



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA
DOUTORADO EM FITOTECNIA

JORGE ALVES DA SILVA NETO

**IDENTIFICAÇÃO DE QTLs ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA DO MELOEIRO A
Liriomyza sativae E ESTUDO DE POTENCIAIS INDUTORES DE RESISTÊNCIA**

MOSSORÓ

2023

JORGE ALVES DA SILVA NETO

**IDENTIFICAÇÃO DE QTLs ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA DO MELOEIRO A
Liriomyza sativae E ESTUDO DE POTENCIAIS INDUTORES DE RESISTÊNCIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Biotecnologia

Orientador: Profa. Dra. Ioná Santos Araújo
Holanda

MOSSORÓ

2023

© 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 n° 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei n° 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.

SS586 Silva Neto, Jorge Alves da.
i IDENTIFICAÇÃO DE QTLs ASSOCIADOS A RESISTÊNCIA
DO MELOEIRO A *Liriomyza sativae* E ESTUDO DE
POTENCIAIS INDUTORES DE RESISTÊNCIA / Jorge Alves
da Silva Neto. - 2023.
65 f. : il.

Orientadora: Ioná Santos Araújo Holanda.
Coorientador: Glauber Henrique de Sousa Nunes.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural
do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Fitotecnia, 2023.

1. SSR. 2. Cucumis melo L. 3. indutores de
resistência. I. Holanda, Ioná Santos Araújo,
orient. II. Nunes, Glauber Henrique de Sousa, co-
orient. III. 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

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

JORGE ALVES DA SILVA NETO


IDENTIFICAÇÃO DE QTLs ASSOCIADOS A RESISTENCIA DO MELOEIRO A
***Liriomyza sativae* E ESTUDO DE POTENCIAIS INDUTORES DE RESISTENCIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Biotecnologia

Defendida em: 29 / 06 / 2023.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 IONA SANTOS ARAUJO HOLANDA
Data: 30/06/2023 11:02:47-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profª. Dra. Ioná Santos Araújo Holanda (UFERSA)

Presidente

Glauber Henrique de Sousa Nunes
Assinado de forma digital por Glauber Henrique de Sousa Nunes
Dados: 2023.06.30 10:34:21 -03'00'


Prof. Dr. Glauber Henrique de Sousa Nunes (UFERSA)

Coorientador



Dra. Fabiane Rabelo da Costa Batista (INSA)

Membro Examinador

Documento assinado digitalmente
 LINDOMAR MARIA DA SILVEIRA
Data: 29/06/2023 20:02:50-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profª. Dra. Lindomar Maria da Silveira (UFERSA)

Membro Examinador

Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio
Assinado de forma digital por Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio
Dados: 2023.06.30 08:54:04 -03'00'

Profª. Dra. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio (UFERSA)

Membro Examinador

Maurício Sekiguchi de Godoy
Assinado de forma digital por Maurício Sekiguchi de Godoy
Dados: 2023.06.30 10:03:16 -03'00'

Prof. Dr. Maurício Sekiguchi de Godoy (UFERSA)

Membro Examinador

*À minha família, pais, irmãos e sobrinho, as
pessoas mais importantes da minha vida.
Sem eles, nada disso seria possível.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de acordar todos os dias, poder sempre vencer as adversidades e pelo cumprimento de mais uma etapa importante em minha vida.

À minha família, pais e irmãos e sobrinho, pela base e apoio incondicional.

Aos amigos do laboratório da Biotecnologia Vegetal e do laboratório de Entomologia da UFRSA, pelo apoio, dedicação e ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a Ioná Santos Araújo Holanda, pelos anos de trabalho sempre dedicada em ajudar, possibilitando o meu crescimento profissional e pessoal, sendo de fundamental importância para minha formação.

Ao Prof.^o Dr. ^o Elton Lucio de Araújo, pelo suporte e auxílio do desenvolvimento da pesquisa.

Aos técnicos do Centro de Pesquisa em Ciências Vegetais do Semi-Árido – CPVSA, por todo apoio durante as análises.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, pela oportunidade da realização do doutorado e pelo acesso a ensino de qualidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

E aos que de alguma forma contribuíram para a minha formação e realização desse trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

SILVA NETO, Jorge Alves. Identificação de QTLs associados a resistência do meloeiro a *Liriomyza sativae* e estudo de potenciais indutores de resistência. 2023. 65f. Tese (Doutorado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2023.

Um dos principais métodos de combate à mosca-minadora é o controle químico. No entanto, uma alternativa viável desse controle no combate a essa praga é a identificação e obtenção de genes de resistência em plantas de meloeiro, por meio de análises moleculares. Além disso, a busca por substâncias capazes de induzir essa resistência pode ser uma alternativa promissora no controle dessa praga. Este estudo teve como objetivo utilizar marcadores moleculares microsatélites para identificar QTLs (*Quantitative Trait Loci*) associados à resistência e avaliar o efeito de substâncias capazes de ativar mecanismos de resistência do meloeiro contra a mosca-minadora. Para isso, uma geração F2 foi produzida a partir dos genitores resistentes (Rutênio) e suscetíveis (Vedrantais), sendo avaliada com 100 marcadores microsatélites para a identificação de locos de resistência. Além disso, oito potenciais indutores de resistência – quatro biológicos (extrato de produto à base de *Trichoderma*, extrato de produto à base de bactérias ácido-láticas, extrato de produtos à base de *Saccharomyces* e extrato de *Liriomyza*) e quatro químicos (peróxido de hidrogênio, nitroprussiato de sódio, fosfito de potássio e acibenzolar-S-metílico) –, foram testados para avaliar a indução de resistência do meloeiro contra a mosca-minadora, utilizando três concentrações e dois métodos de indução (via semente e foliar). Dos 100 marcadores SSR, 19 apresentaram ótimo padrão de amplificação e polimorfismo, dos quais 13 foram considerados sem distorções de segregação. Os resultados identificaram três marcadores principais (CMTA166, CMCT170B e CMTA134A), que explicam respectivamente 5,73%, 4,46% e 3,32% das variações fenotípicas relacionadas à resistência. A regressão múltipla identificou que os marcadores CMTA166 e CMCT170B juntos explicam 9,42% da variação fenotípica da resistência. Quanto aos indutores, o tratamento mais eficiente para inibição da preferência da mosca-minadora no meloeiro foi o Acibenzolar-S-metílico, tanto na aplicação em sementes (81% de inibição) quanto na aplicação foliar (69,2% de inibição). Entretanto, foi identificada taxa de inibição tanto na aplicação em sementes (65,8%) quanto na aplicação foliar (34,9%) com o uso de extrato biológico do produto à base de *Trichoderma*, demonstrando alternativa viável ao uso de substâncias químicas indutoras de resistência na agricultura. Os resultados obtidos neste estudo podem ser utilizados em futuras seleções de genótipos, bem como em análises de QTLs associados ao melhoramento do meloeiro contra a mosca-minadora, assim como na utilização de substâncias indutoras para a ativação de resistência contra essa praga.

Palavras-chave: SSR, *Cucumis melo* L., indutores de resistência.

ABSTRACT

SILVA NETO, Jorge Alves. Identification of QTLs associated with melon resistance to *Liriomyza sativae* and study of potential resistance inducers. 2023. 65p. Thesis (Doctorate in Agronomy: Plant Science) – Federal Rural University of the Semi-Arid (UFERSA), Mossoró-RN, 2023.

One of the main methods of combating leaf miner flies is chemical control. However, a viable alternative of this control in the fight against this pest is the identification and obtaining of resistance genes in melon plants, through molecular analysis. In addition, the search for substances capable of inducing this resistance can be a promising alternative in controlling this pest. This study aimed to use microsatellite molecular markers to identify QTLs (Quantitative Trait Loci) associated with resistance and to evaluate the effect of substances capable of activating melon resistance mechanisms against leaf miner flies. For this, an F2 generation was produced from resistant (Ruthenium) and susceptible (Vedrantais) parents and evaluated with 100 microsatellite markers to identify resistance loci. In addition, eight potential resistance inducers – four biological (product extract based on *Trichoderma*, product extract based on lactic acid bacteria, product extract based on *Saccharomyces* and *Liriomyza* extract) and four chemicals (hydrogen peroxide, sodium nitroprusside, potassium phosphite and acibenzolar-S-methyl) –, were tested to evaluate the induction of melon resistance against leaf miner fly, using three concentrations and two methods of induction (seed and leaf). Among the 100 SSR markers, 19 showed an excellent amplification pattern and polymorphism, of which 13 were considered without segregation distortions. The results identified three main markers (CMTA166, CMCT170B and CMTA134A), which respectively explain 5.73%, 4.46% and 3.32% of the resistance-related phenotypic variations. Multiple regression identified that CMTA166 and CMCT170B together explain 9.42% of the phenotypic resistance variation. As for the inducers, the most efficient treatment to inhibit the leaf miner preference in melon was Acibenzolar-S-methyl, both in seed application (81% inhibition) and in foliar application (69.2% inhibition). However, an inhibition rate was identified both in seed application (65.8%) and in foliar application (34,9%) with the use of the biological extract of the product based on *Trichoderma*, demonstrating a viable alternative to the use of chemical substances resistance inducers in agriculture. The results obtained in this study can be used in future selections of genotypes, as well as in analyzes of QTLs associated with the improvement of melon against the leaf miner fly, as well as in the use of inducing substances for the activation of resistance against this pest.

Keywords: SSR, *Cucumis melo* L., resistance inducers.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Diversidade morfológica dos frutos de melão em população segregante (F2) dos genitores Rutênio e Vedrantais, resistente e suscetível, respectivamente, a *Liriomyza sativae*.....30
- Figura 2.** Características do dano das larvas de *Liriomyza sativae* no meloeiro. A. Folha de meloeiro de uma planta da geração F2 suscetível ao ataque das larvas. B. Folha de meloeiro de uma planta da geração F2 resistente ao ataque das larvas.....30
- Figura 3.** Gel de agarose a 3% contendo uma genotipagem das amostras de DNA dos 192 indivíduos de meloeiro da população F2 obtidos dos cruzamentos de Rutênio (resistente) e Vedrantais (suscetível) com o marcador microssatélite CMBR 143. R – híbrido Rutênio. V – Vedrantais. F1 – indivíduo obtido a partir dos genitores utilizados.....33

CAPÍTULO III

- Figura 1.** Número médio de minas produzidas por *L. sativae* em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via semente em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média e o erro padrão. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste de Scott-Knott. CN – Grupo controle. T1 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T2 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T3 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T4 – extrato de *Liriomyza sativae*. T5 – peróxido de hidrogênio. T6 – nitroprussiato de sódio. T7 – fosfito de potássio. T8 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas.....49
- Figura 2.** Número médio de minas produzidas por *L. sativae* em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via foliar em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média e o erro padrão. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste Scott-Knott. CN – Grupo controle. CN – Grupo controle. T9 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T10 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T11 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T12 – extrato de *Liriomyza sativae*. T13 – peróxido de hidrogênio. T14 – nitroprussiato de sódio. T15 – fosfito de potássio. T16 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas.....50
- Figura 3** Atividades da peroxidase em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via semente em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média expressa em $U.E^{-1}min^{-1}$ de amostra. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste Scott-Knott. CN – Grupo controle. T1 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T2 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T3 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T4 – extrato de *Liriomyza sativae*. T5 – peróxido de hidrogênio. T6 – nitroprussiato de sódio. T7 – fosfito de potássio. T8 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas.....51
- Figura 4.** Atividades da peroxidase em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via foliar em três concentrações de cada um dos indutores.

Barras indicam a média expressa em $U.E^{-1}min^{-1}$ de Amostra. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste Scott-Knott. CN – Grupo controle. T9 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T10 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T11 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T12 – extrato de *Liriomyza sativae*. T13 – peróxido de hidrogênio. T14 – nitroprussiato de sódio. T15 – fosfito de potássio. T16 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas.....51

Figura 5. Atividades da Fenilalanina Amônio-liase em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via semente em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média expressa em U.Abs/min./Mg.proteína. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste Scott-Knott. CN – Grupo controle. T1 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T2 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T3 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T4 – extrato de *Liriomyza sativae*. T5 – peróxido de hidrogênio. T6 – nitroprussiato de sódio. T7 – fosfito de potássio. T8 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas....52

Figura 6. Atividades da Fenilalanina Amônio-liase em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via foliar em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média expressa em U.Abs/min./Mg.proteína. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste de Scott-Knott. CN – Grupo controle. T9 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T10 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T11 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T12 – extrato de *Liriomyza sativae*. T13 – peróxido de hidrogênio. T14 – nitroprussiato de sódio. T15 – fosfito de potássio. T16 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas.....53

Figura 7. Quantificação de peróxido em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via semente em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média expressa em quantidade de peróxido por grama de amostra. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste de Scott-Knott. CN – Grupo controle. T1 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T2 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T3 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T4 – extrato de *Liriomyza sativae*. T5 – peróxido de hidrogênio. T6 – nitroprussiato de sódio. T7 – fosfito de potássio. T8 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas.....54

Figura 8. Quantificação de peróxido em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via foliar em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média expressa em quantidade de peróxido por grama de amostra. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada teste de Scott-Knott. CN – Grupo controle. T9 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T10 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T11 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T12 – extrato de *Liriomyza sativae*. T13 – peróxido de hidrogênio. T14 – nitroprussiato de sódio. T15 – fosfito de potássio. T16 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas.....54

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

- Tabela 1.** Segregação fenotípica da resistência à mosca-minadora no cruzamento entre os genitores Rutênio (resistente) e Vedrantaís (suscetível).....31
- Tabela 2.** Sequências dos marcadores de microssatélite (SSR) polimórficos entre os genitores contrastantes para resistência do meloeiro (*Cucumis melo* L.) a *Liriomyza sativae*.....32
- Tabela 3.** Teste χ^2 para as frequências genótípicas, probabilidade FDR (%) e frequências alélicas da geração F2 do cruzamento entre os genitores Rutênio e Vedrantaís com base em marcadores SSR.....34
- Tabela 4.** Resumo das análises de regressão linear simples, considerando os marcadores separadamente, e de regressão linear múltipla, com seleção de modelo pelo método Backward, para resistência do meloeiro à mosca-minadora, grupos de ligação e estimativa dos coeficientes de determinação (R^2) e de determinação ajustado (R^2_{aj}).....35

CAPÍTULO III

- Tabela 1.** Substâncias avaliadas na indução de resistência do meloeiro à mosca-minadora e suas concentrações aplicadas.....45

SUMÁRIO

	CAPÍTULO I	13
1	INTRODUÇÃO GERAL	13
	REFERÊNCIAS	17
	CAPÍTULO II - IDENTIFICAÇÃO DE QTLs ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA DO MELOEIRO À MOSCA-MINADORA.....	23
	RESUMO.....	23
	ABSTRACT	24
1	INTRODUÇÃO.....	25
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.1	Produção e Preparo das Mudanças de Meloeiro.....	26
2.2	Criação da População F2.....	26
2.3	Infestação Controlada por <i>Liriomyza sativae</i>	27
2.4	Avaliações da Mortalidade Larval e Pupal de <i>Liriomyza sativae</i>	27
2.5	Avaliação Fenotípica da Resistência na População F2.....	28
2.6	Análise Molecular	28
2.6.1	Extração do DNA.....	28
2.6.2	Análise de Marcadores Microsatélites.....	28
2.6.3	Teste de Frequência Genotípica.....	29
2.6.4	QTL e Análise de Regressão Linear.....	29
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS.....	36
	CAPÍTULO III - INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA À MOSCA-MINADORA EM MELOEIRO.....	41
	RESUMO.....	41
	ABSTRACT	42
1	INTRODUÇÃO.....	43
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	45
2.1	Local de Design Experimental.....	45
2.2	Obtenção dos Indutores	46
2.2.1	Indutores Biológicos.....	46

2.2.2	Indutores Químicos.....	46
2.3	Aplicação dos Indutores.....	46
2.4	Infestação por <i>Liriomyza sativae</i>	47
2.5	Avaliações.....	47
2.5.1	Taxa de Mortalidade.....	47
2.5.2	Taxa de Preferência.....	48
2.6	Análise dos Marcadores de Resistência	48
2.7	Análises Estatísticas.....	48
3	RESULTADOS.....	48
4	DISCUSSÃO.....	55
	REFERÊNCIAS.....	59

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil destaca-se como um dos principais produtores de frutas e hortaliças com áreas irrigadas no mundo, sendo o Nordeste a sua principal região de produção e exportação. O cultivo do meloeiro é especialmente relevante, pois gera emprego e renda para estados como o Rio Grande do Norte e Ceará, dentre outros (IBGE, 2021).

Devido ao sucesso na produção, essa região frequentemente ocupa os primeiros lugares no ranking nacional, destacando-se os estados do Rio Grande do Norte, seguido do Ceará e da Bahia (IBGE, 2021). Em 2017, os principais países importadores dessa hortaliça foram a Holanda (41%), o Reino Unido (27%) e a Espanha (23%), movimentando US\$ 162 milhões de dólares no mercado brasileiro (SECEX, 2018). No entanto, fatores favoráveis ao cultivo e práticas culturais fitossanitárias inadequadas têm contribuído para a disseminação de pragas que afetam negativamente essa produção. Dentre as diversas pragas, destaca-se a mosca-minadora (*Liriomyza* spp.) como um importante limitante para a produção de melão (ARAUJO, 2004; SOMBRA, 2011).

As moscas minadoras são dípteros pertencentes à família Agromyzidae, com ampla distribuição geográfica, contando com aproximadamente 3.000 espécies distribuídas em 43 gêneros (THOMPSON, 2008). No Neotrópico, há 460 espécies em 16 gêneros (MARTINEZ; ETIENNE, 2002), sendo que no Brasil existem 90 espécies em 13 gêneros (SOUSA; COURI, 2015). Em cultivos de melão, as populações de moscas minadoras são amplamente relatadas em todo o mundo (DOGIMONT; BOISSOT, 2016). As espécies *Liriomyza sativae*, *L. trifolii* e *L. huidobrensis* ocorrem em quase todos os estados brasileiros, atacando diversos hospedeiros, como tomate, batata, alface, melancia e melão (GUIMARÃES et al., 2009a). Um estudo molecular revelou que as populações de moscas minadoras presentes nas regiões Nordeste e Sudeste do Brasil são da espécie *L. sativae* (COSTA-LIMA et al., 2009; FERREIRA, 2014). Embora ataquem várias famílias de plantas, essa espécie possui preferência por plantas das famílias Cucurbitaceae, Fabaceae e Solanaceae (CAPINERA, 2001).

No melão, as fêmeas adultas de *Liriomyza* spp. se alimentam e depositam seus ovos na face adaxial da folha, mas são as larvas que causam os principais danos aos cultivos (ARAÚJO et al., 2013). Ao eclodirem, as larvas penetram no mesófilo foliar, alimentando-se

e formando galerias (minas). Essas minas reduzem significativamente o rendimento e a qualidade dos frutos devido a perdas na taxa fotossintética (ARAÚJO et al., 2007), podendo até inviabilizar a produção da planta hospedeira. Além dos danos diretos causados pelas galerias, elas podem servir como entrada para microrganismos oportunistas, resultando em maiores perdas de produtividade (DURAIRAJ et al., 2010).

O controle da mosca-minadora em meloeiros é realizado principalmente por meio do uso de inseticidas (AGROFIT, 2016). Os produtos de ação translaminar ou sistêmica são amplamente utilizados devido à permanência da larva dentro da folha (PARRELLA, 1987). No entanto, devido às desvantagens do uso de agrotóxicos, é de grande importância a busca por alternativas que evitem ou minimizem sua utilização, mas que também sejam altamente eficientes (ARAUJO, 2004; SOMBRA, 2011).

Dentre essas alternativas, destaca-se a resistência genética, que é ecologicamente correta e de fácil adoção, proporcionando benefícios tanto para o produtor quanto para o consumidor e o meio ambiente, podendo ainda ser utilizada em associação com outras técnicas de manejo (BASIJ et al., 2011).

Essa resistência consiste na hereditariedade de características genéticas das plantas que possibilitam interagir negativamente com a praga, diminuindo ou eliminando sua incidência em plantas que possuem essa resistência (ROSSETTO, 1973). Esta pode ser associada a mecanismos utilizados pelas plantas para eliminar ou diminuir a preferência da praga pelo hospedeiro. Pode ser classificada como antibiose, quando a planta produz substâncias nocivas ao inseto, ou como antixenose, quando a planta consegue alterar o comportamento do inseto (DOGIMONT et al., 2010).

As plantas com características de resistência são amplamente utilizadas em Programas de Manejo Integrado de Pragas, podendo ser eficientes contra a mosca-minadora. Dogimont et al. (1999) relataram pela primeira vez a resistência do melão a *L. trifolii*, identificando a presença de um gene dominante. Antes dessa descoberta, a resistência à espécie *L. sativae* já havia sido descrita em dois acessos de melão (KENNEDY et al., 1978). Basii et al. (2011), avaliando a resistência de 70 cultivares de pepino contra *L. sativae*, observaram características de suscetibilidade, semi-suscetibilidade, semi-resistência e resistência, identificando essa resistência como antibiose.

A identificação de fontes de resistência começa com a busca em bancos de germoplasmas. No entanto, foram identificadas poucas fontes promissoras de resistência para *Liriomyza* spp. em meloeiro, sendo a natureza genética da resistência identificada em apenas três fontes (NUNES et al., 2013; DOGIMONT; BOISSOT, 2016). Essa identificação pode ser

realizada por meio de ensaios comparativos entre genótipos em condições semelhantes. Os genótipos são expostos aos insetos em um mesmo espaço físico, e posteriormente é avaliado o nível de dano causado pelo inseto nos genótipos. Portanto, essa identificação depende da interação inseto-planta para a avaliação (MORAIS; PINHEIRO, 2012).

Os avanços na identificação dessas fontes, a compreensão dos mecanismos genéticos de resistência, juntamente com a identificação de marcadores moleculares e lócus ou loco de características quantitativas (QTLs) associados à resistência, são de grande importância nos programas de melhoramento atuais para combater *Liriomyza* spp.

Nos últimos anos, diversos estudos foram realizados para descobrir QTLs. Esses QTLs são importantes para entender a interação praga-hospedeiro, bem como as respostas a doenças e seus mecanismos de resistência. Esses mapeamentos são amplamente utilizados para a identificação de marcadores moleculares associados à resistência a doenças, além de características de importância agrônômica (TONG et al., 2012; VONTIMITTA; LEWIS, 2012a, b) e para insetos praga.

O processo de identificação de marcadores moleculares para QTLs envolve cinco etapas (SERAFINI; BARROS; AZEVEDO, 2001): 1. Escolha de genitores contrastantes para a característica desejada; 2. Obtenção da população segregante para calcular a frequência de recombinação do loco; 3. Identificação do polimorfismo na população segregante; 4. Análise fenotípica dos indivíduos para a característica desejada; 5. Estimativa da frequência de recombinação entre o loco da característica e cada loco obtido do marcador molecular.

Marcadores moleculares são segmentos específicos de DNA ligados a locos de características de interesse (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Esses marcadores permitem a diferenciação de indivíduos com base em polimorfismos genéticos hereditários. Eles podem ser identificados por meio de técnicas de PCR (Polymerase Chain Reaction) (MILACH, 1999), que amplificam regiões específicas do DNA em milhões de cópias para análise das sequências-alvo em estudo (TOPPA; JADOSKI, 2013). O processo de amplificação da PCR envolve três etapas: desnaturação, anelamento e extensão. Na desnaturação, ocorre a separação da dupla fita em duas fitas simples a uma temperatura de 92-95 °C (CAIXETA et al., 2016). No anelamento, os *primers* específicos se ligam a regiões específicas nas fitas simples, iniciando a etapa de duplicação das fitas. A temperatura dessa etapa varia com cada *primer* utilizado (CAMARGO; SILVA, 2011). Na última etapa, a enzima Taq DNA Polimerase adiciona bases complementares nas fitas, estendendo-as e formando novas fitas duplas (CAIXETA et al., 2016). Os marcadores baseados em PCR incluem RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), STS (Sequence Tagged Sites),

SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), Microsatélites ou SSR (Simple Sequence Repeats), ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) e SNP (Single Nucleotide Polymorphism), dentre outros (CAIXETA et al., 2016). A informação gerada por cada tipo de marcador é diversificada. Portanto, antes de iniciar os estudos, é necessário identificar o marcador que melhor fornece a informação desejada (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Dentre os diversos marcadores, os marcadores SSR, também conhecidos como microsatélites, destacam-se na identificação de regiões de interesse para o melhoramento genético. Esses marcadores são amplamente utilizados em programas de melhoramento de plantas, auxiliando na seleção de genótipos superiores. Essa eficácia está associada à alta especificidade e codominância dos marcadores SSR, que possibilitam ampla cobertura do genoma e alto grau de polimorfismo (BORÉM; CAIXETA, 2006). Os microsatélites compreendem regiões genômicas com sequências repetitivas de um a sete nucleotídeos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Eles são marcadores específicos de uma espécie, ou seja, são projetados com base em sequências repetidas de um genoma específico. Além disso, essas regiões são conservadas ao longo do genoma da espécie, permitindo o desenvolvimento de vários microsatélites (CAIXETA et al., 2016). Os iniciadores desses marcadores são projetados contendo entre 20 e 30 bases. Sua base molecular é identificada pela diferença no número de nucleotídeos repetidos nesse loco (BUSO, 2003). Dentre as vantagens desses marcadores, destacam-se a fácil reprodutibilidade, o custo acessível e a facilidade na interpretação dos resultados (SCHLOTTERER, 2000). A aplicação desses marcadores de DNA é de grande importância no mapeamento genético de características desejáveis, identificando, por exemplo, QTLs envolvidos na resistência genética às pragas (YUAN et al., 2002).

Apesar de a introdução de indivíduos resistentes ainda ser a melhor alternativa contra pragas, a identificação e produção desses indivíduos demandam tempo e custos elevados. Uma alternativa viável e altamente eficiente é a utilização de indutores de resistência (COSTA, 2010).

A resistência induzida pode ser definida como um aumento do início de expressão da capacidade de resistência por meio de agentes estimuladores biológicos, químicos ou físicos, sem qualquer alteração no genoma da planta (STADNIK, 2000). Essa forma de indução de resistência já foi descrita para uma ampla variedade de pragas, como ervas daninhas, fungos, vírus, bactérias, nematoides e insetos (VAN LOON et al., 1998; WALLING, 2000).

Após o ataque da praga, a defesa da planta começa a se desenvolver, resultando na formação de uma ou mais estruturas para combatê-la, podendo apresentar atividade relevante de defesa (SIQUEIRA, 2015). Após a ativação pela praga, proteínas relacionadas à defesa – como enzimas peroxidase, fenilalanina amônio liase, polifenoloxidase e catalase, são ativadas em maior ou menor grau, dependendo das características da planta e da intensidade da infestação.

Esses mecanismos de defesa podem ser classificados como estruturais e bioquímicos. Os mecanismos estruturais são caracterizados anatomicamente por estruturas físicas das plantas que atrasam ou impedem a atuação da praga. Por sua vez, os mecanismos bioquímicos baseiam-se em compostos biológicos ativos presentes no organismo das plantas, que possuem a capacidade de inibir o crescimento da praga, criando um ambiente desfavorável para o seu desenvolvimento (SHEWRY; LUCAS, 1997; AGNELLI, 2011).

Essas defesas podem ser desencadeadas não apenas pela ação de uma praga, como também por compostos presentes em metabólitos extraídos de plantas (STANGARLIN et al., 1999; BETTIOL; STADNIK, 2001), partes ou metabólitos de leveduras e bactérias (STADNIK; BETTIOL, 2000; CASTRO; BACH, 2004), rizobactérias e fungos promotores de crescimento (MADI; KATAN, 1998; VIDHYASEKARAN et al., 2001; VISWANATHAN; SAMIYAPPAN, 2002), além do próprio patógeno inativado (BACH; BARROS; KIMATI, 2003). Essa resposta ao patógeno também pode ser desencadeada por elicitores químicos, como silício (Si) (CHÉRIF; ASSELIN; BÉLANGER, 1994) e acibenzolar-S-metil (ASM) (COOLS; ISHII, 2002; BOKSHI; DEVERALL, 2003; IRITI, 2003a, b).

Essa resistência está relacionada à expressão de diversas respostas de defesa, como hipersensibilidade (ZIMMERLI et al., 2000), acúmulo de proteínas-RP (peroxidase, quitinase, dentre outros) (BUZI et al., 2004; DIETRICH; PLOSS; HEIL, 2004), inibidores de protease (ZAVALA et al., 2004), acúmulo de compostos fenólicos (CHÉRIF; ASSELIN; BÉLANGER, 1994; HAMMERSCHMIDT, 2005a, b), dentre diversas outras respostas à indução.

REFERÊNCIAS

AGNELLI, A. R. **Potencial de agentes indutores de resistência para o controle da bactéria *Candidatus Liberibacter asiaticus* em plantas cítricas**. 2011, 44p. Dissertação (Mestrado Profissional em Controle de Doenças e Pragas dos Citros). Fundo de Defesa da Citricultura. Araraquara-SP, 2011.

AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários.** Disponível em: <https://sistemasweb.agricultura.gov.br/pages/AGROFIT.html>. Acesso em: 23 jan. 2023.

ARAUJO, E. L. Praga do meloeiro. Revista **FAPERN**, Natal, n. 1, p. 11, 2004.

ARAUJO, E.L et al. Mosca-minadora associada à cultura do meloeiro no semi-árido do Rio Grande do Norte. **Revista Caatinga**, v. 20, n. 3, p. 210-212, 2007.

ARAUJO, E. L. et al. Biological aspects of the leafminer *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) on melon (*Cucumis melo* L.). **Ciê. Rur.**, v. 43, n. 4, p. 579-582, 2013.

BACH, E.E.; BARROS, B.C.; KIMATI, H. Induced resistance against *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis* in wheat leaves by xanthan gum and heat-inactivated conidial suspension. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 151, p. 411-418, 2003.

BASIJ, M. et al. Evaluation of resistance of cucumber cultivars to the vegetable leafminer (*Liriomyza sativae* Blanchard) (Diptera: Agromyzidae) in greenhouse. **Chilean journal of agricultural research**, v. 71, p. 395-400, 2011.

BETTIOL, W.; STADNIK, M. J. Controle alternativo. In: STADNIK, M. J.; RIVERA, M. C. (org.). **Oídios**. Embrapa Meio Ambiente: Jaguariúna, 2001. p. 165-192.

BOKSHI, A. I.; MORRIS, S.C.; DEVERALL, B.J. Effects of benzotriazole and acetylsalicylic acid on β -1,3-glucanase activity and disease resistance in potato. **Plant Pathology**, London, v. 52, p. 22-27, 2003.

BORÉM; A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. 1 ed. Viçosa: UFV, 2006.

BUSO, G. S. C. et al. Marcadores Microsatélites em Espécies Vegetais. Desenvolvimento e Caracterização de Marcadores Microsatélites em Espécies Vegetais Tropicais. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**. Brasília, v. 30, p. 46-50, jan.-jun. 2003.

BUZI, A.; CHILOSI, G.; DE SILLO, D.; MAGRO, P. Induction of resistance in melon to *Didymella bryoniae* and *Sclerotinia sclerotiorum* by seed treatments with acibenzolar-S-methyl and methyl jasmonate but not with salicylic acid. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 152, p. 34-42, 2004.

CAIXETA, E. T. et al. Tipos de Marcadores Moleculares. In: BORÉM, Aluizio.; CAIXETA, Eveline T eixeira (org.). **Marcadores Moleculares**. Viçosa: Editora UFV, 2016. p. 9-93.

CASTRO, O. L.; BACH, E. E. Increased production of β -1,3-glucanase and protein in *Bipolaris sorokiniana* pathosystem treated using commercial xanthan gum. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 42, p. 165-169, 2004.

CAMARGO, C. F.; SILVA, P. R. Q. **Aplicação das técnicas de pcr e suas técnicas derivadas em diagnóstico molecular**. 2011. Disponível em: <http://www.cpgls.pucgoias.edu.br/6mostra/artigos/SAUDE/CLEYTON%20FLORENCIO%20ODE%20CAMARGO%20E%20PAULO%20ROBERTO%20QUEIROZ.pdf>. Acesso em: 26 jan. 2022.

- CAPINERA, J. L. **Vegetable leafminer, *Liriomyza sativae* Blanchard (Insecta: Diptera: Agromyzidae)**. University of Florida, 2001. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN50700.pdf>. Acesso em: 05 mai. 2022.
- CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R.R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* sp. **Phytopathology**, Lancaster, v. 84, p. 236-242, 1994.
- COOLS, H.J.; ISHII, H. Pre-treatment of cucumber plants with acibenzolar-S-methyl systemically primes a phenylalanine ammonia lyase gene (PAL1) for enhanced expression upon attack with a pathogenic fungus. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 61, p. 273-282, 2002.
- COSTA, J. C. B. et al. Indução de resistência em mudas de cacauero contra *Moniliophthora perniciosa* por produto à base de mananogossacarídeo fosforilado. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 5, p. 285-294, 2010.
- COSTA-LIMA, T. C.; GEREMIAS, L. D; PARRA, J. R. P. Efeito da temperatura e umidade relativa do ar no desenvolvimento de *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) em *Vigna unguiculata*. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 6, p. 727-733, 2009.
- DIETRICH, R.; PLOSS, K.; HEIL, M. Constitutive and induced resistance to pathogens in *Arabidopsis thaliana* depends on nitrogen supply. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 27, p. 896-906, 2004.
- DOGIMONT, C.; BENDAHMANE, A.; CHOVELON, V.; BOISSOT, N. La résistance des plantes cultivées aux pucerons: bases génétiques et moléculaires et interaction avec les populations de pucerons. **Comptes Rendus Biologies**, v. 333, p. 566-573, 2010.
- DOGIMONT, C.; BOISSOT, N. Insect resistance in melon and its modification by molecular breeding. In: EZURA, H. et al. **Functional Genomics and Biotechnology in Solanaceae and Cucurbitaceae Crops**. Springer, 2016. p. 199-219
- DOGIMONT, C.; D. BORDAT, C; PAGES, N; BOISSOT; M. P. One dominant gene conferring the resistance to the leafminer, *Liriomyza trifolii* (Burgess) Diptera: Agromyzidae in melon (*Cucumis melo* L.). **Euphytica**, v. 105, p. 63-67, 1999.
- DURAIRAJ, C.; KARTHKEYAN, G.; GANAPATHY, N.; KARUPPUCHAMY, P. Predisposition effect of *Liriomyza trifolii* damage to *Alternaria* leaf spot disease in tomato. **Karnataka Journal of Agricultural Science**, [S.l.], v. 23, n. 1, p. 161-162, 2010.
- FERREIRA, E. C. B. **Estrutura genética de populações naturais de *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae)**. 2014. 32 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2014.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: Embrapa-Cenargem, 1998.
- GUIMARÃES, J. A. et al. Biologia e manejo de mosca-minadora no meloeiro. Embrapa Hortaliças. **Circular Técnica**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças. . v.77, 2009.

- HAMMERSCHMIDT, R. Phenols and plant-pathogens interaction: the saga continues. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 66, p. 77-78, 2005a.
- HAMMERSCHMIDT, R. Silicon and plant defense: the evidence continue to mount. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 66, p. 117-118, 2005b.
- IBGE. **Produção agrícola municipal**: culturas temporárias e permanentes. 2021. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612>. Acesso em 07 out. 2022.
- IRITI, M.; FAORO, F. Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 151, p. 171-180, 2003a.
- IRITI, M.; FAORO, F. Does benzothiadiazole-induced resistance increase fitness cost in bean? **Journal of Plant Pathology**, Bari, v. 85, n. 4 (special issue), p. 265-270, 2003b.
- KENNEDY, G. G. et al. Leaf resistance in muskmelon. American Society for **Horticultural Science**, Alexandria, v. 103, p. 571-574. 1978.
- MADI, L.; KATAN, J. *Penicillium janczewskii* and its metabolites, applied to leaves, elicit systemic acquired resistance to stem rot caused by *Rhizoctonia solani*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 53, p. 163-175, 1998.
- MARTINEZ, M.; ETIENNE, J. Liste systématique et biogéographique des gromyzidae (Diptera) de la région néotropical. **Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura**, [S.l.], v. 34, p. 25-52, 2002.
- MILACH, S. C. K. Marcadores moleculares nos recursos genéticos e no melhoramento de plantas. In: QUEIROZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (org.). **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**. Petrolina-PE: Embrapa Semi-Árido/ Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 26-33. 1999.
- MORAIS, A. A.; PINHEIRO, J. B. Melhoramento para resistência aos insetos-praga. In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. (org.). **Melhoramento de planta para condições de estresses bióticos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, MG, 2012. p. 153-186.
- NUNES, G. H. S. et al. Resistência de acessos de meloeiro à mosca-minadora *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 746-754, 2013.
- PARRELLA, M. P. Biology of *Liriomyza*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 32, p. 201- 224, 1987.
- ROSSETTO, C. J. **Resistência de plantas a insetos**. Piracicaba, ESALQ, 1973. 171p.
- SCHLOTTERER, C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. **Chromosoma**, Heidelberg, v. 109, p. 65-71, 2000.
- SECEX (Secretaria de Comércio Exterior). **Balança comercial brasileira: Estados**. 2018. Disponível em: <http://www.mdic.gov.br/index.php/comercio-exterior/estatisticas-de-comercio-exterior/balanca-comercial-brasileira-unidades-da-federacao>>. Acesso em: 17 out. 2022.

SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001.

SHEWRY, D. R.; LUCAS, J. A. Plant proteins that confer resistance to pests and pathogens. *Advances in Botanical Research Incorporating Advances in Plant Pathology*. v. 26, p. 135-192, 1997.

SIQUEIRA, I. T. D. **Indução de resistência em feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) utilizando acibenzolar-s-metil no controle da antracnose**. 2015. 44f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns-PE.

SOMBRA, K. D. S. **Reação de Cultivares de Meloeiro a mosca-minadora**. 2011. 56 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2011.

SOUSA, V. R.; COURI, M. S. Agromyzidae. 2015. In: **Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil**. PNUD. Disponível em: Acesso em: 30 jan. 2023.

STADNIK, M.J.; BETTIOL, W. Controle biológico de oídios. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle Biológico**, Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, 2000. v. 2, p. 95-116.

STADNIK, M. Indução de resistência a oídios. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, p. 175-177, 2000.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E. S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, p. 16-21, 1999.

THOMPSON, C.F. **Biosystematic Database of World Diptera. Agromyzidae**. Version 10.5. 2008. Disponível em: <<http://www.diptera.org/biosys.htm>>. Acesso em: 31 mar. 2022.

TONG, Z. J. et al. Mapping of quantitative trait loci conferring resistance to brown spot in fluecured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). **Plant Breed.**, v. 131, p. 335–339, 2012.

TOPPA, Eder Victor Braganti; JADOSKI, Cléber Junior. O uso dos marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas. **Scientia Agraria Paranaensis**, Cascavel, v. 12, n. 1, p.1-5, 2013.

VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Lawrence, v. 36, p. 453-483, 1998.

VIDHYASEKARAN, P. et al. Induction of systemic resistance by *Pseudomonas fluorescens* Pf1 against *Xanthomonas oryzae* in rice leaves. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 29, p. 155-167, 2001.

VISWANATHAN, R.; SAMIYAPPAN, R. Induced systemic resistance by fluorescent pseudomonads against red rot disease of sugarcane caused by *Colletotrichum falcatum*. **Crop Protection**, Guildford, v. 21, p. 1-10, 2002.

VONTIMITTA, V., LEWIS, R.S. Growth chamber evaluation of a tobacco 'Beinhart 1000' × 'Hicks' mapping population for quantitative trait loci affecting resistance to multiple races of *Phytophthora nicotianae*. **Crop Science**, n. 52, p. 91–98, 2012a.

VONTIMITTA, V.; LEWIS, R. S. Mapping of quantitative trait loci affecting resistance to *Phytophthora nicotianae* in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) line Beinhart-1000. **Molecular Breeding**, v. 29, p. 89–98, 2012b.

WALLING, L. L. The myriad plant responses to herbivores. **Journal Plant Growth Regulation**, New York, v. 19, p. 195-216, 2000.

YUAN, J. et al. Quantitative trait loci in two soybean recombinant inbred line populations segregating for yield and disease resistance. **Crop Science**, Madison, v. 42, p. 271-277, 2002.

ZAVALA, J. A.; PAANKAR, A. G.; GASE, K.; BALDWIN, I. T. Constitutive and inducible trypsin proteinase inhibitor production incurs large fitness costs in *Nicotiana attenuate*. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, Washington, v. 101, p. 1607-1612, 2004.

ZIMMERLI, L. et al. Potentiation of pathogen-specific defense mechanisms in Arabidopsis by β -aminobutyric acid. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, Washington, v. 97, p. 12912-12925, 2000.

CAPÍTULO II

IDENTIFICAÇÃO DE QTLs ASSOCIADOS A RESISTÊNCIA DO MELOEIRO À *Liriomyza sativae*

RESUMO

O melão é uma hortaliça de grande expressão econômica em todo o mundo. Entretanto, há grandes dificuldades no aumento de produtividade devido à elevada adaptação de pragas aos cultivos agrícolas. Dentre essas pragas, a mosca-minadora (*Liriomyza* spp.) se destaca, sendo um importante inseto limitador da produção em meloeiro. Nesse sentido, uma das alternativas visando ao controle eficaz desse artrópode tem sido a busca por genótipos geneticamente superiores e que acumulem alelos de resistência. Portanto, o objetivo desse estudo foi utilizar os marcadores moleculares SSR visando à identificação de locos de características quantitativas (QTL's) associados à resistência do meloeiro à mosca-minadora. Para isso, foram realizados cruzamentos entre o híbrido Rutênio e o acesso Vedrantais, resistente e suscetível, respectivamente, ao inseto. As plantas oriundas dos cruzamentos foram caracterizadas quanto à sua fenotipagem de resistência, sendo posteriormente produzida uma matriz de dados polimórficos pelo uso de marcadores SSR. Esses dados foram avaliados para possíveis distorções de segregação pelo teste de qui-quadrado. Os dados foram utilizados em análise de regressão simples e múltipla para avaliar a porcentagem de variação fenotípica explicada pelos marcadores moleculares utilizados. Na variação fenotípica para a resistência de 192 plantas de uma população F₂, foi obtida uma segregação na proporção 3:1, demonstrando uma característica genética de dominância. Dos 100 marcadores SSR utilizados inicialmente, 19 detectaram polimorfismos e foram usados na análise de segregação das 192 plantas F₂. Dos 19 marcadores de DNA polimórficos, 13 foram selecionados por serem considerados sem distorções de segregação avaliados pelo teste qui-quadrado. O coeficiente de determinação identificou três principais marcadores (CMTA166, CMCT170B e CMTA134A), explicando 5,73, 4,46 e 3,32%, respectivamente, das variações fenotípicas observadas para resistência à praga. A regressão múltipla identificou que os marcadores CMTA166 e CMCT170B explicaram, juntos, 9,42% da variação fenotípica da resistência. Os resultados podem ser utilizados em futuras análises de QTLs associados ao melhoramento do meloeiro contra a mosca-minadora, bem como na seleção assistida por marcadores associada ao caráter resistência avaliado no presente estudo.

Palavras-Chave: *Cucumis melo*, SSR, variação fenotípica, microsatélites.

CHAPTER II
IDENTIFICATION OF QTLs ASSOCIATED WITH MELON RESISTANCE TO
Liriomyza sativae

ABSTRACT

Melon is a vegetable of great economic importance worldwide. However, there are great difficulties in increasing productivity due to the high adaptation of pests to agricultural crops. Among these pests, leaf miner fly (*Liriomyza* spp.) stands out, being an important insect limiting melon production. In this sense, one of the alternatives aimed at the effective control of this arthropod is the search for genetically superior genotypes that accumulate resistance alleles. Thus, the aim of this study was to use SSR molecular markers to identify quantitative trait loci (QTL's) associated with melon resistance to leaf miner flies. For this, crosses were made between the Ruthenium hybrid and the Vedrantaís accession, resistant and susceptible, respectively, to the insect. The plants derived from the crosses were characterized in terms of their resistance phenotyping, and a matrix of polymorphic data was subsequently produced using SSR markers. These data were evaluated for possible segregation distortions by the chi-square test. Data were used in simple and multiple regression analysis to assess the percentage of phenotypic variation explained by the molecular markers used. In the phenotypic variation for the resistance of 192 plants of an F2 population, a segregation in the ratio 3:1 was obtained, showing a genetic trait of dominance. Among the 100 SSR markers used initially, 19 detected polymorphisms and were used in the segregation analysis of the 192 F2 plants. Among the 19 polymorphic DNA markers, 13 were selected because they were considered without segregation distortions evaluated by the chi-square test. The coefficient of determination identified three main markers (CMTA166, CMCT170B and CMTA134A), explaining 5.73, 4.46 and 3.32%, respectively, of the phenotypic variations observed for pest resistance. Multiple regression identified that CMTA166 and CMCT170B together explained 9.42% of the phenotypic resistance variation. The results can be used in future analyzes of QTLs associated with melon breeding against leaf miner flies, as well as in marker-assisted selection associated with the resistance character evaluated in the present study.

Keywords: *Cucumis melo*, SSR, phenotypic variation, microsatellites.

1 INTRODUÇÃO

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma cultura de destaque na família Cucurbitaceae, com grande valor econômico devido à sua popularidade global. Amplamente cultivado em várias regiões brasileiras devido a sua adaptação a diversos solos e climas tendo com sua origem nos vales do Irã e noroeste da Índia (MEDEIROS et al., 2020). Em 2022, o Brasil alcançou uma produção de 85 mil toneladas de melão, gerando uma receita de 64 milhões de dólares (HortFruit Brasil, 2023). No entanto, práticas culturais inadequadas facilitam a propagação de pragas, resultando em perdas consideráveis e afetando a economia. Desde os anos 2000, a mosca-minadora (*Liriomyza* spp.) assumiu um papel crucial, evoluindo de praga secundária para uma ameaça econômica para os cultivos de melão (GUIMARÃES et al., 2005), tornando-se um fator limitante progressivo (ARAUJO, 2004; SOMBRA, 2011; ALCÂNTARA et al., 2019; SILVA et al., 2020; LEMOS et al., 2021).

A mosca-minadora, um díptero da família Agromyzidae, possui relevância global devido a seu ataque a culturas variadas (COSTA-LIMA et al., 2015). Estudos moleculares evidenciaram que as populações de moscas-minadoras nas regiões Nordeste e Sudeste do Brasil são predominantemente *L. sativae* (FERREIRA et al., 2017; CELIN et al., 2017). Suas larvas, ao penetrar nas folhas e formar minas, ocasionam danos severos, reduzindo o rendimento e a qualidade dos frutos devido às perdas na taxa fotossintética (ARAÚJO et al., 2007; ARAÚJO et al., 2013; COSTA et al., 2017).

Para mitigar essas perdas, obter fontes de resistência à praga para incorporação nos cultivos é crucial, beneficiando melhoristas (BASIJ et al., 2011) e agricultores. Tais fontes são obtidas via herança genética, reduzindo ou eliminando o ataque das pragas à planta (ROSSETTO, 1973). Essa resistência pode ser denominada antibiose, liberando substâncias prejudiciais, ou antixenose, alterando o comportamento do inseto (DOGIMONT et al., 2010). O uso de marcadores moleculares para identificar QTLs (*Quantitative Trait Loci*) associados à resistência é uma ferramenta vital nos programas de melhoramento.

QTLs desempenham papel crucial na compreensão da interação praga-hospedeiro e na identificação de mecanismos de resistência (TONG et al., 2012; VONTIMITTA; LEWIS, 2012a, b). Eles identificam regiões cromossômicas associadas a características de interesse através de marcadores moleculares (GUO et al., 2014).

Essas marcas fazem a diferenciação de indivíduos a partir dos polimorfismos existentes nos genes (MILACH, 1999). Diversos marcadores são utilizados em estudos genéticos para a obtenção de informações desejadas, como RAPD (Random Amplified

Polymorphic DNA), STS (Sequence Tagged Sites), SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), microssatélites ou SSR (Simple Sequence Repeats), ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) e SNP (Single Nucleotide Polymorphism), dentre outros (CAIXETA et al., 2016). Essas informações são específicas a depender do tipo de marcador, sendo necessário identificar aquele que produza as informações desejadas (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Marcadores moleculares, como microssatélites, têm o poder de diferenciar indivíduos devido a polimorfismos genéticos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Esses marcadores associados a QTLs de resistência são aplicáveis a programas de melhoramento via seleção assistida por marcadores (SAM). No entanto, um desafio persiste: encontrar QTLs que expliquem uma parte significativa da variação fenotípica para uso efetivo na SAM (SOSA-GÓMEZ et al., 2012).

Nesse contexto, o presente estudo busca identificar QTLs de resistência do meloeiro à mosca-minadora usando marcadores moleculares do tipo microssatélites, visando aprimorar a estratégia de manejo dessa praga-chave. Embora progressos significativos já tenham sido alcançados na identificação e uso de fontes de resistência, a busca por marcadores que possam robustamente explicar a variação fenotípica é de extrema importância para otimizar a seleção assistida por marcadores, impulsionando o desenvolvimento de variedades mais resistentes e sustentáveis.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Produção e Preparo das Mudanças de Meloeiro

As sementes dos genótipos parentais, Rutênio e Vedrantais, foram submetidas a pré-germinação em placas de Petri em condições de temperatura (37 °C) e fotoperíodo (12 horas) controladas por 24 horas. Após o desenvolvimento da radícula, as plântulas foram transplantadas para vasos de 10 litros contendo uma mistura de solo e substrato comercial Plantmax® na proporção de 3:1 v/v. O solo utilizado foi previamente autoclavado a 120 °C por uma hora, seguindo as orientações de Nunes (2014). O cultivo foi conduzido em casa de vegetação, com rega duas vezes ao dia.

2.2 Criação da População F2

Na casa de vegetação da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), uma população F2 foi desenvolvida através do cruzamento entre o melão híbrido Rutênio (tipo

amarelo) e o acesso Vedrantaís (cantaloupe), que são resistentes e suscetíveis, respectivamente, a *Liriomyza sativae* Blanchard (Díptera: Agromyzidae) (COSTA, 2017). Devido ao genótipo Rutênio ser heterozigoto para a resistência, apenas plantas F1 resistentes foram selecionadas após avaliação. Uma planta F1 foi autofecundada, gerando frutos para a obtenção das sementes que formaram a população F2. Além disso, retrocruzamentos foram realizados envolvendo ambos os genitores com indivíduos F1. Sementes das gerações produzidas e dos pais foram germinadas em bandejas de 200 células com substrato de fibra de coco. Após o desenvolvimento da primeira folha verdadeira, as plântulas foram transplantadas para vasos de 300 mL contendo fibra de coco e composto orgânico na proporção de 3:1. As plantas foram mantidas até a fase de infestação pela mosca-minadora.

2.3 Infestação Controlada por *Liriomyza sativae*

Quando as plantas atingiram o estágio de três folhas definitivas, cerca de 25 dias após a emergência, foram transferidas para o Laboratório de Entomologia Aplicada da UFERSA. As infestações foram realizadas conforme Ferreira et al. (2022). As plantas foram colocadas em gaiolas revestidas com tela antiafídica (50 x 50 x 50 cm), cada uma contendo aproximadamente 100 moscas-minadoras, provenientes da criação mantida no laboratório. As plantas, incluindo a população F2 e outras (retrocruzamentos, geração F1 e genitores), foram infestadas por uma hora, com dez plantas por gaiola, colocando um alimentador contendo solução de mel a 10%. Após esse procedimento, as plantas retornaram à casa de vegetação para um período de 48 horas antes das avaliações.

2.4 Avaliação da Mortalidade Larval e Pupal de *Liriomyza sativae*

O método de Costa et al. (2016) foi empregado para avaliar as porcentagens de mortalidade larval e pupal das moscas-minadoras. As plantas foram transportadas entre a casa de vegetação e o laboratório para as avaliações. Avaliações visuais das folhas infestadas foram realizadas nas duas primeiras folhas de cada planta, 48, 72 e 96 horas após a infestação, a fim de acompanhar o desenvolvimento das larvas e os danos causados. As plantas foram, então, dispostas horizontalmente em bandejas de isopor para que as larvas, ao saírem das folhas, pudessem pupar controladamente em condições de temperatura (25 ± 5 °C) e umidade relativa ($60 \pm 10\%$), identificando com isso a porcentagem de larvas mortas. Após cinco dias,

as pupas foram coletadas, identificadas e mantidas por 14 dias para determinar a porcentagem de insetos adultos.

2.5 Avaliação Fenotípica da Resistência na População F2

Após a infestação controlada, as folhas da população F2 foram avaliadas quanto à resistência, classificando-as como Resistentes ou Suscetíveis, conforme Ferreira et al. (2022). A segregação fenotípica foi analisada através do teste estatístico qui-quadrado (χ^2) no programa PAST 3.26, comparando as frequências observadas com as esperadas segundo as leis de segregação mendeliana.

2.6 Análise Molecular

2.6.1 Extração do DNA

O DNA dos genitores, do indivíduo F1 e de todos os indivíduos da população F2 foi extraído seguindo o protocolo de Doyle; Doyle (1990). A quantificação do DNA foi realizada em géis de agarose a 1%, comparando as bandas com um padrão de peso molecular conhecido. As concentrações das amostras foram padronizadas para cerca de 10 ng/ μ L para uso nas reações de PCR.

2.6.2 Análise de Marcadores Microssatélites

Iniciou-se com a amplificação de 100 marcadores microssatélites na geração F1 para obter marcadores segregantes. Os marcadores selecionados foram usados em todos os indivíduos da geração F2. As reações de PCR foram realizadas utilizando volumes finais de 12 μ L contendo 10 ng do DNA; 5 μ M de cada um dos marcadores (forward e reverse) do marcador; 2 mM de cada dNTP; solução tampão 1X (50 mM de KCl; 200 mM de Tris-HCl, pH 8,4); 1,5 mM de MgCl₂; 5 μ g de BSA e 1 U de Taq DNA polimerase. As reações de amplificação para os marcadores microssatélites consistiram em uma etapa inicial de desnaturação a 96 °C durante um minuto, seguida de 40 ciclos a 94 °C por um minuto para a desnaturação, um minuto para o anelamento em temperatura específica para cada marcador e dois minutos a 72 °C para a extensão e uma etapa final de extensão de 72 °C por cinco minutos.

Os produtos de PCR foram separados em gel de agarose a 3%, corados com brometo de

etídio ($0,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$) em tampão TBE 1X a 120 V por 2-3 h e, posteriormente, visualizados sob luz UV, usando o sistema de fotodocumentação em gel (Proteinsimple). O tamanho dos fragmentos amplificados foi comparado com o padrão de peso molecular de 100 pb “DNA Ladder Plus” (cellco).

2.6.3 Teste de Frequência Genotípica

Os marcadores segregantes foram usados para testar as frequências genotípicas, comparando os fragmentos de DNA dos genitores resistentes (“A¹”) e suscetíveis (“A²”). Após a obtenção da matriz contendo os dados polimórficos, o teste qui-quadrado (χ^2) foi usado para verificar a ocorrência de distorção na segregação em relação à segregação esperada e para o controle de falsa descoberta (FDR) sendo aplicado pelo método de Benjamini e Hochberg (1995). A frequência alélica foi calculada de acordo com o Equilíbrio de Hardy-Weinberg. As avaliações foram realizadas utilizando o programa PAST 3.26.

2.6.4 QTL e Análise de Regressão Linear

Análises de regressão linear foram realizadas usando dados de marcadores moleculares e resistência. A associação entre QTLs e marcadores foi identificada por regressão linear simples e múltipla. A proporção da variação fenotípica explicada pelos marcadores foi estimada através dos coeficientes de determinação (R^2 e R^2_{aj}) (EDWARDS et al., 1987). As análises estatísticas foram conduzidas no software SAS (SAS Institute, 1989).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No âmbito deste estudo, evidenciou-se uma significativa variação fenotípica por meio da ampla diversidade morfológica dos frutos na geração F2 (Figura 1). Essa diversidade morfológica reflete uma variabilidade genética subjacente, um pré-requisito fundamental para investigações ligadas ao controle genético. Esta variabilidade genética propiciou a análise dos parâmetros genéticos entre os parentais e os indivíduos da população em estudo.



Figura 1. Diversidade morfológica dos frutos de melão em população segregante (F2) dos genitores Rutênio e Vedrantais, resistente e suscetível, respectivamente, a *Liriomyza sativae*. Fonte: O autor (2023).

A manifestação da resistência surgiu ao observar a interrupção da alimentação das larvas da mosca-minadora nas folhas do meloeiro (Figura 2). A resistência por antibiose é caracterizada por desencadear efeitos prejudiciais na biologia dos insetos, inclusive no seu desenvolvimento (DOGIMONT et al., 2010), podendo ser subletal ou letal (MORAIS; PINHEIRO, 2012). Os resultados deste estudo emergiram da minuciosa observação do desenvolvimento pós-infestação, destacando-se a interrupção da alimentação nas folhas de meloeiro e, por conseguinte, a interrupção da formação das minas (CELIN et al., 2017).

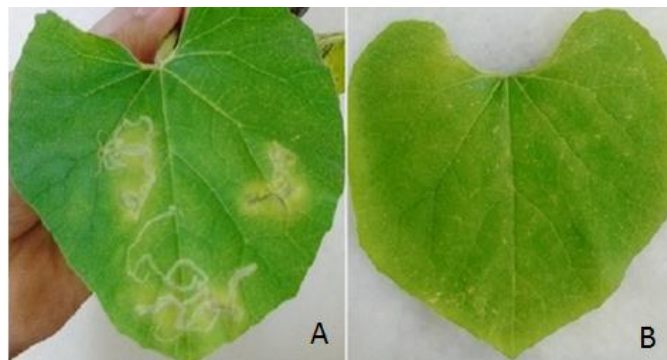


Figura 2. Características do dano das larvas de *Liriomyza sativae* no meloeiro. A. Folha de meloeiro de uma planta da geração F2 suscetível ao ataque das larvas. B. Folha de meloeiro de uma planta da geração F2 resistente ao ataque das larvas. Fonte: O autor (2023).

A mortalidade larval revelou uma nítida polarização: 100% de antibiose no genitor resistente e 0% no genitor suscetível. Essas mesmas características persistiram nas gerações posteriores (F1, F2 e Retrocruzamentos), ratificando, desse modo, a manifestação efetiva da segregação da resistência. Todos os cruzamentos efetuados confirmaram à segregação

mendeliana prevista, conforme exposto na Tabela 1. Os genitores manifestaram segregação em proporções de 1:0 (Rutênio) e 0:1 (Vedrantais) para resistência e suscetibilidade, respectivamente. A geração F1 apresentou uma proporção esperada de indivíduos resistentes e suscetíveis (1:1), haja vista que o Rutênio se comporta como um híbrido. Apenas os indivíduos F1 resistentes foram eleitos para dar continuidade aos cruzamentos subsequentes. A relação fenotípica dos retrocruzamentos firmou-se em 1:1 (F1 x Genitor suscetível) e 3:1 (F1 x Genitor resistente). Na geração F2, confirmou-se a segregação mendeliana com uma proporção de três resistentes para um suscetível.

Tabela 1. Segregação fenotípica da resistência à mosca-minadora no cruzamento entre os genitores Rutênio (resistente) e Vedrantais (suscetível).

População	Nº de plantas		Proporção observada	Proporção esperada	χ^2	Probabilidade (%)
	R	S				
Rutênio	25	0	1:0	1:0	-----	-----
Vedrantais	0	25	0:1	0:1	-----	-----
F1	14	11	1,1:0,9	1:1	0,36	54,851
F2	141	51	2,9:1,1	3:1	0,25	61,708
RCr	18	7	2,9:1,1	3:1	0,12	72,903
RCs	13	12	1:1	1:1	0,04	84,148

Fonte: O autor. Rutênio – genitor resistente; Vedrantais – genitor suscetível; F1 - - primeira geração filial; F2 - segunda geração filial; RCr - retrocruzamento entre Rutênio e F1; RCs - retrocruzamento entre Vedrantais e F1. R – Indivíduos fenotipicamente resistentes. S – Indivíduos fenotipicamente suscetíveis. χ^2 - teste de qui-quadrado.

Estes achados corroboram o surgimento de um fenótipo gerado por um alelo dominante, alinhado com a observação de Celin et al. (2017) de que o controle desta resistência a *L. sativae* demonstra um padrão de dominância completa. Ferreira et al. (2022), na busca por genes de resistência à mosca-minadora em variantes de meloeiro amarelo, também afirmam a prevalência de um único gene de dominância completa no comando desta herança. O trabalho de Dogimont (2011) exaltou a linhagem de meloeiro Nantais Oblong (França), enfatizando sua resistência por antibiose às larvas de *L. trifolli*, controlada por um gene de dominância completa. Entretanto, relatos de resistências à *L. sativae* evidenciam uma herança recessiva e dominância incompleta (KENNEDY et al., 1987). Compreender o modo de hereditariedade desta resistência assume relevância ímpar, contribuindo para selecionar o método de aperfeiçoamento mais apropriado para incorporar essa característica em variedades comerciais (MORAIS; PINHEIRO, 2012). A elucidação do controle genético subjacente à característica de interesse pode ser efetivada por meio de testes estatísticos, como o qui-

quadrado (χ^2) ou a análise de gerações (genitores, descendentes e retrocruzamentos) (RAMALHO et al., 2012).

Na análise de 100 marcadores microssatélites, 19 (19%) demonstraram ser polimórficos entre os genitores Rutênio e Vedorantais (Tabela 2). Embora o índice de polimorfismo seja modesto, é válido destacar que o meloeiro figura como uma planta detentora de uma rica diversidade genética, assumindo a dianteira como a espécie mais polimórfica no âmbito do gênero *Cucumis*. Pesquisas anteriores reforçam essa variabilidade molecular substancial através de marcadores dominantes e codominantes (STAUB et al., 2000; LUAN, DELANNAY; STAUB et al., 2008; NIMMAKAYALA et al., 2016). A escassa quantidade de marcadores microssatélites polimórficos identificados neste estudo podem decorrer da proximidade genética entre os genitores empregados.

Tabela 2. Sequências dos marcadores de microssatélite (SSR) polimórficos entre os genitores contrastantes para resistência do meloeiro (*Cucumis melo* L.) a *Liriomyza sativae*.

Nome do marcador	Sequência forward 5'-3'	Sequência reversa 5'-3'	T.A.	T.E. (pb)
CMAGN52	CCACCAACATAACACACAAC	CTCTCACACTGTTGGAAGA	50	135
CMGAN80	TATATTGATTGCTGGGAAAGG	CTTTTTGGCTTTATTGGGTC	53	159
CMBR120	CTGGCCCCCTCCTAAACTAA	CAAAAAGCATCAAAATGGTTG	55	167
CMBR25	TGGGGTTGTCAATACAGCAA	GGAGTGCCTGGAATGTACG	50	168
CMTCN62	AAGATCGCCTCTATCACAG	ATTGTACTCCCAACGCATC	50	145
CMAGN79	CTTCACTAAAACACTACAAGAG	TTCCAACCTTATTCATCCCAC	50	153
CMTAA166	GGAACAGACACCTCTTCTGAG	TCCGTCTACAAGCGTGACTGT	55	167
CMMS004	GCCCAACGGACACACTCACTCACA	GAGGGAGTAAGAATAAGAAGAAGAA	60	190
CMGAN12	TTTTGTGCTTATATGAGGG	GTTGCATAATGCTAATTTGG	58	179
CMCTN38	TAAAACACTCTCGTGACTCC	GATCTGAGGTTGAAGCAAAG	58	141
CMAGN33	CTGTCTGCTATTCTCCACTTGG	TGTATGCCACGTAGCGAAAC	55	122
CMBR64	ATACAGCAGATCCACAGGGG	ATGGGAGTGTGTGGGATGTA	55	160
CMTA134A	ACGTGCTTCAGTAAACATG	CCCGACATTGAAAACCAACTTC	55	159
CMCT134B	GCTCCTCCTTAACTCTATAC	GCATTATTACCCATGTACGAG	50	125
CMCTT144	CAAAAGGTTTCGATTGGTGGG	AAATGGTGGGGGTTGAATAGG	50	192
CMTA170B	ATTGCCCAACTAACTAAACC	CACAACACAATATCATCCTTG	55	160
CMTA170A	TTAAATCCCAAAGACATGGCG	AGACGAAGGACGGTTAGCTTT	55	125
SSR2733	TTGTTAGGTAAGCCATGCC	TTTGCCTGAGGAAGAATCTGA	50	160
CMBR143	ACAAACCGCATCTTCCATTC	TCCAAAAGGCTAAATCACAAA	53	229

Fonte: O autor (2023). T.A. – temperatura de anelamento; T.E. – tamanho esperado dos fragmentos. pb – pares de base.

Estes 19 marcadores polimórficos foram adotados para análises detalhadas dos loci dos indivíduos F2, além de análises isoladas das bandas para avaliar a segregação dos marcadores de resistência genética (Figura 3).

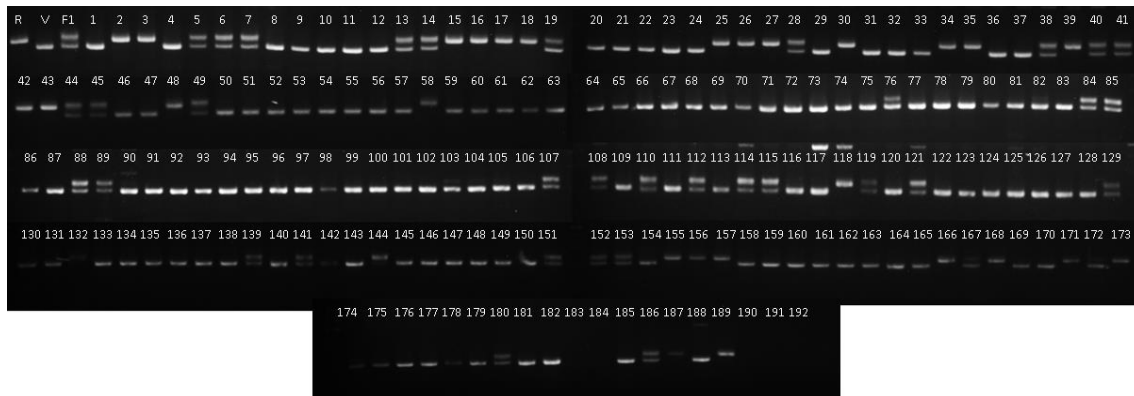


Figura 3. Gel de agarose a 3% contendo uma genotipagem das amostras de DNA dos 192 indivíduos de meloeiro da população F2 obtidos dos cruzamentos de Rutênio (resistente) e Vedrantaís (suscetível) com o marcador microssatélite CMBR 143. R – híbrido Rutênio. V – Vedrantaís. F1 – indivíduo obtido a partir dos genitores utilizados. Fonte: O autor (2023).

Os marcadores foram empregados para genotipagem dos 192 indivíduos da geração F2 segregada e, posteriormente, utilizados para conduzir análises de Loci de Características Quantitativas (QTLs). Ao examinar os indivíduos através dos marcadores, foi possível detectar plantas com bandas alélicas divergentes de suas fenotipagens de resistência, previamente avaliadas pelos genitores, sugerindo a ocorrência de falsos positivos. Essas observações podem ser atribuídas, em grande parte, à ocorrência de crossing over entre o alelo de interesse e o marcador utilizado, ocasionando resultados distorcidos e comprometendo a eficácia da seleção baseada em marcadores (LANDE; THOMPSON, 1990; KNAPP, 1998).

Mediante a aplicação de testes de χ^2 e da taxa de FDR (Tabela 3), ficou evidente que os marcadores CMBR 25, CMTCN 62, CMMS 004, CMGAN 12, CMBR 64 e CMBR 143 exibiram segregação distorcida, destoando do padrão mendeliano e, conseqüentemente, foram excluídos das análises de QTLs. Incorreções na segregação de marcadores codominantes já foram relatados em múltiplas culturas, como melão (RITSCHER et al., 2004), videira (MORA, 2014), alfafa (DIWAN et al., 2000), entre outras. Um possível esclarecimento para essas discrepâncias verificadas nas análises dos marcadores microssatélites repousa nas distorções em loci de natureza zigótica, uma vez que as frequências alélicas "A¹A¹" diferiram das frequências de "A²A²", e as frequências na geração F2 não espelharam a distribuição prevista pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg para esses marcadores (LORIEUX et al., 1995). Essas incoerências podem mitigar o emprego dos marcadores em programas de aprimoramento. Ao se examinar as frequências alélicas, uma predominância dos alelos do

genitor resistente foi observada em nove loci. Em contraste, cinco loci evidenciaram uma preponderância dos alelos do genitor suscetível. Em relação aos demais loci (quatro), as frequências alélicas não exibiram variação significativa.

Tabela 3. Teste χ^2 para as frequências genotípicas, probabilidade FDR (%) e frequências alélicas da geração F2 do cruzamento entre os genitores Rutênio e Védrañtais com base em marcadores SSR.

Marcador	Distorção de segregação					Frequência alélica	
	Frequência Genotípica				FDR(%)	f(A ¹)	f(A ²)
	A ¹ A ¹	A ¹ A ²	A ² A ²	χ^2			
CMAGN52	57	102	33	6,75	3,42 ^{ns}	0,56	0,44
CMGAN80	47	99	46	0,19	90,58 ^{ns}	0,50	0,50
CMBR120	43	105	44	1,69	42,79 ^{ns}	0,50	0,50
CMBR25	86	77	29	41,37	0*	0,65	0,35
CMTCN62	33	81	78	25,78	0*	0,38	0,62
CMAGN79	28	103	61	12,37	0,27 ^{ns}	0,41	0,59
CMTAA166	56	111	25	14,69	0,06 ^{ns}	0,58	0,42
CMMS004	76	100	16	37,8	0*	0,66	0,34
CMGAN12	59	66	67	19,42	0*	0,48	0,52
CMCTN38	67	96	29	15,04	0,04 ^{ns}	0,60	0,40
CMAGN33	34	115	43	8,36	1,52 ^{ns}	0,48	0,52
CMBR64	76	87	29	24,7	0*	0,62	0,38
CMTA134A	54	92	46	1	60,65 ^{ns}	0,52	0,48
CMCT134B	45	101	46	0,53	76,67 ^{ns}	0,50	0,50
CMCTT144	64	93	35	8,94	1,14 ^{ns}	0,58	0,42
CMTA170B	57	89	46	2,28	31,96 ^{ns}	0,53	0,47
CMTA170A	38	88	66	9,5	0,87 ^{ns}	0,43	0,57
SSR2733	42	108	42	3	22,31 ^{ns}	0,50	0,50
CMBR143	31	39	122	153,95	0*	0,26	0,74

Fonte: O autor (2023). A¹A¹ - homozigoto semelhante ao genitor Rutênio; A¹A² - heterozigotos com alelos do genitor Rutênio e Védrañtais; A²A² - homozigoto semelhante ao genitor Védrañtais. χ^2 - Qui-quadrado das frequências genotípicas, Critério FDR (controle de falsa descoberta), * Valor abaixo do nível crítico especificado a 1%, para segregação esperada de 1:2:1; ns= não significativo (marcadores que não apresentaram distorções).

Apesar de 13 marcadores não apresentarem distorções de segregação, seu número foi insuficiente para construir grupos de ligação, já que não foi possível saturar o cromossomo com um mapa físico que permitisse determinar a localização desses marcadores no cromossomo. Portanto, a conexão entre os marcadores e o locus subjacente à resistência à

mosca-minadora foi validada por meio de uma análise de regressão. Entretanto, os valores obtidos na população foram relativamente baixos (Tabela 4).

Tabela 4. Resumo das análises de regressão linear simples, considerando os marcadores separadamente, e de regressão linear múltipla, com seleção de modelo pelo método Backward, para resistência do meloeiro à mosca-minadora, grupos de ligação e estimativa dos coeficientes de determinação (R^2) e de determinação ajustado (R^2_{aj}).

Tipo de Análise	Marcador	Pr>F	$R^2\%$	$R^2_{aj}\%$
Simples	CMAGN52	0,0647	1,78	1,26
	CMGAN80	0,3832	0,4	0,1
	CMBR120	0,1031	1,39	0,87
	CMAGN79	0,5817	0	0
	CMTA166	0,0008	5,73	5,22
	CMCTN38	0,2222	0,78	0,26
	CMAGN33	0,7207	0	0
	CMTA134A	0,0114	3,32	2,81
	CMCT134B	0,0207	2,78	2,27
	CMCTT144	0,4454	0	0
	CMCT170B	0,0032	4,46	3,96
	CMTA170A	0,2201	0,79	0,26
	SSR2733	0,0261	2,57	2,07
Múltipla	CMTA166 +	0,0002	9,42	8,47
	CMCT170B			

Fonte: O autor (2023).

Dentre os 13 marcadores sem distorções de segregação, os marcadores CMTA166, CMCT170B e CMTA134A exibiram os maiores coeficientes de determinação (R^2), atingindo valores de 5,73%, 4,46% e 3,32%, respectivamente. A condução de uma análise de regressão múltipla com os marcadores possibilitou o esclarecimento de 9,42% da variação fenotípica observada através da interação entre CMTA166 e CMCT170B. Os marcadores CMAGN52, CMGAN80, CMBR120, CMAGN79, CMCTN38, CMAGN33, CMCTT144 e CMTA170A não exibiram associação com a característica de resistência. As demais variações foram baixas: CMCT134B (2,78%) e SSR2733 (2,57%).

Bibiano (2016), ao analisar uma fonte de resistência em uma variedade comercial de meloeiro contra o mosaico amarelo da abobrinha-de-moita (Zucchini yellow mosaic virus -

ZYMV), por meio da avaliação da ligação entre os genes e os microssatélites, observou que os marcadores microssatélites MU6549 e CMBR55 explicaram 16% e 19%, respectivamente, da variação fenotípica dessa resistência. Albuquerque (2014), ao identificar uma fonte de resistência do meloeiro contra o oídio (*Pseudoperonospora cubensis*), constatou que dois marcadores microssatélites (CMBR139 e CMMS 22-2) explicaram 16,40% e 10,18%, respectivamente, da variação fenotípica dessa resistência. Poucos estudos relatam a identificação de QTLs associados a regiões de resistência à mosca-minadora em meloeiro. No entanto, para essa praga, Leitão (2018) obteve explicação da variação fenotípica de 30% e 15% utilizando os marcadores CM321 e CM333, respectivamente.

Os resultados deste estudo podem ser interpretados devido da capacidade limitada dos marcadores empregados em identificar as regiões genômicas correlacionadas à resistência e, conseqüentemente, explicar a variação fenotípica atribuível à variação genética. No estudo de Albuquerque (2014), constatou-se um índice de polimorfismo de 29,88% nos marcadores utilizados, traduzindo-se em uma explicação de 29,52% da variação fenotípica. Já Leitão (2018), para atingir taxas de variação de 30% e 15%, demandou a utilização de 328 marcadores microssatélites. No entanto, Nie (2015), ao abordar a identificação de genes de resistência ao oídio em pepino, mobilizou 780 marcadores microssatélites, todavia, apenas 7,3% e 1,2% da variação fenotípica puderam ser esclarecidos pelos marcadores.

Esses achados destacam a complexidade inerente à identificação da resistência associada a agentes lesivos às culturas agrícolas, como a mosca-minadora, mesmo mediante a empregabilidade de um conjunto expressivo de marcadores nas análises. Torna-se, portanto, premente a exploração de outras categorias de marcadores genéticos capazes de abranger outras áreas do genoma possivelmente correlacionadas aos genes de resistência sob investigação.

Concluindo, os marcadores identificados neste estudo surgem como ferramentas viáveis para prosseguir com investigações na espécie, com o intuito de identificar fontes de resistência à mosca-minadora e, concomitantemente, facilitar a seleção assistida por marcadores e futuras estratégias de melhoramento dessa espécie.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, L. B. Reação de acessos e cultivares de meloeiro a *Pseudoperonospora cubensis* e identificação de Quantitative Trait Loci de resistência do meloeiro ao míldio. 2014.

99f. **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2014.

ALCÂNTARA, D. B. et al. Diagnostic detection systems and QuEChERS methods for multiclass pesticide analyses in different types of fruits: An overview from the last decade. **Food Chemistry**, n. 298, p. 124958. 2019.

ARAÚJO, E. L. Praga do meloeiro. **Revista FAPERNA**, Natal, n. 1, p. 11, 2004.

ARAÚJO, E.L. et al. Mosca-minadora associada à cultura do meloeiro no semi-árido do Rio Grande do Norte. **Revista Caatinga**, v. 20 n. 3, p. 210-212, 2007.

ARAÚJO, E.L. et al. Biological aspects of the leafminer *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) on melon (*Cucumis melo* L.). **Ciência Rural**, v. 43, n. 4, p. 579-582, 2013.

BASIJ, M. et al. Evaluation of resistance of cucumber cultivars to the vegetable leafminer (*Liriomyza sativae* Blanchard) (diptera: Agromyzidae) in greenhouse. **Chilean Journal of Agricultural Research**, n. 71, p. 395-400, 2011.

BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal Statistical Society**, v. 57, n. 1, p. 289-300, 1995.

BIBIANO, L. B. J. **Análise de ligação do gene de resistência Zym-2 com marcadores microsatélites e reação de acessos de meloeiro ao Zucchini yellow mosaic vírus (ZYMV)**. 2016. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

CAIXETA, E. T. et al. Tipos de Marcadores Moleculares. In: BORÉM, Aluizio; CAIXETA, Eveline Teixeira (org.). **Marcadores Moleculares**. Viçosa: Editora UFV, 2016. p. 9-93.

CELIN, E. F. et al. New sources of resistance to leafminers (*Liriomyza sativae*) in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 16, n. 2, 2017.

COSTA, E. M. et al. Extrato aquoso de sementes de nim no controle de *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) em meloeiro. **Revista Ciências Agronômicas**, v. 47, n. 2, p. 401-406. 2016.

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**, v. 35, p. 571-575, 2017.

COSTA, J. M. **Novas fontes de resistência em meloeiro a *Liriomyza sativae*, *Acidovorax avenae* e *Alternaria spp.*** 2017. 80 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2017.

DIWAN, N. et al. Mapping of simple sequence repeat (SSR) DNA markers in diploid and tetraploid alfafa. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlim, v. 101, p. 165-172, 2000.

DOGIMONT, C. et al. La résistance des plantes cultivées aux pucerons: bases génétiques et moléculaires et interaction avec les populations de pucerons. **Comptes Rendus Biologies**, v. 333, p. 566-573, 2010.

- DOGIMONT, C. Gene List for Melon. **Cucurbit Genetics Cooperative Report**, v. 33, p. 1915-133, 2011.
- EDWARDS, M. D.; STUBER, C. W.; WENDEL, J. F. Molecular marker facilitated investigations of quantitative-trait loci in maize. I. Numbers, genomic distribution and types of gene action. **Genetics**, v. 116, p. 113-125, 1987.
- FERREIRA, R. R. et al. Sources and inheritance of leafminer resistance in yellow melon accessions. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 35, n. 4, p. 747 – 754, 2022.
- FERREIRA, E. C. B. et al. Molecular identification of *Liriomyza* sp. in the Northeast and Southeast regions of Brazil. **Revista Caatinga**, n. 30, p. 892-900, 2017.
- FERREIRA, R. R. et al. Sources and inheritance of leafminer resistance in yellow melon accessions. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 35, n. 4, p. 754, 2022.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: Embrapa-Cenargem, 1998.
- GUIMARÃES, J. A. et al. **Recomendações técnicas para o manejo da mosca-minadora**. Comunicado Técnico. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2005.
- HORTFRUT BRASIL: **anúário 2022-2023**. Piracicaba: USP, 2023. ISSN 1981-1837. Edição especial. Disponível em: <https://www.hfbrasil.org.br/br/revista/retrospectiva-2022-perspectivas-2023.aspx>. Acesso em: 10 jan. 2023.
- LANDE, R.; THOMPSON, R. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. **Genetics**, v. 124, n. 3, p. 743-756, mar. 1990.
- LEITÃO, L. R. G. **Herança genética e associação de marcadores microssatélites à resistência à *Liriomyza sativae* em meloeiro**. 2018. 105f. Dissertação. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.
- LEMOS, L. J. U. et al. **Evidence for coabundance of leafminer flies and whiteflies in melon crops**. BRAGANTIA, v. 80, p. 1, e0421-9, 2021.
- LORIEUX, M. et al. Maximum-likelihood models for mapping genetic markers showing segregation distortion. 2. F2 populations. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlim, v. 90, p. 81-89, 1995.
- LUAN, F.; DELANNAY, I.; STAUB, J. E. Chinese melon (*Cucumis melo* L.) diversity analyses provide strategies for germplasm curation, genetic improvement, and evidentiary support of domestication patterns. **Euphytica**, Wageningen, v. 164, p. 445–461, 2008.
- MEDEIROS, R. A. et al. Comportamento da secagem de sementes de melão (*Cucumis Melo* L.) em camada fina usando modelos empíricos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 64001-64009, 2020.
- MILACH, S. C. K. Marcadores moleculares nos recursos genéticos e no melhoramento de plantas. In: QUEIROZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (org.). **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste brasileiro**. Petrolina-PE: Embrapa Semi-Árido/ Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. p. 26-33.

- MORA, F. D. S. **Seleção assistida por marcadores moleculares na piramidação de genes de resistência ao míldio (*Plasmopara viticola*) e oídio (*Erysiphe necator*) em videira**. 2014. 81p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.
- MORAIS, A. A.; PINHEIRO, J. B. 2012. Melhoramento para resistência aos insetos-praga. In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. (org.). **Melhoramento de planta para condições de estresses bióticos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, MG, p. 153-186.
- NIE, J. et al. Identification and fine mapping of pm5.1: a recessive gene for powdery mildew resistance in cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Molecular Breeding**, v. 35, n. 7, p. 1-13, 2015.
- NIMMAKAYALA, P. et al. Genome-Wide Differentiation of Various Melon Horticultural Groups for Use in GWAS for Fruit Firmness and Construction of a High Resolution Genetic Map. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, p. 1437, 2016.
- RAMALHO, M. A. P. et al. **Genética na agropecuária**. 5. ed. Lavras: UFLA, 2012.
- RITSCHÉL, P. S. et al. Development of microsatellite markers from an enriched genomic library for genetic analysis of melon (*Cucumis melo* L.). **BioMed Central Plant Biology**, Londres, v. 4, n. 9, p. 235-246, 2004.
- ROSSETTO, C.J. **Resistência de plantas a insetos**. Piracicaba, ESALQ, 1973.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide**. Version 6. 4. ed. Cary, v. 2, p. 846. 1989.
- SILVA, F. S. et al. Standardized sampling plan for common blossom thrips management in melon fields from north Brazil. **Crop Protection**, v. 134, p. 105-179, 2020.
- SOMBRA, K. D. S. **Reação de Cultivares de Meloeiro à mosca-minadora**. 2011. 56 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2011.
- SOSA-GÓMEZ, D. R. et al. A biotecnologia, o melhoramento e o manejo de pragas da soja. In: Soja – Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. **Embrapa**, Brasília, p. 725-788, 2012.
- STAUB, J. E. et al. Comparative analysis of cultivated melon groups (*Cucumis melo* L.) using random amplified polymorphic DNA and simple sequence repeat markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 115, p. 225–241, 2000.
- TONG, Z. J. et al. Mapping of quantitative trait loci conferring resistance to brown spot in fluecured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). **Plant Breed**, v. 131, p. 335–339, 2012.
- VONTIMITTA, V., LEWIS, R.S. Growth chamber evaluation of a tobacco ‘Beinhart 1000’ × ‘Hicks’ mapping population for quantitative trait loci affecting resistance to multiple races of *Phytophthora nicotianae*. **Crop Science**, v. 52, p. 91–98, 2012a.
- VONTIMITTA, V.; LEWIS, R. S. Mapping of quantitative trait loci affecting resistance to *Phytophthora nicotianae* in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) line Beinhart-1000. **Molecular Breeding**. v. 29, p. 89–98, 2012b.

KENNEDY, G. G.; BOHN, G.W.; STONER, A. K.; WEBB, R. E. Leaf resistance in muskmelon. **American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 103, p. 571-574. 1978.

KNAPP, S. J. Marker-assisted selection as a strategy for increasing the probability of selecting superior genotypes. **Crop Science**, v. 38, n. 5, p. 1164-1174, 1998.

CAPÍTULO III

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A MOSCA-MINADORA EM MELOEIRO

RESUMO

O Brasil se destaca na produção e exportação de frutas em todo o mundo, sendo o melão (*Cucumis melo* L.) uma das frutas mais apreciadas devido ao seu sabor e qualidades nutricionais. No entanto, as práticas de cultivo inadequadas e a alta adaptabilidade tornam as pragas um fator limitante a essa produção. A mosca-minadora (*Liriomyza spp.*) é uma praga de interesse agrônomo devido aos danos e redução da produção que causa em várias culturas, em especial no meloeiro. Portanto, é necessário buscar substâncias capazes de induzir resistência ao meloeiro contra essa praga. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial de oito possíveis indutores de resistência no meloeiro contra a mosca-minadora. Para isso, foram utilizados quatro potenciais indutores biológicos (extratos de produtos à base de *Trichoderma harzianum*, de bactérias ácido-láticas – *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei*, *Bifidobacterium lactis* e *Bifidobacterium bifidum*), de *Saccharomyces* (*S. cerevisiae* e *S. boulardii*), extrato de *Liriomyza sativae* e quatro químicos (peróxido de hidrogênio, nitroprussiato de sódio, fosfito de potássio e acibenzolar-S-metílico) em três concentrações e dois métodos de indução, por sementes e por aplicação foliar. Foram avaliadas a porcentagem de larvas mortas e viabilidade pupal após a infestação e as taxas de preferência dos insetos pelas plantas tratadas. Amostras de folhas (0,5g) foram maceradas em nitrogênio líquido em um almofariz para avaliar as atividades de três marcadores de indução de resistência (peroxidase, fenilalanina amônio-liase e peróxido) e identificar as respostas fisiológicas produzidas pelos indutores. O tratamento mais eficiente para a taxa de não preferência da mosca-minadora no meloeiro foi o acibenzolar-S-metílico, tanto na aplicação em sementes (81% de inibição) quanto na aplicação foliar (69,2% de inibição). Entretanto, foi identificada taxa de inibição tanto na aplicação em sementes (65,8%) quanto na aplicação foliar (34,9%) com o uso de extrato biológico do produto à base de *Trichoderma*, demonstrando alternativa viável ao uso de substâncias químicas indutoras de resistência na agricultura. Nenhum dos tratamentos foi eficiente na taxa de mortalidade larval e pupal. Nas análises dos marcadores de resistência, houve aumento significativo da expressão em todos os tratamentos em relação ao tratamento controle, porém não houve relação com a redução das taxas de preferência. No entanto, é de grande importância identificar marcadores correlacionados ao tratamento com acibenzolar-S-metílico para observar o mecanismo ativado pela planta na geração da não preferência obtida.

Palavras-chave: *Liriomyza*, indutores biológicos, indutores químicos, *Cucumis melo* L.

CHAPTER III
INDUCTION OF RESISTANCE TO MIDER FLY IN
MELON TREE

ABSTRACT

Brazil stands out in the production and export of fruits all over the world, with melon (*Cucumis melo L.*) being one of the most appreciated fruits due to its flavor and nutritional qualities. However, inadequate cultivation practices and high adaptability make pests a limiting factor in this production. Leaf miner fly (*Liriomyza* spp.) is a pest of agronomic interest due to the damage and reduction in production it causes in several crops, especially melon. Therefore, it is necessary to look for substances capable of inducing resistance to melon against this pest. The objective of this research was to evaluate the potential of eight possible resistance inducers in melon against leaf miner fly. For this, four potential biological inducers were used (extracts of products based on *Trichoderma harzianum*, lactic acid bacteria (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei*, *Bifidobacterium lactis* and *Bifidobacterium bifidum*), *Saccharomyces* (*S. cerevisiae* and *S. boulardii*), *Liriomyza sativae* extract and four chemicals (hydrogen peroxide, sodium nitroprusside, potassium phosphite and acibenzolar-S-methyl) at three concentrations and two methods of induction, by seeds and by foliar application. The percentage of dead larvae and pupal viability after infestation and the preference rates of insects for treated plants were evaluated. Leaf samples (0.5g) were macerated in liquid nitrogen in a mortar to evaluate the activities of three resistance induction markers (peroxidase, phenylalanine ammonium lyase and peroxide) and to identify the physiological responses produced by the inducers. The most efficient treatment for the leaf miner non-preference rate in melon was acibenzolar-S-methyl, both in seed application (81% inhibition) and foliar application (69.2% inhibition). However, an inhibition rate was identified both in seed application (65.8%) and in foliar application (34.9%) with the use of the biological extract of the product based on *Trichoderma*, demonstrating a viable alternative to the use of substances resistance-inducing chemicals in agriculture. None of the treatments was efficient in terms of larval and pupal mortality. In the analyzes of resistance markers, there was a significant increase in expression in all treatments compared to the control treatment, but there was no relationship with the reduction in preference rates. However, it is of great importance to identify markers correlated to the treatment with acibenzolar-S-methyl to observe the mechanism activated by the plant in the generation of the obtained non-preference.

Keywords: *Liriomyza*, biological inducers, chemical inducers, *Cucumis melo L.*

1 INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca no cenário internacional como produtor e exportador de hortaliças, com o melão figurando entre os produtos mais exportados (PENHA; ALVES, 2018). As regiões do Ceará e do Rio Grande do Norte se sobressaem como os principais exportadores globais de melão (IBGE, 2022). Apesar dos consideráveis investimentos financeiros e técnicos na produção de melão, essa atividade enfrenta diversos desafios, incluindo a presença de um grande número de pragas e doenças, resultando em perdas significativas para os produtores e aumento dos custos de produção (ALVES, 2000; SANTOS, 2000; ALCÂNTARA et al., 2019; SILVA et al., 2020; LEMOS et al., 2021).

De acordo com Fernandes (2015), as principais pragas que afetam o meloeiro incluem a mosca branca (*Bemisia argentifolii* Bellows e Perring, Hemiptera: Aleyrodidae), o pulgão (*Aphis gossypii* Glover, Hemiptera: Aphididae), tripses (*Thrips tabaci* Lindeman, Thysanoptera: Thripidae), ácaros (*Tetranychus urticae* Koch e *Tetranychus turkestanii* Ugarov e Nikolski), a broca das cucurbitáceas (*Diaphania nitidalis* Cramer, Lepidoptera: Pyralidae) e a mosca-minadora (*Liriomyza sativae* Blanchard, Diptera: Agromyzidae).

A mosca-minadora é um inseto de considerável importância agrícola e é classificada como uma praga primária em diversas culturas (DAS et al., 2022). Com o passar do tempo, essa praga tornou-se cada vez mais prevalente e um desafio significativo para os produtores de melão em todo o mundo. Os danos causados ao meloeiro decorrem da alimentação das larvas no mesófilo foliar. Durante esse processo, as larvas formam galerias nas folhas, o que resulta em redução acentuada na taxa fotossintética e, conseqüentemente, na quantidade de sólidos solúveis totais (°Brix) (MINKENBERG; LENTEREN, 1986). Embora os métodos de controle químico sejam amplamente utilizados, eles estão sendo gradualmente abandonados devido a preocupações ambientais, exigências dos mercados importadores quanto a resíduos químicos em produtos e ao desenvolvimento de resistência por parte das moscas a esses produtos (ARAÚJO et al., 2012), além do impacto negativo sobre os inimigos naturais (HOSSAIN; POEHLING, 2006).

A busca por resistência genética nas plantas é altamente relevante e é considerada uma das estratégias mais eficazes. Essa resistência resulta da liberação natural de metabólitos ou da formação de barreiras físicas que impedem ou minimizam os danos causados pela herbivoria (MITCHELL et al., 2016). No entanto, a identificação de genótipos resistentes é um processo demorado e dispendioso. Uma abordagem alternativa e mais rápida para identificar genótipos resistentes é o uso de indutores de resistência, que têm o potencial de

ativar os mecanismos de defesa das plantas contra pragas e que não podem ser expressos geneticamente.

De acordo com Howe; Jander (2008), a indução de resistência é vantajosa pois requer menos recursos da planta em comparação com a resistência genética. Isso significa que a planta não precisa alocar muita energia na produção contínua de compostos de defesa, mas sim sintetizá-los quando necessário em resposta ao ataque do inseto (CAO et al., 2019).

A indução de mecanismos de resistência envolve a ativação de vias metabólicas por agentes externos, que podem ser biológicos, químicos ou físicos, sem alterações no genoma da planta (STADNIK, 2000). Indutores químicos conhecidos, como o acibenzolar-S-metílico (ASM) e produtos à base de fosfito, têm a capacidade de ativar as defesas da planta, levando à produção de compostos relacionados à patogênese (KESSMANN et al., 1995; DALLAGNOL et al., 2006; SANTOS et al., 2011).

O uso de indutores à base de microrganismos tem sido amplamente explorado em várias culturas, incluindo melão, melancia, trigo, batata, tomate e pepino. Esses indutores podem ser aplicados vivos, como fungos, bactérias, vírus, nematoides e insetos, ou por meio de seus metabólitos (DI PIERO et al., 2005). Esses metabólitos podem ser obtidos das paredes celulares ou secreções secundárias desses microrganismos e pertencem a diferentes classes químicas, como carboidratos, peptídeos, proteínas, lipídios, glicoproteínas, glicopeptídeos, ácidos graxos, entre outros (WALTERS et al., 2005). Vários estudos relataram o potencial indutor de resistência de extratos de vários microrganismos contra pragas (SIMÕES et al., 2005; THUERIG et al., 2006; DILDEY, 2017).

Quando esses indutores são reconhecidos pelas plantas, ocorre uma série de reações enzimáticas e de compostos que ativam mecanismos de defesa, conhecidos como marcadores de resistência. A alteração desses marcadores sugere uma resposta de resistência nas plantas. Marcadores de resistência amplamente estudados na literatura incluem a fenilalanina amônio-liase, a catalase, a peroxidase e o peróxido (ZHAO et al., 2009; SCOTT et al., 2010).

Com isso, este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da aplicação de substâncias químicas e biológicas no meloeiro, tanto via semente quanto foliar, a fim de induzir resistência contra a mosca-minadora, tendo o presente estudo um papel fundamental na investigação de estratégias de controle eficazes contra a infestação da mosca-minadora em culturas de meloeiro. Os resultados obtidos não apenas expandirão nosso conhecimento sobre técnicas de manejo, mas também ressaltarão a aplicabilidade prática dessas abordagens em ambientes agrícolas reais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e Design Experimental

Este estudo foi conduzido em uma casa de vegetação e nos Laboratórios de Biotecnologia Vegetal e Entomologia Aplicada do Departamento de Ciências Agrônomicas e Florestais da Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, Brasil. A pesquisa empregou um delineamento experimental completamente casualizado em um arranjo fatorial 8x2x3. Foram testadas oito substâncias, dois métodos de aplicação (via sementes e via foliar) em três concentrações distintas, além de um grupo controle para cada método de aplicação, totalizando 50 tratamentos. Cada tratamento foi repetido dez vezes, com uma unidade experimental representando uma muda de meloeiro. Os detalhes sobre os indutores e suas concentrações estão listados na Tabela 1.

Tabela 1. Substâncias avaliadas na indução de resistência do meloeiro à mosca-minadora e suas concentrações aplicadas.

Tipo do Indutor	Tratamento	Método de Aplicação		Concentração
		Sementes	Foliar	
Biológico	Extrato de produto a base de <i>Trichoderma</i>	T1C1	T9C1	10 ⁹ Células/mL
		T1C2	T9C2	10 ⁸ Células/mL
		T1C3	T9C3	10 ⁷ Células/mL
	Extrato de produto a base de bactérias ácido-láticas	T2C1	T10C1	10 ⁹ Células/mL
		T2C2	T10C2	10 ⁸ Células/mL
		T2C3	T10C3	10 ⁷ Células/mL
	Extrato de produtos à base de <i>Saccharomyces</i>	T3C1	T11C1	10 ⁹ Células/mL
		T3C2	T11C2	10 ⁸ Células/mL
		T3C3	T11C3	10 ⁷ Células/mL
	Extrato de <i>Liriomyza</i>	T4C1	T12C1	10 mg/mL
		T4C2	T12C2	5 mg/mL
		T4C3	T12C3	2,5 mg/mL
Químico	Peróxido de Hidrogênio	T5C1	T13C1	1 mM
		T5C2	T13C2	0,5 mM
		T5C3	T13C3	0,25 mM
	Nitroprussiato de Sódio	T6C1	T14C1	1,5 mM
		T6C2	T14C2	1 mM
		T6C3	T14C3	0,5 mM
	Fosfito de potássio	T7C1	T15C1	5 uL/mL
		T7C2	T15C2	2,5 uL/mL
		T7C3	T15C3	1,25 uL/mL
	Acibenzolar-S-metílico (ASM)	T8C1	T16C1	0,1 mg/mL
		T8C2	T16C2	0,05 mg/mL
		T8C3	T16C3	0,025 mg/mL

2.2 Obtenção dos Indutores

2.2.1 Indutores Biológicos

O primeiro indutor biológico foi derivado do produto Trichodermil SC 1306, contendo *Trichoderma harzianum*. O segundo indutor foi gerado por meio de produtos à base de *Saccharomyces*, sendo *S. cerevisiae* proveniente do fermento biológico Fleischmann®, usado na panificação, e *S. boulardii* obtido do probiótico comercial Florent®. O terceiro indutor consistiu na formulação comercial do probiótico 20 bi, composto por bactérias ácido-láticas, incluindo *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei*, *Bifidobacterium lactis* e *Bifidobacterium bifidum*.

Os produtos foram diluídos em água destilada autoclavada. Três concentrações celulares foram utilizadas para cada um dos indutores mencionados: 10^9 , 10^8 e 10^7 células/mL, determinadas com uma câmara de Neubauer. Em seguida, as concentrações foram autoclavadas conforme procedimento descrito por Bonaldo (2005), considerando o sobrenadante como extrato bruto aquoso autoclavado.

Para o quarto indutor biológico, foi produzido um extrato de *Liriomyza sativae*. Moscas adultas foram maceradas em nitrogênio líquido. Três concentrações (10 mg/mL, 5 mg/mL e 2,5 mg/mL) foram utilizadas para avaliação, obtidas por diluição em água ultrapura. A seguir, o procedimento descrito por Bonaldo (2005) foi seguido.

2.2.2 Indutores Químicos

O peróxido de hidrogênio (CRQ Química) foi utilizado nas concentrações de 1 mM, 0,5 mM e 0,25 mM. O nitroprussiato de sódio (NITROPRUS – Cristália) foi empregado em concentrações de 1,5 mM, 1 mM e 0,5 mM. O fosfito de potássio (FORTH fosfito Fosway) foi usado nas concentrações de 5 uL/mL, 2,5 uL/mL e 1,25 uL/mL. O acibenzolar-S-metílico (BION 500 WG - Syngenta) foi empregado nas concentrações de 0,1 mg/mL, 0,05 mg/mL e 0,025 mg/mL. Todos os tratamentos de avaliação receberam a adição de Tween 80 a 0,05%.

2.3 Aplicação dos Indutores

Foram realizados dois métodos de aplicação: indução nas sementes e indução foliar. No método de indução nas sementes, as sementes da variedade comercial Goldex foram expostas aos tratamentos e suas concentrações em potes, mantidos a 37 °C por 12 horas em

uma câmara de BOD. Posteriormente, as sementes foram transferidas para bandejas de 200 células com substrato de fibra de coco. Após o desenvolvimento da primeira folha verdadeira, as plântulas foram transplantadas para vasos de 300 mL contendo fibra de coco e composto orgânico na proporção de 3:1. As plantas foram mantidas até a fase de infestação pela mosca-minadora. No método de indução foliar, sementes da variedade Goldex foram cultivadas em bandejas de 200 células com substrato de fibra de coco. Após a formação da terceira folha verdadeira, as plântulas foram transplantadas para vasos de 300 mL contendo fibra de coco e composto orgânico na proporção de 3:1. Quando a terceira folha verdadeira estava completamente desenvolvida, cada tratamento foi aplicado nas folhas usando borrifadores até que houvesse o ponto de escorrimento.

2.4 Infestação por *Liriomyza sativae*

Após as plantas tratadas nas sementes atingirem o estágio de três folhas definitivas e as tratadas por aplicação foliar, três dias após o tratamento, as plantas foram transferidas para o Laboratório de Entomologia Aplicada para a infestação por *L. sativae*, seguindo Ferreira et al. (2022). As plantas foram acomodadas em gaiolas (50 x 50 x 50 cm), contendo nove plantas por gaiola, com armações de madeira cobertas por tela antiafídica. Cerca de 100 moscas foram introduzidas em cada gaiola por aproximadamente uma hora. Após esse período, as mudas foram devolvidas à casa de vegetação e mantidas por dois dias até o início das avaliações.

2.5 Avaliações

2.5.1 Taxa de Mortalidade

As plantas foram levadas da casa de vegetação para o laboratório para avaliação. A mortalidade larval e pupal foi avaliada conforme Costa et al. (2016). O desenvolvimento das larvas foi acompanhado visualmente nas primeiras e terceiras folhas verdadeiras de cada planta, com avaliações feitas 48, 72 e 96 horas após a infestação. As plantas foram posicionadas horizontalmente em bandejas em sala climatizada, com temperatura de 25 ± 5 °C e umidade relativa de $60 \pm 10\%$, permitindo que as larvas pupassem dentro das bandejas. A taxa de mortalidade larval foi determinada observando as larvas que não atingiram o

estágio pupal. As pupas foram coletadas após cinco dias e mantidas por 14 dias para determinar a mortalidade pupal.

2.5.2 Taxa de Preferência

Os tratamentos foram organizados por método (semente ou foliar) e concentração (C1, C2 e C3). As infestações foram conduzidas conforme descrito, com cada gaiola contendo um método e uma das três concentrações para todos os tratamentos.

2.6 Análise dos Marcadores de Resistência

Amostras da segunda folha verdadeira foram coletadas antes das infestações para análise dos marcadores de resistência, conforme Bezerra Neto e Barretos (2011). As folhas obtidas (0,5g) foram maceradas em nitrogênio líquido em almofariz contendo 25 mg de polivinilpirrolidona (PVP). Após a maceração, 2,5 mL de solução tampão de acetato (0,1 M, pH 5,0) e 0,5mL de Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) (1 mM) foram acrescentados e em seguida homogeneizados, inseridos em tubos de 2 uL e centrifugados a 10.000g por 10 min a 4 °C. Após a centrifugação, transferiu-se o sobrenadante para outro Eppendorf armazenando em ultra freezer (-80 °C) até o momento da avaliação da atividade enzimática. Essas análises foram realizadas de acordo com a metodologia de cada autor que a descreveu: peroxidase (BEZERRA NETO; BARRETOS, 2011); fenilalanina amônio-liase (UMESHA, 2006) e peróxido (QUADROS et al., 2019).

2.7 Análises Estatísticas

Os dados normalmente distribuídos foram analisados usando o teste Scott-Knott a 5% de significância por meio do programa Sisvar (Versão 5.6). Para os dados não normalmente distribuídos, foi empregado o teste Kruskal-Wallis a 5% de significância, utilizando o programa Jamov 2.3.26.

3 RESULTADOS

As análises das taxas de mortalidade larval e pupal revelaram que não houve diferenças significativas em relação aos tratamentos, tanto na indução por semente quanto na indução foliar. Contudo, observaram-se resultados positivos na taxa de preferência dos

tratamentos. No contexto dos tratamentos aplicados nas sementes (Figura 1), nas concentrações mais elevadas dos indutores (C1), o Acibenzolar (T8) exibiu uma notável inibição de 81% na taxa de infestação, seguido pelo extrato do produto à base de *Trichoderma* (T1) com 65,8%, extrato de *Liriomyza* (T4) com 60,3% e Nitroprussiato de Sódio (T6) com 41,3%. Na concentração subsequente (C2), observou-se uma inibição significativa nos tratamentos com Peróxido de Hidrogênio (T5) em 52,8%, Acibenzolar (T8) em 28,8%, extrato do produto à base de *Trichoderma* (T1) em 24,2% e extrato de *Liriomyza* (T4) em 22,8%. Na concentração mais baixa (C3), nenhum tratamento apresentou significância na inibição da infestação, exceto pelo aumento de 24,7% na taxa de infestação decorrente da aplicação do extrato de *Liriomyza* (T4) em relação ao grupo controle.

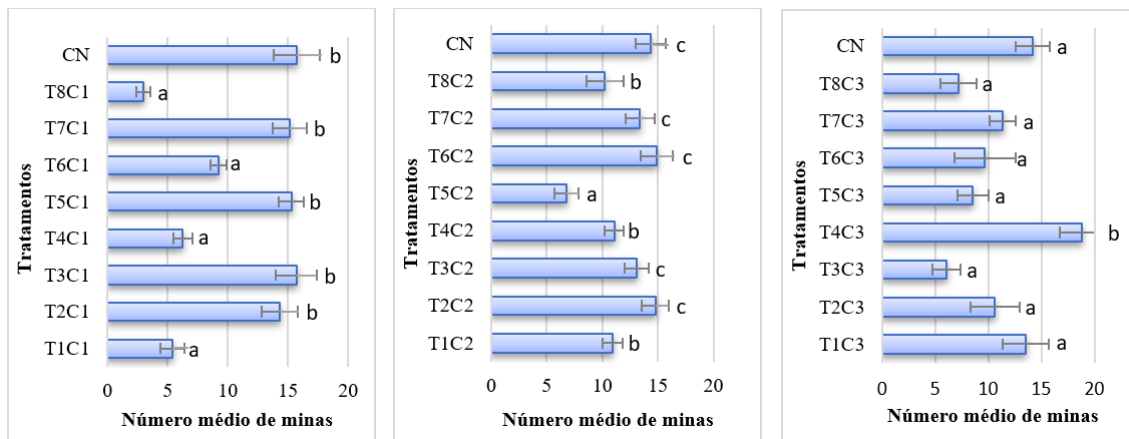


Figura 1. Número médio de minas produzidas por *L. sativae* em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via semente em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média e o erro padrão. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste de Scott-Knott. CN – Grupo controle. T1 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T2 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T3 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T4 – extrato de *Liriomyza sativae*. T5 – peróxido de hidrogênio. T6 – nitroprussiato de sódio. T7 – fosfito de potássio. T8 – acibenzolar-S-metilico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas. Fonte: O autor (2023).

No que tange aos tratamentos aplicados via foliar (Figura 2), todas as três concentrações de Acibenzolar (T16) provocaram uma redução significativa na taxa de preferência das moscas-minadoras, alcançando 57% (C1), 62% (C2) e 69,2% (C3). Na concentração mais alta, observou-se também uma inibição significativa da preferência nos tratamentos com Nitroprussiato de Sódio (T14) em 55,1% e com o extrato do produto à base de *Trichoderma* (T9) em 34,9%. A utilização de fosfito de potássio (T15) na segunda concentração aplicada resultou em uma inibição de 53,7%.

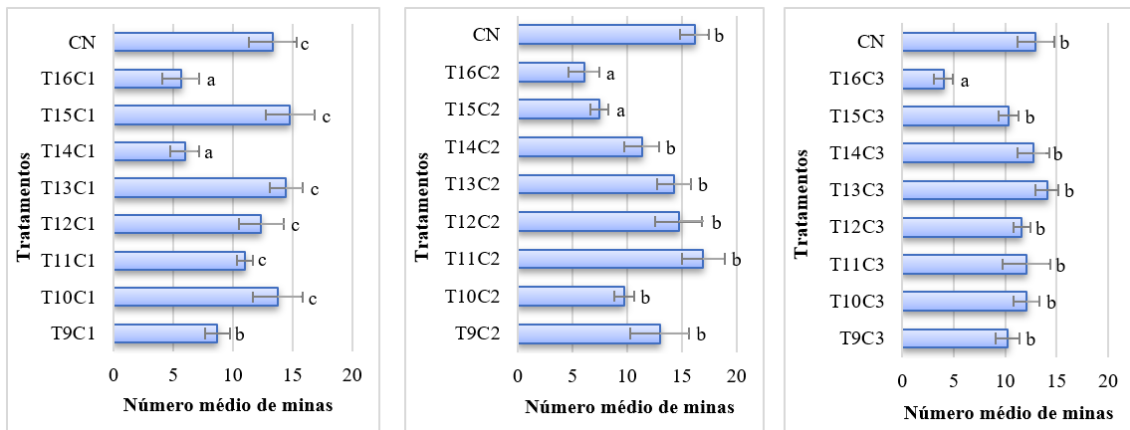


Figura 2. Número médio de minas produzidas por *L. sativae* em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via foliar em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média e o erro padrão. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste Scott-Knott. CN – Grupo controle. T9 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T10 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T11 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T12 – extrato de *Liriomyza sativae*. T13 – peróxido de hidrogênio. T14 – nitroprussiato de sódio. T15 – fosfito de potássio. T16 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas. Fonte: O autor (2023).

Em relação à atividade da enzima peroxidase nos tratamentos em sementes (Figura 3), os indutores e suas concentrações que se mostram estatisticamente diferentes das do grupo controle foram: o extrato do produto à base de *Trichoderma* (T1) exibiu um aumento de 150% na terceira concentração (C3); o Peróxido (T5) apresentou aumentos de 131% (C1), 120% (C2) e 109% (C3); o Nitroprussiato de Sódio (T6) mostrou aumentos de 224% (C2) e 142% (C3); e o Acibenzolar-S-Metílico (T8) revelou aumentos de 169% (C2) e 362% (C3).

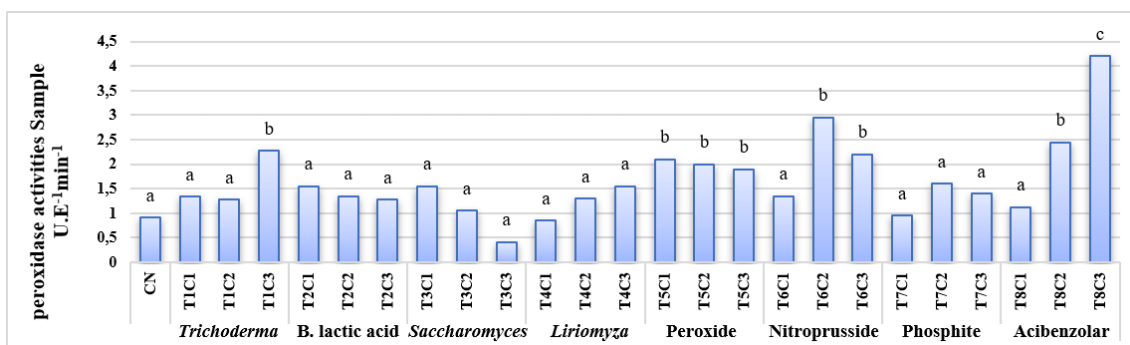


Figura 3. Atividades da peroxidase em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via semente em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média expressa em $U.E^{-1}min^{-1}$ de amostra. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste Scott-Knott. CN – Grupo

controle. T1 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T2 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T3 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T4 – extrato de *Liriomyza sativae*. T5 – peróxido de hidrogênio. T6 – nitroprussiato de sódio. T7 – fosfito de potássio. T8 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas. Fonte: O autor (2023).

Foi notável a maior atividade da peroxidase alcançada com o uso do Acibenzolar-S-metílico (ASM) na concentração mais baixa nas sementes. Na aplicação via foliar (Figura 4), Todos os tratamentos aplicados via foliar resultaram em aumentos nos níveis de peroxidase em relação ao controle: extrato do produto à base de *Trichoderma* (T9), com uma aumento de 128% (C1), 139% (C2) e 202% (C3); extrato do produto à base de bactérias ácido-láticas (T10) com um aumento de 154% (C1), 217% (C2) e 139% (C3); extrato de produtos à base de *Saccharomyces* (T11) com um aumento de 184% (C1), 135% (C2) e 281% (C3); extrato de *Liriomyza* (T12) com um aumento de 303% (C1), 180% (C2) e 195% (C3); Peróxido (T13) com um aumento de 210% (C1), 318% (C2) e 90% (C3); Nitroprussiato de Sódio (T14) com um aumento de 176% (C1), 165% (C2) e 154% (C3); Fosfito de Potássio (T15) com um aumento de 325% (C1), 187% (C2) e 109% (C3) e Acibenzolar (T16) com um aumento de 225% (C1), 217% (C2) e 105% (C3).

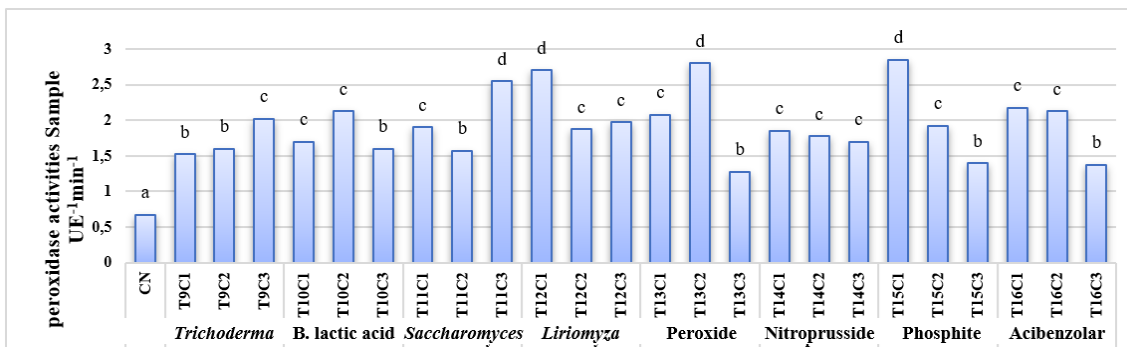


Figura 4. Atividades da peroxidase em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via foliar em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média expressa em $U.E^{-1}min^{-1}$ de Amostra. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste Scott-Knott. CN – Grupo controle. T9 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T10 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T11 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T12 – extrato de *Liriomyza sativae*. T13 – peróxido de hidrogênio. T14 – nitroprussiato de sódio. T15 – fosfito de potássio. T16 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas. Fonte: O autor (2023).

Quanto à atividade da enzima Fenilalanina Amônio-liase nos tratamentos em sementes (Figura 5), os indutores e suas concentrações que exibiram diferenças estatísticas em relação ao grupo controle incluíram o extrato do produto à base de *Trichoderma* (T1) com aumentos de 682% (C2) e 333% (C3); o extrato de produto à base de bactérias ácido-láticas (T2) com aumento de 235% (C2); o extrato de *Liriomyza* (T4) com aumento de 236% (C2); o Peróxido (T5) com aumento de 245% (C2); o Nitroprussiato de Sódio (T6) com aumento de 150% (C3); e o Fosfito de Potássio (T7) com aumentos de 248% (C1) e 221% (C2).

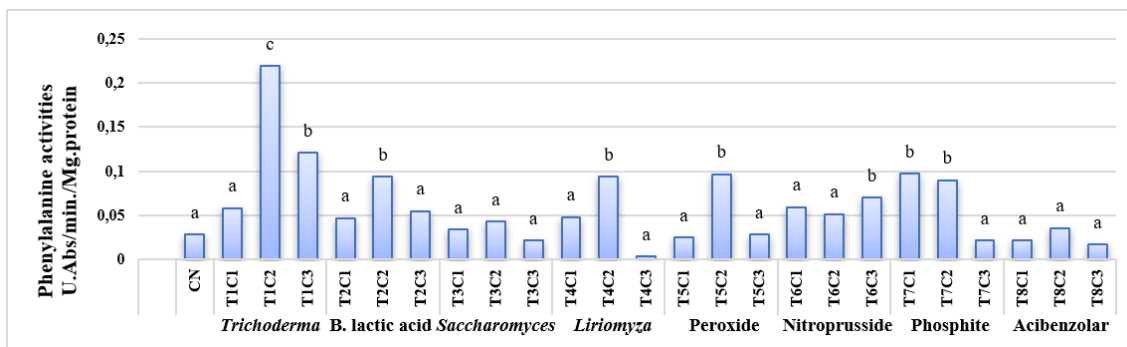


Figura 5. Atividades da Fenilalanina Amônio-liase em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via semente em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média expressa em U.Abs/min./Mg.proteína. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste Scott-Knott. CN – Grupo controle. T1 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T2 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T3 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T4 – extrato de *Liriomyza sativae*. T5 – peróxido de hidrogênio. T6 – nitroprussiato de sódio. T7 – fosfito de potássio. T8 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas. Fonte: O autor (2023).

Nas aplicações via foliar (Figura 6), os tratamentos significativos em relação ao controle incluíram o extrato do produto à base de *Trichoderma* (T9) com aumentos de 53% (C1) e 34% (C2); o extrato de produto à base de bactérias ácido-láticas (T10) com aumento de 285% (C2); o extrato de produtos à base de *Saccharomyces* (T11) com aumento de 95% (C3); o extrato de *Liriomyza* (T12) com aumentos de 234% (C1) e 162% (C2); o Peróxido (T13) com aumento de 127% (C1); o Nitroprussiato de Sódio (T14) com um aumento de 24% (C1), aumento de 174% (C2) e 21% (C3); o Fosfito de Potássio (T15) com aumento de 312% (C2) e 55% (C3). O tratamento mais eficaz para a Fenilalanina Amônio-liase em sementes foi o extrato do produto à base de *Trichoderma*, enquanto na aplicação foliar, o sucesso foi obtido

com os tratamentos de fosfito de potássio, extrato de *Liriomyza* e extrato do produto à base de bactérias ácido-láticas.

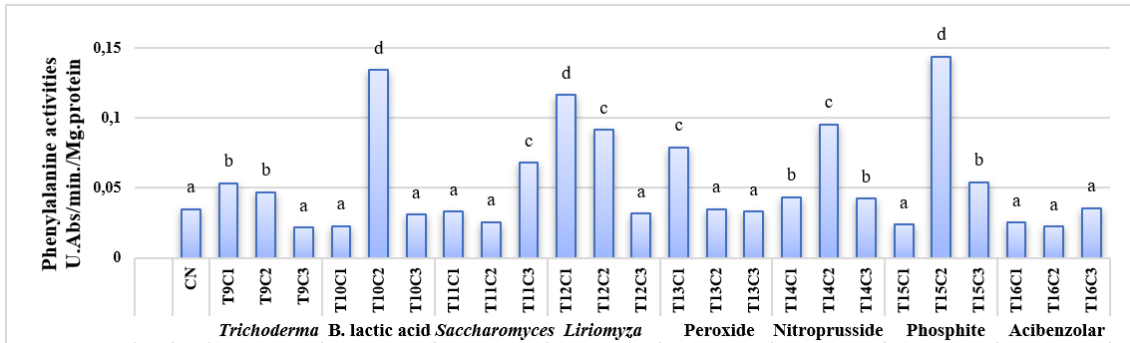


Figura 6. Atividades da Fenilalanina Amônio-liase em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via foliar em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média expressa em U.Abs/min./Mg.proteína. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste de Scott-Knott. CN – Grupo controle. T9 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T10 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T11 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T12 – extrato de *Liriomyza sativae*. T13 – peróxido de hidrogênio. T14 – nitroprussiato de sódio. T15 – fosfito de potássio. T16 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas. Fonte: O autor (2023).

Na avaliação da resposta das plantas ao peróxido nos tratamentos em sementes (Figura 7), os indutores e suas concentrações que diferiram significativamente do grupo controle foram: o extrato do produto à base de *Trichoderma* (T1) com reduções de -32% (C1), -41% (C2) e -41% (C3); o extrato de produto à base de bactérias ácido-láticas (T2) com aumento de 30% (C3); os extratos do produto à base de *Saccharomyces* (T3) com aumentos de 16% (C2) e 50% (C3); o extrato de *Liriomyza* (T4) com redução de -47% (C1) e aumento de 28% (C2); o Peróxido (T5) com aumentos de 141% (C1), 95% (C2) e 188% (C3); o Nitroprussiato de Sódio (T6) com aumentos de 62% (C1), 134% (C2) e 120% (C3); o Fosfito de Potássio (T7) com aumentos de 82% (C1), 48% (C2) e 58% (C3); e o Acibenzolar (T8) com aumentos de 161% (C1), 8% (C2) e 68% (C3).

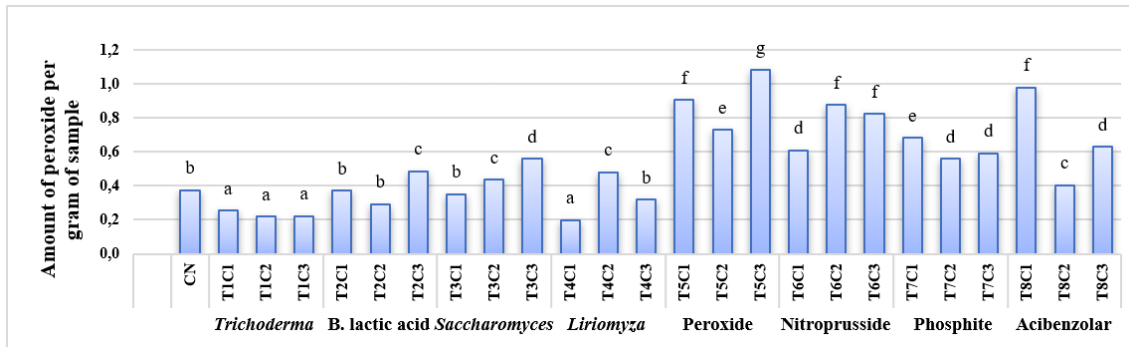


Figura 7. Quantificação de peróxido em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via semente em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média expressa em quantidade de peróxido por grama de amostra. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada pelo teste de Scott-Knott. CN – Grupo controle. T1 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T2 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T3 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T4 – extrato de *Liriomyza sativae*. T5 – peróxido de hidrogênio. T6 – nitroprussiato de sódio. T7 – fosfito de potássio. T8 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas.

Para os tratamentos aplicados via foliar (Figura 8), os que se destacaram em relação ao controle foram: o extrato do produto à base de *Trichoderma* (T9) com aumentos de 68% (C1), 93% (C2) e 73% (C3); o extrato de produto à base de bactérias ácido-láticas (T10) com aumentos de 41% (C1), 73% (C2) e 29% (C3); os extratos do produto à base de *Saccharomyces* (T11) com aumentos de 103% (C1), 100% (C2) e 90% (C3); o extrato de *Liriomyza* (T12) com aumento de 43% (C1) e 37% (C2); o Peróxido (T13) com aumentos de 52% (C1), 65% (C2) e 47% (C3); o Nitroprussiato de Sódio (T14) com aumentos de 63% (C1) e 54% (C3); o Fosfito de Potássio (T15) com aumentos de 37% (C1) e 62% (C2); e o Acibenzolar (T16) com redução de -11% (C2) e aumento de 18% (C3).

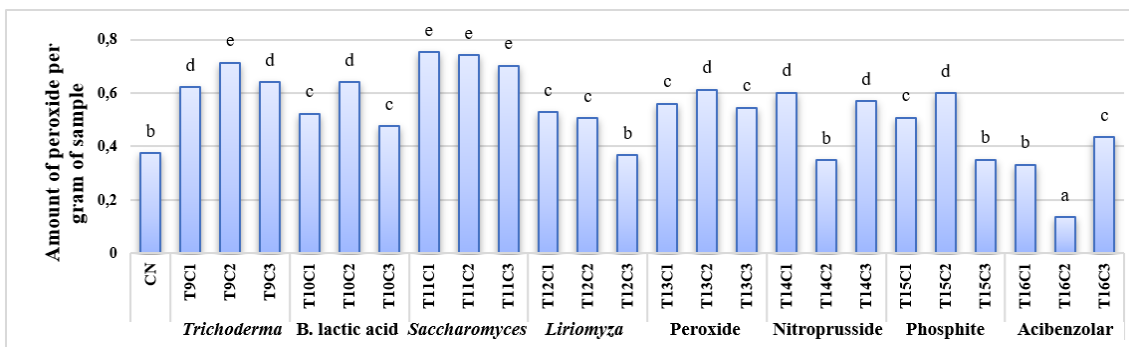


Figura 8. Quantificação de peróxido em plantas de meloeiro tratadas com os indutores avaliados por aplicação via foliar em três concentrações de cada um dos indutores. Barras indicam a média expressa em quantidade de peróxido por grama de amostra. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância avaliada teste de Scott-Knott. CN – Grupo controle. T9 – extratos de produtos à base de *Trichoderma*. T10 – extratos de produtos à base de bactérias ácido-láticas. T11 – extratos de produtos à base de *Saccharomyces*. T12 – extrato de *Liriomyza sativae*. T13 – peróxido de hidrogênio. T14 – nitroprussiato de sódio. T15 – fosfito de potássio. T16 – acibenzolar-S-metílico). C1, C2, C3 – concentrações utilizadas.

4 DISCUSSÃO

A eficácia dos compostos indutores em ativar mecanismos de resistência já foi documentada contra uma variedade de pragas em diversas culturas (DURNER et al., 1998; BONALDO, 2005; CAVALCANTI et al., 2006; SANTOS et al., 2011; SUN et al., 2018; MOUTASSEM et al., 2020; MACEDO et al., 2021). Entretanto, neste estudo, os efeitos sobre a taxa de mortalidade de larvas e pupas de *L. sativae* não foram estatisticamente significativos para os indutores avaliados. Este resultado pode estar relacionado com a biologia do inseto, uma vez que seu metabolismo pode possuir vias de resistência próprias mais complexas contra as substâncias liberadas pela planta, conferindo-lhe uma maior adaptabilidade a esses mecanismos induzidos.

Nombela et al. (2005), ao investigarem a aplicação do Acibenzolar-S-Metílico em plantas de tomate, relataram uma indução de resistência contra a mosca branca (*B. tabaci*). Segundo esses pesquisadores, a eficácia do indutor estava relacionada com a concentração do produto aplicado. Eles observaram resistência quando o produto foi aplicado a concentrações de 0,2 ou 0,4 g L⁻¹, enquanto que não houve resistência significativa quando aplicado a 0,1 g L⁻¹ com os tratamentos feitos cinco dias antes das infestações. Portanto, o tempo de exposição do indutor e sua concentração são fatores importantes (AGNELLI, 2011) que podem influenciar o tipo de organismo ao qual o indutor pode conferir resistência. Provavelmente, aumentar o tempo de exposição, o tempo de aplicação do indutor antes da infestação ou aumentar a concentração dos produtos poderiam ser chaves para alcançar resistência contra a mosca-minadora utilizando os indutores avaliados.

Diversos fatores podem desencadear uma resposta de antixenose, incluindo fatores biofísicos, visuais e bioquímicos, que resultam na preferência ou não de um hospedeiro (PANDA; KHUSH, 1995). Portanto, informações sobre o uso de substâncias que

desencadeiam a expressão de antixenose são cruciais para compreender as vias e unidades que promovem essa resistência.

Com base nos resultados obtidos, fica evidente que a maior indução de respostas de inibição de preferência foi observada com o tratamento em sementes em comparação com o tratamento foliar. Santos et al. (2022) identificaram uma abordagem combinada de tratamento de sementes e aplicação foliar como a mais eficaz ao avaliarem os efeitos da aplicação de Acibenzolar-S-Metílico contra a podridão da raiz do meloeiro causada por *Macrophomina* spp. Essa capacidade de indução encontrada em sementes pode estar relacionada à durabilidade dessa resposta. Células em estágios iniciais de desenvolvimento nas sementes têm uma resposta rápida ao ambiente, determinando a capacidade de desenvolvimento planejada inicialmente, com expressão de vias e funcionalidades fisiológicas que não ocorreriam sem essas interações. Assim, essa resposta se mantém durante todo o crescimento da planta, sendo mais eficaz do que a indução foliar, que é uma resposta mais efêmera e muitas vezes dependente das concentrações e do tempo de exposição ao indutor.

Em relação aos tipos de indutores, todos os indutores químicos resultaram em uma resposta de antixenose. Entretanto, entre os indutores biológicos, somente os extratos à base de *Trichoderma* e *Liriomyza* tiveram esse efeito. Esses resultados evidenciam os efeitos de resistência resultantes da interação entre as substâncias produzidas pela própria praga causadora do dano.

O tratamento que mais impactou na redução da preferência foi o uso de Acibenzolar-S-Metílico, com a taxa de inibição mais alta (81%) quando aplicado na concentração de 0,1 mg/mL no tratamento em sementes. No entanto, somente a concentração de 0,025 mg/mL em sementes não teve efeito de inibição. No estudo conduzido por Locateli (2017), que investigou os efeitos da oviposição da mosca branca em plantas de soja utilizando o Acibenzolar-S-Metílico aplicado nas folhas na mesma concentração empregada neste estudo, foi constatada uma taxa de inibição semelhante (60%) àquela observada com a mosca-minadora. Por outro lado, em pesquisa realizada por Michereff Filho et al. (2021), que utilizou essa mesma substância como indutor de antixenose em plantas de tomateiro em relação à mosca branca, não foram obtidos resultados de inibição. Essas variações de efeito podem ser atribuídas à dosagem adequada do indutor, que deve estar dentro da faixa recomendada para cada cultura, uma vez que dosagens muito altas podem prejudicar o desenvolvimento da resistência, afetando a produção de frutos (PONTES et al., 2016).

Macagnan (2007) relatou que a atividade do Acibenzolar-S-Metílico está ligada ao aumento das atividades e expressões gênicas de enzimas como a fenilalanina amônia-liase,

peroxidase, cinamato 4-hidroxilase, dentre outros, levando ao acúmulo de substâncias fenólicas e lignina via fenilpropanoide (XU et al., 2019; ZHANG et al., 2021). Esse acúmulo já foi observado no uso de acibenzolar-S-Metílico em culturas de frutas, como pêssgo (LIU et al., 2005), manga (ZHU et al., 2008), banana (ZHU et al., 2007) e melão (ZHANG et al., 2011).

O Nitroprussiato de Sódio reduziu significativamente a taxa de preferência tanto no tratamento em sementes (41,3%) quanto no tratamento foliar (55,1%), mas apenas na concentração mais elevada (1,5 mM). Esse composto libera óxido nítrico, uma espécie reativa fundamental nas respostas de defesa das plantas. O óxido nítrico ativa a expressão de vários genes de defesa da planta (ROMERO-PUERTAS et al., 2004; HUANG et al., 2004; BOSTOCK, 1999; PEDROSO et al., 2000). Wang et al. (2021) também constataram que o Nitroprussiato de Sódio ativa respostas de defesa em meloeiros a indução de resistência contra a podridão rosa causada por *Trichothecium reseau*, aumentando a produção de peróxido de hidrogênio e a atividade de enzimas como a catalase, peroxidase e fenilalanina amônia-liase dentre outros.

Para o peróxido de hidrogênio, houve inibição apenas na aplicação em sementes na segunda concentração testada (0,5 mM). Embora seu uso possa ser prejudicial para as células, concentrações adequadas podem desencadear respostas de estresse e defesa nas plantas (MITTLER, 2011; NEILL et al., 2002). Níveis baixos de H_2O_2 podem induzir sinais sutis de estresse que ajudam a atenuar estresses mais intensos. No entanto, concentrações mais elevadas podem causar estresse extremo e levar à morte celular (RUTSCHOW, BASKIN e KRAMER, 2011).

Quanto ao fosfito de potássio, somente um tratamento foliar (2,5 uL/mL) foi eficaz na inibição da preferência (53,7%). Efeitos positivos também foram observados em outras pesquisas com esse composto. Venter et al. (2014) observaram uma diminuição do pulgão do trigo (*Diuraphis noxia*) em plantas de trigo tratadas com fosfito de potássio. Patterson e Alyokhin (2014) relataram efeitos em besouros (*Leptinotarsa decemlineata*) em batatas.

O extrato à base de *Trichoderma*, quando aplicado às sementes, apresentou taxas de inibição da preferência de 65,8% e 24,2% nas concentrações de 10^9 e 10^8 esporos, respectivamente. Dildey (2017) demonstrou que a purificação de moléculas por cromatografia do extrato de *Trichoderma longibrachiatum* induziu resistência à antracnose em feijoeiros. Metabólitos de *Trichoderma* também demonstraram atividade inseticida contra pulgões (SHAKERI; FOSTER, 2007; EVIDENTE et al., 2009) e foram relacionados a efeitos entomopatogênicos (VARGAS et al., 2014). Segundo Sabatini et al. (2012), é de grande

destaque o poder dissuasivo de alguns metabólitos de *Trichoderma* contra insetos praga e a possibilidade de criar pesquisas que explorem efeitos dos metabólitos para atração de predadores e parasitoides dessas pragas (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2018). Essa atividade dos metabólitos de *Trichoderma* contribuirá para a produção de novas gerações de bioestimulantes e bioprotetores mais efetivos e ecologicamente mais adequados do que os existentes atualmente (MARRA et al., 2019).

Um resultado peculiar surgiu ao usar o próprio extrato da mosca-minadora. Na concentração mais alta (10 mg/mL) no tratamento de sementes, houve uma inibição da infestação em 64%. No entanto, a concentração mais baixa mostrou níveis superiores de infestação (24,7%) em relação ao controle. Esse resultado pode ser atribuído ao baixo conteúdo de metabólitos no extrato menos concentrado. Esses metabólitos provavelmente não possuem a capacidade de inibir, e a baixa concentração pode desencadear uma cascata de reações que não resultam em inibição, mas sim atração para os insetos após o crescimento da planta. Isso sugere a possibilidade de uma sinalização das moscas causada pelo próprio mecanismo das plantas, levando a uma maior predisposição ao ataque inicial e a respostas sutis detectáveis pela mosca-minadora.

Embora todos os indutores tenham ativado marcadores como a peroxidase e a fenilalanina amônio-liase, e aumentado o peróxido, esses marcadores não foram relacionados com a taxa de mortalidade das larvas e pupas. Da mesma forma, não houve relação entre o aumento desses marcadores e a inibição da preferência da mosca-minadora. Rani e Pratyusha (2013) observaram um aumento nas enzimas oxidativas em plantas de algodão infestadas por *Spodoptera litura*. Vários outros estudos também relataram altos níveis dessas enzimas durante ataques de pragas (CAVALCANTI et al., 2006; GOLAN et al., 2013; SIGH et al., 2013).

Diante disso, embora a literatura contenha poucos relatos sobre a indução de resistência de plantas contra insetos-praga, os resultados deste estudo com os compostos utilizados sugerem uma taxa positiva de inibição de preferência. Além disso, houve uma taxa positiva dessa inibição utilizando extratos de produtos à base de *Trichoderma*, demonstrando a capacidade de substâncias biológicas em produzir efeitos semelhantes aos químicos, sugerindo assim uma alternativa viável às substâncias químicas na agricultura.

Em resumo, este estudo proporciona um insight esclarecedor sobre o potencial das estratégias de indução na proteção das culturas de meloeiro contra a mosca-minadora. As descobertas aqui apresentadas têm implicações práticas significativas para a agricultura, especialmente no contexto da busca por alternativas sustentáveis aos métodos tradicionais de

controle de pragas. Os resultados positivos nas taxas de preferência ressaltam o valor dessas abordagens como parte integrante de um manejo integrado de pragas, promovendo a produtividade e a saúde das culturas de forma mais eficaz e ecologicamente viável.

REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, D. B. et al. Diagnostic detection systems and QuEChERS methods for multiclass pesticide analyses in different types of fruits: An overview from the last decade. **Food Chemistry**, v. 298, p. 1249-1258. 2019.
- ALVES, R. E. Melão, pós-colheita. Fortaleza: **Embrapa agroindústria tropical** (Frutos do Brasil, 10), 2000.
- AGNELLI, A. R. **Potencial de agentes indutores de resistência para o controle da bactéria *Candidatus Liberibacter asiaticus* em plantas cítricas**. 2011. 44f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Fundo de Defesa da Citricultura, Araraquara, 2011.
- ARAUJO, E. L.; COSTA, E. M.; MOURA FILHO, E. R. et al. Efeito de inseticidas sobre a mosca-minadora (Diptera: Agromyzidae), quando aplicado durante a fase de ovo. **Agropecuária Científica no Semi-árido**, v. 8, p. 18-22, 2012.
- AZEVEDO R. A. et al. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, p. 280–292. 1998.
- BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L. P. **Análises químicas e bioquímicas em plantas**. CEP, v. 52171, p. 900, 2011.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** v. 72, p. 248–254. 1976.
- BONALDO, S. M. **Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na síntese de fitoalexinas em sorgo, na germinação e formação de apressórios por fungos fitopatogênicos e na proteção de pepino a *Colletotrichum lagenarium* e sorgo a *Colletotrichum sublineolum***. 2005. 150f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.
- BOSTOCK, R. M. Signal conflicts and synergies in induced resistance to multiple attackers. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 55, p. 99-109, 1999.
- CAO, A. et al. Effect of long-term feeding by borers on the antibiotic properties of corn stems. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, p. 1439–1446. 2019.
- CAVALCANTI, et al. Acibenzolar-S-Metil e Ecolife® na indução de respostas de defesa do tomateiro contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). **Fitopatologia brasileira**, p. 31, v. 31, n. 4, p. 372-380, 2006.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A. et al. *Trichoderma atroviride*, a maize root associated fungus, increases the parasitism rate of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* by its

- natural enemy *Campoletis sonorensis*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 122, p. 196-202, 2018.
- COSTA, E. M. et al. Extrato aquoso de sementes de nim no controle de *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) em meloeiro. **Revista Ciências Agronômicas**, v. 47, n. 2, p.401-406. 2016.
- DALLAGNOL L. J. et al. Utilização de acibenzolar-S-metil para controle de doenças foliares da soja. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 255-259, 2006.
- DAS, K. R. et al. Biology of vegetable leaf miner (*Liriomyza sativa* Blanchard) on yard long bean. **International Journal of Entomology Research**, v. 7, n. 12, p. 107-111, 2022.
- DI PIERO, R. M. et al. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005.
- DILDEY, O. D. F. **Indução de resistência à antracnose do feijoeiro por frações de filtrado de cultura e extrato de micélio de *Trichoderma longibrachiatum***. 2017. 100f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2017.
- DURNER, J.; WENDEHENNE, D.; KLESSIG, D. F. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP ribose. **Proceedings of the National Academy of Science of United States of America**, v. 95, p. 10328-33, 1998.
- EVIDENTE, A et al. Bisorbicillinoids produced by the fungus *Trichoderma citrinoviride* affect feeding preference of the aphid *Schizaphis graminum*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 5, p. 533-541, 2009.
- FERREIRA, R. R. et al. Sources and inheritance of leafminer resistance in yellow melon accessions. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 35, n. 4, p. 754, 2022.
- FERNANDES, O. A. **Sistema de produção melão**. Disponível em: <http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/artigo.php?op=6&i=3&si=82&ar=2280>. Acesso em: 22 dez. 2022.
- GOLAN, K.; RUBINOWSKA, K.; GÓRSKA-DRABIK, E. Physiological and biochemical responses of fern *Nephrolepis biserrata* (SW.) Schott. to *Coccus hesperidum* L. infestation. **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 55, p. 93-98, 2013.
- HARMAM, G. E. et al. Trichoderma species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 43-56, 2004.
- HOSSAIN, M. B.; POEHLING, H. M. Non-target effects of three biorationale insecticides on two endolarval parasitoids of *Liriomyza sativae* (Dipt. Agromyzidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 130, n. 2, p. 360-367. 2006.
- HOWE, G. A.; JANDER, G. Plant immunity to insect herbivores. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 41–66. 2008.
- HUANG, X. et al. Nitric oxide is induced by wounding and influences jasmonic acid signaling in *Arabidopsis thaliana*. **Planta**, v. 218, p. 938-946. 2004.

- IBGE. **Produção agrícola municipal**: culturas temporárias e permanentes. 2022. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612>>. Acesso em: 07 out. 2022.
- KESSMANN, H. et al. CGA245704: Mode of action of new plant activator. In: International Plant Protection Congress, Proceedings... **The Hague The Netherlands**. ISPP. p. 2-7. 1995.
- LEMOS, L. J. U. et al. Evidence for coabundance of leafminer flies and whiteflies in melon crops. *Bragantia*, 80.2021.
- LIU, H. X. et al. Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. cv. Jiubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms. **Postharvest Biol. Technol.**, v. 35, p. 263–269, 2005.
- MACAGNAN, D. Indução de Resistência e Biocontrole em Cacaueiro. In: RODRIGUES, F. Á. et al. Indução de resistência em plantas a patógenos. **Anais da III Reunião Brasileira Sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos**. Viçosa, MG, 2007.
- MARRA, R. et al. Application of *Trichoderma* strains and metabolites enhances soybean productivity and nutrient content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 7, p. 1814-1822, 2019.
- MICHEREFF FILHO, M. et al. **Efeito de produtos usados como indutores de resistência sobre *Bemisia tabaci* (Genn.) MEAM1 (Hemiptera: Aleyrodidae)**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças: Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, v. 237, 2021. 28 p.
- MINKENBERG, O. P. J. M.; LENTEREN, J. C. V. The leafminers *Liriomyza bryoniae* and *L. trifolii* (Diptera: Agromyzidae), their parasites and host plants: a review. **Agriculture University Wageningen Papers**, Wageningen, v. 86, n. 2, p. 1-50, 1986.
- MITCHELL, C., et al. Plant defense against herbivorous pests: Exploiting resistance and tolerance traits for sustainable crop protection. **Frontiers of Plant Science**, v. 7, p. 11-32, 2016.
- MITTLER, R. et al. ROS signaling: the new wave? **Trends Plants Science**, Oxford, v. 16, n. 6, p. 300-309, 2011.
- MOUTASSEM, D.; BELABID, L.; BELLIK, Y. Efficiency of secondary metabolites produced by *Trichoderma* spp. in the biological control of *Fusarium* wilt in chickpea. **Journal of Crop Protection**, v. 9, n. 2, p. 217-231, 2020.
- NEILL, S. J. et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 372, p. 1237-1247, 2002.
- PANDA, N.; KHUSH, G. S. **Host plant resistance to insects**. Wallingford: CAB International. 1995.
- PATTERSON, M.; ALYOKHIN, A. Survival and development of Colorado potato beetles on potatoes treated with phosphite. **Crop Protection**, v. 61, p. 38-42, 2014.
- PEDROSO, M. C.; MAGALHÃES, J. R.; DURZAN, D. Nitric oxide induces cell death in *Taxus* cell. **Plant Science**, v. 157, p. 173-180, 2000.

- PENHA, T. A. M; ALVES, H. C. Desempenho das exportações do melão potiguar e cearense: uma análise de constant market share. **Revista de Estudos Sociais**, Cuiabá, v. 20, n. 41, p. 233-256, 2018.
- PONTES, N. C. et al. Intervals and number of applications of acibenzolar-S-methyl for the control of bacterial spot on processing tomato. **Plant Disease**, v. 100, n. 10, p. 2126-2133, 2016.
- QUADROS, F. M.; GARCÉS-FIALLOS, F. R.; BORBA, M. C.; FREITAS, M. B.; STADNIK, M. J. *Fusarium oxysporum* affects differently the hydrogen peroxide levels and oxidative metabolism in susceptible and resistant bean roots. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 106, p. 1-6, 2019.
- RANI, P. U.; PRATYUSHA, S. Defensive role of *Gossypium hirsutum* L. anti-oxidative enzymes and phenolic acids in response to *Spodoptera litura* F. feeding. **Journal of Asia Pacific Entomology**, v. 16, p. 131-136, 2013.
- ROMERO-PUERTAS, M. C.; PERAZZOLLI, M.; ZAGO, E.; DELLEDONNE, M. Nitric oxide signalling functions in plant pathogen interaction. **Cellular Microbiology**, v. 6, p. 795-803. 2004.
- RUTSCHOW, H. L.; BASKIN, T. I.; KRAMER, E. M. Regulation of solute flux through plasmodesmata in the root meristem. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 155, p. 1817-1826, 2011.
- SABATINI, M. A. et al. **Phagodeterrent compounds of fungal origin**. EP 2706846 A1, US 20140228448 A1, WO 2012153314 A1, 14 May 2012, 15 Nov. 2012.
- SANTOS, A. A. et al. **Doenças do meloeiro em áreas irrigadas no estado do Ceará**. Fortaleza: EMBRAPA Agroindustrial Tropical, 11 p. (Boletim de Pesquisa, 35). 2000.
- SANTOS, F. J. Q. et al. Analyzing the role of acibenzolar-s-methyl as a possible inducer of resistance against root rot disease and the decline in melon branches. **Tropical Plant Pathology**, v. 47, p. 776–785, 2022.
- SANTOS H. Á. A. et al. Controle de doenças do trigo com fosfitos e acinbenzolar-s-metil isoladamente ou associados a piraclostrobina + epoxiconazole. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 32, p. 433-442, 2011.
- SCOTT, M. I.; THALER, S. J.; SCOTT, G. F. Response of a generalist herbivore *Trichoplusia ni* to jasmonate-mediated induced defense in tomato. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, p. 490–499, 2010.
- SHAKERI, J.; FOSTER, H. A. Proteolytic activity and antibiotic production by *trichoderma harzianum* in relation to pathogenicity to insects. **Enzyme And Microbial Technology**, v. 40, n. 4, p. 961-968, 2007.
- SILVA, F. S. Standardized sampling plan for common blossom thrips management in melon fields from north Brazil. **Crop Protection**, v. 134, p. 105-179, 2020.
- SILVA, V. N. et al. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 46, n. 12, p. 1609-1618, 2011.

SIMÕES, K.; DIETRICH, S. M. C.; HAHN, M. G.; BRAGA, M. R. Purification and characterization of a phytoalexin elicitor from spores of the saprobe *Mucor ramosissimus*. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, p. 735-744, 2005.

SINGH, H.; DIXIT, S.; VERMA, P. C.; SINGH P. K. Differential peroxidase activities in three different crops upon insect feeding. **Plant Signaling & Behavior**, v. 8, e. 25615-1–e, 25615-7, 2013.

STADNIK, M. Indução de resistência a oídios. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, Campinas. **Anais do Congresso Paulista de Fitopatologia**, v. 23, p. 176-181, 2000.

SUN, C. et al. Chitin isolated from yeast cell wall induces the resistance of tomato fruit to *Botrytis cinerea*. **Carbohydrate Polymers**, v. 199, p. 341–352, 2018.

THUERIG, B.; FÉLIX, G.; BINDER, A.; BOLLER, T.; TAMM, L. An extract of *Penicillium chrysogenum* elicits early defense-related responses and induces resistance in *Arabidopsis thaliana* independently of known signalling pathways. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 67, p. 180-193, 2005.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 34, n. 1, p.68-71, 2006.

VARGAS, W. A.; MANDAWA, J. C.; KENERLEY, C. M. Plant-derived sucrose is a key element in the symbiotic association between *Trichoderma virens* and maize plants. **Plant Physiology**, v. 151, n. 2, p. 792-808, 2009.

VENTER, E.; MANSOOR, C. V.; SIBISI, P.; BOTHA, A. M. Potassium phosphate induces tolerance against the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*, Homoptera: Aphididae) in wheat. **Crop Protection**, v. 61, p. 43-50, 2014.

WALTERS, D.; WALSH, D.; NEWTON, A.; LYON, G. Induced resistance for plant disease control: maximizing the efficacy of resistance elicitors. **Phytopathology**, Lancaster, v. 95, p.1368-1373, 2005.

WANG, B.; HE, X.F.; BI, Y. Preharvest sprays with sodium nitroprusside induce resistance in harvested muskmelon against the pink rot disease. **Journal Food Process Preservation**, v. 45, p. 15339, 2021.

XU, D. D. *et al.* Efficacy and potential mechanisms of benzothiadiazole inhibition on postharvest litchi downy blight. **Postharvest Biology and Technology**, v. 181, p. 1116-60, 2021.

XU, J. et al. Effect of nitrous oxide against *Botrytis cinerea* and phenylpropanoid pathway metabolism in table grapes. **Scientia Horticulturae**, v. 254, p. 99–105, 2019.

ZHANG, R. et al. Ca²⁺ applications affect the phenylpropanoid metabolism in potato tubers induced by T-2 toxin. **Postharvest Biology Technology**, v. 180, p. 111616. 2021.

ZHANG, Z. K. *et al.* Multiple pre-harvest treatments with acibenzolar-S-methyl reduce latent infection and induce resistance in muskmelon fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 130, p. 126-132, 2011.

ZHAO, L. Y. et al. Biochemical and molecular characterizations of *Sitobion avenae*-induced wheat defense responses. **Crop Protection**, v. 28, p. 435–442. 2009.

ZHU, S. J.; MA, B. C. Benzothiadiazole- or methyl jasmonate-induced resistance to *Colletotrichum musae* in harvested banana fruit is related to elevated defense enzyme activities. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 82, p. 500–506, 2007.

ZHU, X.; CAO, J.; WANG, Q.; JIANG, W. Postharvest infiltration of BTH reduces infection of mango fruits (*Mangifera indica* L. cv. Tainong) by *Colletotrichum gloeosporioides* and enhances resistance inducing compounds. **Journal of Phytopathology**, v. 156, p. 68–74 2008.