. However, due to the low differentiation among populations, once an effective control method is identified for one farm, it may be applicable in other regions due to the likely shared physiology, reinforcing the need for further research in this area.

Keywords: *Liriomyza* spp.; biotechnology; molecular genetics; *Cucumis melo*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Gel de agarose a 2% contendo amostras de DNAs de dez moscas-minadoras isoladas de folhas de melão amarelo da fazenda Águas (AAGC) e amplificadas com o *primer* ISSR UBC-840. A canaleta M representa o marcador de peso molecular DNA ladder 100 pb. 33
- Figura 2 - Matriz de similaridade calculada a partir do coeficiente de Jaccard no estudo de diversidade entre indivíduos presentes em populações de moscas-minadoras (ABJM, ABAB e AAGC). ABJM-1 a ABJM-10: Indivíduos de moscas-minadoras da Fazenda Bom Jesus localizada em Mossoró-RN. ABAB-1 a ABAB-10: Indivíduos de moscas-minadoras da Fazenda Boágua localizada em Baraúna-RN. AAGC-1 a AAGC-10: Indivíduos de moscas-minadoras da Fazenda Águas localizada em Caraúbas-RN. 38
- Figura 3 - Análise de agrupamento de indivíduos das populações ABJM, ABAB e AAGC pelo método UPGMA baseado no coeficiente de similaridade genética de Jaccard feita no software NTSYS. ABJM-1 a ABJM-10: Indivíduos de moscas-minadoras da Fazenda Bom Jesus localizada em Mossoró-RN (Vermelho). ABAB-1 a ABAB-10: Indivíduos de moscas-minadoras da Fazenda Boágua localizada em Baraúna-RN (Azul). AAGC-1 a AAGC-10 (Verde): Indivíduos de moscas-minadoras da Fazenda Águas localizada em Caraúbas-RN. 39
- Figura 4 - Análise de coordenadas principais (PCoA) para visualização de similaridade genética entre populações de moscas-minadoras isoladas de cultivos de melão do Rio Grande do Norte. População ABJM (fazenda Bom Jesus, Mossoró-RN) em vermelho, ABAB (fazenda Boágua, Baraúna-RN) em azul e AAGC (fazenda Águas, Caraúbas-RN) em verde. Cada símbolo representa um indivíduo de cada população. Elipses delimitam populações. 41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Identificação dos locais de coleta de moscas-minadoras em cultivos comerciais de melão amarelo do Rio Grande do Norte-RN.	28
Tabela 2 - Sequências nucleotídicas dos <i>primers</i> ISSR utilizados em DNAs de moscas-minadoras. ..	30
Tabela 3 – Avaliação da capacidade informativa de 18 <i>primers</i> ISSR selecionados para moscas-minadoras.	34
Tabela 4 - Medidas de diversidade genética a partir dos índices de Nei e Shannon para avaliação das populações de moscas-minadoras ABJM, ABAB e AAGC.....	36
Tabela 5 – Análise de variância molecular (AMOVA) em populações de moscas-minadoras isoladas de cultivos comerciais de melão do Rio Grande do Norte.	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMOVA	Análise de variância molecular
CIA	Clorofórmio-Álcool-Isoamílico
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
Dr	Doutor
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EMR	Relação multiplex eficaz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ISSR	Marcadores de Repetição Simples Inter-Sequências
MI	Marcador Index
MIP	Manejo integrado de pragas
N°F	Número total de fragmento
N°F _P	Número de fragmentos polimórficos
P%	Porcentagem de polimorfismo
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PIC	Conteúdo de informação polimórfica
RNase	Ribonuclease
RPM	Rotações por minuto
SDS	Dodecil sulfato de sódio
TA	Temperatura de anelamento do primer
TBE	Tris-Borato-EDTA
UPGMA	Método de Grupo de Pares Não Ponderados com Média Aritmética
U.V	Luz ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
US\$	Dólar americano
°C	Temperatura em Graus Celsius

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1	Cultura do melão	17
2.2	Fatores que influenciam a cultura do melão	18
2.3	<i>Liriomyza</i> spp.	19
2.4	Diversidade genética.....	22
2.5	Marcadores moleculares.....	24
2.6	Marcadores moleculares ISSR.....	25
3	OBJETIVOS	27
3.1	Objetivos gerais.....	27
3.2	Objetivos específicos.....	27
4	MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1	Coleta das moscas.....	28
4.2	Extração de DNA.....	29
4.3	Reação em Cadeia da Polimerase.....	29
4.4	Eletroforese e registro das imagens.....	31
4.5	Análise estatística.....	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
	REFERÊNCIAS	46

1. INTRODUÇÃO

A produção da cultura de melão (*Cucumis melo* L.) apresentam grande importância para o mercado nacional brasileiro e particularmente para alguns estados. O fruto dessa cucurbitácea oferece propriedades nutricionais (Grumet *et al.*, 2021) que são apresentadas nos tipos de melão existentes (Moing *et al.*, 2020), também fomenta a economia com o seu valor de produção crescente a cada ano (IBGE, 2023).

Considerada a segunda fruta mais exportada do país (CONAB, 2023), mais de 800 mil toneladas colhidas são resultado da contribuição principalmente da região Nordeste, em especial os Estados do Rio Grande do Norte, Bahia e Ceará (IBGE, 2023).

Cultivos comerciais de melão são influenciados por diferentes fatores abióticos e bióticos, este último, na forma de micro-organismos e patógenos (Cui *et al.*, 2022), além de insetos e ácaros (Pedro *et al.*, 2021). Entre os insetos, a mosca-minadora, também denominada popularmente como larva-minadora, é considerada praga-chave do meloeiro no Brasil (Guimarães *et al.*, 2009), que diminui de maneira considerável a produtividade dessa cultura, chegando até 30% de área perdida (Guimarães *et al.*, 2005). Compõem a ordem Diptera e família Agromyzidae e têm como principais representantes as espécies polífagas do gênero *Liriomyza* Mik (Blanchard, 1894) (Catapan *et al.*, 2018; COL, 2025).

Os danos causados pela mosca-minadora estão associados ao hábito da fase larval herbívora formar galerias, também chamadas de minas, causando injúrias nas folhas (Parrella, 1987; Scheffer *et al.*, 2024). As puncturas formadas pelas fêmeas adultas servem como porta de entrada para fitopatógenos (Shamkh *et al.*, 2022) e o hábito alimentar larval diminui a taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração de folhas (Costa *et al.*, 2017), influenciando diretamente a qualidade final do fruto pelo menor acúmulo de sólidos solúveis totais (Araújo *et al.*, 2007; Guimarães *et al.*, 2009).

Embora haja diferentes táticas de contenção do nível de infestação, ainda existe uma grande dificuldade de manejo dessa praga nas regiões de cultivo. Práticas culturais como cobertura das plantas com mantas e monitoramento com armadilhas amarelas são utilizadas (Guimarães *et al.*, 2009; Weintraub *et al.*, 2017), contudo mostram-se insuficientes. Sendo assim, sempre são inseridos outros métodos, como o controle químico e biológico. Como exemplo de biocontrole, são utilizados endoparasitoides comerciais de partenogênese telítica como *Neochrysocharis formosa* (Costa-lima *et al.*, 2022).

Entretanto, os inseticidas químicos possuem eficiência limitada devido ao impasse quanto a resistência (Askari-Saryazdi *et al.*, 2015; Chang *et al.*, 2022) decorrente de aplicações sucessivas que induzem a seleção populacional (Nguyen; Chen; Herron, 2024). Assim como o uso de biológicos é restrito pela tendência de variabilidade genética e aumento do número de pragas (Fontes; Valadares-Inglis, 2020), além da dificuldade que essas táticas apresentam de suprimir a fase larval protegida pelo tecido foliar (Nguyen; Chen; Herron, 2024).

Por essas razões, os métodos de controle dependem da diversidade genética existente nas populações de moscas-minadoras (Scheffer *et al.*, 2024), pois a variação entre indivíduos oferece uma maior chance de resistir a forças seletivas, como mudanças ambientais, fatores climáticos e doenças (Chen *et al.*, 2019; Hoban *et al.*, 2022). Portanto, estudá-la é importante para auxiliar de forma direta, a partir dos dados obtidos, as medidas de monitoramento e controle a serem implementadas (Kurd *et al.*, 2020; Kang *et al.*, 2023; Beaurepaire; Webster; Neumann, 2024).

A diversidade genética, também definida como biodiversidade genética (Silva Filha *et al.*, 2022), na maioria dos estudos com insetos, é mensurada através de ferramentas que acessem as informações a nível de DNA (Zhou *et al.*, 2020; Awad *et al.*, 2022; Rahimi *et al.*, 2022), como os marcadores moleculares, que são sequências de DNA de caráter herdável que apresentam diferenças individuais na forma de polimorfismos (Amitaye, 2021). São vantajosos por identificarem diretamente o genótipo sem influência ambiental e em qualquer estágio de desenvolvimento (Faleiro, 2007; Ismail *et al.*, 2016).

Entre os marcadores moleculares consolidados para estudos de diversidade genética e amplamente utilizados (Amitaye, 2021), a inferência sobre variação entre indivíduos e populações de interesse agrônomo pode ser feita a partir da utilização dos marcadores baseados em amplificação por PCR (*Polymerase Chain Reaction*), como os ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) (Ismail *et al.*, 2016). Caracterizados pela análise de *loci* existentes entre as regiões microssatélites distribuídas por todo o genoma (Teixeira *et al.*, 2020), são úteis para esse estudo devido a reprodutibilidade, necessidade de uma pequena quantidade de DNA, baixo custo (Ramesh *et al.*, 2020) e não necessitar de conhecimento prévio do genoma das amostras utilizadas (Venkatesan *et al.*, 2021), o que viabiliza a detecção da variação entre moscas-minadoras que independem da espécie em questão.

Portanto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a diversidade genética de moscas-minadoras isoladas de cultivos comerciais de meloeiro a partir do uso de marcadores ISSR para acessar informações acerca da variação genética, possibilitando o entendimento

inicial das razões de sucesso de infestação da praga frente aos métodos de controle até então implementados. Sendo um estudo pioneiro na aplicação de tais marcadores para essa finalidade em moscas-minadoras, possibilitando acessar informações de novas regiões genômicas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Cultura do melão

O meloeiro pertencente à família Cucurbitaceae inicialmente domesticada na África, Ásia e Américas (Manchali *et al.*, 2021), tem como nome científico *Cucumis melo* L., e exerce um papel significativo no comércio mundial por fazer parte da dieta humana, oferecendo propriedades nutritivas e saborosas associadas ao valor culinário e estético (Grumet *et al.*, 2021; Shahwar; Khan; Park, 2023). Podendo ser consumido na forma de frutas doces e frescas ou como frutas amargas e suaves, sendo aproveitadas em alguns países como a Índia até mesmo suas sementes para consumo (Grumet *et al.*, 2021). Os continentes com maior produção de melão são: Ásia (75,4%), com maior contribuição da China que ocupa o primeiro lugar no mundo, seguida da América (13%), em que o Brasil se destaca ao ocupar a quinta posição a nível mundial (FAOSTAT, 2023).

Segundo a última atualização do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2023), a produção de melão no Brasil cresce a cada ano, chegando a 862.387 toneladas produzidas no ano de 2023, associadas a pouco mais de 30 mil hectares de área colhida que estão distribuídas nos 25.126 estabelecimentos mensurados em 2017. Houve aumento do valor de produção de quase 45% ao comparar-se os anos de 2022 e 2023, com grande contribuição da região Nordeste, com destaque aos Estados do Rio Grande do Norte, primeiro lugar no país, seguido da Bahia e Ceará.

O cultivo do meloeiro no Brasil proporciona consideráveis benefícios econômicos que têm impacto positivo nos estados e municípios circunvizinhos às áreas de produção, pois leva ao aumento da fonte de renda da população local pela geração de empregos (Nunes *et al.*, 2016). De acordo com o sistema Agrostat vinculado ao Ministério da Agricultura e Pecuária do Brasil (2025), no Rio Grande do Norte o valor de exportação de melões chega a 50 milhões de dólares.

Do ponto de vista fenotípico, os frutos de meloeiro são muito variados (Shahwar; Khan; Park, 2024). Os melões assumem formatos desde o esférico até muito longo, com cores externas alternadas entre verde, amarelo, vermelho e laranja, podendo ter diferentes sabores e serem aromáticos ou não (Moing *et al.*, 2020). Desse modo, essas características fenotípicas estão alicerçadas na base genética variável, e existem diferentes variedades que estão distribuídas entre as subespécies *melo* e *agrestis*, como exemplo, *Reticulatus*, *Inodorus*, *Cantalupensis* e *Makuwa* (Moing *et al.*, 2020; Grumet *et al.*, 2021). No Brasil, os melões inodoros como o amarelo são os mais produzidos e consumidos devido ao sabor e a facilidade de transporte, e os Pele de Sapo também possuem destaque na exportação para consumo no mercado Europeu, ressaltando sua importância econômica (Yuri; Resende; Costa, 2018; Cui *et al.*, 2022). Porém, outros tipos como o *Cantaloupe* (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus*) estão amplamente difundidos no Brasil, devido ao sabor e aroma agradáveis, com destaque para na produção regional, principalmente o Estado do Rio Grande do Norte (Cunha *et al.*, 2020).

Entretanto, a produção de melão enfrenta desafios de natureza biótica, como doenças e insetos (Cui *et al.*, 2022), além de fatores abióticos, como suprimento de água, aumento da salinidade e outros fatores ambientais (Shahwar; Khan; Park, 2023; Shahwar; Khan; Park, 2024). Esses elementos representam impactos significativos na cultura (Grumet *et al.*, 2021), influenciando diretamente as características do fruto e o seu rendimento em cultivares (Shahwar; Khan; Park, 2023).

2.2 Fatores que influenciam a cultura do melão

Culturas de melão cultivadas no Nordeste do Brasil possuem ciclos produtivos curtos que variam de 60 a 80 dias a depender da cultivar, com faixas de temperatura ideal de 25 a 30 °C para o desenvolvimento (Salviano *et al.*, 2017; Bezerra *et al.*, 2017). Sendo plantas típicas de clima quente, conseguem sobreviver em quadros de baixa pluviosidade e umidade relativa, (Salviano *et al.*, 2017). A qualidade dos frutos é influenciada negativamente por episódios de frio/resfriamento, assim como o estresse salino altera o equilíbrio celular e proporciona estresse oxidativo (Shahwar; Khan; Park, 2024).

O clima tropical classificado como ideal para o desenvolvimento do melão, favorece o aparecimento de uma série de doenças e pragas que afetam o cultivo (Cui *et al.*, 2022). Entre as doenças de grande distribuição, estão o oídio (*Leveillula Taurica*, *Golovinomyces orontii* e *Podosphaera xanthii*), antracnose (*Colletotrichum orbiculare*), míldio (*Pseudoperonospora*

cubensis), murcha do fusário (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*), nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) e vírus do mosaico do pepino (CMV) (Cui *et al.*, 2022; Shahwar; Khan; Park, 2024).

Para o cenário de pragas, o cultivo de melão é alvo de diferentes artrópodes fitófagos, como tripes da espécie *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895 (Thysanoptera: Thripidae), pulgões como *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae), mosca-branca da espécie *Bemisia tabaci* Gennadius, 1889 (Hemiptera: Aleyrodidae) (Pedro *et al.*, 2021) e moscas-minadoras do gênero *Liriomyza* Mik, 1894 (Hamza *et al.*, 2023).

No Brasil, a mosca-minadora ganhou o título de praga-chave do meloeiro no início dos anos 2000, devido a diferentes fatores, entre eles a diminuição dos seus inimigos naturais decorrente da tentativa de eliminação da mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B e a possibilidade de resistência aos inseticidas aplicados (Guimarães *et al.*, 2005; Guimarães *et al.*, 2009). Perdas de 15% até 30% em cultivos comerciais de melão do Rio Grande do Norte, Ceará e Bahia já foram relatadas (Guimarães *et al.*, 2005; Araújo *et al.*, 2007). Motivadas pelo uso de cultivares suscetíveis associadas às condições ambientais favoráveis proporcionadas no clima Semiárido, que contribuem para o desenvolvimento desse inseto durante todo o período de produção.

2.3 *Liriomyza* spp.

Moscas-minadoras, também denominadas popularmente como larvas-minadoras, são insetos pertencentes à ordem Diptera que possuem o padrão característico de herbivoria da família Agromyzidae Fallén, 1823. Segundo o catálogo da vida realizado pelo Sistema Integrado de Informações Taxonômicas (2025), essa família tem 2610 espécies divididas em 40 gêneros, sendo *Liriomyza* Mik., o principal, com 471 espécies, até então identificadas.

Espécies originárias das Américas, denominadas de táxons do Novo Mundo, *Liriomyza sativae* Blanchard 1938, *Liriomyza trifolii* Burgess 1880 e *Liriomyza huidobrensis* Blanchard 1926, são as de maior importância econômica devido a ampla polifagia e colonização de novas áreas geográficas (Carapelli *et al.*, 2018). Ganham o status de praga devido à resistência a inseticidas aplicados no controle de outros insetos e também eliminação dos seus inimigos naturais (Weintraub *et al.*, 2017; Ridland *et al.*, 2020).

A nível mundial, sua propagação torna-se favorecida pela exportação e importação de plantas, flores e ramos para plantio e comercialização, além de produtos de herbáceas

destinados ao consumo (Weintraub *et al.*, 2017). No Brasil, elas ocorrem naturalmente em quase todos os estados e atacam mais de 25 famílias de plantas, principalmente olerícolas (Catapan *et al.*, 2018).

A maioria das espécies de moscas-minadoras do gênero *Liriomyza* spp. compartilham semelhanças morfológicas na fase adulta (Carapelli *et al.*, 2018), como o comprimento diminuto que varia em torno de 1 a 3 mm e com colorações características na região torácica, como o escudo escuro e manchas amareladas no escutelo (Costa-Lima; Silva; Parra, 2015). Devido a semelhança, algumas espécies são consideradas crípticas, havendo distinção por análises da estrutura genitália masculina, mas ainda restrito na diferenciação de espécies como *L. huidobrensis* e *L. langei*, realizada então a partir de análises moleculares (Weintraub *et al.*, 2017; Carapelli *et al.*, 2018).

Nas fases iniciais do ciclo de vida, os ovos são depositados pela fêmea com auxílio de um ovipositor, tanto na face adaxial ou abaxial de folhas, causando danos às células do mesófilo foliar através das perfurações (Parrella, 1987). Os ovos que possuem tamanhos variados de acordo com as espécies, são translúcidos e esbranquiçados (Costa-Lima; Silva; Parra, 2015), tornam-se opacos conforme o desenvolvimento, que dura cerca de 4 dias, a depender da temperatura (Guimarães *et al.*, 2009). A maioria das puncturas produzidas não contém ovos, servindo apenas para o fornecimento de exsudatos para alimentação das fêmeas e machos (Weintraub *et al.*, 2017; Catapan *et al.*, 2018).

A larva vermiforme que eclode a partir do ovo, alterna entre a coloração pálida e amarelo alaranjado, dependendo do estágio da fase larval em que se encontra, tendo um comprimento médio de 3 mm (Guimarães *et al.*, 2009). Ao eclodir, alimenta-se incessantemente do mesófilo foliar e conforme a disponibilidade de nutrientes, temperatura local e planta hospedeira, passa por três instares até atingir a fase de pupa (4-6 dias) (Parrella, 1987; Guimarães *et al.*, 2009). Essa última fase, antes do surgimento do adulto, acontece ainda na folha ou no solo, variando entre 7 e 14 dias e necessita de uma umidade relativa ideal entre 30 e 70% (Guimarães *et al.*, 2009). Por fim, o adulto que emergiu do pupário passa por um período de maturação dos seus órgãos reprodutivos, no caso de fêmeas, após a maturação e acasalamento conseguem depositar de 100 a mais de 600 ovos (Parrella, 1987). O ciclo completo da fase de ovo a adulto depende das condições ambientais e varia entre 12 e 51 dias (Catapan *et al.*, 2018).

Conhecendo a biologia do ciclo de vida das moscas-minadoras, é possível identificar que a prática de formação de puncturas nas folhas para deposição dos ovos é um problema, pois servem como porta de entrada para diferentes patógenos oportunistas como fungos

(Shamkh *et al.*, 2022). Assim como podem causar ressecamento e desfolha da planta, gerando queimaduras nos frutos pela exposição mais efetiva aos raios solares (Guimarães *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2017). Porém, o principal dano direto causado por esses dípteros nas culturas de importância agrícola, se dá pela diminuição da área fotossintética conforme as larvas alimentam-se do mesófilo foliar e geram galerias ou minas visíveis (Parrella, 1987). Um ataque severo no início do desenvolvimento da planta pode até causar sua morte, além da geração de frutos com baixos teor de sólidos solúveis totais, que são impróprios para comercialização (Araújo *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2017).

Em folhas de melão amarelo, Costa *et al.* (2017) relataram a redução de 50,7% na taxa fotossintética a partir da infestação por larvas de *L. sativae*. Os autores observaram que o nível de infestação associado ao número de larvas por folha é proporcional aos danos fisiológicos causados, como a diminuição da condutância estomática e transpiração, assim como aumento da concentração interna de gás carbônico. Sendo esses parâmetros importantes para o processo de fotossíntese, são responsáveis pela redução da produtividade e qualidade dos frutos.

Para diminuir os danos, são utilizadas em conjunto diferentes táticas de Manejo Integrado de Pragas (MIP). Cabe citar como exemplo, a tentativa de tornar o ambiente agrícola inadequado para o desenvolvimento de moscas-minadoras, entre elas estão: cobertura das plantas com mantas, pousio, armadilhas adesivas amarelas e rotação de culturas com o uso de plantas não hospedeiras (Guimarães *et al.*, 2009). Outra alternativa seria a obtenção de fontes de resistência em plantas, que se classifica em dois tipos, os mecanismos de antibiose e antixenose que auxiliam na proteção da planta. Essas fontes em genótipos precisam ser detectadas inicialmente através de pesquisas, como a identificação de genótipos de meloeiro resistentes à mosca minadora por meio de caracteres agrônômicos (Oliveira *et al.*, 2022).

O controle químico realizado com inseticidas sintéticos é o mais utilizado em plantios comerciais (Catapan *et al.*, 2018) e apresenta em muitos casos a gestão eficiente de pragas pela sua ação rápida e facilidade de utilização. Entretanto, as aplicações intensivas levantam questionamentos quanto ao impacto na saúde humana e meio ambiente, assim como a ocorrência de variedades que apresentam resistência (Smagghe *et al.*, 2023). Por serem amplamente utilizados no mundo para controle de moscas-minadoras presentes em plantas de diferentes sistemas de cultivo (Askari-Saryazdi *et al.*, 2015), alguns estudos sugerem que o uso excessivo de inseticidas selecionou populações resistentes, como de *L. trifolii* resistentes a ciromazina (Chang *et al.*, 2022), *L. sativae* resistentes a clorpirifós (Askari-Saryazdi *et al.*, 2015) e *L. huidobrensis* resistente a clorantraniliprole (Nguyen; Chen; Herron, 2024). Além

disso, o contato direto dos pesticidas em ovos e larvas torna-se restrito, pela proteção conferida pelo tecido foliar (Nguyen; Chen; Herron, 2024).

Silva *et al.* (2022) avaliaram a suscetibilidade a inseticidas de populações de *L. sativae* presentes em culturas de melão dos Estados de Rio Grande do Norte e Pernambuco. Os autores alertaram sobre o alto risco de evolução de resistência dessa espécie aos compostos químicos na região Nordeste. As populações estudadas permanecem suscetíveis a abamectina, ciantraniliprole, espinosade e espinetoram, contudo foi observado alta variação para os valores de concentração letal (CL99), indicando uma possível tolerância de alguns indivíduos.

No controle biológico, são adotadas práticas que visam eliminar as populações indesejáveis através da conservação ou aumento dos inimigos naturais, como endo/ecto parasitoides das famílias Eulophidae, Braconidae, Pteromalidae e Figitidae, que atacam larvas-minadoras (Weintraub *et al.*, 2017; Ridland *et al.*, 2020). Contudo, a eficiência da vida útil dos biológicos depende do reconhecimento da tendência de aumento da variabilidade genética e número das pragas, entre outros fatores (Fontes; Valadares-Inglis, 2020).

Portanto, o conhecimento da variabilidade genética das populações de mosca-minadora torna-se importante para implementação de estratégias de controle a partir da mensuração da diversidade genética (Xu *et al.*, 2022; Scheffer *et al.*, 2024).

2.4 Diversidade genética

As análises em volta da determinação do nível de variação genética entre indivíduos, grupos de indivíduos e populações, se dá a partir da determinação da diversidade genética (Ismail *et al.*, 2016), que é definida como sendo a medida da biodiversidade a nível genético, baseada na mensuração do número de alelos existentes e a frequência com que eles ocorrem nas populações, considerando seu aparecimento e desaparecimento ao longo das gerações (Ellegren; Galtier, 2016; Silva Filha *et al.*, 2022).

Sua origem está nos mecanismos que levam ao surgimento de novos alelos, como as mutações, porém é moldada por processos de fluxo gênico através de migrações, sistemas de acasalamento, eventos como efeito fundador e gargalos populacionais (Ellegren; Galtier, 2016; Griffiths *et al.*, 2022; García-Berro *et al.*, 2022). Sendo a diversidade genética total resultante da variação dentro de uma população (diversidade genética) e entre populações (diferenciação genética) (Cruz; Ferreira; Personi, 2020).

Neste sentido, sua importância está na capacidade de proporcionar às populações uma maior chance de resistência contra as mudanças ambientais, climáticas ou a exposição às doenças, assim como pode levar ao surgimento de novas linhagens e espécies, contribuindo diretamente na sobrevivência e adaptabilidade de organismos invasores (Chen *et al.*, 2019; Hoban *et al.*, 2022).

Por essa razão, a caracterização da diversidade genética de moscas-minadoras é imprescindível para estudos que possuem como objetivo entender mecanismos de expansão populacional (Chen *et al.*, 2019), estrutura genética e padrões de migração (Tang *et al.*, 2015), avaliação de espécies crípticas e sua associação com o tipo de hospedeiro (Carapelli *et al.*, 2018), assim como entender a sua história evolutiva e relação genética entre diferentes populações (Ferreira *et al.*, 2017). Fornecendo informações que são essenciais para o monitoramento e controle eficaz de espécies invasoras (Kang *et al.*, 2023).

De acordo com Beaurepaire, Webster e Neumann (2024), a diversidade genética de insetos pode ser mensurada por métodos convencionais como análises morfológicas, porém possui restrição pela existência de espécies crípticas e escassez de especialistas na área, de modo que as análises moleculares sejam as mais indicadas para este objetivo. Os marcadores moleculares são ferramentas capazes de avaliar diferenças nas sequências de DNA denominadas de polimorfismo (Ellegren; Galtier, 2016).

Além da análise de sequências, também podem fornecer informações a partir da avaliação de padrões de metilação, polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) ou fragmentos de microssatélites, que são posteriormente convertidos em informações a partir de métricas, como número e frequência de alelos, número médio de alelos por *locus* polimórfico e heterozigosidade esperada sob Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HE) (Hoban *et al.*, 2022; Silva Filha *et al.*, 2022).

Xu *et al.* (2022) em seu estudo pioneiro, buscaram obter informações sobre a estrutura genética populacional para estimar a divergência genética conforme distâncias geográficas e construir a história de invasão de *L. sativae* na região da Península de Cape York, na Austrália, através de marcadores SNPs. Utilizaram 24 populações de 8 países ao redor da região e conseguiram obter resultados congruentes com a biogeografia da espécie, também identificaram locais geneticamente relacionados pela invasão recente da espécie, e populações fortemente distintas de outros países, como do Havaí, provavelmente relacionado a eventos de deriva genética. Desse modo, o estudo mostrou-se eficaz para o estabelecimento de parentescos com base em SNPs, confirmando a eficácia dos estudos de diversidade genética,

utilizando marcadores para obtenção de diferentes informações acerca da genética populacional de moscas-minadoras.

Outro estudo produzido por Ferreira *et al.* (2017) teve como objetivo caracterizar geneticamente espécies do gênero *Liriomyza* associadas com hortaliças utilizando DNA mitocondrial (mtDNA) do gene citocromo oxidase subunidade I (COI) como forma de determinar a diversidade genética de populações brasileiras e a sua filogenia. Os resultados obtidos, indicaram que as populações coletadas nos Estados: Bahia, Ceará, Espírito Santo, Pernambuco e Rio Grande do Norte, apresentavam baixos níveis de variação genética entre si. Assim como as análises filogenéticas permitiram identificar um clado único da espécie *L. sativae*, devido a provável especiação recente e efeito fundador.

Vale ressaltar que apesar de altamente empregados e vantajosos para estudos de taxonomia, os marcadores mtDNA baseados em sequências COI, apresentam limitações consideráveis para outras análises, como baixa detecção da diversidade genética, que diminui o conteúdo de informações a serem exploradas em estudos de genética populacional (Beaurepaire; Webster; Neumann, 2024). Assim como sua diversidade pode ser distorcida devido à dispersão baseada no sexo, sendo indicado a realização de análises comparativas entre mtDNAs e *loci* nucleares para obtenção de dados significativos utilizando marcadores de maior resolução (Millette *et al.*, 2019; Liang *et al.*, 2023).

Dessa forma, o estudo de diversidade genética de populações de moscas-minadoras no Brasil, pode ser realizado com outros tipos de marcadores moleculares de natureza nuclear. Visto que são escassos os estudos genéticos de espécies de *Liriomyza* no Brasil e há uma necessidade de ampliação das populações estudadas (Ferreira *et al.*, 2017).

2.5 Marcadores moleculares

Marcadores genéticos são utilizados tanto na ciência convencional, como para obter conhecimentos de importância econômica dado a capacidade de relacionar informações, diferenciar e consequentemente selecionar genótipos de interesse (Ramesh *et al.*, 2020). Nessa perspectiva, existem marcadores genéticos classificados como morfológicos, bioquímicos e moleculares, onde cada um apresenta diferentes metodologias (Ramesh *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2021). Dentro da classificação de marcadores moleculares, estão aqueles definidos como sequências de DNA representativas de diferenças, capazes de distinguir os genótipos e indivíduos devido ao polimorfismo, que é resultante de eventos moleculares como

mutações pontuais, inserções, deleções, duplicações e translocações, não estando associados de forma restrita a um gene (Nadeem *et al.*, 2017). Apresentam-se vantajosos devido à capacidade de detecção alta dos polimorfismos, sem influência do ambiente em questão e estágio de desenvolvimento (Faleiro, 2007; Ismail *et al.*, 2016).

Os marcadores moleculares, são classificados quanto ao método de detecção, são eles: marcadores baseados em hibridização com sondas, em sequenciamento e aqueles que utilizam a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) ou seja, são alvos de amplificação e geração de muitas cópias do material genético (Turchetto-Zolet *et al.*, 2017; Nadeem *et al.*, 2017; Bidyananda *et al.*, 2024). Em pesquisas que envolvem estudos de diversidade genética, encontra-se marcadores moleculares baseados em PCR com suas técnicas consolidadas e amplamente empregadas, como AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), RAPD (*Randomly amplified polymorphic DNA*), SSR (*Simple Sequence Repeat*) e ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeats*) (Ismail *et al.*, 2016; Nadeem *et al.*, 2017). Esses marcadores também são aplicados em estudos que variam desde a investigação de relações taxonômicas, evolutivas e filogenéticas, por meio da observação da variação genética dentro e entre populações, até estudos ecológicos. A escolha do marcador depende das condições experimentais, das informações que cada um pode fornecer e da facilidade de genotipagem (Ismail *et al.*, 2016; Bidyananda *et al.*, 2024).

O marcador ideal deve atender a requisitos como alta capacidade de detecção de polimorfismos, boa relação custo-benefício, necessidade de uma baixa quantidade de material genético para análise e ter um sistema de operação rápido e fácil (Hasan *et al.*, 2021). A escolha de um desses marcadores moleculares citados é viável no estudo de diversidade genética de moscas-minadoras, considerando a disponibilidade tecnológica e a limitação imposta pela ausência de conhecimento prévio dos genomas analisados.

2.6 Marcadores moleculares ISSR

Os marcadores ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeats*) são amplamente utilizados em estudos de diversidade genética, pois apresentam vantagem por não necessitarem de conhecimento prévio das sequências analisadas (Felix *et al.*, 2020; Venkatesan *et al.*, 2021). Estão associados as regiões microssatélites ou motivos de sequências simples de 2 a 5 nucleotídeos repetidos em *tandem*, que estão distribuídos ao acaso e em grande quantidade no genoma de organismos (Amiteye, 2021).

A técnica baseia-se na utilização de um único *primer* constituído por várias repetições, que ancora-se em duas ou quatro bases arbitrárias do material analisado (Turchetto-Zolet *et al.*, 2017). Dessa forma, são gerados fragmentos de DNA de diferentes tamanhos, que variam entre 100-3000 pb a partir da amplificação por PCR utilizando os *primers* ISSR (16-25 bases) e, por consequência, representam diferentes *loci* entre regiões microssatélites (Teixeira *et al.*, 2020).

Apesar de apresentarem herança dominante que restringe a diferenciação de heterozigotos e homozigotos dominantes, os marcadores ISSR ainda possuem grande relevância por serem vantajosos devido à alta confiabilidade, reprodutibilidade, baixo custo, rápidos e simples quanto ao processamento de amostras grandes (Ramesh *et al.*, 2020; Venkatesan *et al.*, 2021; Bidyananda *et al.*, 2024).

Com destaque nesse experimento para o estudo de insetos com importância agrícola, esses marcadores apresentaram eficiência na detecção de alta diversidade genética a nível da espécie da praga do arroz *Chlorops oryzae* Matsumura, 1915 (Diptera: Chloropidae) (Zhou *et al.*, 2020) e na observação de baixa variabilidade de número de alelos por *locus* de polinizador natural da subespécie *Apis mellifera meda* Skorikow, 1829 (Hymenoptera: Apidae) (Rahimi *et al.*, 2022). Assim como mostrou-se eficaz na investigação dos níveis de mutagenicidade genética, causadas por diferentes tratamentos com inseticidas para larvas de *Agrotis ipsilon* Hufnagel, 1766 (Lepidoptera: Noctuidae), uma praga polífaga que ataca diferentes culturas importantes economicamente (Awad *et al.*, 2022).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Estudar através do uso de marcadores moleculares ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeats*) a diversidade genética de populações de moscas-minadoras, obtidas de cultivos comerciais de meloeiro, presentes em diferentes regiões do Estado do Rio Grande do Norte, como passo inicial para entendimento das razões de sucesso de infestação da praga, de forma a auxiliar as táticas de controle existentes.

3.2 Objetivos específicos

- Coletar moscas-minadoras presentes em diferentes áreas comerciais de meloeiro atacados pela praga;
- Realizar a extração do DNA das moscas;
- Amplificar o material genético extraído através da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) utilizando *primers* ISSR;
- Avaliar a qualidade e a reprodutibilidade dos fragmentos amplificados por meio de eletroforese em gel de agarose e análise de imagem;
- Estimar a diversidade genética intra e inter populações com base nos perfis moleculares obtidos;
- Observar a relação entre as distâncias geográficas com a diferenciação genética;
- Relacionar as informações de diversidade genéticas com o seu efeito nas táticas de controle.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coletas das moscas

Entre agosto de 2024 e março de 2025, foram obtidas amostras de moscas-minadoras de três fazendas comerciais de melão, identificadas na Tabela 1. Para o isolamento e desenvolvimento dos adultos, amostras de folhas contendo larvas de moscas foram conduzidas ao Laboratório de Ecotoxicologia à Artrópodes, localizado no Prédio de Fitossanidade da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Onde foram individualizadas em recipientes plásticos até obtenção das pupas, coletadas diariamente com auxílio de pincel de ponta fina e, transferidas para o interior de tubos de ensaio, vedados com filme plástico contendo micro furos para entrada de oxigênio, permitindo dessa maneira a sobrevivência das pupas até emergência dos adultos. As condições de desenvolvimento permaneceram constantes ao longo do ciclo, com temperaturas médias de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $35 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas.

Tabela 1 - Identificação dos locais de coleta de moscas-minadoras em cultivos comerciais de melão amarelo do Rio Grande do Norte-RN.

Fazenda	Município	Coordenadas (Lat,; Long)	Código
Bom Jesus	Mossoró-RN	4°59'46.5''S 37°24'24.4'' W	ABJM
Boágua	Baraúna-RN	5°07'32.4''S 37°36'27.3'' W	ABAB
Águas	Caraúbas-RN	5°37'53"S 37°38'13"W	AAGC

Fonte: autoria própria. Código: A (Melão amarelo), BJ (Bom Jesus), BA (Boágua), AG (Águas), M (Mossoró/Maisa), B (Baraúna) e C (Caraúbas). Lat: Latitude. Long: Longitude

Após a emergência dos adultos de cada amostra, observados em estereomicroscópio, eles foram acondicionados isoladamente em microtubos de 2 mL, ainda no local. Posteriormente passaram por armazenamento em caixa térmica e transporte até o Laboratório de Biotecnologia Vegetal localizado na UFERSA, campus Mossoró-RN. As amostras

permaneceram conservadas em etanol 90 % e freezer a -20°C até que ocorresse a extração do DNA.

4.2 Extração de DNA

O isolamento do material genético foi realizado a partir do protocolo de Doyle & Doyle (1987). Para cada fazenda, dez amostras de moscas-minadoras isoladas individualmente (indivíduo único) em microtubos de 2 mL foram maceradas em 400 µL de tampão de extração (100 Mm Tris-HCl pH 8; 1,4 M NaCl, 20 Mm EDTA, SDS 0,5%, β-mercaptoetanol 0,2% e água ultrapura q.s.p) com auxílio de um bastão de vidro, posteriormente incubadas em banho-maria a 65°C por 40 minutos, sendo os tubos vertidos a cada 10 minutos. Após o resfriamento, foi adicionado o volume de 400 µL de Clorofórmio-Álcool-Isoamílico 24:1 e centrifugação a 10.000 rpm (10.192 g) por 10 minutos. Os sobrenadantes foram passados para novos microtubos de 1,5 mL, nos quais foi adicionado 2/3 de isopropanol gelado e incubados em freezer a - 20 °C por 3 horas, seguida de centrifugação a 10.000 rpm (10.192 g) por 10 minutos. A fase líquida foi descartada e o *pellet* não visível lavado com 400 µL de etanol 70% mediante centrifugação a 10.000 rpm (10.000 g) por 5 minutos. O álcool foi descartado e as amostras passaram 30 minutos secando em temperatura ambiente até que ocorresse a ressuspensão do material genético em 50 µL de água ultrapura, seguido do armazenamento em freezer a - 20°C.

4.3 Reação em cadeia da polimerase

As reações de amplificação com os marcadores moleculares foram feitas mediante seleção prévia a partir de 28 *primers* ISSR comerciais (*University of British Columbia - UBC*). O mix de reação no volume de 12 µL foi composto por 1 U/µL Taq-polimerase (Sinapse Inc.), 1x tampão (Sinapse Inc.), 0,16 mM dNTPs (Ludwig Biotec), 1 mg/mL BSA, 0,83 µM de *primer*, 1 µL do DNA-molde bruto e água ultrapura q.s.p. Placas de 96 poços foram utilizadas para PCR em termociclador (Amplitherm), seguindo o protocolo de Gemmill e Grierson (2020) adaptado, com desnaturação inicial das duplas fitas de DNA na temperatura de 94 °C por quatro minutos, seguido de 40 ciclos constituídos por três etapas: (1) Desnaturação a 94 °C por 40 segundos, (2) Anelamento do iniciador na temperatura em graus Celsius de acordo com as propriedades já indicadas pelo fornecedor, mostradas na Tabela 2, por 40 segundos; (3) Extensão a 72 °C no período de dois minutos. O processo foi finalizado com uma fase de extensão por 7 minutos na temperatura de 72 °C.

Tabela 2 - Sequências nucleotídicas dos *primers* ISSR utilizados em DNAs de moscas-minadoras.

Nome do <i>primer</i>	Sequência do <i>primer</i> (5'-----3')	TA (°C)
UBC-808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	47,6
UBC-810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	45,2
UBC-811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	47,6
UBC-812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	45,2
UBC-823	TCTCTCTCTCTCTCC	47,6
UBC-825	ACACACACACACACT	45,2
UBC-826	ACACACACACACACC	47,6
UBC-828	TGTGTGTGTGTGTGA	45,2
UBC-834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	47,3
UBC-835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	49,5
UBC-836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA	47,3
UBC-840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	47,3
UBC-841	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	49,5
UBC-842	GAGAGAGAGAGAGAGAYG	49,5
UBC-846	GAGAGAGAGAGAGAGAA	45,2
UBC-847	CACACACACACACARC	49,5
UBC-848	CACACACACACACARG	49,5
UBC-850	GTGTGTGTGTGTGTGYC	49,5
UBC-852	TCTCTCTCTCTCTCCRA	50,4
UBC-855	ACACACACACACACYT	47,3
UBC-856	ACACACACACACACYA	47,3
UBC-857	ACACACACACACACYG	49,5
UBC-858	TGTGTGTGTGTGTGRT	47,3
UBC-861	ACCACCACCACCACC	55,2

UBC-866	CTCCTCCTCCTCCTCCT	52,4
UBC-868	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	41,6
UBC-888	DBBCACCACACACACA	46,8
UBC-889	DBDACACACACACACAC	46

Fonte: Empresa WATSONBI. TA (°C): temperatura de anelamento do *primer*.

4.4 Eletroforese e registro das imagens

Os produtos amplificados de PCR foram corados com 2 µL de 6x tampão de carregamento (Sinapse Inc.) e as amostras submetidas a eletroforese em Gel de agarose 2% (Argagen), corado com brometo de Etídeo (10 mg/mL), em tampão 1X Tris-Borato-EDTA (TBE) pH 8 durante 135 minutos a 120V. O registro das imagens foi realizado em transluminador acoplado a luz U.V (Proteinsimple, Alphaimager mini) e computador. Foi utilizado o DNA ladder (Sinapse Inc.) de 100 pb para comparação do tamanho dos fragmentos gerados.

4.5 Análise estatística

Para determinação da capacidade informativa dos *primers* ISSR utilizados, foram calculados o número total de fragmentos gerados (N°F), número de fragmentos polimórficos (N°F_P), identificação da faixa de tamanho dos fragmentos e porcentagem de polimorfismo (%P). Também foram determinados os valores de PIC (*Polymorphism information content*), EMR (*Effective multiplex ratio*) e MI (*Marker index*) no *software* Microsoft Excel, conforme descrito por Chesnokov e Artemyeva (2015).

Os Índices de Nei e Shannon foram calculados pela utilização da linguagem R no *software* RStudio e pacote ade4 (Dray; Dufour, 2007) para mensurar a diversidade genética nas populações.

Foram elaboradas matrizes de presença (1) e ausência (0) de bandas para cada marcador, seguido do cálculo de similaridade a partir do coeficiente de Jaccard. As matrizes de similaridade geradas foram utilizadas para análise de agrupamento hierárquicos e geração de dendrograma para análise visual pelo método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average*) no *software* NTSYSpc 2.10 (Rohlf, 2000) e gráfica por PCoA no

software RStudio com pacote *vegan* (Oksanen *et al.*, 2022) e *ggplot2* (Wickhan, 2024). O coeficiente de correlação cofenética (CCC) também foi determinado no *software* NTSYSpc.

A análise AMOVA (*Molecular Variance Analysis*) foi utilizada para mensurar a diferenciação genética entre e dentro das populações, significativa quando $p < 0,01$, com o pacote *ade4* no *software* RStudio.

O isolamento por distâncias (IBD) foi verificado a partir do teste de correlação de Mantel baseado nas coordenadas geográficas de cada população. A análise no *software* RStudio e pacote *vegan* aconteceu a partir de 999 permutações, com relação significativa quando $p < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos 28 *primers* avaliados, 18 foram selecionados para o estudo de diversidade genética, baseado na capacidade de identificação de polimorfismo, clareza e intensidade das bandas geradas. Na Figura 1 é possível observar o representativo do padrão de amplificação.

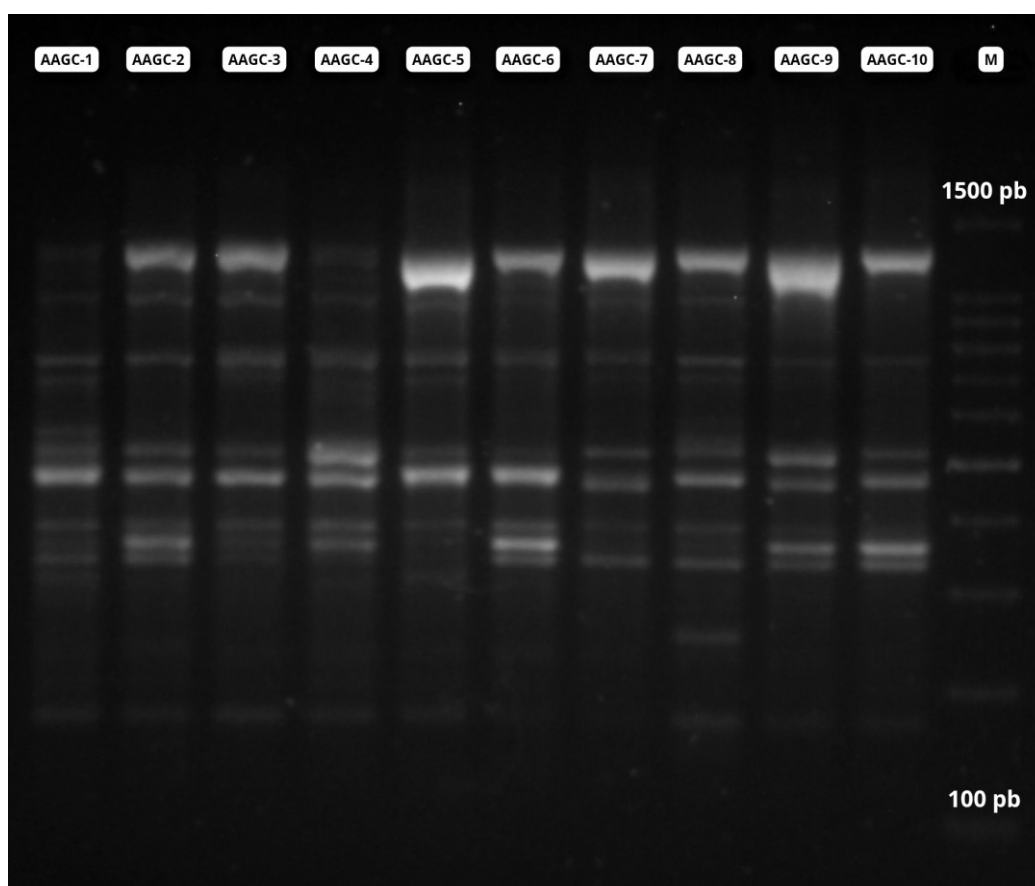


Figura 1 – Gel de agarose a 2% contendo amostras de DNAs de dez moscas-minadoras isoladas de folhas de melão amarelo da fazenda Águas (AAGC) e amplificadas com o *primer* ISSR UBC-840. A canaleta M representa o marcador de peso molecular DNA ladder 100 pb.

A partir da análise dos géis foi possível identificar um total de 224 fragmentos, dos quais 197 foram polimórficos, com taxa de polimorfismo média de 88% (Tabela 3). Esses valores sugerem alta variação genética em indivíduos de moscas-minadoras, compatível com observado para outras espécies de moscas consideradas pragas agrícolas, como *Ceratitidis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae), revelados por PCR-ISSR, com %P de 88,5% (Kurd *et al.*, 2020). O tamanho dos fragmentos de 180 a 1800 pb são coerentes com o descrito para dípteros em estudos com esses marcadores (Chong; Chua; Song, 2014; Kurd *et al.*, 2020).

Tabela 3 – Avaliação da capacidade informativa de 18 *primers* ISSR selecionados para moscas-minadoras.

ID	Faixa (pb)	Nº F	NºFP	%P	PIC	EMR	MI
UBC-808	180-1500	12	11	92%	0,37	10,1	3,8
UBC-810	250-1400	9	8	89%	0,28	7,1	2,0
UBC-811	350-1200	9	7	78%	0,39	5,4	2,1
UBC-812	280-1400	10	10	100%	0,44	10,0	4,4
UBC-823	400-1600	6	5	83%	0,21	4,2	0,9
UBC-825	220-900	13	9	69%	0,18	6,2	1,1
UBC-826	300-1500	15	15	100%	0,46	15,0	7,0
UBC-835	220-800	12	12	100%	0,46	12,0	5,6
UBC-836	200-1400	13	13	100%	0,23	13,0	3,0
UBC-840	180-1300	14	10	71%	0,09	7,1	0,7
UBC-841	200-1500	11	10	91%	0,18	9,1	1,6
UBC-842	180-1500	17	17	100%	0,36	17,0	6,1
UBC-846	280-1500	14	14	100%	0,37	14,0	5,2
UBC-847	190-1400	18	13	72%	0,10	9,4	0,9
UBC-848	220-1500	14	12	86%	0,39	10,3	4,0
UBC-856	320-1500	11	10	91%	0,23	9,1	2,1
UBC-857	200-1800	15	12	80%	0,32	9,6	3,1
UBC-858	380-1500	11	9	82%	0,18	7,4	1,3
Total		224	197				
Média				88%	0,29	9,8	3,1

Fonte: Autoria própria. NºF: Número total de fragmentos. NºFP: Número de fragmentos polimórficos. %P: Porcentagem de polimorfismo (NºFP/NºF). PIC: Conteúdo de informação polimórfica ($1 - [f_2 + (1-f_2)^2]$). EMR: Razão multiplex eficaz (NºFP x %P). MI: Marcador Index (PIC x EMR).

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) em marcadores dominantes representa de forma indireta a heterozigiosidade observada em uma população, por avaliar a qualidade da distribuição da variabilidade genética. De acordo com Serrote *et al.* (2020) valores < 0,10 são considerados baixos, entre 0,10 e 0,25 médios, entre 0,30 e 0,40 altos e muito altos de 0,40 a

0,50. O conteúdo de informação variou de 0,09 para UBC-847 a 0,46 para UBC-826 e UBC-835, com valor médio de 0,29 (Tabela 3).

Dessa forma, é possível observar que os *primers* foram úteis na identificação de variação genética em moscas-minadoras entre as regiões microssatélites (ISSR). O polimorfismo total considerado médio a alto avaliado a partir dos valores de PIC é compatível com o identificado em *L. sativae* por Liu *et al.* (2022) pela utilização de marcadores microssatélites (SSR).

EMR é uma medida quantitativa que estima a capacidade de eficiência na detecção de polimorfismo do sistema *primer*-marcador, quanto maior o seu valor mais eficiente é esse sistema (Chesnokov e Artemyeva, 2015). No estudo o *primer* UBC-823 com valor EMR de 4,2 foi o menos eficiente. Esse resultado pode ser explicado em parte devido a menor quantidade de fragmentos gerados e consequente menor número absoluto de *loci* polimórficos passíveis de detecção (Nagaraju *et al.*, 2001). UBC-842 com o valor de 17,0 foi o mais eficiente seguindo a lógica oposta, sendo 9,8 a média (Tabela 3).

O índice de marcador (*Marker index* -MI), definido como produto da amplificação de EMR e PIC, mensura a eficiência absoluta do sistema. Assim como EMR, quanto maior o seu valor, melhor é o método (Chesnokov e Artemyeva, 2015) e juntos são parâmetros importantes na seleção de *primers* informativos (Rosa *et al.*, 2017). UBC-826 apresentou o maior valor de MI (7,0), consequência do elevado número de fragmentos amplificados, todos polimórficos e com alto valor de PIC. O menor MI foi observado para UBC-840 (0,7), com média de 3,1 (Tabela 3).

Múltiplas razões justificam o alto polimorfismo identificado por ISSR em moscas-minadoras. Em insetos, maiores valores de MI e EMR são observados em comparação a outros marcadores como SSR e RAPD devido sua eficiência de amostragem de múltiplos locus, facilitando na identificação de variação genética (Nagaraju *et al.*, 2001; Amiteye, 2021).

Além de atributos da técnica, características biológicas do gênero *Liriomyza* spp. influenciam nesses resultados, como as altas taxas reprodutivas que favorecem o acúmulo de polimorfismos e o ciclo de vida curto (Wang *et al.*, 2008; Loxdale, 2010; Tang *et al.*, 2015). Assim como a exposição a diferentes ambientes de acordo com os hospedeiros favorece a diversidade genética (Pérez-Alquicira *et al.*, 2018). Porém, é necessário dar enfoque que o polimorfismo observado pode ser decorrente de alterações no DNA causadas pela aplicação de inseticidas, que são detectadas de maneira eficaz por marcadores ISSR (Awad *et al.*, 2022).

Dessa forma, a alta diversidade genética observada em moscas-minadoras permite que haja melhor adaptação ao ambiente, facilitando sua disseminação (Chen *et al.*, 2019; Liang *et*

al., 2023), colaborando na justificativa do sucesso de infestação da praga em cultivos de melão amarelo do Rio Grande do Norte.

O índice de Shannon (H'), apresentado na Tabela 4, é um parâmetro utilizado para medir a diversidade genética intrapopulacional (Cruz; Ferreira; Personi, 2020). Ele reflete a riqueza de polimorfismo existente, nesse caso determinada pela quantidade de *loci* polimórficos identificados, e a equitabilidade, pela distribuição das frequências de bandas na população (Cruz; Ferreira; Personi, 2020; Kurd *et al.*, 2020). O índice de Nei (H), também é utilizado para mensurar a diversidade genética nas populações. Refere-se a heterozigosidade esperada, mensurada a partir da probabilidade de dois alelos aleatórios avaliados serem distintos em uma população (Nei, 1973).

Tabela 4 - Medidas de diversidade genética a partir dos índices de Nei e Shannon para avaliação das populações de moscas-minadoras ABJM, ABAB e AAGC.

População	Índice de Shannon (I)	Índice de Nei (H)
ABJM	0,374	0,250
ABAB	0,348	0,233
AAGC	0,320	0,212

Fonte: Autoria própria. Índices gerados pela análise em linguagem R. ABJM: Fazenda Bom Jesus, Mossoró-RN. ABAB: Fazenda Boágua, Baraúna-RN. AAGC: Fazenda Águas, Caraúbas-RN.

Os índices de diversidade foram proporcionais, ou seja, quanto maiores os valores de I , maiores são os de H e vice-versa, como já descrito para outros insetos pragas por ISSR (Kurd *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020). A proximidade dos valores dos índices de diversidade genética revelaram que esse parâmetro é pouco distinto entre as populações de moscas-minadoras analisadas. Entretanto, maior variabilidade foi observada em ABJM com I de 0,374 e H de 0,250, sugerindo que ela apresenta maior biodiversidade, que pode ser resultado de diferentes fatores, como manejo agrícola diferencial no uso de pesticidas e fertilizantes (Jankielsohn, 2023). Nesse sentido, há a necessidade de estudo *in loco* para confirmação das razões mencionadas.

Para análise da similaridade genética entre os indivíduos de todas as populações, o coeficiente de Jaccard foi determinado. Este índice é vantajoso nesse estudo por desconsiderar coincidências do tipo 0-0 e ser indicado para avaliações de populações em que já se espera a

coincidência de algum compartilhamento de bandas (Cruz; Ferreira; Personi, 2020). Como apontado na Figura 2, a matriz de similaridade gerada variou seus índices de 0,43 a 0,77.

	ABJM1	ABJM2	ABJM3	ABJM4	ABJM5	ABJM6	ABJM7	ABJM8	ABJM9	ABJM10	ABAB1	ABAB2	ABAB3	ABAB4	ABAB5	ABAB6	ABAB7	ABAB8	ABAB9	ABAB10	AAGC1	AAGC2	AAGC3	AAGC4	AAGC5	AAGC6	AAGC7	AAGC8	AAGC9	AAGC10
ABJM1	1.0000																													
ABJM2	0.7584	1.0000																												
ABJM3	0.6933	0.6871	1.0000																											
ABJM4	0.6899	0.6839	0.7211	1.0000																										
ABJM5	0.6899	0.7059	0.6755	0.6420	1.0000																									
ABJM6	0.7244	0.7303	0.7466	0.7179	0.7632	1.0000																								
ABJM7	0.6331	0.6463	0.6375	0.6768	0.6975	0.7099	1.0000																							
ABJM8	0.5732	0.5949	0.5346	0.5389	0.5389	0.5793	0.5376	1.0000																						
ABJM9	0.5404	0.5220	0.4356	0.4615	0.4970	0.5091	0.4713	0.6643	1.0000																					
ABJM10	0.5032	0.5133	0.4698	0.4777	0.4684	0.4810	0.4969	0.5929	0.6772	1.0000																				
ABAB1	0.7233	0.7070	0.6883	0.6852	0.7500	0.7405	0.7091	0.5808	0.4941	0.4663	1.0000																			
ABAB2	0.7197	0.7483	0.6842	0.7244	0.7134	0.7261	0.6747	0.5663	0.5152	0.4780	0.7358	1.0000																		
ABAB3	0.6623	0.7123	0.6690	0.6667	0.6452	0.6581	0.6098	0.5092	0.4390	0.4539	0.6795	0.7551	1.0000																	
ABAB4	0.6962	0.7124	0.6601	0.7006	0.6584	0.6918	0.6627	0.5176	0.4675	0.4936	0.7019	0.7647	0.7181	1.0000																
ABAB5	0.6899	0.6948	0.6645	0.6625	0.6420	0.6646	0.6467	0.5576	0.5061	0.4777	0.6748	0.7134	0.7347	0.7006	1.0000															
ABAB6	0.7134	0.6752	0.7000	0.6646	0.6646	0.7089	0.6890	0.5602	0.4647	0.4810	0.6975	0.7152	0.7020	0.7134	0.7290	1.0000														
ABAB7	0.6364	0.6510	0.6414	0.6090	0.6405	0.6429	0.6250	0.4938	0.4500	0.4564	0.6645	0.7162	0.6552	0.6471	0.6733	0.7569	1.0000													
ABAB8	0.5404	0.5613	0.5195	0.5061	0.5153	0.5466	0.5148	0.6190	0.5944	0.6641	0.5394	0.5432	0.5526	0.5122	0.5437	0.5370	0.4968	1.0000												
ABAB9	0.5283	0.5695	0.5066	0.4847	0.5125	0.5155	0.5212	0.6763	0.5929	0.6250	0.5183	0.5217	0.5098	0.5380	0.5125	0.5155	0.4934	0.6642	1.0000											
ABAB10	0.5828	0.6154	0.5443	0.5576	0.5671	0.5793	0.5833	0.6209	0.6081	0.6642	0.5621	0.5758	0.5871	0.5828	0.5767	0.5793	0.5513	0.7500	0.7007	1.0000										
AAGC1	0.5486	0.5283	0.4780	0.5030	0.5030	0.4970	0.4770	0.5933	0.5903	0.6090	0.5000	0.5212	0.5096	0.5091	0.4940	0.4793	0.4747	0.5685	0.6000	0.6370	1.0000									
AAGC2	0.5313	0.5223	0.5298	0.5346	0.5155	0.5570	0.4882	0.5986	0.5517	0.5909	0.4852	0.5437	0.5329	0.5031	0.5155	0.5092	0.4403	0.6423	0.6058	0.6434	0.6866	1.0000								
AAGC3	0.5793	0.5813	0.5909	0.5636	0.5636	0.5854	0.5893	0.6275	0.5621	0.6000	0.5680	0.5818	0.5935	0.5890	0.5732	0.5854	0.5283	0.6831	0.6596	0.6824	0.6901	0.7612	1.0000							
AAGC4	0.5663	0.5776	0.5769	0.5890	0.5890	0.6211	0.5858	0.6447	0.5584	0.5625	0.5833	0.5879	0.5309	0.5758	0.5602	0.5723	0.5346	0.6216	0.5772	0.6447	0.6067	0.6690	0.7192	1.0000						
AAGC5	0.5823	0.5948	0.5733	0.5860	0.5563	0.5687	0.5636	0.6000	0.5436	0.5693	0.5901	0.5556	0.5658	0.5823	0.5860	0.5590	0.5097	0.6312	0.5625	0.6667	0.6042	0.6331	0.7214	0.7410	1.0000					
AAGC6	0.5286	0.5849	0.5346	0.5576	0.5576	0.5325	0.5376	0.5897	0.5455	0.5379	0.5349	0.5663	0.5280	0.5542	0.5389	0.5417	0.5031	0.6081	0.5638	0.6533	0.5724	0.6549	0.6382	0.6234	0.6667	1.0000				
AAGC7	0.5556	0.5663	0.5556	0.5680	0.5680	0.5799	0.5568	0.6203	0.5472	0.5163	0.5543	0.5673	0.5119	0.5465	0.5588	0.5614	0.5152	0.6184	0.5649	0.6266	0.5696	0.6200	0.6369	0.6497	0.6169	0.7248	1.0000			
AAGC8	0.5799	0.5915	0.5813	0.5833	0.5740	0.5858	0.5805	0.6164	0.5342	0.5533	0.5424	0.6012	0.5549	0.5706	0.5740	0.5952	0.5212	0.6358	0.5513	0.6226	0.5860	0.6159	0.6538	0.6352	0.6234	0.7200	0.7115	1.0000		
AAGC9	0.5424	0.5257	0.5235	0.5723	0.5281	0.5657	0.5611	0.6037	0.5521	0.5256	0.5163	0.5363	0.4830	0.5337	0.5281	0.5307	0.4686	0.5617	0.5122	0.6037	0.5488	0.6129	0.6098	0.6772	0.6038	0.6646	0.7000	0.6957	1.0000	
AAGC10	0.5235	0.5333	0.5605	0.5636	0.5176	0.5385	0.5434	0.5860	0.5621	0.5238	0.5230	0.5444	0.5061	0.5417	0.5732	0.5385	0.4908	0.6149	0.5497	0.6490	0.5484	0.5946	0.6447	0.6733	0.6284	0.6711	0.6753	0.6818	0.7718	1.0000
Maiores similaridades		0.7718	0.7647	0.7632																										
Menores similaridades		0.4356	0.439	0.4403																										

Figura 2 - Matriz de similaridade calculada a partir do coeficiente de Jaccard no estudo de diversidade entre indivíduos presentes em populações de moscas-minadoras (ABJM, ABAB e AAGC). ABJM-1 a ABJM-10: Indivíduos de moscas-minadoras da Fazenda Bom Jesus localizada em Mossoró-RN. ABAB-1 a ABAB-10: Indivíduos de moscas-minadoras da Fazenda Boágua localizada em Baraúna-RN. AAGC-1 a AAGC-10: Indivíduos de moscas-minadoras da Fazenda Águas localizada em Caraúbas-RN.

Foi observado o menor índice de Jaccard entre os dois indivíduos ABJM-3 e ABJM-9 da população localizada em Mossoró-RN e maior entre AAGC-9 e AAGC-10 de Caraúbas-RN. Em moscas-minadoras é verificado a existência de alta diversidade genética dentro de populações avaliadas por marcadores moleculares (Tang *et al.*, 2015), o que pode explicar a distância entre ABJM-3 e ABJM-9. Liu *et al.* (2022) também destacaram que a maior parte da variação genética dessa praga ocorre nos indivíduos de uma mesma população (80%) e em menor escala entre indivíduos de populações diferentes (16%). A maior proporção de variação genética ser intrapopulacional é justificada a partir das razões mencionadas anteriormente, como a biologia da praga que permite o acúmulo de mutações devido as altas taxas reprodutivas e disseminação dessas ao longo de gerações devido a ciclo de vida curto (Wang *et al.*, 2008; Loxdale, 2010; Tang *et al.*, 2015).

O dendrograma produzido a partir do método UPGMA (Figura 3) foi coerente com o observado pela distribuição geográfica das populações coletadas. O coeficiente de correlação cofenética (CCC) de 0,88 indicou consistência entre a matriz de similaridade de Jaccard com o método de agrupamento. De acordo com Liu, Gui e Li (2010), no seu estudo de diversidade genética de *Sogatella furcifera* Horváth, 1899 (Hemiptera: Delphacidae) com marcadores ISSR, valores de CCC de 0,78 já indicam alinhamento significativo.

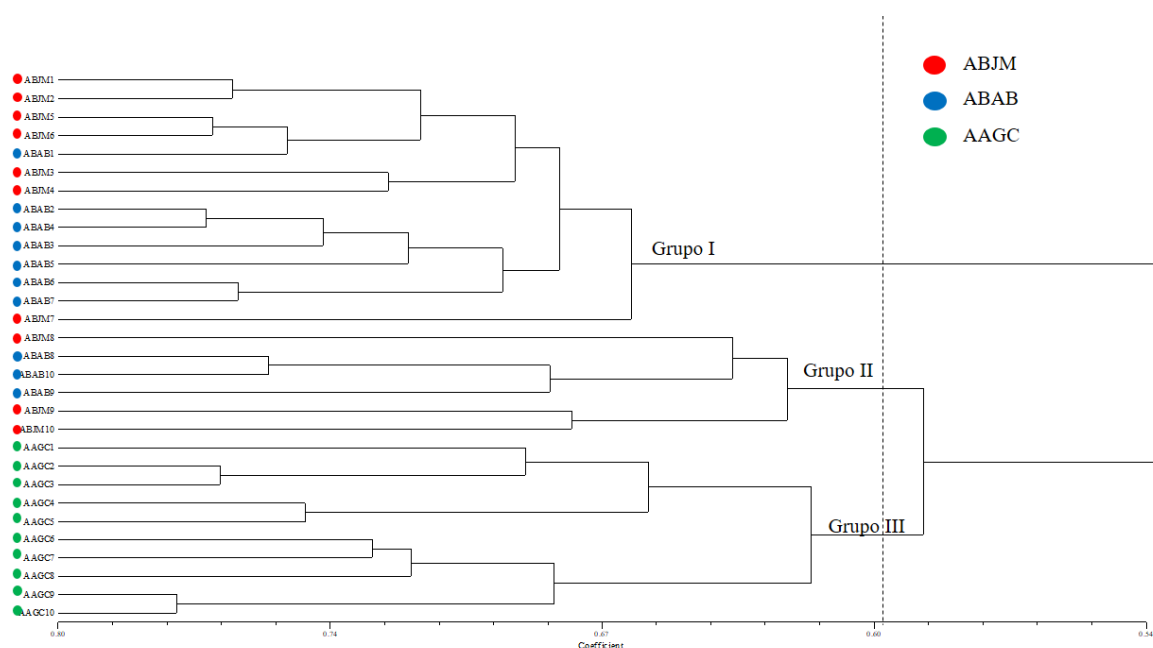


Figura 3 - Análise de agrupamento de indivíduos das populações ABJM, ABAB e AAGC pelo método UPGMA baseado no coeficiente de similaridade genética de Jaccard feita no software NTSYS. ABJM-1 a ABJM-10: Indivíduos de moscas-minadoras da Fazenda Bom

Jesus localizada em Mossoró-RN (Vermelho). ABAB-1 a ABAB-10: Indivíduos de moscas-minadoras da Fazenda Boágua localizada em Baraúna-RN (Azul). AAGC-1 a AAGC-10 (Verde): Indivíduos de moscas-minadoras da Fazenda Águas localizada em Caraúbas-RN.

O agrupamento de indivíduos com 60% de similaridade gerou três grupos. O grupo I, com maior número de indivíduos, foi formado por moscas-minadoras isoladas das fazendas Bom Jesus localizada em Mossoró-RN (Assentamento Maisa) e Boágua de Baraúna-RN, indicando similaridade genética entre essas populações. Sendo eles: ABJM-1, ABJM-2, ABJM-5, ABJM-6, ABAB-1, ABJM-3, ABJM-4, ABAB-2, ABAB-4, ABAB-3, ABAB-5, ABAB, ABAB-7 e ABJM-7.

O grupo II agrupou um menor número de indivíduos, também pertencentes às duas populações ABJM e ABAB: ABJM-7, ABJM-8, ABAB-8, ABAB-10, ABAB-9, ABJM-9 e ABJM-10. Esse resultado também corrobora com a informação de similaridade genética entre as populações de Mossoró-RN e Baraúna-RN. Contudo, também indica diversidade genética dentro das populações, pelo agrupamento dos indivíduos em grupos diferentes.

Composto totalmente por indivíduos da população isolada da fazenda Águas de Caraúbas-RN, o grupo III foi formado por: AAGC-1, AAGC-2, AAGC-3, AAGC-4, AAGC-5, AAGC-6, AAGC-7, AAGC-8, AAGC-9 e AAGC-10. A população AAGC apresentou maior proximidade com o grupo II, distante geneticamente do grupo I, apontando que alguns indivíduos de Mossoró-RN e Baraúna-RN possuíam maior similaridade genética com outra população do que a que faziam parte, relacionando a possível alta variabilidade intrapopulacional.

É importante ressaltar que os indivíduos com maior índice de Jaccard fazem parte do mesmo grupo no dendrograma (AAGC- 9 e AAGC-10) e menos similares em grupos diferentes (ABJM-3 e ABJM-9), reafirmando a consistência das informações apresentadas pelo CCC.

Fatores como distâncias migratórias curtas que favorecem o fluxo gênico ou atividade humana, associados a localização geográfica próxima, podem explicar a baixa diferenciação genética entre as populações ABJM e ABAB, representada pelo agrupamento nos mesmos grupos genéticos (Liu; Gui; Li, 2010; Liu *et al.*, 2022). Ferreira *et al.* (2017) ao estudarem populações de *L. sativae* localizadas na região Nordeste do Brasil também observaram a maior similaridade entre populações geograficamente próximas, como as de Camocim de São Félix-PE e Gravatá-PE.

Resultados compatíveis com os observados pela técnica de agrupamento também foram visualizados pelo método de análise das coordenadas principais (PCoA), apresentado na Figura 4. Definida por Gower (1966), é uma estatística multivariada que permite representar de forma gráfica relações de distância, nesse caso baseada em similaridade genética, usando baixas dimensões. Em estudos de diversidade genética de insetos a partir de marcadores ISSR é especialmente útil na identificação de relações entre populações (Kurd *et al.*, 2020), associados com distribuição geográfica e rotas de migração (Liu; Gui; Li, 2010).

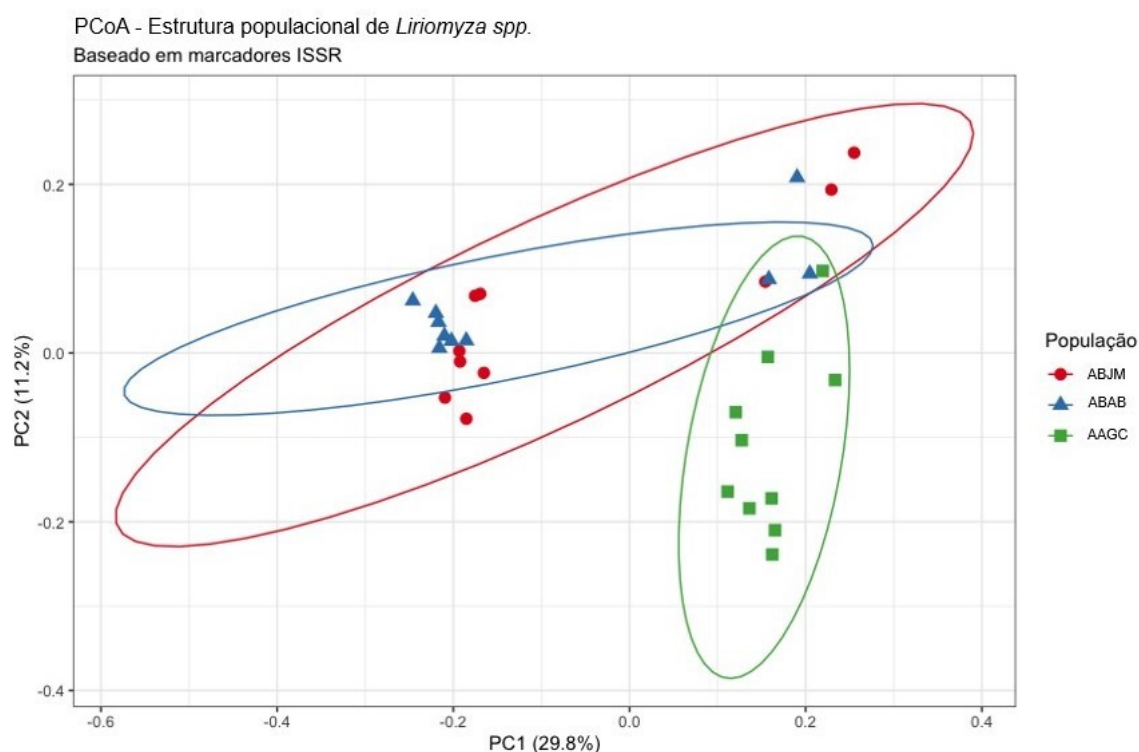


Figura 4 - Análise de coordenadas principais (PCoA) para visualização de similaridade genética entre populações de moscas-minadoras isoladas de cultivos de melão do Rio Grande do Norte. População ABJM (fazenda Bom Jesus, Mossoró-RN) em vermelho, ABAB (fazenda Boágua, Baraúna-RN) em azul e AAGC (fazenda Águas, Caraúbas-RN) em verde. Cada símbolo representa um indivíduo de cada população. Elipses delimitam populações.

As coordenadas PC1 (Eixo X) e PC2 (Eixo Y) constituem juntas a representação de 41% de toda a diversidade genética observada nas populações, indicando razoável representação gráfica de toda a variabilidade existente. A população AAGC em verde manteve a característica de menor dispersão entre os indivíduos, com baixa sobreposição genética com as outras populações. Já ABJM e ABAB, representadas em vermelho e azul

respectivamente, apresentaram baixa diferenciação genética entre si, porém com alta variabilidade entre indivíduos pela dispersão observada através das elipses.

Dessa forma, as características de alta variabilidade intrapopulacional (Liu *et al.*, 2022) e baixa diferenciação entre populações de moscas-minadoras geograficamente próximas (Ferreira *et al.*, 2017), manteve-se na representação gráfica pela análise de coordenadas principais. É necessário enfatizar que ao analisar o conjunto de todas as populações através da proximidade entre as elipses, há um indicativo que não são geneticamente isoladas.

Além da justificativa de alto fluxo gênico (Tang *et al.*, 2015), espécies invasoras como as de moscas-minadoras ao colonizar novas áreas passam por gargalos populacionais como efeito fundador (Ferreira *et al.*, 2017). Neste sentido, a fonte genética de variação passa a ter origem em poucos indivíduos, favorecendo algum nível de similaridade entre todas as populações mensuradas (Griffiths *et al.*, 2022).

Para validar as informações apresentadas por UPGMA e PCoA, a análise de variância molecular (AMOVA) é um método ideal para realizar a avaliação da variabilidade genética entre e dentro das populações (Zhou *et al.*, 2020). Na Tabela 5, é possível verificar que diferenças estatísticas significativas foram identificadas entre e nas populações ($p < 0,01$).

Tabela 5 – Análise de variância molecular (AMOVA) em populações de moscas-minadoras isoladas de cultivos comerciais de melão do Rio Grande do Norte.

Fonte	SSD	MSD	Componente de variância	df	Proporção de variação (%)	Valor de p
Entre pop.	0,893	0,446	0,026	2	12,34%	< 0,01
Dentro das pop.	5,006	0,185	0,185	27	87,66%	< 0,01
Total	5,899	0,203	0,212	29	100%	

Fonte: Autoria própria. Análise de AMOVA de três populações de moscas-minadoras. SSD: Soma dos quadrados das diferenças. MSD: Média dos quadrados das diferenças (SSD/df). Df: Graus de liberdade. Proporção de variação (%): Componente de variância/variação total. Valor de p significativo quando < 0,01.

Em concordância com outros métodos de análise mencionados, a maior parte da variação é decorrente da diversidade intrapopulacional, com proporção de 87,66%. Já a

diferenciação genética corresponderia a 12,34%, ressaltando a observação de alta similaridade entre as populações ABJM, ABAB e AAGC.

No estudo de insetos-praga, é recorrente nas análises de diversidade genética conduzidas por AMOVA, a constatação de elevada variação genética dentro das populações e baixa diferenciação entre elas (Kurd *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020; Liang *et al.*, 2023). Em moscas-minadoras, Wang *et al.* (2008) relataram uma proporção de 80% da variação genética concentrada dentro das populações de *L. sativae* a partir do uso de marcadores mtDNA-COI, enquanto Tang *et al.* (2015) encontraram valores de 89% na mesma espécie utilizando microssatélites, reforçando esse padrão.

Com base nas informações obtidas, infere-se que a baixa diferenciação genética entre as populações de moscas-minadoras associadas a culturas de melão amarelo no Estado do Rio Grande do Norte possibilita a aplicação de um método de controle capaz de ser utilizado em diferentes fazendas na região. Fundamentada na premissa de que a alta similaridade genética entre as populações avaliadas tende a refletir também em similaridades fenotípicas, favorecendo uma resposta fisiológica conservada frente as estratégias de controle (Huang; Lee, 2023).

Entretanto, a constante capacidade adaptativa das moscas-minadoras frente às estratégias de controle adotadas, impulsionada pela elevada diversidade genética intrapopulacional observada, reforça a necessidade de estudos focados no desenvolvimento de métodos eficazes. O uso de agentes biológicos constitui uma estratégia sustentável, pois evita o desequilíbrio ecológico devido à sua especificidade em relação ao organismo-alvo e à ausência de resíduos no ambiente (Colmenarez; Vasquez, 2024). Nesse contexto, a aplicação de parasitoides e micoinseticidas configura-se como uma ferramenta promissora no controle da praga (Ridland *et al.*, 2020; Angon *et al.*, 2023). Outras estratégias de manejo incluem a busca por formas de controle genético, como a seleção de genótipos de melão menos suscetíveis, seja por resistência natural ou induzida por reguladores vegetais (Angon *et al.*, 2023).

Métodos alternativos de controle devem ser aplicados de forma criteriosa, integrando-se ao Manejo Integrado de Pragas (MIP), sendo determinado o momento mais adequado para intervenção e com a possibilidade de automatização (Angon *et al.*, 2023). De forma a reduzir a exposição contínua da praga às pressões seletivas e, conseqüentemente, retardando o surgimento de resistência.

Por fim, o teste de Mantel é uma análise importante no estudo de diversidade genética para verificar a correlação da distância geográfica, baseada nas coordenadas, e a diversidade

genética (Zhou *et al.*, 2020). O valor de $r^2 = 0,1709$ encontrado indica fraca relação, mas ainda sim positiva e estatisticamente significativa ($p = 0,0109$).

Xu *et al.* (2022) identificaram também o isolamento por distâncias (IBD) em moscas-minadoras, com valor significativo de $r^2 = 0,166$. Contudo, os autores relataram que em pequenas regiões, como neste estudo, esse efeito é menor, justificando o resultado obtido. Isso seria decorrente da ação antropogênica, que estaria contribuindo na disseminação e trocas entre fazendas, evitando assim o isolamento, como descrito por Tang *et al.* (2015).

Dessa forma, é possível justificar a maior diferenciação de AAGC em comparação a ABJM e ABAB, visto que Caraúbas-RN é mais distante geograficamente do que em comparação ente as regiões de Mossoró-RN e Baraúna-RN, mas ainda havendo trocas entre essas populações.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Marcadores moleculares ISSR foram úteis na identificação de variação genética na forma de polimorfismos em indivíduos de moscas-minadoras isoladas de cultivos comerciais de melão amarelo, indicando a existência de alta diversidade genética nas populações estudadas, justificando assim, o sucesso de infestação da praga frente aos controles aplicados devido a maior facilidade de adaptação.

Além disso, há baixa diferenciação genética entre as populações ABJM, ABAB e AAGC, dependente diretamente da localização geográfica, que é possivelmente proveniente do padrão de fluxo gênico causado por migrações curtas, efeito fundador e ação antropogênica.

Como perspectiva futura, propõe-se a ampliação do número de populações estudadas para confirmar os padrões genéticos observados, bem como a associação com outros marcadores moleculares, visando uma melhor cobertura genômica e a superação das limitações inerentes aos marcadores ISSR. Entre as técnicas passíveis de serem utilizadas para complementar as análises deste estudo, estão o uso de marcadores codominantes como os microssatélites (SSR), que são vantajosos por identificar diretamente a presença de heterozigotos e permitir análises mais aprofundadas na verificação de parâmetros como o processo de fluxo gênico, endogamia e estruturação genética.

O estímulo de pesquisas focadas no desenvolvimento de alternativas de controle é necessário, favorecidas com as informações desse estudo de que a partir da identificação de um método de controle eficaz para uma população, esse pode ser utilizado para outras presentes na mesma região, decorrentes da baixa diferenciação genética e possível resposta fisiológica similar.

Estratégias como o biocontrole são promissoras, tanto devido ao seu potencial no controle de moscas-minadoras devido a especificidade, quanto ao apelo ambiental associado por ser um método considerado sustentável em comparação com o uso de químicos tradicionalmente empregados. A possível ação não seletiva dos inseticidas utilizados nos cultivos de melão e consequente eliminação dos inimigos naturais precisa também ser verificada, buscando maneiras de contornar tal problemática.

Dessa forma, conhecendo a genéticas de moscas-minadoras é possível orientar passos futuros para superar a adaptação dessa praga, reduzindo assim a constante exposição as pressões seletivas que poderiam estar favorecendo o surgimento de resistência.

REFERÊNCIAS

- AMITEYE, S. Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding. **Heliyon**, [S.L.], v. 7, n. 10, p. e08093, set./out. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844021021964>. Acesso em: 23. jan. 2025.
- ARAÚJO, E. L. *et al.* Mosca-minadora associada à cultura do meloeiro no Semi-árido do Rio Grande do Norte. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 20, n. 3, p. 210 – 212, jul./set. 2007. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/235782033_Mosca_minadora_associada_a_cultura_do_meloeiro_no_Semi-arido_do_Rio_Grande_do_Norte. Acesso em: 11. nov. 2023.
- ANGON, P. B. *et al.* Integrated Pest Management (IPM) in Agriculture and Its Role in Maintaining Ecological Balance and Biodiversity. **Advances In Agriculture**, [S.L.], v. 2023, n. 1, p. 1 – 19, ago. 2023. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1155/2023/5546373>. Acesso em: 23. jul. 2025.
- ASKARI-SARYAZDI, G. *et al.* Selection for chlorpyrifos resistance in *Liriomyza sativae* Blanchard: Cross-resistance patterns, stability and biochemical mechanisms. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [S.L.], v. 124, p. 86 – 92, out. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004835751500108X>. Acesso em: 22. jul. 2025.
- AWAD, M. *et al.* Nano-insecticides against the black cutworm *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: noctuidae). **Plos One**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. e0254285, fev. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35113879/>. Acesso em: 11. nov. 2023.
- BEAUREPAIRE, A. L.; WEBSTER, M. T.; NEUMANN, P. Population genetics for insect conservation and control. **Conservation Science and Practice**, [S.L.], v. 6, n. 3, p. e13095, fev. 2024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36375448/>. Acesso em: 22. jul. 2025.
- BEZERRA, M. A. *et al.* Cultivo do meloeiro em condições de elevados níveis de dióxido de carbono e de temperatura na atmosfera. In: Figueirêdo, M. C. B. de *et al.* **Produção de melão e mudanças climáticas**. Brasília-DF: Embrapa, 2017. p. 117 – 134.
- BIDYANANDA, N. *et al.* Plant Genetic Diversity Studies: Insights from DNA Marker Analyses. **International Journal of Plant Biology**, [S.L.], v. 15, n. 3, p. 607 – 640, jul. 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2037-0164/15/3/46>. Acesso em 23. jan. 2025.
- CARAPELLI, A. *et al.* Diversity Hidden within the Leafminer Genus *Liriomyza* (Diptera: Agromyzidae). **Genes (Baseleia)**, [S.L.], v. 9, p. 554 – 570, set./nov. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30445780/>. Acesso em: 11. nov. 2023.
- CATAPAN, V. *et al.* Principais pragas de hortaliças-fruto nas famílias das Solanáceas, Cucurbitáceas e Fabáceas. In: BRANDÃO FILHO, J. U. T. *et al.* **Hortaliças-fruto**. Maringá: Eduem, 2018. p. 357 – 386.

CHANG, Y. W. *et al.* Insect hormones affect the toxicity of the insecticidal growth regulator cyromazine in *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [S.L.], v. 188, n. 1, p. 105263 – 105270, nov. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048357522002309>. Acesso em: 17 jan. 2025.

CHEN, J. Y. *et al.* Population genetics of *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) and comparison with four *Liriomyza* species in China based on COI, EF-1a and microsatellites loci. **Scientific reports**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 17856 – 17864, nov. 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-53886-9#citeas>. Acesso em: 11 nov. 2023.

CHESNOKOV, Y. V.; ARTEMYEVA, A. M. Evaluation of the measure of polymorphism information of genetic diversity. **Agricultural Biology**, [S.L.], v. 50, n. 5, p. 571 – 578, out. 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/283845279_EVALUATION_OF_THE_MEASURE_OF_POLYMORPHISM. Acesso em: 8 mai. 2025.

CHONG, Y.V.; CHUA, T.H.; SONG, B. K. Genetic variations of *Chrysomya megacephala* populations in Malaysia (Diptera: Calliphoridae). **Advances in Entomology**, [S.L.], v. 02, n. 01, p. 49 – 56, 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/276494904_Genetic_variations_of_Chrysomya_megacephala_populations_in_Malaysia_Diptera_Calliphoridae. Acesso em: 13 nov. 2023.

COL. **Catalogue of life**. 2025. Disponível em: <https://www.catalogueoflife.org/>. Acesso em: 30 jun. 2025.

COLMENAREZ, Y. C.; VASQUEZ, C. Benefits associated with the implementation of biological control programmes in Latin America. **Biocontrol**, [S.L.], v. 69, n. 3, p. 303 – 320, mai. 2024. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-024-10260-7#citeas>. Acesso em: 23. jul, 2025.

CONAB. **Boletim hortigranjeiro dezembro de 2023**. Boletim hortigranjeiro. Brasília, v. 9, n. 11, 2023.

COSTA, E. M. *et al.* Determination of damaged leaf area and physiological responses of melon plants submitted to different infestation levels of *Liriomyza sativae*. **Horticultura Brasileira**, [S.L.], v. 35, n. 4, p. 571 – 575, out. 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hb/a/xYMWZc7J8vj6Y6bmLtt7p7b/>. Acesso em: 8 mai. 2025.

COSTA-LIMA, T. C.; SILVA, A. de C.; PARRA, J. R. P. Moscas-minadoras do gênero *Liriomyza* (Diptera: Agromyzidae): aspectos taxonômicos e biologia. 1. ed. Petrolina: **Embrapa Semiárido**, 2015. 36 p.

COSTA-LIMA, T. C. *et al.* **Controle biológico da mosca-minadora em meloeiro: uma estratégia consolidada**. 2022. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/359068637_Estrategia_consolidada. Acesso em: 22 jul. 2025.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. 2. ed. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, 2020. 622 p.

CUI, L. *et al.* Breeding melon (*Cucumis melo*) with resistance to powdery mildew and downy mildew. **Horticultural Plant Journal**, [S.L.], v. 8, n. 5, p. 545 – 561, set. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468014122000814>. Acesso em: 13. nov. 2023

CUNHA, J. A. *et al.* From seed to flour: sowing sustainability in the use of cantaloupe melon residue (*cucumis melo* l. var. *reticulatus*). **Plos One**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. e0219229, jan. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31895921/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11 – 15, 1987.

DRAY, S.; DUFOUR, A. B. The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. **Journal of Statistical Software**, Lyon, v. 22, n. 4, p. 1 – 20, 2007. Disponível em: <https://www.jstatsoft.org/article/view/v022i04>. Acesso em: 8 mai. 2025.

ELLEGREN, H.; GALTIER, N. Determinants of genetic diversity. **Nature Reviews Genetics**, [S.L.], v. 17, n. 7, p. 422 – 433, jun. 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrg.2016.58>. Acesso em: 14 nov. 2023.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 2023. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/>. Acesso em: 22 fev. 2025.

FELIX, F. C. *et al.* Applications of issr markers in studies of genetic diversity of *Pityrocarpa moniliformis*. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 33, n. 4, p. 1017 – 1024, out./dez. 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rcaat/a/9XR8nWNVSL7CcSR33gLVJKJ/?lang=en>. Acesso em: 11 nov. 2023.

FERREIRA, E. C. B. *et al.* Molecular identification of *liriomyza* sp. in the northeast and southeast regions of Brazil. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 30, n. 4, p. 892 – 900, out./dez. 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rcaat/a/rk4DGTSKqXp3GrDRfMQLGvm/?lang=en>. Acesso em: 11 nov. 2023.

FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Controle Biológico de pragas da agricultura**. Brasília: Embrapa, 2020.

GARCÍA-BERRO, A. *et al.* Migratory behaviour is positively associated with genetic diversity in butterflies. **Molecular Ecology**, [S.L.], v. 32, n. 3, p. 560 – 574, nov. 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/mec.16770>. Acesso em: 13 nov. 2023.

GEMMILL, C. E. C.; GRIERSON, E. R. P. Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR), Microsatellite-Primed Genomic Profiling Using Universal Primers. In: BESSE, P. **Molecular Plant Taxonomy**. Methods and Protocols. Humana-NY: Humana Press, 2020. p. 249 – 262.

GOWER, J. C. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. **Biometrika** [S.L.], v. 53, n. 3-4, p. 325 – 338, 1966. Disponível em: <https://academic.oup.com/biomet/article-abstract/53/3-4/325/246598>. Acesso em: 8 mai. 2025.

GRIFFITHS, A. J. F. *et al.* **Introdução à Genética**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda, 2022. 646 p.

GRUMET, R. *et al.* Genetic Resources and Vulnerabilities of Major Cucurbit Crops. **Genes**, [S.L.], v. 12, n. 8, p. 1222 – 1241, ago. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34440396/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

GUIMARÃES, J. A. *et al.* **Recomendações para o Manejo das Principais Pragas do Meloeiro na Região do Semi-Árido Nordeste**. Fortaleza-CE: Embrapa Agroindústria Tropical, 2005. 9 p.

GUIMARÃES, J. A. *et al.* **Biologia e Manejo de Mosca Minadora no Meloeiro**. Brasília-DF: Embrapa Hortaliças, 2009. 9 p.

HASAN, N. *et al.* Recent advancements in molecular marker assisted selection and applications in plant breeding programmes **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 128 – 153, dez. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34448979/>. Acesso em: 14. nov. 2023.

HAMZA, M. A. *et al.* Management of Vegetable Leaf Miner, *Liriomyza* Spp., (Diptera: Agromyzidae) in Vegetable Crops. **Horticulturae**, v. 9, n. 2, p. 255 – 266. fev. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-7524/9/2/255>. Acesso em: 11 nov. 2023.

HOBAN, S. *et al.* Global genetic diversity status and trends: towards a suite of essential biodiversity variables (ebvs) for genetic composition. **Biological Reviews**, [S.L.], v. 97, n. 4, p. 1511 – 1538, abr. 2022. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9545166/>. Acesso em: 14. nov. 2023.

HUANG, J.; LEE, Y. The power of Drosophila genetics in studying insect toxicology and chemical ecology. **Crop Health**, [S.L.], v. 1, n. 12, p. 1 – 12, nov. 2023. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s44297-023-00012-x>. Acesso em: 22. jul. 2025.

IBGE. **Produção agropecuária: produção de melão**. 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/melao/br>. Acesso em: 18 jan. 2025.

ISMAIL, N. A. *et al.* Molecular markers: a potential resource for ginger genetic diversity studies. **Molecular Biology Reports** [S.L.], v. 43, n. 12, p. 1347 – 1358, set. 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-016-4070-3>. Acesso em: 14. nov. 2023.

JANKIELSOHN, A. Sustaining insect biodiversity in agricultural systems to ensure future food security. **Frontiers in Conservation Science**, v. 4, n. 1. p. e1195512, jun. 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/conservation-science/articles/10.3389/fcosc.2023.1195512/full>. Acesso em: 12 mai. 2025.

KANG, J. H. *et al.* Population genetic structure of a recent insect invasion: a gall midge, *Asynapta groverae* (Diptera: Cecidomyiidae) in South Korea since the first outbreak in 2008. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 2812 – 2823, fev. 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36797385/>. Acesso em: 14. nov. 2023.

KURD, Ö. *et al.* ISSR marker based population genetic study of mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **GENETIKA**, [S.L.], v. 52, n. 1, p. 311– 322, jan. 2020. Disponível em: <https://doiserbia.nb.rs/Article.aspx?ID=0534-00122001311K>. Acesso em: 14 mai. 2025.

LIANG, Y. *et al.* Population genetics and ecological niche modelling provide insights into management strategies of the herbivorous pest *Phytomyza horticola* (Diptera: Agromyzidae). **Diversity and Distributions**, v. 29, n. 1, p. 1371 – 1387, ago. 2023. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ddi.13762?msocid=0ebc4d770cbc62e11f5358570ded63c0>. Acesso em: 14 mai. 2025.

LIU, J. N.; GUI, F. R.; LI, Z. Y. Genetic diversity of the planthopper, *Sogatella furcifera* in the Greater Mekong Subregion detected by inter-simple sequence repeats (ISSR) markers. **Journal of Insect Science** [S.L.], v. 10, n. 52, p. 1 – 14, jun. 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20569129/>. Acesso em: 14 mai. 2025.

LIU, T. *et al.* Novel EST-SSRs for an important quarantine pest *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) and their cross-species transferability. **Applied Entomology and Zoology**, v. 57, n. 1, p. 151 – 160, fev. 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13355-022-00771-z>. Acesso em: 14. mai. 2025

LOXDALE, H. D. Rapid genetic changes in natural insect populations. **Ecological Entomology**, [S.L.], v. 35, n. 1, p. 155 – 164, jan. 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/229938991_Rapid_genetic_changes_in_natural_insect_populations. Acesso em: 15 mai. 2024.

MANCHALI, S. *et al.* Nutritional Composition and Health Benefits of Various Botanical Types of Melon (*Cucumis melo* L.). **Plants**, [S.L.], v. 10, n. 9, p. 1755 – 1775, ago. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34579288/>. Acesso em: 13. nov. 2023.

MILLETTE, K. L. *et al.* No consistent effects of humans on animal genetic diversity worldwide. **Ecology Letters**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 55 – 67, out. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31637822/>. Acesso em: 17. nov. 2023.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **Agrostat**: Estatísticas de Comércio Exterior do Agronegócio Brasileiro. 2025. Disponível em: <https://mapa-indicadores.agricultura.gov.br/publico/extensions/Agrostat/Agrostat.html>. Acesso em: 29 mai. 2025.

MOING, A. *et al.* Comparative Metabolomics and Molecular Phylogenetics of Melon (*Cucumis melo*, Cucurbitaceae) Biodiversity. **Metabolites**, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 121 – 146, mar. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32213984/>. Acesso em: 13. nov. 2023.

- NADEEM, M. A. *et al.* DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, [S.L.], v. 32, n. 2, p. 261 – 285, nov. 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13102818.2017.1400401>. Acesso em: 14. nov. 2023.
- NAGARAJU, J. *et al.* Comparison of multilocus RFLPs and PCR-based marker systems for genetic analysis of the silkworm, *Bombyx mori*. **Heredity**, [S.L.], v. 86, n. 5, p. 588 – 597, jan. 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11554975/>. Acesso em: 14 mai. 2025.
- NGUYEN, T. D.; CHEN, Y.; HERRON, G. A. Insecticide resistance in Australian populations of the serpentine leaf miner *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae). **Austral entomology**, [S.L.], v. 63, n. 1, p. 485 – 49, out. 2024. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aen.12716?msocid=0ebc4d770cbc62e11f5358570ded63c0>. Acesso em: 19 jan. 2025.
- NEI, M. Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 70, n. 12, p. 3321 – 3323, 1973.
- NUNES, G. H. S. *et al.* **Melhoramento de Melão**. In: Nick, C.; Borém A. Melhoramento de Hortalças. 1. ed. Viçosa-MG: Editora UFV, 2016. p. 331 – 363.
- OLIVEIRA, A. J. *et al.* Principais marcadores moleculares. **Research, Society And Development**, [S.L.], v. 10, n. 15, p. e562101523633, nov. 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/23633>. Acesso em: 14. nov. 2023.
- OLIVEIRA, F. I. C. de *et al.* Sistema de produção de melão no polo agrícola Jaguaribe-Açu. In: Figueirêdo, M. C. B. de *et al.* **Produção de melão e mudanças climáticas**. Brasília-DF: Embrapa, 2017. p. 45 – 76.
- OLIVEIRA, J. M. *et al.* Melon genotypes with resistance to *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae). **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, [S.L.], v. 94, n. 2, p. e20191244, mai. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35544843/>. Acesso em: 12 nov. 2023.
- OKSANEN, J. *et al.* **Vegan**: Community Ecology Package. R package version 2.6-4, 2022. Disponível em: <https://cran.r-project.org/package=vegan>. Acesso em: 08 mai. 2025.
- PARRELLA, M. P. Biology of *Liriomyza*. **Annual Review of Entomology**, [S.L.], v. 32, n. 1, p. 201 – 224, jan. 1987. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.en.32.010187.001221>. Acesso em: 11. nov. 2023.
- PEDRO, L. *et al.* Native natural enemies in Mediterranean melon fields can provide levels of pest control similar to conventional pest management with broad-spectrum pesticides. **Biological Control**, [S.L.], v. 164, n. 1, p. 104778 – 104786, dez. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964421002474>. Acesso em: 19 jan. 2025.

PÉREZ-ALQUICIRA, J. *et al.* Genetic Structure of *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) Associated With Host Plants From Southeastern Mexico. **Environmental Entomology**, v. 48, [S.L.], v. 48, n. 1, p. 253 – 262, dez. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30596990/>. Acesso em: 14 mai. 2025.

RAHIMI, A. *et al.* Molecular genetic diversity and population structure of Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*) populations: implications for breeding and conservation. **Journal Of Plant Diseases And Protection**, [S.L.], v. 129, n. 6, p. 1331 – 1342, ago. 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s41348-022-00657-w#citeas>. Acesso em: 14. nov. 2023.

RAMESH, P. *et al.* Advancements in molecular marker technologies and their applications in diversity studies. **Journal Of Biosciences**, [S.L.], v. 45, n. 123, p. 25 – 39, set. 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12038-020-00089-4#citeas>. Acesso em: 14 nov. 2023.

ROHLF, F. J. **NTSYSpc**: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1. New York: Exeter Software, 2000.

ROSA, J. D. *et al.* Variability and population genetic structure in *Achyrocline flaccida* (Weinm.) DC., a species with high value in folk medicine in South America. **Plos One**, [S.L.], v. 12, n. 8, p. e0183533, ago. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28829814/>. Acesso em: 9 mai. 2025.

RIDLAND, P. M. *et al.* Potential for biological control of the vegetable leafminer, *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae), in Australia with parasitoid wasps. **Austral Entomology**, [S.L.], v. 59, n. 1, p. 16 – 36, fev. 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aen.12444>. Acesso em: 23 jul. 2025.

SALVIANO, A. M. *et al.* A cultura do melão. In: Costa, N. D. **Coleção plantar**. 3. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2017.

SCHEFFER S. J. *et al.* Peruvian origin and global invasions of five continents by the highly damaging agricultural pest *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). **Evolutionary Applications**, [S.L.], v. 17, n. 10, p. e13702, out. 2024. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/eva.13702>. Acesso em: 15 mai. 2025.

SERROTE, C. M. L. *et al.* Determining the Polymorphism Information Content of a molecular marker. **Genes**, [S.L.], v. 726, n. 1, p. 144175 – 144178, fev. 2020. Disponível: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31726084/>. Acesso em: 8 mai. 2025.

SHAMKH, I. M. *et al.* Nontoxic and Naturally Occurring Active Compounds as Potential Inhibitors of Biological Targets in *Liriomyza trifolii*. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 23, n. 21, p. 12791 – 12812, out. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36361586/>. Acesso em: 23. jul. 2025.

SHAHWAR, D; KHAN. Z; PARK, Y. Molecular Marker-Assisted Mapping, Candidate Gene Identification, and Breeding in Melon (*Cucumis melo* L.): A Review. **International Journal**

of **Molecular Sciences**, [S.L.], v. 24, n. 20, p. 15490 – 15511, out. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/20/15490>. Acesso em: 13. nov. 2023.

SHAHWAR, D; KHAN. Z; PARK, Y. Molecular Markers for Marker-Assisted Breeding for Biotic and Abiotic Stress in Melon (*Cucumis melo* L.): A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 25, n. 12, p. 6307 – 6328, jun. 2024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38928017/>. Acesso em: 10 ago. 2024.

SILVA, P. A. F. *et al.* Susceptibility of *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) populations to reduced risk insecticides. **Crop Protection**, [S.L.], v. 153, n. 1, p. 105880 – 105886, mar. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219421003501>. Acesso em: 17 mar. 2025.

SILVA FILHA, C. M. R. da S. *et al.* Correlação entre diversidade genética e diversidade de espécies (SGDC): uma abordagem da genética de comunidades. **Genética na Escola**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 1 – 9, mar. 2022. Disponível em: <https://geneticanaescola.com/revista/article/view/417>. Acesso em: 15 nov. 2023.

SMAGGHE, F. *et al.* Biological control of arthropod pests in protected cropping by employing entomopathogens: efficiency, production and safety. **Biological Control**, [S.L.], v. 186, n. 1, p. 105337 – 105.355, nov. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1049964423001901>. Acesso em: 23 jul. 2025.

TANG, X. T. *et al.* Population genetic structure and migration patterns of *Liriomyza sativae* in China: moderate subdivision and no Bridgehead effect revealed by microsatellites. **Bulletin of Entomological Research**, [S.L.], v. 106, n. 1, p. 114 – 123, 30 nov. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26615869/>. Acesso em: 14 mai. 2025.

TEIXEIRA, G. C. *et al.* Genetic diversity analysis of two Eucalyptus species using ISSR markers. **Ciência Florestal**, [S.L.], v. 30, n. 1, p. 270 – 278, abr. 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cflo/a/8FM584pCfJ4tKn4HXnZ5RRk/>. Acesso em: 15. nov. 2023.

TURCHETTO-ZOLET, A. C. *et al.* Marcadores Moleculares na Era Genômica: Metodologias e Aplicações. Riberão Preto-SP: **Sociedade Brasileira de Genética**, 2017. 181 p.

VENKATESAN, J. *et al.* Molecular marker for characterization of traditional and hybrid derivatives of *Eleusine coracana* (L.) using ISSR marker. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 19, 2021. [S.L.], v. 19, n. 1, p. 178 – 190, dez. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34825986/>. Acesso em: 20 mar. 2025.

WANG, L. *et al.* Genetic Variation of Host Populations of *Liriomyza sativae* Blanchard. **Agricultural Sciences in China** [S.L.], v. 7, n. 5, p. 585 – 590, mai. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1671292708600565>. Acesso em: 16 mai. 2025.

WEINTRAUB, P. G. *et al.* The Invasive *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae): Understanding Its Pest Status and Management Globally. **Journal Insect Science**, [S.L.], v.

17, n. 1, p. 1 – 27, jan. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28423426/>. Acesso em: 20 mar. 2025.

WICKHAM, H. **ggplot2**: Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics. Versão 3.5.1. 2024. Disponível em: <https://cran.r-project.org/package=ggplot2>. Acesso em: 08 mai. 2025.

YURI, J. E.; RESENDE, G. M.; COSTA, N. D. Escolha ideal: que aspectos levar em consideração antes de decidir sobre qual cultivar de melão utilizar para melhor atender às condições locais de plantio. **Cultivar Hortalças e Frutas**: Revista de defesa vegetal, n. 113, p. 21 – 23, 2018.

XU, X. *et al.* Genome-wide SNPs of vegetable leafminer, *Liriomyza sativae*: insights into the recent australian invasion. **Evolutionary Applications**, [S.L.], v. 15, n. 7, p. 1129 – 1140, 28 jun. 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/eva.13430>. Acesso em: 11 nov. 2023.

ZHOU, A. *et al.* Genetic diversity and differentiation of populations of *Chlorops oryzae* (Diptera, Chloropidae). **Bmc Ecology**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 22 – 35, abr. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32295587/>. Acesso em: 15 nov. 2023.