



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA**

**ITALO JUAN LIMA FERREIRA**

**ESTUDO DA INTERAÇÃO *Liriomyza sativae* – MELOEIRO POR MEIO DE  
METABOLÔMICA, UTILIZANDO RMN**

**FORTALEZA**

**2024**

ITALO JUAN LIMA FERREIRA

ESTUDO DA INTERAÇÃO *Liriomyza sativae* – MELOEIRO POR MEIO DE  
METABOLÔMICA, UTILIZANDO RMN

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia / Genética e Melhoramento de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Antonio Souza de Aragão.

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

F441e Ferreira, Italo Juan Lima.  
Estudo da interação *Liriomyza sativae* – meloeiro por meio de metabolômica, utilizando RMN / Italo Juan Lima Ferreira. – 2024.  
67 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2024.  
Orientação: Prof. Dr. Fernando Antonio Souza de Aragão.

1. Cucumis melo L.. 2. *Liriomyza sativae*. 3. Metabolômica. 4. Ressonância magnética nuclear. I. Título.  
CDD 630

---

ITALO JUAN LIMA FERREIRA

ESTUDO DA INTERAÇÃO *Liriomyza sativae* – MELOEIRO POR MEIO DE  
METABOLÔMICA, UTILIZANDO RMN

Dissertação apresentada ao Programa e Pós-graduação em Agronomia, Mestrado em Fitotecnia, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia.  
Área de concentração: Fitotecnia / Genética e Melhoramento de Plantas.

Aprovada em: 29/02/2024.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Fernando Antonio Souza de Aragão (Orientador)  
Embrapa Agroindústria Tropical/UFC

---

Dra. Ariana Veras de Araújo  
Embrapa Agroindústria Tropical/UFC/FUNCAP

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Renata Fernandes de Matos  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Lorena Mara Alexandre e Silva  
Embrapa Agroindústria Tropical

---

Dra. Arlene Santisteban Campos  
Embrapa Agroindústria Tropical/CENA-USP/CNPq

À minha Família e DEUS.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Elizabete Neide Lima de Freitas e Francisco Reginaldo Ferreira do Nascimento que acreditaram nas minhas ideias, ajudaram-me nas dificuldades e sempre estiveram ao meu lado, sou grato a Deus por tudo que vocês me ensinaram e continuam ensinando.

À minha companheira e amiga Luciana de Moraes Silva que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, bons e ruins.

À minha madrinha Márcia Rodrigues e ao meu padrinho Marcelo Rodrigues, assim como aos seus pais Luisinha e Luis que me acolheram e sempre estiveram disponíveis em momentos complicados, sendo um apoio fundamental.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) por toda a estrutura.

Ao meu orientador Dr. Fernando Aragão pelos conselhos e todo o esforço possível, a Dra. Elaine Celin, Dra. Karla Nascimento e a Dra. Ariana Veras toda a minha gratidão pelo conhecimento compartilhado. Ao Grupo de Pesquisa em Melhoramento e Recursos Genéticos do Meloeiro. À Dra. Lorena e a Rita que foram fundamentais nas análises. Claudios, Mateus, Rafael, Fabiana e Thalita também são parte desse trabalho.

À Universidade Federal do Ceará (UFC) por me propiciar tanto.

Aos meus amigos de PPGAF que facilitaram e propiciaram um ambiente mais tranquilo para se desenvolver as atividades teóricas e práticas, tornando o conhecimento mais palpável e de assimilação mais rápida.

Aos meus amigos da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Ceará (EMATERCE) e da Agência de Defesa Agropecuária do Ceará (ADAGRI) do escritório de Boa Viagem/CE é uma satisfação ter tantos profissionais qualificados na vivência.

Aos meus amigos, professores bem como ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFCE – Campus Iguatu) por me proporcionarem uma visão mais abrangente e qualificada da nossa área e me auxiliarem em várias escolhas.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Aos meus amigos em geral e ao SPFC.

Por fim, a Deus que me propiciou as melhores condições e pessoas possíveis ao meu lado para conseguir superar as dificuldades e conquistar meus objetivos.

“A agricultura é a arte de saber esperar”  
(Ricardo Bacchelli).

## RESUMO

O melão (*Cucumis melo* L.) possui importância socioeconômica no Semiárido brasileiro, que concentra mais de 95% desse agronegócio. Modernas tecnologias de cultivo aliadas às condições edafoclimáticas e a janela internacional favorável às exportações brasileiras resultam em plantios intensos e consecutivos, o que favorece a problemas fitossanitários, com destaque para a mosca-minadora (*Liriomyza sativae* Blanchard), o principal problema de cultivo e responsável por 15% dos custos de produção. Nesse cenário, a Embrapa vem concentrando esforços na identificação de fontes de resistência e em estratégias para introgressão da resistência em linhagens e híbridos-elite por meio de estratégias convencionais e biotecnológicas como a caracterização de metabólitos em genótipos de meloeiros resistentes e suscetíveis à mosca-minadora. Assim, o objetivo desse estudo foi associar o perfil de metabólitos primários à reação de resistência por antibiose e/ou a suscetibilidade à *L. sativae* por meio da análise metabolômica de folhas de genótipos de meloeiros. Para tanto, cinco genótipos de meloeiro (linhagens resistentes e suscetíveis do BAGMEL 56 e do CNPH 00-915 e o híbrido comercial resistente Tântalo) foram submetidas à infestação controlada com mosca-minadora e realizada a coleta de folhas antes da infestação (tempo 0); três dias após a infestação em gaiolas com adultos da mosca (tempo 1.a); e três dias após a infestação em gaiolas sem adultos da mosca (tempo 1.b). As folhas coletadas foram imediatamente pesadas, congeladas em N<sub>2</sub> líquido, armazenadas em freezer a -80 °C e, submetidas a análise metabolômica por meio de Ressonância Magnética Nuclear, no LMQPN. Foram identificados os seguintes grupos metabólicos nos genótipos analisados: ácidos orgânicos, aminoácidos, carboidratos e outros compostos. Com destaques para os metabólitos: ácido fórmico, treonina e valina que não foram identificados em todos os genótipos. O principal metabólito primário associado à resistência foi o metanol e à suscetibilidade foi o ácido acético.

**Palavras-chave:** *Cucumis melo* L; *Liriomyza sativae*; metabolômica; ressonância magnética nuclear.

## ABSTRACT

Melon (*Cucumis melo* L.) has socioeconomic importance in the Brazilian semi-arid region, which accounts for more than 95% of this agribusiness. Modern cultivation technologies combined with edaphoclimatic conditions and the international window favorable to Brazilian exports result in intense and consecutive plantings, which favors phytosanitary problems, especially the leafminer fly (*Liriomyza sativae* Blanchard), the main cultivation problem and responsible for 15% of production costs of production. In this scenario, Embrapa has been concentrating efforts on identifying sources of resistance and on strategies for introducing resistance into lineages and elite hybrids through conventional and biotechnological strategies such as characterization of metabolites in melon genotypes resistant and susceptible to the leafminer fly. Thus, the objective of this study was to associate the profile of primary metabolites with the resistance reaction due to antibiosis and/or susceptibility to *L. sativae* due to through metabolomic analysis of leaves from melon genotypes. To this end, five melon genotypes (resistant and susceptible lines of BAGMEL 56 and CNPH 00-915 and the resistant commercial hybrid Tântalo) were subjected to controlled infestation with leafminer flies and leaves were collected before infestation (time 0); three days after infestation in cages with fly adults (time 1.a); and three days after infestation in cages without fly adults (time 1.b). The collected leaves were immediately weighed, frozen in liquid N<sub>2</sub>, stored in a freezer at -80 °C and subjected to metabolomic analysis using Nuclear Magnetic Resonance, at LMQPN. The following metabolic groups were identified in the analyzed genotypes: organic acids, amino acids, carbohydrates and other compounds. With highlights for the metabolites: formic acid, threonine and valine which were not identified in all genotypes. The main primary metabolite associated with resistance was methanol and with susceptibility was acetic acid.

**Keywords:** *Cucumis melo* L.; *Liriomyza sativae*; metabolomics; nuclear magnetic resonance.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Folhas de meloeiros resistente (R) e suscetíveis (S), após infestação com <i>L. sativae</i> .....	26
Figura 2 – Gaiola montada em casa de vegetação (A), condução das mudas de meloeiro em gaiola desde a semeadura até o momento da infestação com <i>Liriomyza sativae</i> e coleta das folhas (B e C).....	27
Figura 3 – Disposição dos genótipos de meloeiro resistentes (R) e suscetíveis (S) nas gaiolas, infestados ou não com a mosca-minadora, 2023.....	27
Figura 4 – Fluxograma da coleta das folhas para análise de metabólitos primários. ....	28
Figura 5 – Folhas dos genótipos de meloeiro BAGMEL 56 e CNPH 00-915 suscetíveis (S) e resistentes por antibiose (R) com a presença de minas após a infestação com <i>Liriomyza sativae</i> em gaiolas.....	29
Figura 6 – Etapas e preparo de amostras para análise de metabólitos primários: ultrafreezer; amostra embalada; amostra macerada; amostras em microtubos eppendorf; speed vac; balança de precisão; solvente; ultrasônico; microcentrifuga; tubos RMN; e, espectrômetro Agilent 600-MHz.....	30
Figura 7 – Metabólitos primários identificados e caracterizados (*não caracterizados) nas folhas dos genótipos de <i>Cucumis melo</i> (A. BAGMEL 56; B. CNPH 00-915; e C. Tântalo), por meio de ressonância magnética nuclear, para núcleo de <sup>1</sup> H. ....	34
Figura 8 – Análise de componentes principais (a) envolvendo as linhagens resistente e suscetível do genótipo BAGMEL 56, no telado e nas gaiolas, com e sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b). ....	39
Figura 9 – Análise de componentes principais (a) envolvendo as linhagens resistente e suscetível do genótipo BAGMEL 56 no telado, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).....	40
Figura 10 – Análise de componentes principais (a) envolvendo o acesso BAGMEL 56 resistente e suscetível nas gaiolas, com e sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b). ....	41
Figura 11 – Análise de componentes principais envolvendo as linhagens resistente e suscetível do genótipo BAGMEL 56 no telado e nas gaiolas, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b) e no segundo LV2	

(c) componentes.....	42
Figura 12 – Análise de componentes principais envolvendo as linhagens resistente e suscetível do genótipo BAGMEL 56 no telado e nas gaiolas, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b). .....	43
Figura 13 – Análise de componentes principais (a) envolvendo a linhagem CNPH 00-915 resistente e suscetível, no telado e nas gaiolas, com e sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b) e no segundo LV2 (c) componentes. ....	43
Figura 14 – Análise de componentes principais (a) envolvendo a linhagem CNPH 00-915 resistente e suscetível no telado, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).....	45
Figura 15 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis da linhagem CNPH 00-915, sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).....	46
Figura 16 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis da linhagem CNPH 00-915, com infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).....	47
Figura 17 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis da linhagem CNPH 00-915, nas gaiolas e telado sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b) e no segundo LV2 (c) componentes. ....	48
Figura 18 – Análise de componentes principais (a) com linhagens resistentes e suscetíveis do acesso CNPH 00-915, em gaiolas e no telado com infestação, destacando metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b) e no segundo LV2 (c) componentes.....	49
Figura 19 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis do híbrido Tântalo, nas gaiolas e telado com e sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b) e no segundo LV2 (c) componentes.....	50
Figura 20 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis do híbrido Tântalo, na gaiola com e sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b). ....	51
Figura 21 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis do híbrido Tântalo, no telado e na gaiola sem infestação, destacando os	

metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b). .....	52
Figura 22 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis do híbrido Tântalo, no telado e na gaiola com infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b). .....	53

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Compostos orgânicos identificados nas folhas dos genótipos de meloeiro: acessos BAGMEL 56 (B56) e CNPH 00-915 (H915) e o híbrido Tântalo (TAN). .....	35
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Food and Agriculture Organization
GABA	Ácido Gama-aminobutírico
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMDB	Human Metabolome Database
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LMQPN	Laboratório Multiusuário de Química e Produtos Naturais
LMRGV	Laboratório de Melhoramento e Recursos Genéticos Vegetais
LV	Variável Latente
MIP	Manejo Integrado de Pragas
RMN	Ressonância Magnética Nuclear

## LISTA DE SÍMBOLOS

\$	Dólar
%	Porcentagem
§	Seção
δ	Sigma
©	Copyright
®	Marca registrada

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	17
2.1	Objetivo geral.....	17
2.2	Objetivos específicos.....	17
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1	Melão.....	18
3.2	Mosca-minadora.....	19
3.3	Resistência de plantas a insetos.....	20
3.4	Metabólitos Primários.....	22
3.5	Metabolômica e Ressonância Magnética Nuclear.....	24
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3	Criação de <i>Liriomyza sativae</i> .....	26
4	Experimento de avaliação da resistência à mosca-minadora.....	27
4.3	Metabolômica.....	30
4.3.1	Espectroscopia por RMN.....	30
4.3.2	Análise quimiométrica dos dados de RMN.....	31
5	RESULTADOS.....	33
5.1	Metabolômica por Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	33
5.1.1	Genótipo BAGMEL 56.....	33
5.1.2	Genótipo CNPH 00-915.....	43
6	Genótipo Tântalo.....	50
7	DISCUSSÃO.....	54
8	CONCLUSÃO.....	58
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59
	REFERÊNCIAS.....	60

## 1 INTRODUÇÃO

O melão (*Cucumis melo* L.) pertencente à família Cucurbitaceae é a espécie mais polimórfica do gênero *Cucumis*, com grande diversidade na forma e tamanho do fruto, expressiva variabilidade também em características de folhas e flores (CARMO *et al.*, 2023). É uma olerícola muito apreciada e de grande popularidade no mundo, em 2022, os maiores produtores do mundo desse fruto foram China, Turquia e Índia (FAO, 2023).

Nesse mesmo ano, o Brasil ocupou o 10º lugar dentre os maiores produtores de melão do mundo (FAO, 2023), com uma área colhida de 27.457 mil ha e produzindo 699.281 mil toneladas de frutos (IBGE, 2023), das quais 32% foram exportadas, gerando US\$ 156 milhões em divisas. O melão brasileiro possui importância socioeconômica estratégica para o Semiárido brasileiro, o qual concentra 95% desse agronegócio, sobretudo, nos Estados do Rio Grande do Norte e Ceará, responsáveis por 85% dessa produção (CRISÓSTOMO *et al.*, 2013).

Entre os fatores que contribuem para o sucesso da cultura do melão estão as condições edafoclimáticas do Semiárido, que combinadas às modernas tecnologias de cultivo, bem como as rotas estratégicas dos portos do Pecém, Mucuripe e de Natal, que facilitam às exportações (CAVALCANTE NETO *et al.*, 2020). Os híbridos de melão de maior expressão nacional são dos tipos Amarelo, Cantaloupe, Gália, Pele de Sapo e Charentais.

A alta intensidade produtiva de melão no Semiárido favorece o surgimento de vários problemas fitossanitários, com destaque para a mosca-minadora *Liriomyza sativae* (NICK *et al.*, 2019), principal problema de cultivo do meloeiro no Nordeste brasileiro. Esse inseto possui alta capacidade de adaptação e dispersão e, apresenta alto nível de polifagia (SOUSA *et al.*, 2022). Devido ao hábito alimentar das larvas, são formadas minas nas folhas hospedeiras, com redução da capacidade fotossintética e, conseqüente diminuição da produtividade do meloeiro (GULLAN; CRANSTON, 2012). Também pode ocorrer perda de folhas, deixando os frutos expostos ao sol, gerando manchas que diminuem a qualidade externa, o que, muitas vezes, os inviabilizam para comercialização (RAUF *et al.*, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2021). Esse inseto-praga possui ciclo de vida, em média, de 16 dias, associado a alta capacidade reprodutiva em que a fêmea pode ovipositar 300 ovos de rápida disseminação (GUIMARÃES *et al.*, 2008).

Nos campos de produção de melão, o controle químico tem sido o método de manejo mais utilizado para essa praga. Entretanto, a reduzida disponibilidade de princípios ativos registrados para o melão propicia o desenvolvimento de resistência da praga aos inseticidas. Essa resistência leva ao uso excessivo e ineficiente dos produtos, com impactos negativos ambientais e econômicos para produtores e consumidores.

Uma das alternativas para o controle de insetos-praga é o uso do Manejo Integrado de Pragas (MIP), que se baseia em obter medidas de controle sustentáveis, visando manter a perda de produção abaixo do nível de dano econômico (GOULART *et al.*, 2015). Nesse contexto, a resistência genética tem sido utilizada em diversas culturas, sendo um método promissor que reduz custos de produção, diminui pulverizações com inseticidas e ainda permite a associação com outros métodos de controle, o que reduz os impactos ambientais (BASIJ *et al.*, 2011). Portanto, o uso de híbridos de meloeiro resistentes à mosca-minadora é uma alternativa economicamente viável e ambientalmente sustentável.

Nesse contexto, a Embrapa vem concentrando esforços na identificação de fontes de resistência à mosca-minadora em germoplasma de meloeiro e em estratégias para introgressão dessa resistência em linhagens-elites do Programa de Melhoramento Genético do Meloeiro, inclusive nos parentais dos híbridos já lançados (BRS Araguaia, BRS Anton e BRS Açú) (EMBRAPA, 2022). Nos últimos anos, relevantes fontes de resistência foram selecionadas, com destaque para CNPH 00-915R, BAGMEL 56R e o híbrido Tântalo. Esses acessos superiores apresentam conjuntamente elevados níveis de antixenose e antibiose (CELIN *et al.*, 2017b).

Apesar de fontes de resistência se configurarem como peça-chave para a evolução dos programas de melhoramento, é fundamental conhecer tanto a natureza genética quanto os mecanismos envolvidos na resistência para que seja melhor utilizada. Assim, a partir dessas fontes, vários estudos relacionados à determinação da herança genética (CELIN *et al.*, 2017a) e de fatores morfológicos e histológicos (NICK *et al.*, 2019) associados à resistência foram realizados. Contudo, aspectos relacionados a voláteis e compostos químicos que influenciam nos mecanismos de defesa do meloeiro em relação ao ataque da mosca-minadora ainda necessitam ser investigados.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Associar metabólitos primários à resistência por antibiose e/ou suscetibilidade à mosca-minadora em genótipos de meloeiro.

### **2.2 Objetivos específicos**

- a) Identificar e quantificar os metabólitos primários em genótipos contrastantes de meloeiro;
- b) Determinar o perfil quimiométrico dos genótipos de meloeiro resistentes e suscetíveis à mosca-minadora;
- c) Associar metabólitos primários à resistência ou à suscetibilidade à mosca-minadora.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Melão

O *Cucumis melo* L. (melão) pertence à família das Cucurbitaceae, e junto as espécies *Cucumis sativus* L. (pepino), *Citrullus lanatus* (melancia) e *Cucurbita* spp. (abóboras) destacam-se como as cucurbitáceas de maior importância econômica no mundo. É uma dicotiledônea, perene na natureza, sendo explorada como planta anual. O sistema radicular é superficial e praticamente sem raízes adventícias, tendo baixa capacidade de regeneração quando danificado. O caule é herbáceo de crescimento rasteiro ou prostrado provido de nós com gemas. As folhas são de tamanho variável, alternadas, simples, ásperas, providas de pelos, limbo orbicular, reniforme, pentalobadas, com as margens denteadas. As flores são amarelas e constituídas por cinco pétalas. Possuindo flores imperfeitas e perfeitas ou hermafroditas em pontos diferentes da planta. O fruto é uma baga carnuda denominada pepônio de tamanho, aspecto, forma e cores variadas (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

O meloeiro compreende variedades silvestres, crioulas e cultivadas, com a origem ainda não bem definida. A África tem sido tradicionalmente sugerida como centro de origem da espécie (SABATO *et al.*, 2015). Entretanto, é na Índia que seu ponto de dispersão se encontra, espalhando-se para as diversas zonas produtivas no mundo, desde os países mediterrâneos, o centro e leste da Ásia, para as Américas até o centro e o sul da África (DEULOFEU, 2015).

No Brasil, os tipos mais comercializados são o Amarelo, Pele de Sapo, Honey Dew, Cantaloupe, Charentais e Gália. Os três primeiros tipos de melão pertencem à variedade botânica *inodorus* e se caracterizam por terem frutos sem aroma, boa resistência ao transporte e elevada vida pós-colheita, os demais apresentam rendilhamento na casca e reduzida conservação pós-colheita (CRISÓSTOMO *et al.*, 2013).

A região Nordeste do Brasil tem destaque nacional na produção do melão, pois aproximadamente 95% da produção brasileira é decorrente dos seguintes estados: Ceará e Rio Grande do Norte. A produção do melão no Nordeste tem como objetivo a exportação, principalmente para países europeus, que é um mercado de grande demanda e criterioso quanto a qualidade do fruto, assim necessita de tecnologias avançadas para auxiliar a produção (LANDAU *et al.*, 2020). O melão do tipo amarelo é o mais produzido e o tipo Pele de Sapo é o segundo em importância na região. Sendo o amarelo bastante apreciado pelo mercado Europeu, que exige frutos com peso ideal em torno de 1,5 kg e teor de sólidos solúveis elevados, mínimo de 10° Brix (AGRÍCOLA FAMOSA, 2024).

Devido a produção do melão no Semiárido ser realizada todos os meses do ano, gera-se mais receita para o agronegócio, contudo ocasiona uma situação negativa que é a pressão na área produtiva. Uma maior quantidade de insumos é utilizada nessas áreas, que devido a intensidade produtiva favorece o aumento da população de moscas-minadoras do gênero *Liriomyza* spp (OLIVEIRA, 2019).

### 3.2 Mosca-minadora

As moscas-minadora, pertencentes a família Agromyzidae, são insetos cosmopolitas e hospedeiros de diversas plantas. No Brasil, as moscas-minadora do gênero *Liriomyza* são as de maior importância agrícola, por serem polífagas e atacarem mais de 25 famílias de plantas. Das espécies conhecidas, três ocorrem naturalmente em quase todos os estados brasileiros, sendo elas: *L. huidobrensis*, *L. sativae* e *L. trifolii* (BARROS, 2016). Durante muito tempo, as respectivas espécies tiveram pouca relevância como pragas na agricultura, no entanto, a partir dos anos 80 em diante esse cenário foi alterado em virtude do aumento populacional desta praga (MONICA *et al.*, 2021).

Historicamente, a mosca minadora foi classificada como a principal praga da cultura do meloeiro no Brasil no início do século XXI, muito provável pelo manejo incorreto praticado pelos produtores de melão para o controle da mosca-branca *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B, que causou redução na população dos inimigos naturais, e por consequência permitiu o aumento populacional da mosca-minadora que passaram de praga secundária para primária (GUIMARÃES *et al.*, 2009).

As moscas adultas possuem aproximadamente 2 mm de comprimento e possuem coloração preta e amarela no tórax e na face superior da cabeça. Estes insetos possuem hábito diurno e podem viver cerca de 26 dias, período onde as fêmeas fazem a postura endofítica de cerca de 500 a 700 ovos em ambas as faces das folhas. Após a eclosão, as larvas se alimentam do parênquima laminar deixando os sintomas conhecidos como minas ou galerias irregulares (CATAPAN *et al.*, 2018). As minas prejudicam a fotossíntese da planta e são formas de entrada de patógenos como fungos e bactérias, como: *Alternaria* spp. *Xanthomonas* e a *Pseudomonas* spp., que acabam prejudicando a produção final (BARBOSA, 2007; GUIMARÃES, 2005). Em pesquisa, foram observadas médias de área foliar danificada de 1,2; 6,3; 19,6 e 40,8 cm<sup>2</sup> para as respectivas infestações de 1; 10; 20 e 30 larvas/folha, concluindo que com o aumento do número de larvas da mosca-minadora por folha houve diminuição na condutância estomática, taxa fotossintética e transpiração, no entanto, a concentração de CO<sub>2</sub> teve aumento (COSTA,

2017)

Algumas das características biológicas dos insetos do gênero *Liriomyza* tornam seu controle menos eficaz durante a fase adulta, como sua alta mobilidade e tamanho reduzido, nos estágios de ovo e larva, a proteção da epiderme da folha e em fase de pupa o seu período de desenvolvimento no solo (COSTA-LIMA, 2007).

A *L. sativae* e *L. trifolii* estão associadas aos cultivos de melão localizados nas regiões mais quentes ( $T \geq 31$  °C), como a região Semiárida, enquanto que em temperaturas mais amenas ( $T \cong 21$  °C) a espécie dominante é *L. huidobrensis* (GUIMARÃES *et al.*, 2009). Todavia, a identificação molecular de populações de mosca-minadora coletadas em meloeiro, nas regiões Nordeste e Sudeste, constataram apenas *L. sativae* (FERREIRA, 2014).

É essencial que se tenha pesquisas contínuas para se obter, cada vez mais, novos genótipos resistentes a mosca-minadora. Alguns híbridos já estão disponíveis no mercado, como os híbridos Rutênio e o Tântalo (COSTA, 2017).

### 3.3 Resistência de plantas a insetos

Para os insetos, as plantas são uma fonte de variados nutrientes. Mesmo não apresentando um sistema imunológico, as plantas desenvolveram diversas formas de defesa bioquímicas, físicas e morfológicas que fazem a detecção de organismos predadores com o objetivo de evitar grandes danos (FREEMAN *et al.*, 2008).

As plantas apresentam variadas formas de resistir aos ataques de uma praga que pode ocorrer pela alteração biológica ou comportamental do inseto. Essas reações podem ser classificadas em 3 categorias: antibiose, antixenose (não-preferência) e tolerância em que são determinadas por motivos físicos (temperatura, umidade, entre outros) ou químicos (metabólitos primários e/ou secundários) (LARA, 1991).

Na antibiose o inseto se alimenta da planta e caracteriza-se pelos efeitos negativos na biologia do animal, como no crescimento, peso, reprodução, entre outros. Esses efeitos da resistência podem ser relacionados à presença ou ausência de substâncias químicas (LARA, 1991). Na antixenose ou não-preferência, a planta altera o comportamento do inseto por apresentar repelência, deterrência alimentar ou outras mudanças no comportamento que levem o inseto a escolher outra planta como hospedeira (SMITH, 2005). Na tolerância são consideradas apenas as características da planta e a capacidade de suportar os danos causados em decorrência da alimentação do inseto. As plantas tolerantes são as que suportam os danos e regeneram mais rapidamente em comparação a outros genótipos (GULLAN; CRANSTON,

2012).

Trabalhos anteriores foram exitosos na identificação de novas fontes de resistência do meloeiro à mosca-minadora. Entre os primeiros materiais identificados estão os acessos PI 282448 e PI 313970 que foram descritos como resistentes a *L. sativae* (KENNEDY *et al.*, 1978). Outra fonte citada posteriormente é a linhagem francesa ‘Nantais Oblong’ com resistência a *L. trifolii* (DOGIMONT *et al.*, 1999).

No melão amarelo foram identificadas diferenças nos níveis de resistência entre os híbridos analisados, tendo melhores resultados os materiais ‘PR-13-3-2-1-1 x 9278-2-1-2-1-1-1-1’ e ‘G 1-1 x PR 62-1-4-1-1-1’ que apresentaram níveis altos de resistência a *L. huidobrensis* (GUIMARÃES *et al.*, 2009). Outra pesquisa mais recente com 22 acessos de meloeiros analisados, obtiveram os melhores resultados o ‘AC-10’ e ‘AC-22’ (NUNES *et al.*, 2013). Com 52 genótipos na região Nordeste, avaliações em campo e laboratório da EMBRAPA, foram identificadas 4 novas fontes de resistência ‘CNPH 11-1072’ e ‘CNPH 11-1077’ por antixenose e ‘CNPH 00-915’ e ‘BAGMEL 56’ por antibiose, resistentes a *L. sativae* (CELIN *et al.*, 2017a). Outro trabalho, gerado a partir de dois experimentos em campo com 22 híbridos de melão amarelo, foram identificadas 2 novas fontes de resistência ‘AM-RT’ e ‘AM-TM’, que obtiveram números de minas igual a zero (FERREIRA, 2022).

É essencial que os mecanismos de defesas sejam elucidados, podendo ser expressos internamente e/ou externamente nas plantas, na forma de ceras, tricomas, compostos fenólicos entre outros (GOIANA *et al.*, 2020). Os tricomas além de barreira física, exercem outras funções como auxiliador na manutenção do balanço hídrico da planta, evitando perda de água excessiva, influenciam o comportamento dos insetos devido seu formato ou por armazenar substâncias nocivas que podem causar alterações no ciclo de vida dos insetos (JEFREE, 1986). A cor e refletância da folha também pode atrair ou repelir os insetos (GREEN *et al.*, 2015).

Assim, muitas variáveis envolvem a resistência de uma planta, características do inseto, do ambiente, da planta e as interações entre eles. Tendo cada resistência suas especificidades. Nos testes para identificação de fontes de resistência, normalmente são realizados experimentos com e sem escolha dos genótipos pelos insetos (MORAIS *et al.*, 2012; CELIN *et al.*, 2016).

Na interação planta-inseto, as plantas, ao evoluírem, investiram em diversos mecanismos de defesa para contornar as adversidades que são impostas constantemente. Além dos mecanismos de defesa, intrínsecos de cada genótipo (defesa constitutiva), as plantas exibem estratégias de defesa induzidas cuja reação se inicia somente quando expostas aos estresses causados por agentes bióticos (insetos, fungos, nematoides), ou abióticos (temperatura, estresse hídrico, dentre outros) (ALJBORY; CHEN, 2018).

A indução da resistência engloba uma cadeia complexa de sinalização celular que se inicia, por exemplo, com o reconhecimento de secreções pelos insetos e dos sinais das células vegetais danificadas, seguido pela transdução de sinal via mensageiros secundários e cascatas de fosforilação, processamento de sinais, respostas sinalizadoras (produção de compostos de defesa, proteínas e metabólitos secundários) e, finalmente, resposta genotípicas e/ou fenotípicas (FÜRSTENBERG-HÄGG *et al.*, 2013; BARAH *et al.*, 2015).

A resistência e a adaptação, inerentes às plantas, resultam das alterações que ocorrem no metabolismo da planta, dentre os quais a produção de proteínas e metabólitos primários e secundários. Tais alterações exercem múltiplos papéis na resistência e sobrevivência da planta, agindo de forma direta, combatendo a herbivoria, ou indireta, mantendo a estabilidade das estruturas e as funções celulares dos tecidos atacados (UNDAS *et al.*, 2018).

A análise metabolômica é uma ferramenta importante que permite identificar, caracterizar e quantificar os metabólitos produzidos e/ou alterados em determinada condição ambiental; e, entender as interações intra e extracelulares de células, tecidos ou organismos (TUGIZIMANA; PIATER; DUBERY *et al.*, 2013). Os metabólitos constituem os produtos finais dos processos que regulam as células e a presença destes representa a resposta dos sistemas biológicos às mudanças ambientais ou genéticas.

No melhoramento de plantas, a análise metabolômica pode fornecer informações úteis para estimar a variabilidade genética, estabelecer distâncias genéticas e relações filogenéticas entre linhagens, espécies e gêneros, e na obtenção de genótipos resistentes ou com outras características agronômicas, tanto por meio do melhoramento tradicional, quanto da engenharia genética (THIELLEMENT *et al.*, 1999). Assim, estudos que visam a compreensão da interação planta-inseto são promissores na busca por alternativas de controle de pragas por meio da identificação de metabólitos primários e secundários da planta.

### **3.4 Metabólitos Primários**

A falta de capacidade locomotora das plantas induziu as espécies a desenvolverem mecanismos que possibilitem um desenvolvimento flexível sem comprometimento das células e processos fisiológicos primários, pelo fato de serem influenciadas ao longo do tempo pelos fatores bióticos e abióticos (ISAH, 2019).

As plantas apresentam a capacidade de produzir uma grande variedade de metabólitos que sobrepõe a quantidade produzida pela maioria dos outros organismos, por meio de uma variada rede de reações catalisadas por enzimas (FANG *et al.*, 2019). O metabolismo das plantas

produz em seus ciclos vários produtos químicos que podem ser classificados como metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são aqueles compostos que todas as plantas produzem e que estão diretamente envolvidos no crescimento e desenvolvimento. Dentre eles estão incluídos os açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, lipídeos e nucleotídeos, assim como moléculas maiores, que são sintetizadas a partir deles, como proteínas, polissacarídeos, membranas, DNA e RNA (GARCÍA *et al.*, 2009).

O metabolismo primário das plantas compreende a fotossíntese com formação de ATP, sacarose, amido e intermediários, a respiração e o metabolismo do N. Os metabólitos primários possuem função estrutural, plástica e de armazenamento de energia e exercem uma função metabólica direta que é serem compostos fundamentais como intermediários nas vias catabólica e anabólica da planta (ALMEIDA, 2017).

No metabolismo celular os carboidratos desempenham um papel central e são produto primário da fotossíntese (LOJKOVA *et al.*, 2020). Aproximadamente 30% dos carboidratos produzidos pela fotossíntese são utilizados para a biossíntese da parede celular por cada célula. É necessário ser desviado o esqueleto de carbono para a síntese de produtos químicos de defesa a fim de impedir o ataque de animais herbívoros (LAL, 2018).

A principal forma de armazenamento de carboidratos é o amido. Os açúcares são transportados na forma solúvel menos reativa, principalmente como sacarose do local de síntese para o local de sua utilização, além disso, outros carboidratos além da sacarose também são translocados, os quais incluem rafinose, verbascose e estaquiose (LAL, 2018).

O nitrogênio é um elemento essencial para as plantas já que é encontrado na maioria das macromoléculas, em muitos compostos secundários e de sinalização, incluindo proteínas, ácidos nucléicos, componentes da parede celular, hormônios e vitaminas (KRAPP, 2015).

Os metabólitos têm um grande potencial como marcadores de desempenho de plantas pois contêm mais informações em certos cenários e dão uma imagem mais realista do desempenho da planta do que em análises com outros parâmetros (FERNANDEZ *et al.*, 2016). Num estudo do metabolôma de folhas e raízes de milho após 24 horas e 48 horas sob herbivoria de lagartas de *Spodoptera littoralis*, os seus resultados mostraram que em ambas as partes da planta houve um total de 32 metabólitos em resposta ao estresse causado pelo inseto (MARTI *et al.*, 2013). Em outro estudo a resposta metabólica do tomateiro foi analisada após ataque por 24 horas de duas espécies de lagartas, em que as amostras de folhas, raízes, caule e topo da planta foram analisadas e, foram identificadas alterações metabólicas (STEINBRENNER *et al.*, 2011).

### 3.5 Metabolômica e Ressonância Magnética Nuclear

A metabolômica é o estudo que analisa qualitativamente e quantitativamente o conjunto de metabólitos que podem ser produzidos ou modificados por um determinado organismo. O metaboloma tem como definição a identificação parcial ou completa de moléculas que constituem um organismo, sendo essas moléculas classificadas como metabólitos primários e secundários que podem ser biomarcadores de uma determinada característica do organismo analisado na pesquisa (OLIVEIRA, 2021; ALLWOOD *et al.*, 2008; SAITO *et al.*, 2006).

É essencial o uso de metabolômica em estudos de interação inseto-planta, pois identifica e quantifica os metabólitos produzidos em resposta ao ataque de herbívoros (KIM *et al.*, 2010). Várias metodologias podem ser utilizadas para se ter acesso aos metabólitos das plantas. A caracterização metabólica tem como objetivo acessar o perfil de metabólitos de uma espécie, sendo necessária a aplicação de ferramentas quimiométricas para uma interpretação eficiente dos dados (FUKUSAKI, 2005; MARASCHIN *et al.*, 2017).

É possível discriminar a metabolômica em dois segmentos: qualitativo e quantitativo, respectivamente, o *untargeted*, em que é gerado uma caracterização geral de todos os metabólitos da amostra, e *targeted*, em que a pesquisa é direcionada para moléculas conhecidas (ABDELNUR, 2011). Atualmente, alguns métodos são utilizados na identificação de metabólitos, mas a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) apresenta alto custo, baixa sensibilidade e alta reprodutibilidade em comparação aos demais (MARASCHIN *et al.*, 2017).

A espectroscopia de RMN tem como objetivo identificar a estrutura carbono-hidrogênio de uma substância orgânica, que permite identificar e quantificar metabólitos (BRUICE, 2006). Como principal vantagem do método o não comprometimento da amostra, pois mantém a integridade estrutural gerando dados físicos, químicos e fisiológicos confiáveis (SILVA, 2018; CLARK *et al.*, 1997; BOTTOMLEY, 1982).

Em pesquisa RMN com sucos de uva foi avaliado o perfil químico e quantificação de carboidratos de frutose, glicose e sacarose em que foi possível identificar o nível de maturação da fruta (SANTANA, 2017). Com melão amarelo, outra pesquisa obteve por RMN que com o aumento da maturação dos frutos houve um aumento nas quantidades de ácidos graxos,  $\beta$ -caroteno e sacarose, acompanhado pela diminuição de aminoácidos, citrato, frutose, glicose e polifenóis (TRISTÁN, 2022). Em ambos, a análise dos metabólitos foi essencial para caracterizar a maturação dos frutos e relacionar a dinâmica das substâncias do metabolismo.

Na interação inseto-planta, o uso da metabolômica e a utilização da RMN possibilita identificar e quantificar os metabólitos primários e/ou secundários produzidos em resposta ao

ataque de herbívoros (KIM *et al.*, 2010).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Na condução dos experimentos foram utilizados a casa de vegetação do Laboratório de Melhoramento e Recursos Genéticos Vegetais (LMRGV) (3°45'06.1"S e 38°34'37.7"O) e para as análises metabômicas o Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais (LQPN) (3°45'01.9"S e 38°34'34.6"O), ambos pertencentes a Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza, Ceará, Brasil. Foram utilizados cinco genótipos: linhagens BAGMEL 56 resistente (56R) e suscetível (56S), linhagens CNPH 00-915 resistente (915R) e suscetível (915S) e, um híbrido comercial resistente Tântalo (Figura 1). A resistência dos genótipos citados é do tipo antibiose.

Figura 1 – Folhas de meloeiros resistente (R) e suscetíveis (S), após infestação com *L. sativae*.



Foto: Elaine Facco Celin.

### 3 Criação de *Liriomyza sativae*

A criação foi estabelecida em sala climatizada a  $26 \pm 2$  °C e fotofase de 12 horas no laboratório. E, para tanto, adultos de *L. sativae* foram mantidos em gaiolas de criação que receberam, duas vezes por semana, mudas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis* L.), produzidas em casa de vegetação, para serem infestadas pelo inseto.

Após a infestação, as mudas foram retiradas das gaiolas e mantidas em laboratório durante o desenvolvimento larval do inseto. Quando as larvas se encontravam em estádios mais adiantados ( $\cong$  cinco dias após a infestação), as folhas foram suspensas em recipientes plásticos até a obtenção de novas pupas e, por conseguinte, insetos adultos ( $\cong$  sete dias depois). Os novos

adultos foram liberados nas gaiolas para a renovação e manutenção da criação ou utilizados nos experimentos.

#### 4 Experimento de avaliação da resistência à mosca-minadora

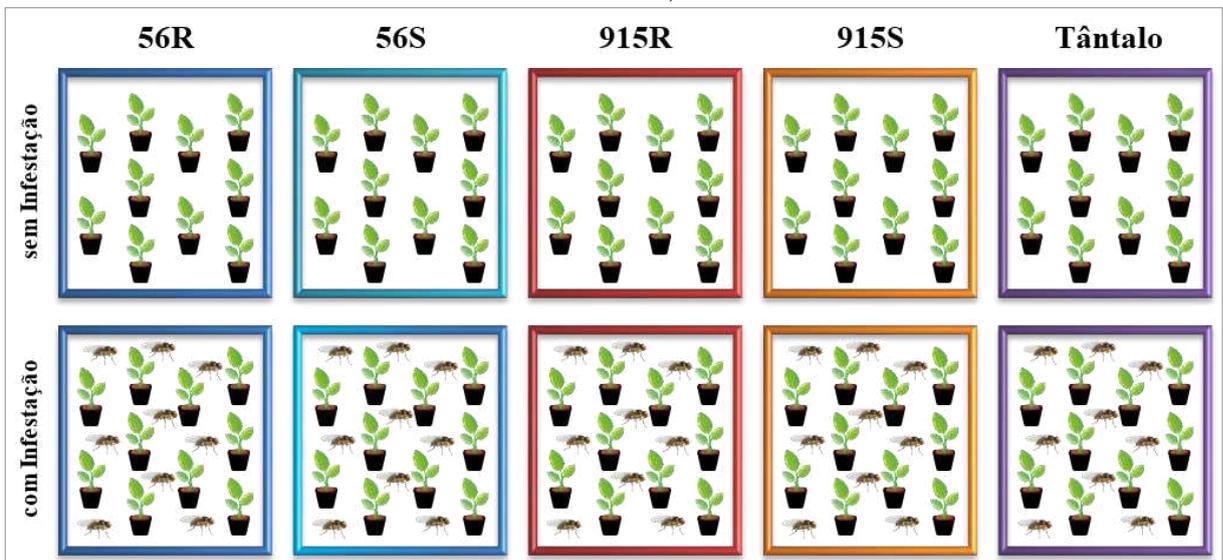
O semeio foi realizado com sementes dos genótipos em bandejas de polietileno de 200 células preenchidas com substrato para mudas (substrato e pó de coco; 1:1). Transcorrido dez dias as mudas foram transferidas para vasos de 0,3 litros de substrato (areia, substrato para mudas e húmus de minhoca; 3:2:1). As plantas foram conduzidas dentro de uma gaiola de tecido voil, para evitar o contato com insetos-praga, em casa de vegetação (Figura 2).

Figura 2 – Gaiola montada em casa de vegetação (A), condução das mudas de meloeiro em gaiola desde a semeadura até o momento da infestação com *Liriomyza sativae* e coleta das folhas (B e C).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3 – Disposição dos genótipos de meloeiro resistentes (R) e suscetíveis (S) nas gaiolas, infestados ou não com a mosca-minadora, 2023.

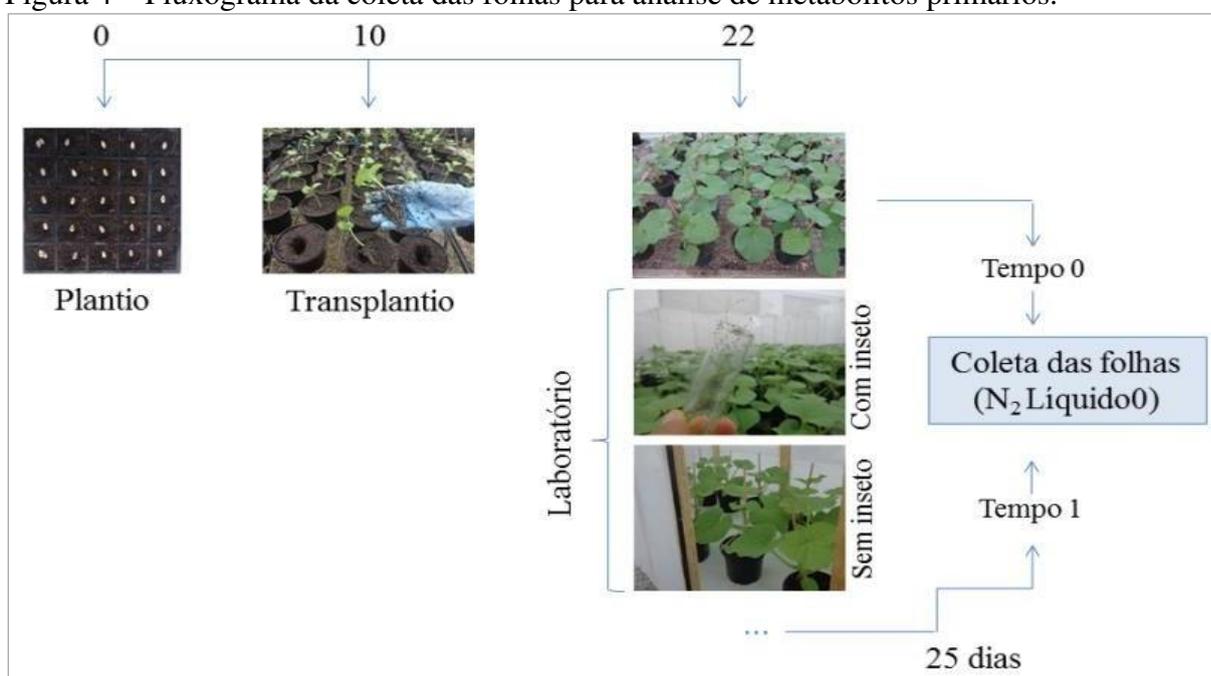


Fonte: Elaborado pelo autor.

A irrigação foi manual sendo realizada duas vezes ao dia. A temperatura, a umidade relativa e a radiação fotossintética ativa do interior da gaiola foram monitoradas durante todo o experimento.

Ao atingirem quatro folhas verdadeiras completamente expandidas, as mudas foram separadas em três frações. As folhas das plantas da primeira fração foram coletadas de imediato (tempo 0). As outras duas partes foram conduzidas ao laboratório, sendo uma fração distribuída em gaiolas contendo mosca-minadora e a outra em gaiolas sem a presença de insetos (Figuras 3 e 4).

Figura 4 – Fluxograma da coleta das folhas para análise de metabólitos primários.



Fonte: Elaborado pelo autor.

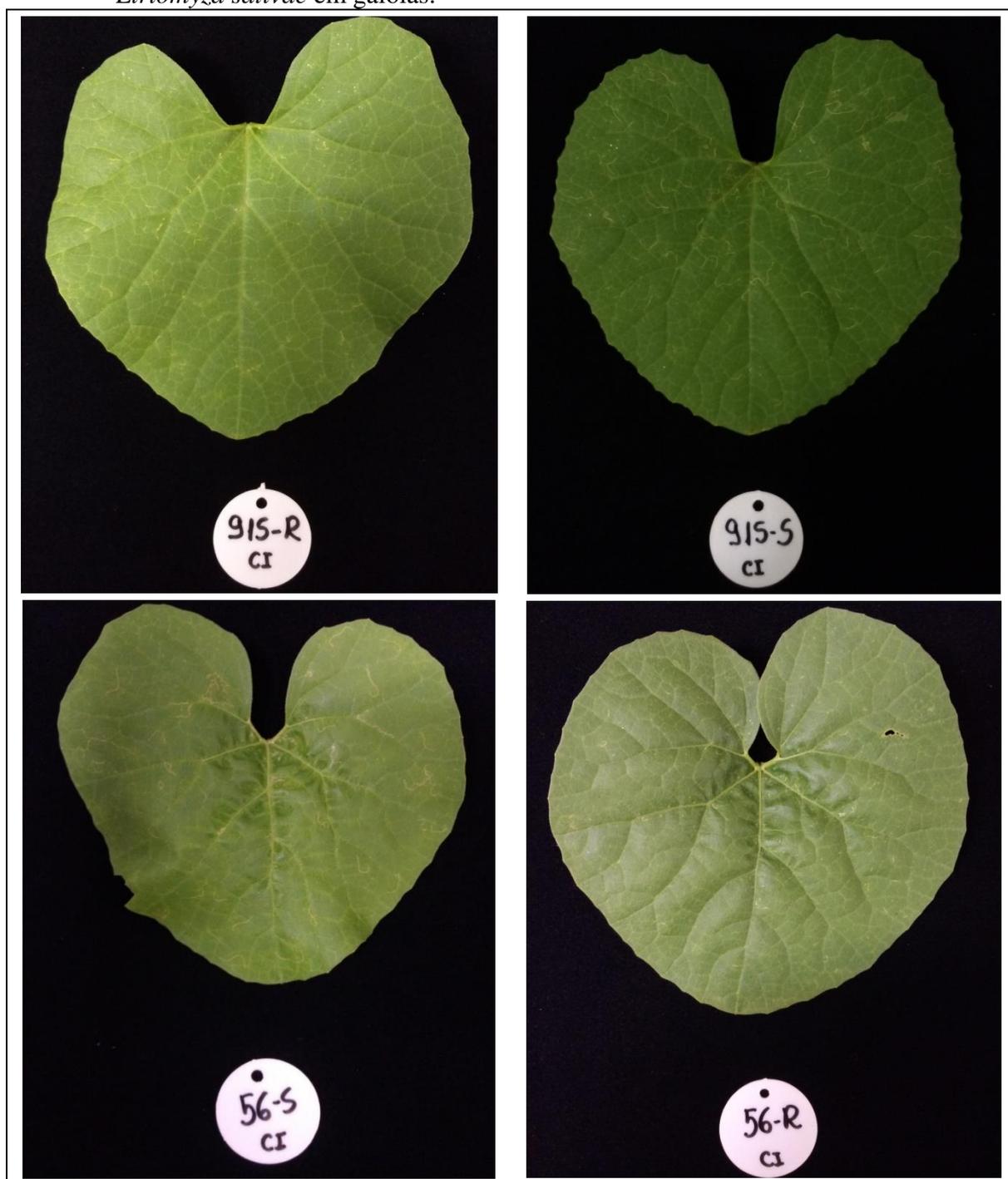
Dez plantas de cada genótipo foram dispostas individualmente em uma gaiola (Figura 3). Posteriormente, foram liberadas 40 moscas adultas, com idade de 48 horas, por planta nas gaiolas. A infestação ocorreu por cinco horas.

Após cinco horas de infestação, as plantas foram conduzidas de volta para a gaiola da casa de vegetação. Transcorrido três dias do início da infestação foi contabilizado o número de minas por folhas em cada planta dos genótipos que foram submetidos a infestação com a presença do inseto (Figura 5 e Tabela 1), e realizada a segunda coleta de folhas (Tempo 1); nas plantas da segunda (sem infestação) e terceira fração (com infestação).

Desse modo, as amostras foram identificadas, considerando o tempo de coleta das folhas, a ocorrência infestação ou não com o inseto, os genótipos avaliados e as repetições. As

folhas coletadas foram imediatamente pesadas, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -80 °C, até serem destinadas análise metabólica, a qual foi realizada no LMQPN (Tabela 1).

Figura 5. Folhas dos genótipos de meloeiro BAGMEL 56 e CNPH 00-915 suscetíveis (S) e resistentes por antibiose (R) com a presença de minas após a infestação com *Liriomyza sativae* em gaiolas.



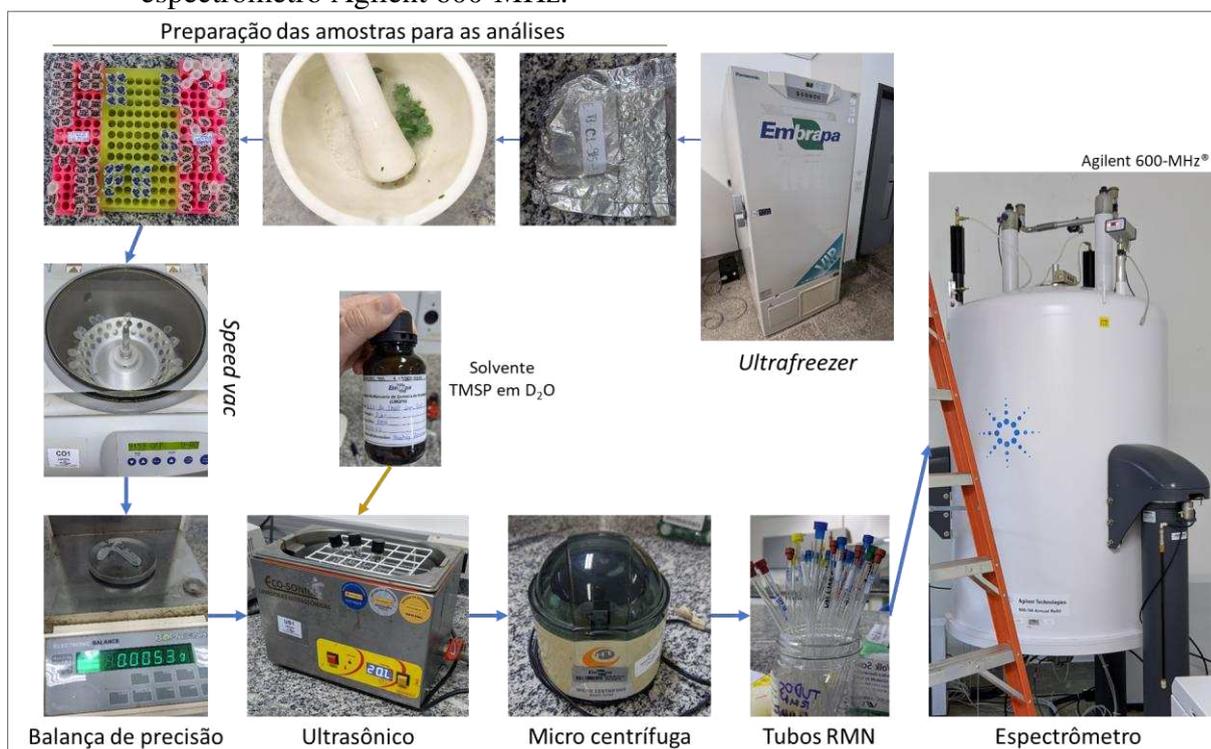
Fonte: Elaborado pelo autor.

## 4.3 Metabolômica

### 4.3.1 Espectroscopia por RMN

No LMQPN foram feitas análises de espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear no equipamento Agilent DD2 de 600 MHz (para núcleo de  $^1\text{H}$ ) equipado com uma sonda One Probe de 5 mm de diâmetro interno (H-F/15N-31P) de detecção inversa e gradiente de campo no eixo “z” (Figura 6). As folhas analisadas de cada genótipo foram depositadas no almofariz e maceradas com auxílio do pistilo, posteriormente o material macerado foi armazenado em microtubos do tipo Eppendorf de 2 ml devidamente identificados com as nomeclaturas de cada amostra para cada genótipo.

Figura 6 – Etapas e preparo de amostras para análise de metabólitos primários: ultrafreezer; amostra embalada; amostra macerada; amostras em microtubos eppendorf; speed vac; balança de precisão; solvente; ultrasônico; microcentrífuga; tubos RMN; e, espectrômetro Agilent 600-MHz.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Em seguida o material foi desidratado no *Speed Vac* com programação de 30 °C no vácuo durante 14 horas. Para o preparo da amostra, uma alíquota do produto foi centrifugada. As amostras foram preparadas pesando-se aproximadamente 50 mg da folha seca misturando-se 700  $\mu\text{L}$   $\text{D}_2\text{O}$  (99,9 %) com 0.05% de sodium-3-trimethylsilyl propionate (TMSP- $\text{d}_4$ ),

centrifugando por 3 minutos a 605 g, e o sobrenadante foi inserido no tubo de RMN de 5 mm.

Para realizar a quantificação, o pulso de 90° foi calibrado (7,88  $\mu$ s) e a sonda devidamente sintonizada. Inicialmente a sequência de pulsos de inversão-recuperação foi utilizado para estimar o tempo de relaxação dos núcleos amostrais. O valor encontrado foi distribuído entre o d1 (tempo de espera para relaxação dos núcleos) e o tempo de aquisição (AQ). Assim, os espectros unidimensionais de <sup>1</sup>H foram adquiridos em triplicata com um tempo de espera entre cada aquisição de 25 s, AQ de 5,01s, ganho de 6, 40 transientes em uma janela espectral de 16 ppm e 32k de número de pontos reais a 26°C. Os decaimentos de indução livres (FID) foram multiplicados por uma função exponencial (LB) de 0,3 Hz antes da aplicação da transformada de Fourier para 16k pontos e a correção de fase foi realizada automaticamente.

A identificação dos constituintes presentes na matriz foi realizada por meio de avaliação de RMN bidimensional de correlação de <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (COSY), coerência quântica simples heteronuclear para <sup>1</sup>H -<sup>13</sup>C (HSQC), correlação de ligações múltiplas heteronucleares <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C (HMBC), avaliações usando um banco de dados de acesso aberto ([www.hmdb.ca](http://www.hmdb.ca)), e dados previamente publicados, a partir dos quais estruturas moleculares, deslocamentos químicos de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, multiplicidade, correlações e constante de acoplamento serão demonstradas.

#### 4.3.2 Análise quimiométrica dos dados de RMN

A análise quimiométrica foi realizada para investigar a variabilidade química da composição das folhas de melão na presença da mosca. Assim, os espectros de RMN (de 0,80 to 9,5 ppm excluindo a região da água de 4,70 a 5,16 ppm) das referidas amostras foram convertidos em arquivos American Standard Code for Information Interchange (ASCII) para construção das matrizes numéricas.

Algoritmos para correção e normalização da linha de base foram aplicados sobre as variáveis, bem como o alinhamento das variáveis usando COW (Correlation Optimized Warping) com segmento de 50 pontos de dados em um intervalo de 5 pontos. Desta forma, as matrizes numéricas foram exportadas para análise de componentes principais, usando o pacote PLS Toolbox (versão 8.6.2 – Eigenvector Research Inc., Manson, WA USA). Visando melhor distinção entre as classes, foi realizado calibração multivariada com discriminação por classes (PLS-DA).

As classes foram as plantas no telado antes da infestação (T0 - controle), e as plantas nas gaiolas (T1), infestada ou não pelo inseto. Assim, o algoritmo Simplified PLS (SIMPLS) foi aplicado para modelar a análise de classificação. O número de Variáveis Latentes (LV) foi

escolhido com base nos seguintes parâmetros estatísticos: RMSEC (Root Mean Squared Error of Calibration); RMSECV (Raiz Quadrática Média do Erro Quadrático de Validação Cruzada); e índice de similaridade (RMSEC/RMSECV) superior a 0,75 (BALLABIO; CONSONNI, 2013; FREITAS *et al.*, 2018).

## 5 RESULTADOS

Foi realizada a identificação dos principais compostos orgânicos em folhas de genótipos de *Cucumis melo*, com os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos genótipos resistentes por antibiose BAGMEL 56 (Figura 7A), CNPH 00-915R (Figura 7B) e Tântalo (Figura 7C).

O espectro de RMN dos extratos vegetais é segmentado em quatro áreas específicas de deslocamentos químicos: 0.5 – 2 ppm (aminoácidos), 2 – 3 ppm (ácidos orgânicos), 3 – 5 ppm (açúcares) e 6 – 8 ppm (compostos aromáticos). Foram detectados açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos de cadeia curta e outros compostos, os quais foram caracterizados quanto às estruturas, deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ), multiplicidade, correlações e acoplamento constante (J em HZ) dos compostos correspondentes identificados, em cada um dos genótipos avaliados (Tabela 1). Os compostos detectados compreendem álcoois, carboidratos, aminoácidos e ácidos orgânicos de cadeia curta.

### 5.1 Metabolômica por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

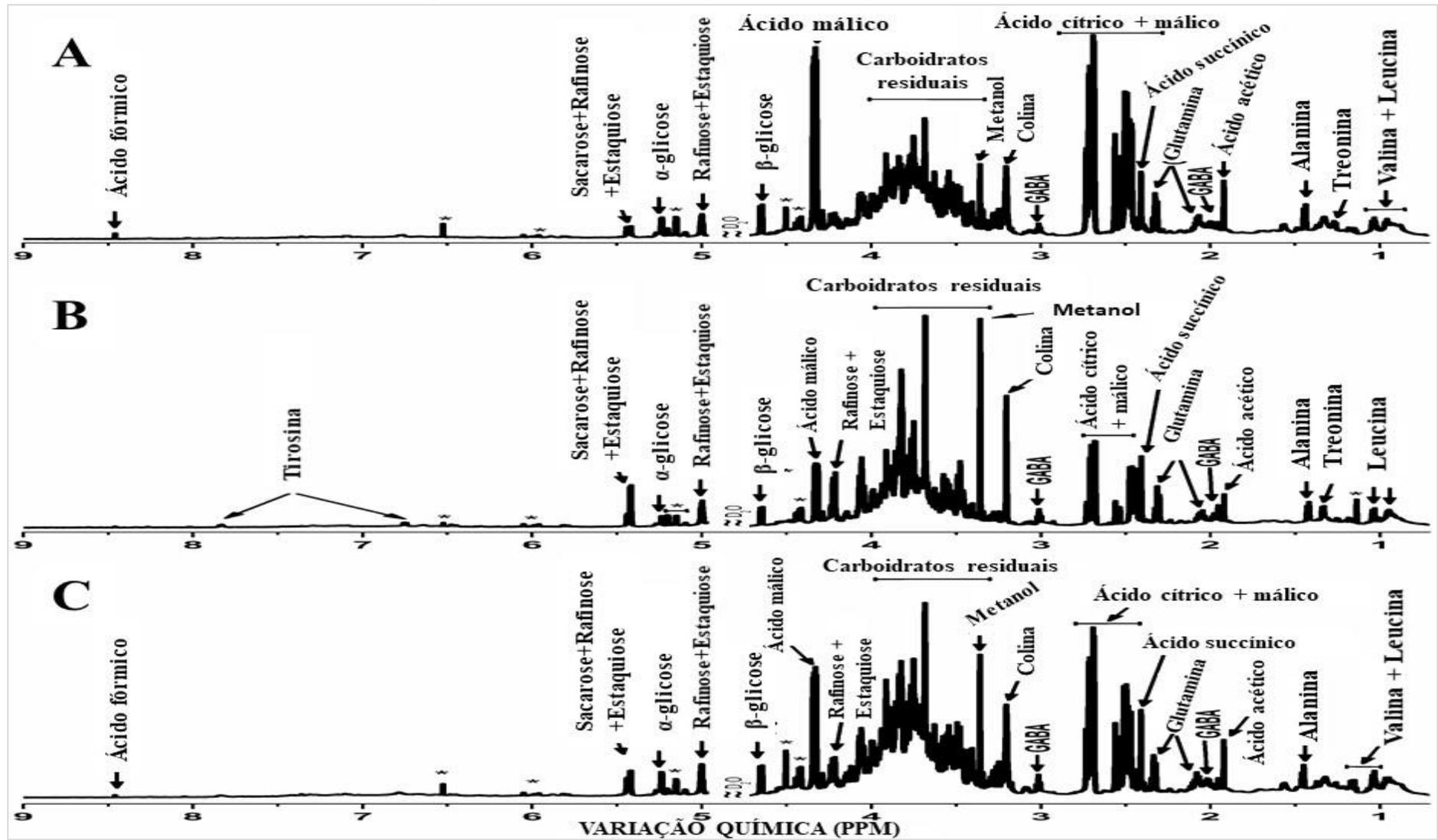
Devido ao elevado número de compostos identificados, bem como à semelhança inerente entre suas composições, modelos estatísticos e matemáticos foram aplicados, em especial, a análise supervisionada por regressão linear parcial (PLS) para investigar a variabilidade da composição após a infestação com a presença da mosca-minadora. Assim, cada genótipo foi avaliado separadamente para a obtenção de informações mais precisas.

#### 5.1.1 Genótipo BAGMEL 56

Inicialmente foi desenvolvido um modelo de classificação no qual todas as amostras das linhagens resistente e suscetível do genótipo BAGMEL 56 foram avaliadas conjuntamente, sendo elas: folhas coletadas antes da infestação (TOS e TOR), após a infestação com a presença da mosca-minadora (T1CI\_S e T1CI\_R) e após a ‘infestação’ sem o inseto (T1SI\_S e T1SI\_R) (Figura 8).

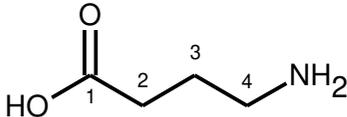
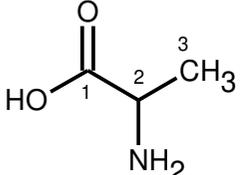
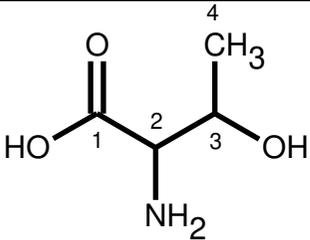
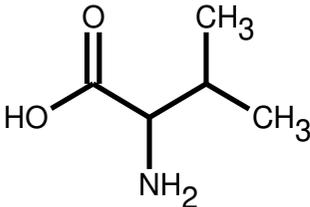
O eixo LV1 representa 33,4% da variância total acumulada e exibe as amostras das folhas de meloeiro coletadas antes da infestação posicionadas nos escores negativos, enquanto que, as amostras das folhas infestadas e das que permaneceram em gaiolas sem a presença da mosca-minadora foram alocadas nos escores positivos do mesmo eixo, independentemente da linhagem ser resistente ou suscetível ao inseto (Figura 8a).

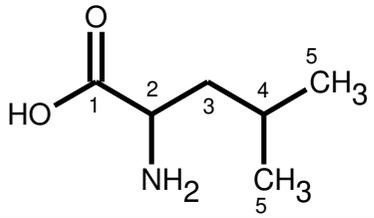
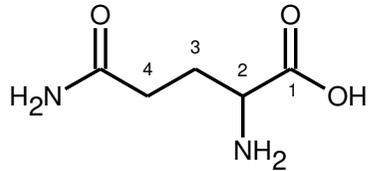
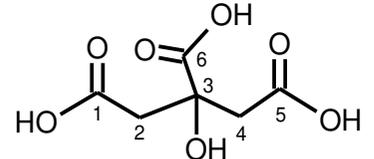
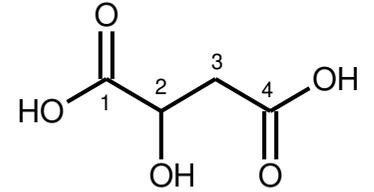
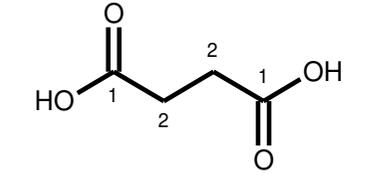
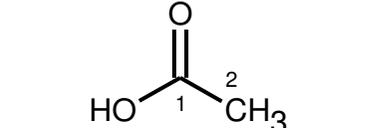
Figura 7 – Metabólitos primários identificados e caracterizados (\*não caracterizados) nas folhas dos genótipos de *Cucumis melo* (A. BAGMEL 56; B. CNPH 00-915; e C. Tântalo), por meio de ressonância magnética nuclear, para núcleo de  $^1\text{H}$ .

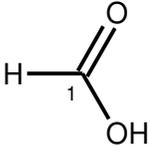
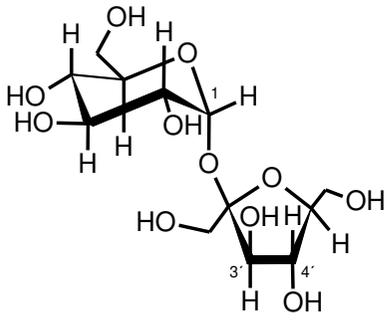
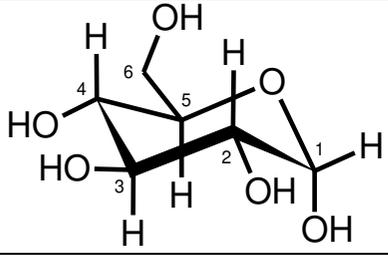
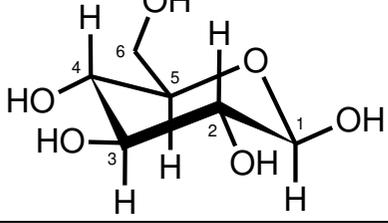


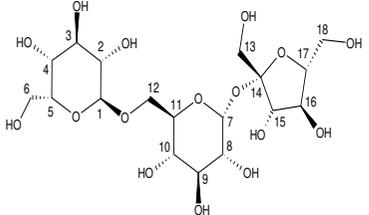
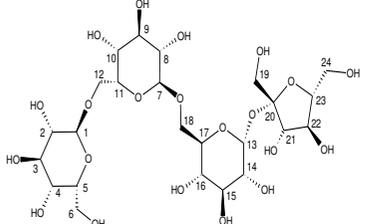
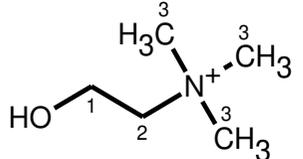
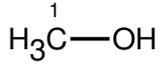
Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 1 – Compostos orgânicos identificados nas folhas dos genótipos de meloeiro: acessos BAGMEL 56 (B56) e CNPH 00-915 (H915) e o híbrido Tântalo (TAN).

Composto	Estruturas	$\delta^1H$ ( <i>multip.* J in Hz</i> )	$\delta^{13}C$ (HSQC)	Ref. $^1H$	Ref. $^{13}C$	Detectado no genótipo
<b>Aminoácidos</b>						
<i>GABA</i>		4 – 2.88 ( <i>m</i> ) 3 – 2.00 ( <i>m</i> ) 2 – 2.45 ( <i>m</i> )	no 30.7 33.5	2.99 ( <i>t</i> 7,6) 1.88 ( <i>qui</i> 7,6) 2.28 ( <i>t</i> 7,6)	42.2 26.3 37.1	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo
<i>Alanina</i>		2 - 3.80 ( <i>ss</i> ) 3 - 1.45 ( <i>d</i> 7.8)	no 19.6	3.9 ( <i>q</i> 7.3) 1.52 ( <i>d</i> 7.3)	53.4 19.1	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo
<i>Treonina</i>		2 - 3.9 ( <i>ss</i> ) 3 - 4.3 ( <i>ss</i> ) 4 - 1.28 ( <i>d</i> 6.6)	63.3 68.9 22.2	3.81 ( <i>d</i> 4.2) 4.35 ( <i>m</i> ) 1.35 ( <i>d</i> 6.5)	63.4 69.3 22.3	BAGMEL 56 e CNPH 00-915
<i>Valina</i>		2 - 3.78 ( <i>ss</i> ) 3 - 2.30 ( <i>ss</i> ) 4 - 1.03 ( <i>ss</i> ) 5 - 1.00 ( <i>ss</i> )	63.2 32.3 21.4 no	3.82 ( <i>d</i> 4.4) 2.33 ( <i>m</i> ) 1.02 ( <i>d</i> 7.1) 1.06 ( <i>d</i> 7.1)	n 32.0 19.1 20.9	BAGMEL 56 e Tântalo

<i>Leucina</i>		2 - no 3,4 - 1.70 (ss) 5,6 - 1.05 (t 6.0)	44.3 25.0 25.3	3.90 (no) 1.73 (m) 0.96 (t 5.9)	42.6 26.8 23.6	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo
<i>Glutamina</i>		4 - 2.31 a 2.35 (m) 3 - 2.06 a 2.08 (m) 2 - 3.73 (ss)	34.1 31.0 no	2.45 (m) 2.12 (m) 3.77 (o)	33.9 29.3 57.2	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo
<b>Ácidos Orgânicos</b>						
<i>Ácido cítrico</i>		2 - 2.55 (d 16.8) 4 - 2.72 (d 16.8)	47.2 47.2	2.52 (d 15.8) 3.66 (d 15.8)	48.6 48.6	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo
<i>Ácido málico</i>		2 - 4.41 3 - 2.49; 2.70	72.9 44.8	4.29 2.34; 2.65	73.2 45.5	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo
<i>Ácido succínico</i>		2 - 2.42 (s)	37.0	2.39 (s)	36.8	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo
<i>Ácido acético</i>		2 - 1.93 (s)	26.2	1.90 (s)	26.1	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo

Ácido fórmico		1 - 8.46 (s)	no	8.46 (s)	173.9	BAGMEL 56 e Tântalo
<b>Carboidratos</b>						
Sacarose		1 - 5.42 (d 3.70) 2 - 3.55 (ss) 3 - 3.76 (ss) 4 - 3.48 (ss) 5 - 3.84 (ss) 6 - 3.82 (ss) 1' - 3.82 (ss) 2' - 3.90 (ss) 3' - 4.05 (m) 4' - 4.21 (m) 6' - 3.68 (m)	95.1 74.2 75.6 72.2 75.5 63.2 65.2 84.2 77.0 79.3 64.5	5.44 (d 3.80) 3.89-3.57 (m) n n n n n n 4.08 (t 8.40) 4.24 (d 9.0) n	94.7 73.5 75.0 71.8 74.9 62.8 64.0 83.7 76.6 79.0 65.0	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo
$\alpha$ -glicose		1 - 5.24 (d 3.66) 2 - 3.47 (m) 3 - 3.76 (m) 4 - 3.57 (m) 5 - 3.73 (m) 6 - 3.86 (m)	95.0 72.2 75.7 74.1 63.8 75.4	5.25 (d 3.80) 3.89-3.36 (o) n n n n	95.4 72.2 76.0 72.8 64.2 74.5	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo
$\beta$ -glicose		1 - 4.65 (d 7.90) 2 - 3.27 (m) 3 - 3.76 (m) 4 - 3.47 (m) 5 - 3.42 (m) 6 - 3.92 (m)	98.7 77.5 63.7 78.7 72.1 63.8	4.66 (d 8.10) 3.25 (t 8.40) n n n n	99.2 77.6 56.1 79.0 72.8 63.1	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo

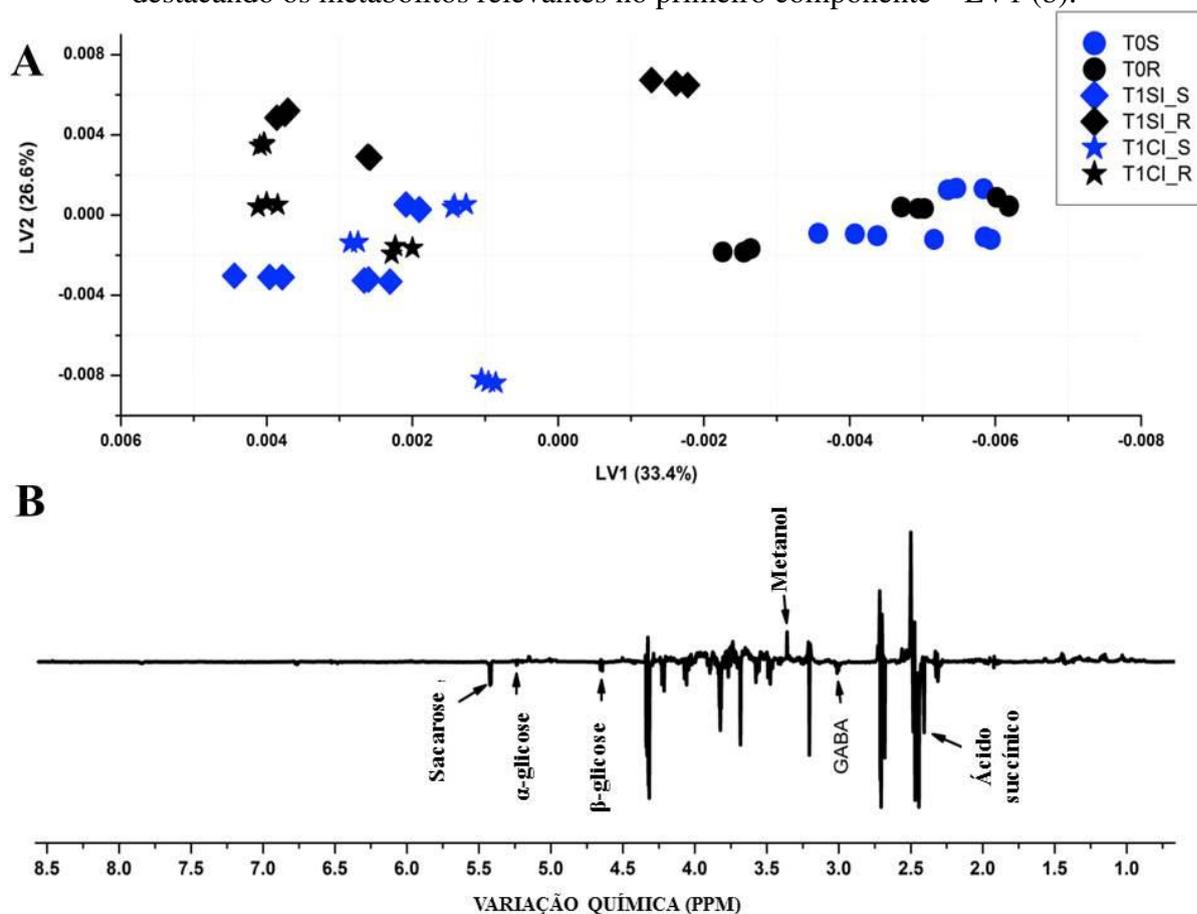
<i>Rafinose</i>		1 – 5.00 ( <i>m</i> ) 7 – 5.42 ( <i>d</i> 3.81) 15 – 4.23 ( <i>m</i> )	101.2 95.1 79.3	4.98 ( <i>d</i> 3.80) 5.42 ( <i>d</i> 3.85) 4.22 ( <i>d</i> 8.80)	101.1 94.6 79.9	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo
<i>Estaquiiose</i>		1 – 5.00 ( <i>m</i> ) 7,13 – 5.44 ( <i>d</i> 3.81) 21 – 4.23 ( <i>m</i> )	101.2 95.1 79.3	4.98 ( <i>m</i> ) 5.42 ( <i>d</i> 3.80) 4.22 ( <i>d</i> 8.80)	100.9 94.8 79.9	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo
<b>Outros compostos</b>						
<i>Colina</i>		3 - 3.21 ( <i>s</i> ) 2 - 3.52 ( <i>ss</i> ) 1 - no	56.9 70.4 no	3.19 ( <i>s</i> ) 3.50 ( <i>dd</i> 5.8; 4.2) 4.05 ( <i>m</i> )	56.7 70.1 58.5	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo
<i>Metanol</i>		1 - 3.36 ( <i>s</i> )	51.9	3.37 ( <i>s</i> )	51.4	BAGMEL 56, CNPH 00-915 e Tântalo

Abreviações: s – simplex; d – duplex; t – triplex; q – quadruplex; quin – quintuplex; dd – duplo duplex; dt – duplo triplex; m – multiplex; n – nenhuma informação; no – não observado; ss – sinal sobreposto.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As amostras das folhas coletadas antes da infestação apresentaram altos teores de ácido succínico, GABA, ácido málico, bem como, dos açúcares sacarose e  $\alpha$  e  $\beta$ -glicose. Já, as amostras das folhas de meloeiro infestadas com mosca-minadora e das que permaceram em gaiolas sem contato com o inseto apresentaram maiores teores de metanol (Figura 8b).

Figura 8 – Análise de componentes principais (a) envolvendo as linhagens resistente e suscetível do genótipo BAGMEL 56, no telado e nas gaiolas, com e sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).



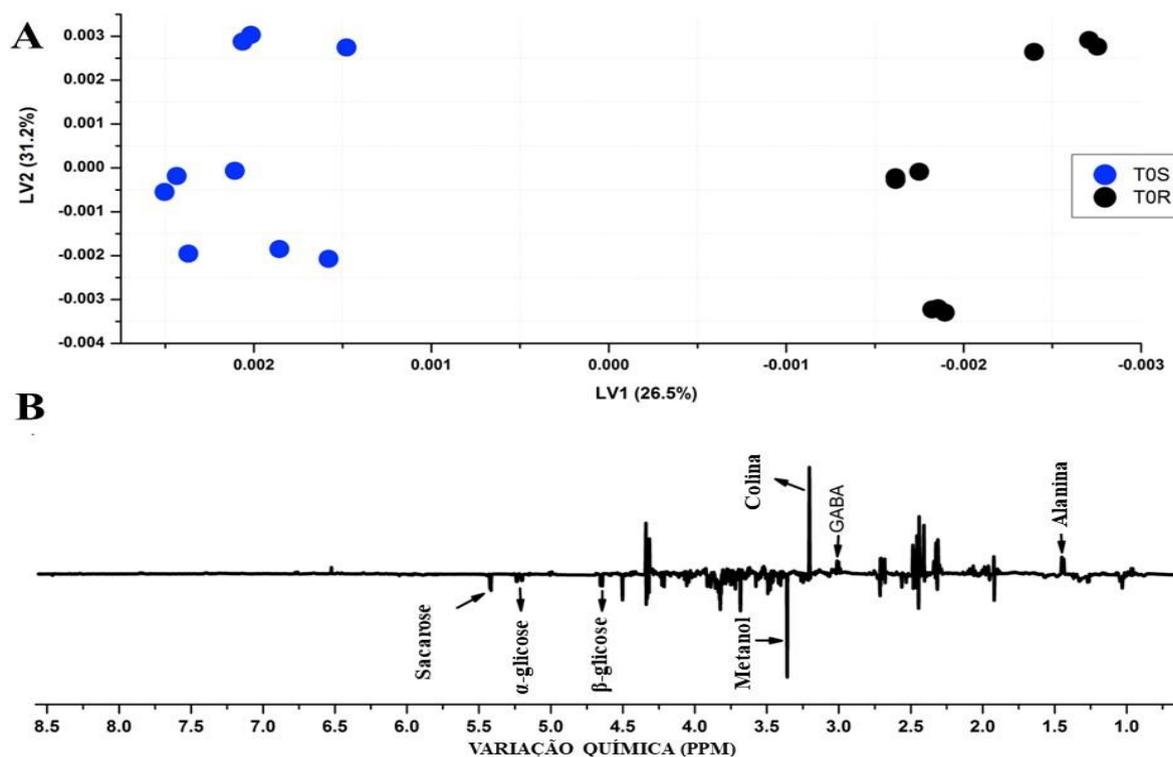
Fonte: Elaborado pelo autor.

Os grupamentos das amostras estão distribuídos de forma que houve variação nos metabólitos das linhagens entre T0 (antes da infestação) e T1 (após a infestação com e sem inseto) e que ocorre devido o estresse ambiental. Como foi observado, a análises de todas as amostras concomitantemente não permitiu observar adequadamente outros aspectos importante do conjunto de dados. Assim, outros dois modelos foram construídos para este genótipo. O primeiro deles buscou observar a distinção do metabolismo primário de indivíduos suscetíveis e resistentes antes da infestação (T0) (Figura 9).

Como pode-se observar, as linhagens resistente e suscetível à mosca-minadora apresentam metabólitos primários distintos, o que permitiu separa-las em dois grupos. No eixo

LV1 que representa 26,5% da variância total acumulada, as amostras da linhagem resistente foram posicionadas em escores negativos, e, as da linhagem suscetível foram alocadas nos escores positivos do mesmo eixo (Figura 9a).

Figura 9 – Análise de componentes principais (a) envolvendo as linhagens resistente e suscetível do genótipo BAGMEL 56 no telado, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).



Fonte: Elaborado pelo autor.

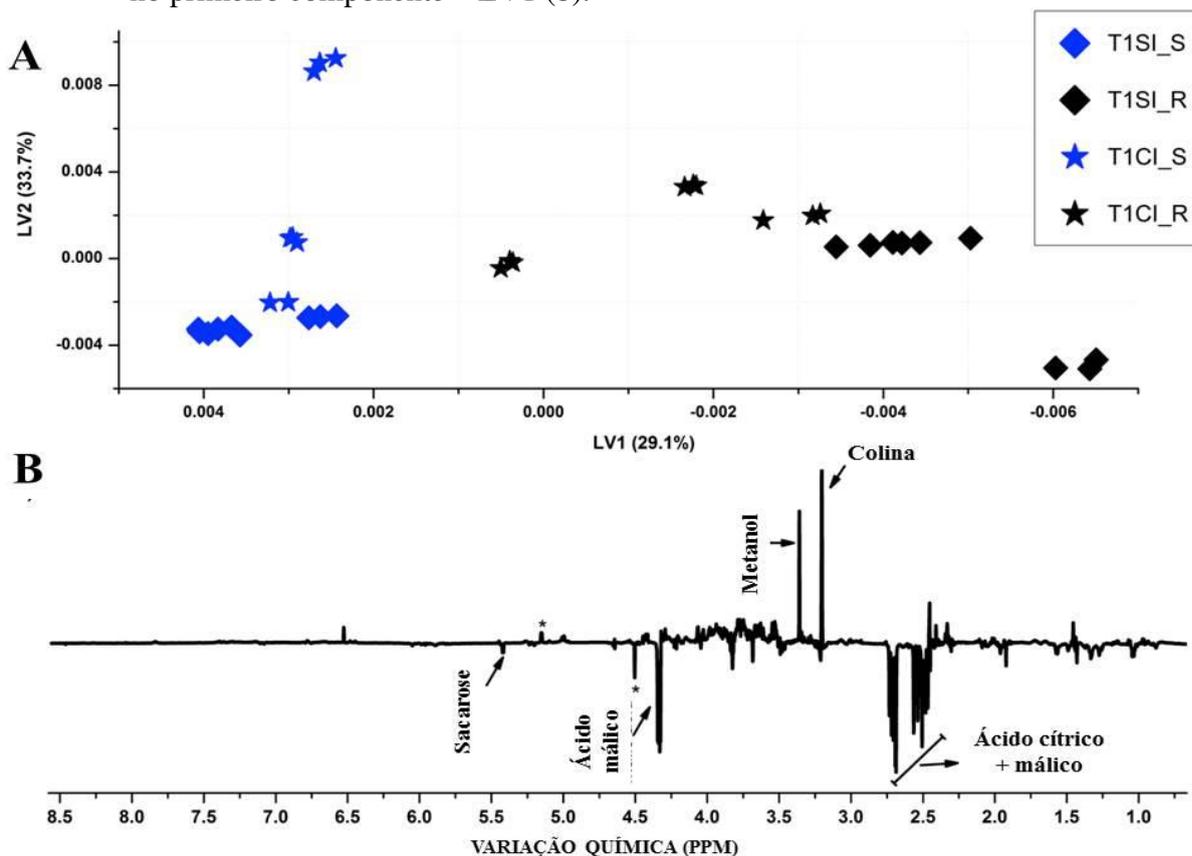
A análise das variáveis latente (LV1) mostrou que a linhagem resistente possui maiores concentrações de sacarose,  $\alpha$  e  $\beta$ -glicose e, metanol, enquanto que, as da linhagem suscetível apresenta os menores teores dos compostos mencionados, além de elevados teores de colina, GABA e alanina (Figura 9b), o que demonstra que o metabolismo primário das linhagens do genótipo BAGMEL 56 é distinto quando estas apresentam resistência ou suscetibilidade à mosca-minadora.

Ao avaliar somente as amostras foliares das linhagens resistente e suscetível do genótipo BAGMEL 56 após a infestação com e sem (plantas que ficaram em gaiolas sem contato com o inseto) a mosca-minadora foi possível observar se a presença do inseto afeta o metabolismo primário das linhagens (Figura 10).

O eixo LV1, com 29,1% da variância total acumulada, evidenciou que as amostras da linhagem resistente foram posicionadas nos escores negativos e, as da linhagem suscetível nos

escores positivos do mesmo eixo (Figura 10a). As amostras da linhagem resistente apresentaram teores elevados de sacarose e ácido málico e, as da linhagem suscetível, os menores teores dos metabólitos primários mencionados, além de maiores concentrações de colina e metanol (Figura 10b).

Figura 10 – Análise de componentes principais (a) envolvendo o acesso BAGMEL 56 resistente e suscetível nas gaiolas, com e sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).

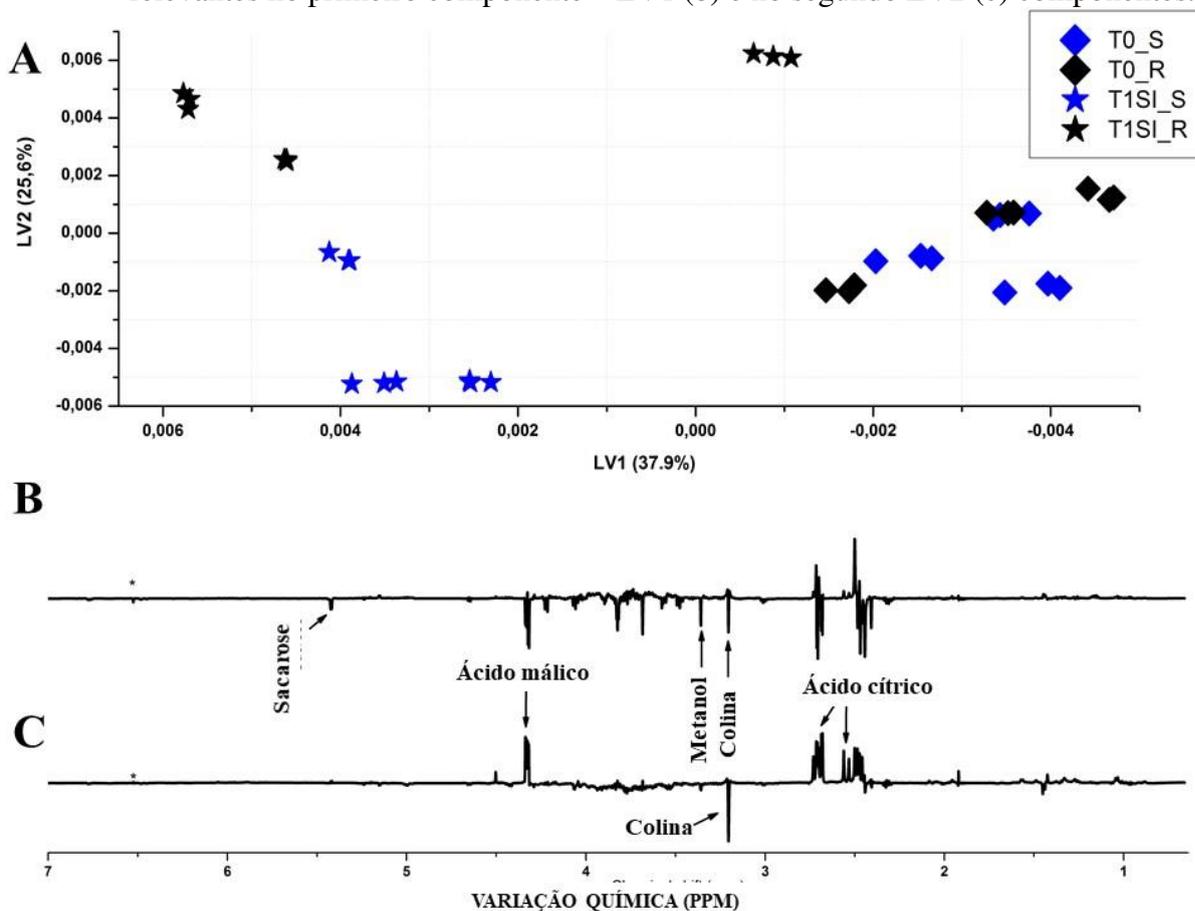


Fonte: Elaborado pelo autor.

Quando analisado as amostras das folhas das linhagens resistente e suscetível, do genótipo BAGMEL 56, após a infestação com mosca-minadora e das plantas que permaneceram em gaiolas sem a presença do inseto durante a infestação (LV2), foi observada uma tendência de separação, não significativa, na expressão metabólica em decorrência do contato com o inseto (Figura 10). Isso demonstra que o metabolismo primário observado nas linhagens do genótipo BAGMEL 56 é intrínscico da linhagem seja esta resistente ou suscetível.

Em seguida, foram avaliadas as amostras controle versus as amostras na gaiola sem a presença do inseto. Na Figura 11 podemos observar os gráficos da OPLS-DA com 11a) gráfico de scores LV1 x LV2; 11b) variáveis relevantes de LV1 e 11c) variáveis relevantes de LV2 plotadas em linhas, com os respectivos compostos identificados.

Figura 11 – Análise de componentes principais envolvendo as linhagens resistente e suscetível do genótipo BAGMEL 56 no telado e nas gaiolas, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b) e no segundo LV2 (c) componentes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

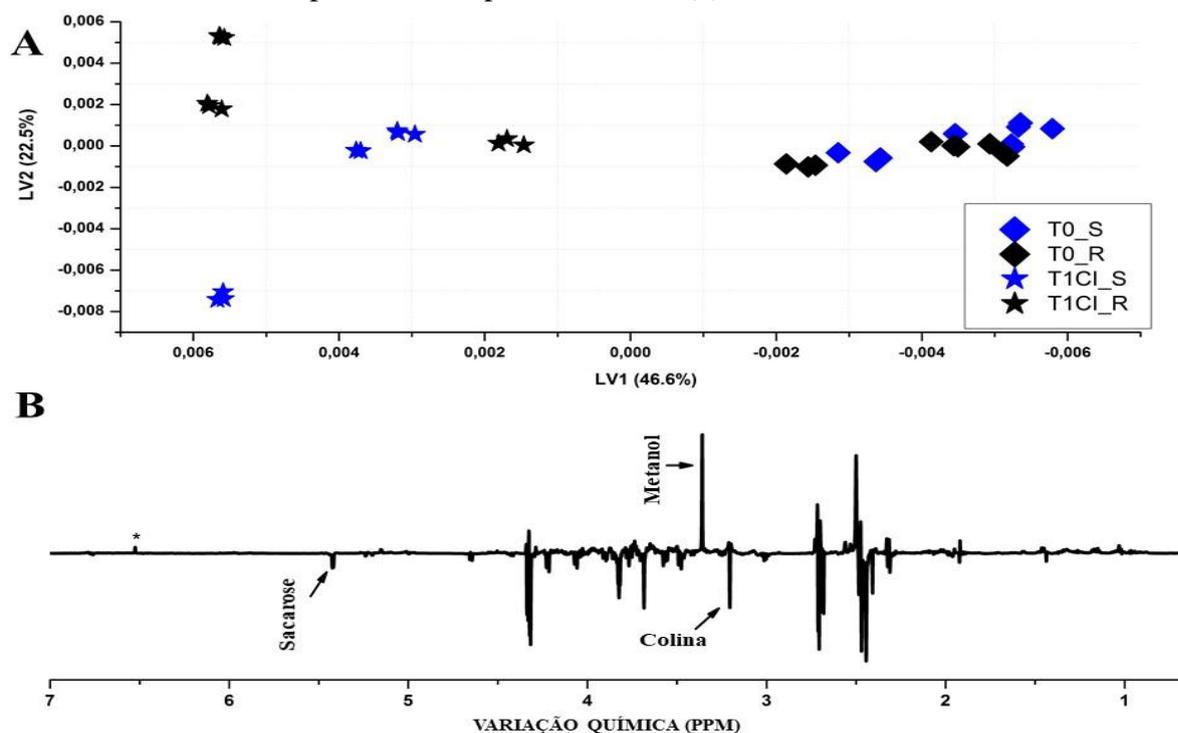
Pode-se observar na Figura 11, as amostras controle se agruparam valores negativos de LV1 (37,9%) e as amostras na gaiola sem o inseto, se agruparam em valores positivos do mesmo eixo. Conforme observado no gráfico das variáveis de LV1 (Figura 11b), as amostras controle possuem maiores teores de sacarose, metanol e colina e as amostras na gaiola sem o inseto, possuem menores teores dos mesmos compostos.

Em LV2 é possível verificar que as amostras suscetível e resistente se comportam de maneira diferente. Em scores positivos de LV2, estão alocadas as amostras resistentes e em valores negativos do mesmo eixo, as amostras suscetíveis. De acordo com os dados de LV2 (Figura 11c), pode-se observar que as amostras resistentes possuem maiores teores de ácido cítrico e málico enquanto que a suscetível, apresentam maiores teores de colina.

Em seguida, avaliou-se as amostras controle versus as amostras na gaiola com a presença do inseto (Figura 12). As amostras controle se agruparam valores negativos de LV1 (46,6%) e as amostras na gaiola com o inseto, se agruparam em valores positivos do mesmo

eixo. Conforme observado no gráfico das variáveis de LV1 (Figura 12b), as amostras controle possuem maiores teores de sacarose e colina e as amostras na gaiola com o inseto, possuem maiores teores de metanol.

Figura 12 – Análise de componentes principais envolvendo as linhagens resistente e suscetível do genótipo BAGMEL 56 no telado e nas gaiolas, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).



Fonte: Elaborado pelo autor.

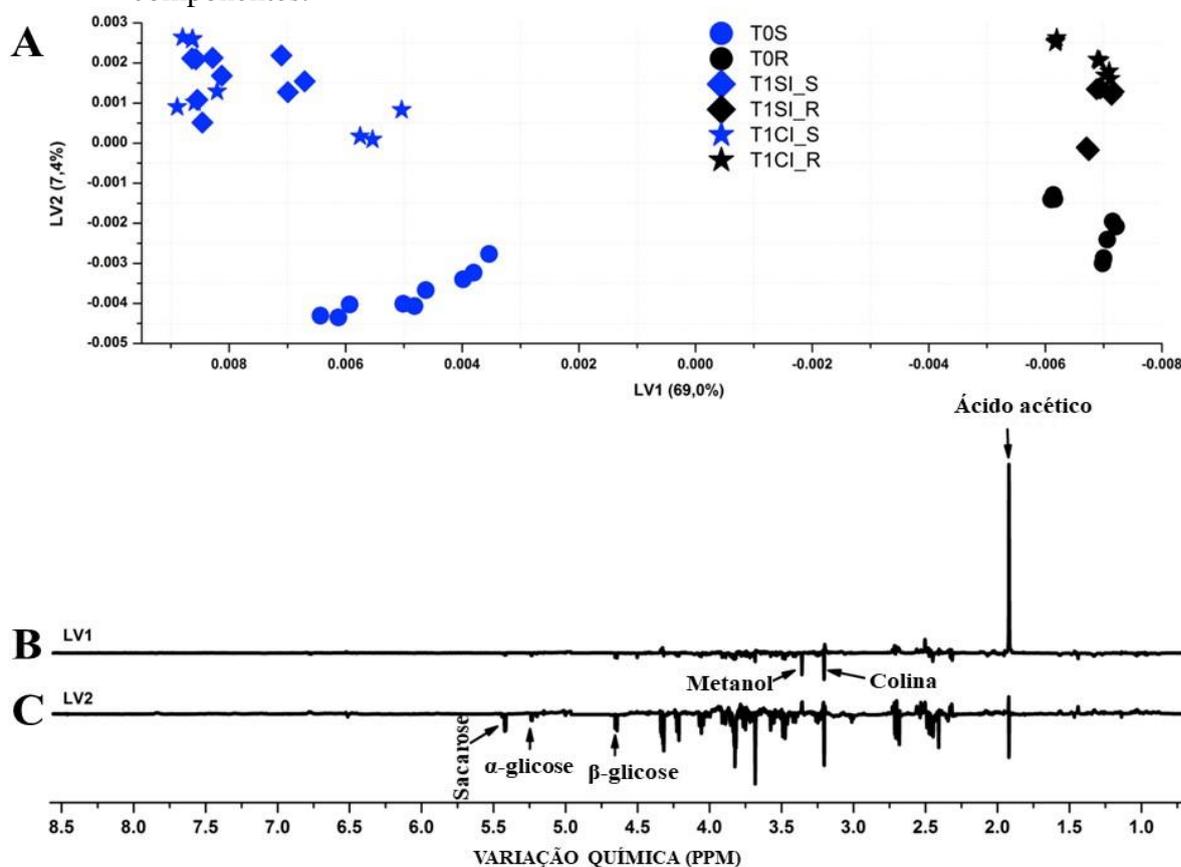
### 5.1.2 Genótipo CNPH 00-915

Para o genótipo CNPH 00-915, primeiramente foi feito um modelo de classificação no qual todas as amostras das linhagens resistente e suscetível foram avaliadas conjuntamente, sendo elas: folhas coletadas antes da infestação (T0S e T0R), após a infestação, em gaiola, com a presença da mosca-minadora (T1CI\_S e T1CI\_R) e após a gaiola sem a infestação com inseto (T1SI\_S e T1SI\_R) (Figura 13).

As linhagens resistente e suscetível do genótipo CNPH 00-915 são distintas quanto metabólitos primários produzidos, independente da condição em que as amostras foliares foram coletadas, antes ou após a infestação com e sem (plantas que permaneceram em gaiolas sem a presença do inseto) a mosca-minadora.

Figura 13 – Análise de componentes principais (a) envolvendo a linhagem CNPH 00-915

resistente e suscetível, no telado e nas gaiolas, com e sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b) e no segundo LV2 (c) componentes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Desta forma, o eixo LV1 com 69,0% da variância total acumulada evidenciou que as amostras de folhas da linhagem resistente foram posicionadas nos escores negativos, enquanto que, as amostras da linhagem suscetível encontram-se nos escores positivos do mesmo eixo (Figura 13a). Assim, as amostras da linhagem resistente apresentam maiores teores de metanol e colina e, as amostras da linhagem suscetível possuem maiores teores de ácido acético (Figura 13b).

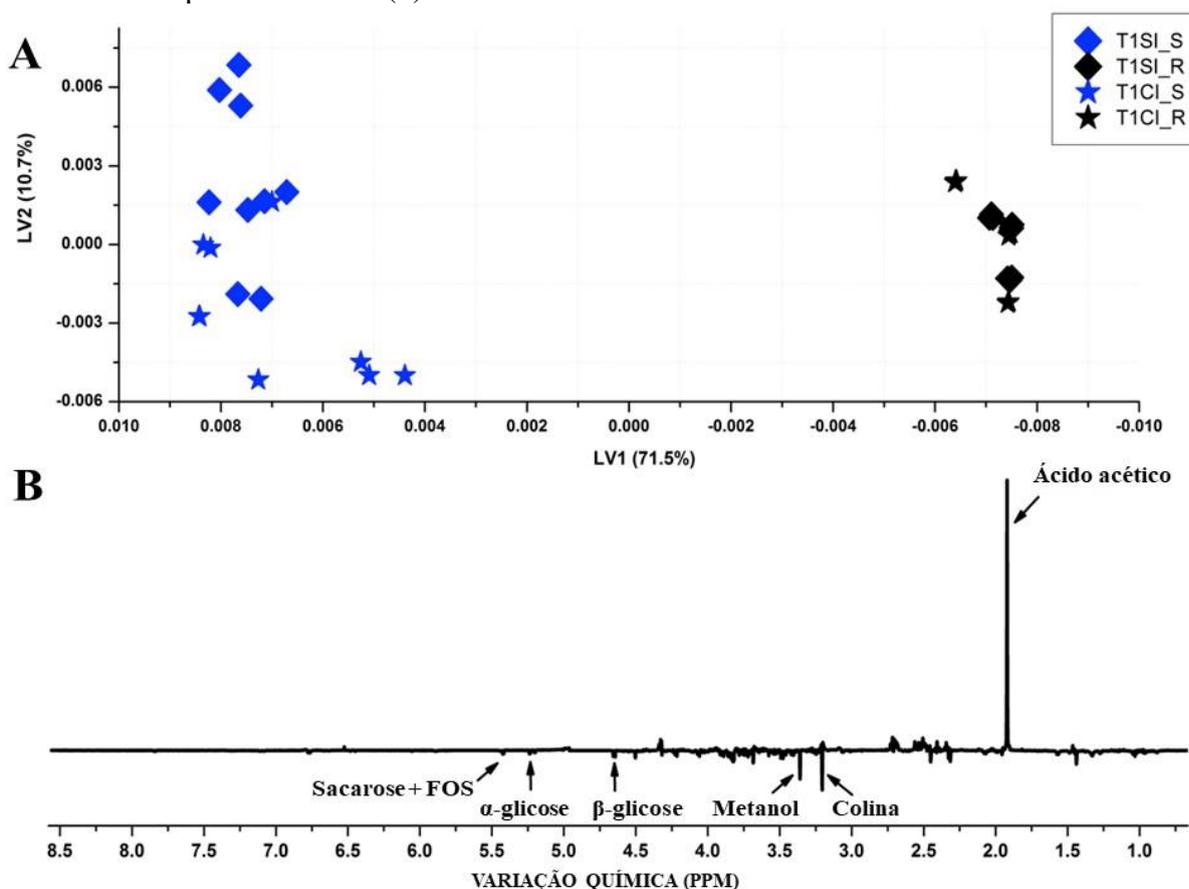
O eixo LV2 com 7,4% da variância total acumulada permitiu observar uma diferença significativa quanto aos metabólitos primários produzidos pelas linhagens resistente e suscetível quando as amostras foliares destas foram coletadas antes da infestação e após a infestação com e sem a presença de mosca-minadora. As amostras foliares das linhagens resistente e suscetível coletadas antes da infestação foram posicionadas nos escores negativos, enquanto que, as amostras das mesmas linhagens coletadas após a infestação com e sem a presença do inseto se encontram nos escores positivos do mesmo eixo (Figura 13a).

As amostras, das linhagens resistente e suscetível, coletadas antes da infestação

apresentaram elevados teores de açúcares como sacarose e  $\alpha$  e  $\beta$ -glicose, enquanto que, as amostras das mesmas linhagens após a infestação com a mosca-minadora e das que permaneceram em gaiolas sem a presença do inseto apresentaram menores teores dos metabólitos primários mencionados (Figura 13c). Os agrupamentos das amostras estão distribuídos de forma que houve variação nos metabólitos dos das linhagens entre T0 e T1, e entre resistentes e suscetíveis, que decorre do estresse ambiental e variação genética.

Ao avaliar somente as amostras foliares das linhagens resistente e suscetível do genótipo CNPH 00-915 após a infestação com mosca-minadora e após a gaiola sem o contato com o inseto foi possível observar se a presença do inseto afeta o metabolismo primário das linhagens (Figura 14).

Figura 14 – Análise de componentes principais (a) envolvendo a linhagem CNPH 00-915 resistente e suscetível no telado, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Para o genótipo CNPH 00-915, as linhagens resistente e suscetível são distintas quanto metabólitos primários produzidos, independentemente de ocorrer ou não a infestação pela mosca-minadora. O eixo LV1, com 71,5% da variância total acumulada, mostrou que as

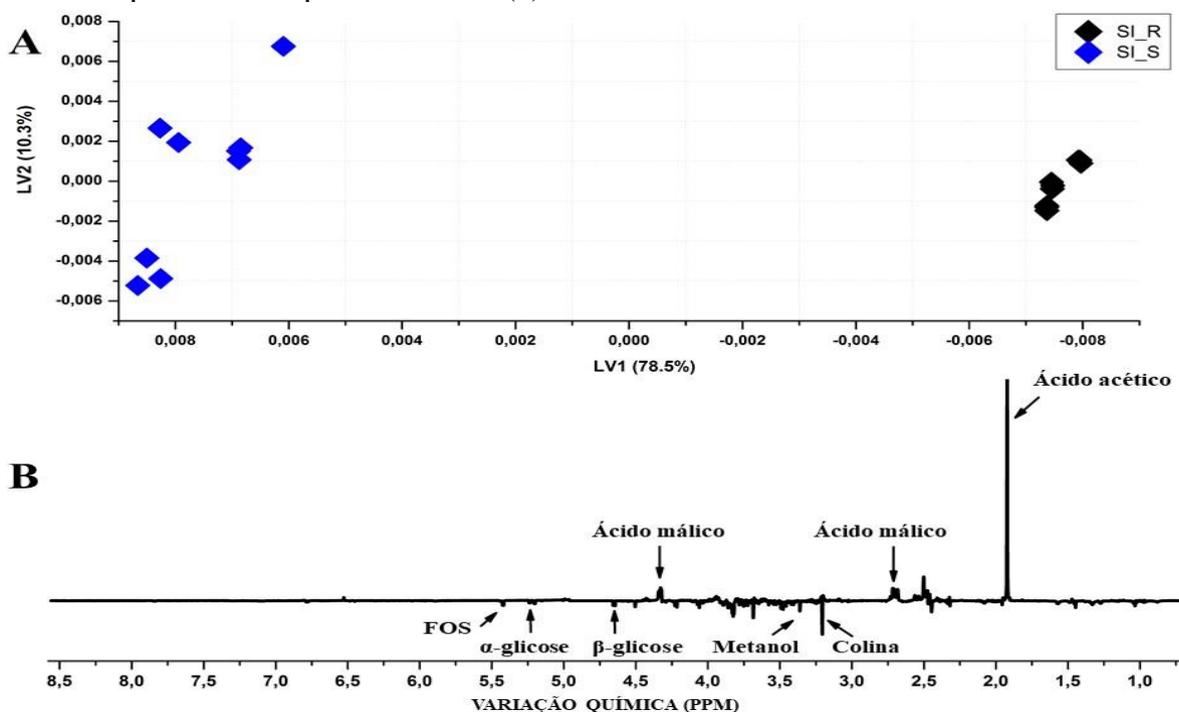
amostras foliares da linhagem resistente foram posicionadas nos escores negativos e, as da linhagem suscetível nos escores positivos do mesmo eixo, o que evidencia que diferença observada nas amostras quanto aos metabólitos primários pode não ser desencadeada pelo contato com o inseto (Figura 14a). As amostras foliares da linhagem resistente infestada ou não pelo inseto apresentaram maiores teores de sacarose,  $\alpha$  e  $\beta$ -glicose, frutooligossacarídeos (FOS) como rafinose e verbascose, metanol e colina (Figura 14b).

As amostras da linhagem suscetível apresentaram elevados teores de ácido acético, independentemente de terem sido atacadas ou não pela mosca-minadora (Figura 14b), como mencionado anteriormente, o ácido acético é um atrativo de insetos. As amostras resistentes apresentaram maiores teores de metanol e colina que já foram associados a resistência.

Os grupamentos das amostras estão distribuídos de forma que houve variação nos metabólitos dos acessos entre resistentes e suscetíveis, que decorre da variação genética.

Também foi realizada uma análise dos indivíduos resistentes e suscetíveis sem (Figura 15) e com (Figura 16) a presença do inseto.

Figura 15 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis da linhagem CNPH 00-915, sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).

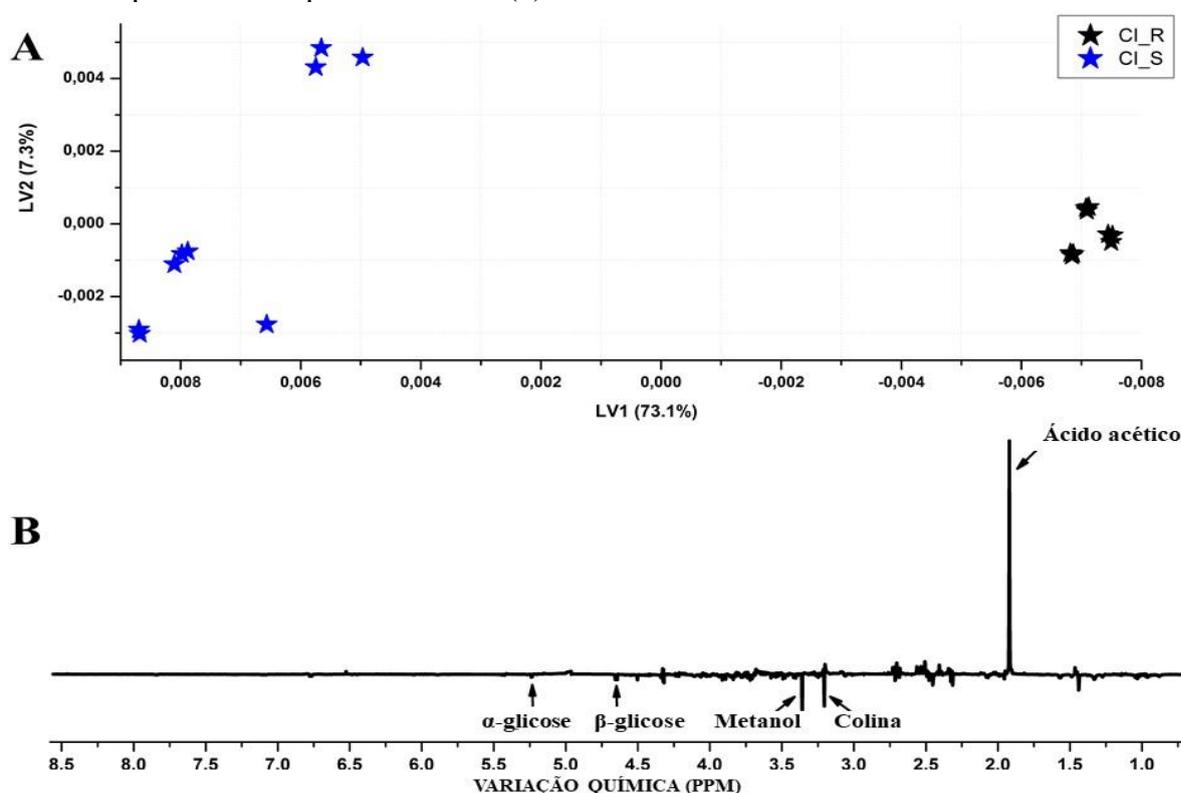


Fonte: Elaborado pelo autor.

Observa-se claramente a distinção das amostras resistentes (preto) e suscetíveis (azul) em LV1 e sem a presença do inseto. Desta forma, o eixo LV1 que conta com 78,5% da variância

total acumulada (Figura 15a) exibe as amostras resistentes (preto) posicionadas em escores negativos de LV1, enquanto que as amostras suscetíveis (azul) encontram-se em escores positivos do mesmo. Conforme observado no gráfico das variáveis (Figura 15b), as amostras resistentes e sem presença do inseto apresentam maiores teores de  $\alpha$  e  $\beta$ -glicose, frutooligosacarídeos (FOS) como rafinose e verbascose, metanol e colina. A amostra suscetível apresentou os maiores teores de ácido acético e ácido málico principalmente.

Figura 16 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis da linhagem CNPH 00-915, com infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).



Fonte: Elaborado pelo autor.

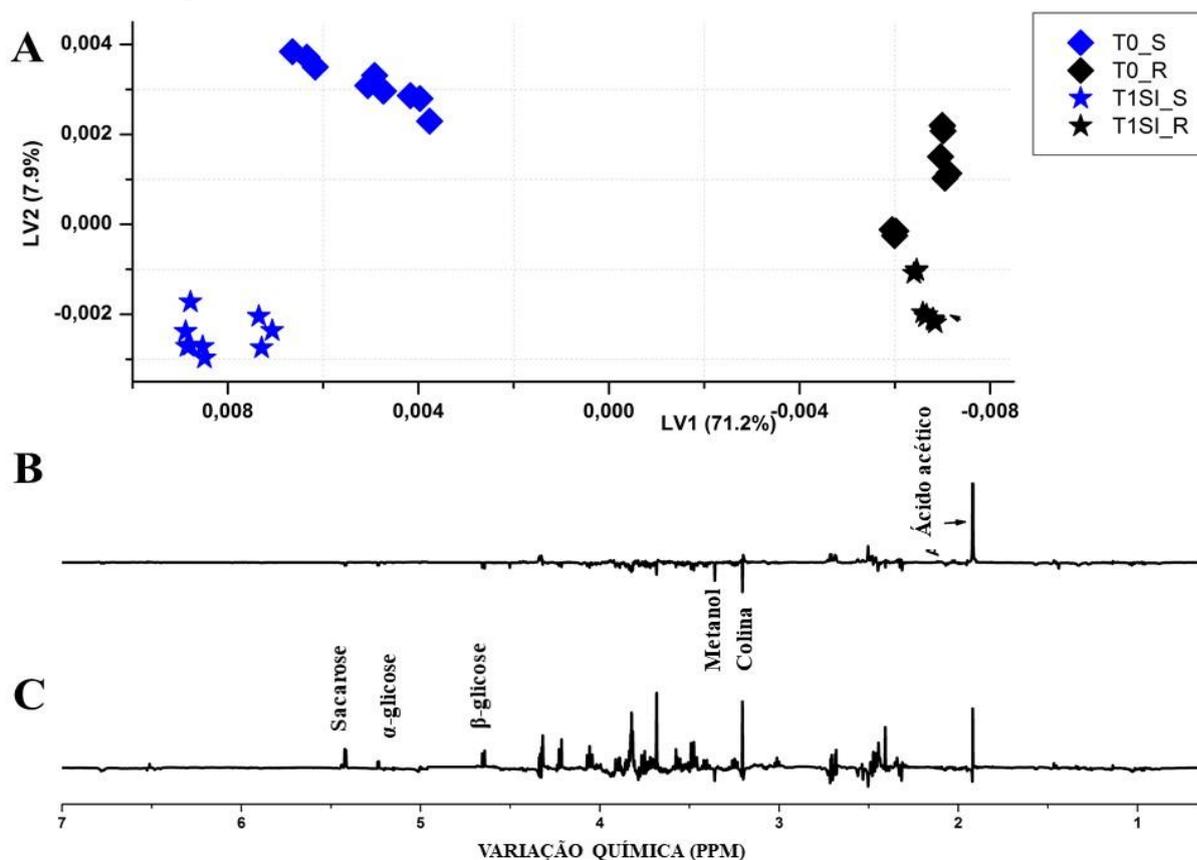
Pode-se observar claramente a distinção das amostras resistentes (preto) e suscetíveis (azul) em LV1 e com a presença do inseto. Desta forma, o eixo LV1 que conta com 73,1% da variância total acumulada (Figura 16a) exibe as amostras resistentes (preto) posicionadas em escores negativos de LV1 enquanto que as amostras suscetíveis (azul) encontram-se em escores positivos desse mesmo. Conforme observado no gráfico das variáveis (Figura 16b), as amostras resistentes e com a presença do inseto apresentam maiores teores de  $\alpha$  e  $\beta$ -glicose, metanol e colina. A amostra suscetível apresentou os maiores teores de ácido acético principalmente.

A resistência e suscetibilidade é o fator preponderante na distinção dos grupos (Figura 17). Assim, as amostras resistentes se agruparam valores negativos de LV1 (71.2 %) e as

amostras susceptíveis se agruparam em valores positivos do mesmo eixo. Conforme observado no gráfico das variáveis de LV1 (Figura 17b), as amostras resistentes possuem maiores teores de ácido acético enquanto que as susceptíveis, maiores teores de metanol e colina.

Em LV2 é possível verificar que as amostras controle e as amostras na gaiola sem presença do inseto se comportam de maneira diferente. Em scores positivos de LV2, estão alocadas as amostras controle e em valores negativos do mesmo eixo, as amostras da gaiola, sem a presença do inseto. De acordo com os dados de LV2 (Figura 17c), pode-se observar que as amostras controle possuem maiores teores de sacarose e alfa e beta glicose enquanto que as amostras da gaiola sem a presença do inseto possuem menores teores dos mesmos compostos.

Figura 17 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis da linhagem CNPH 00-915, nas gaiolas e telado sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b) e no segundo LV2 (c) componentes.

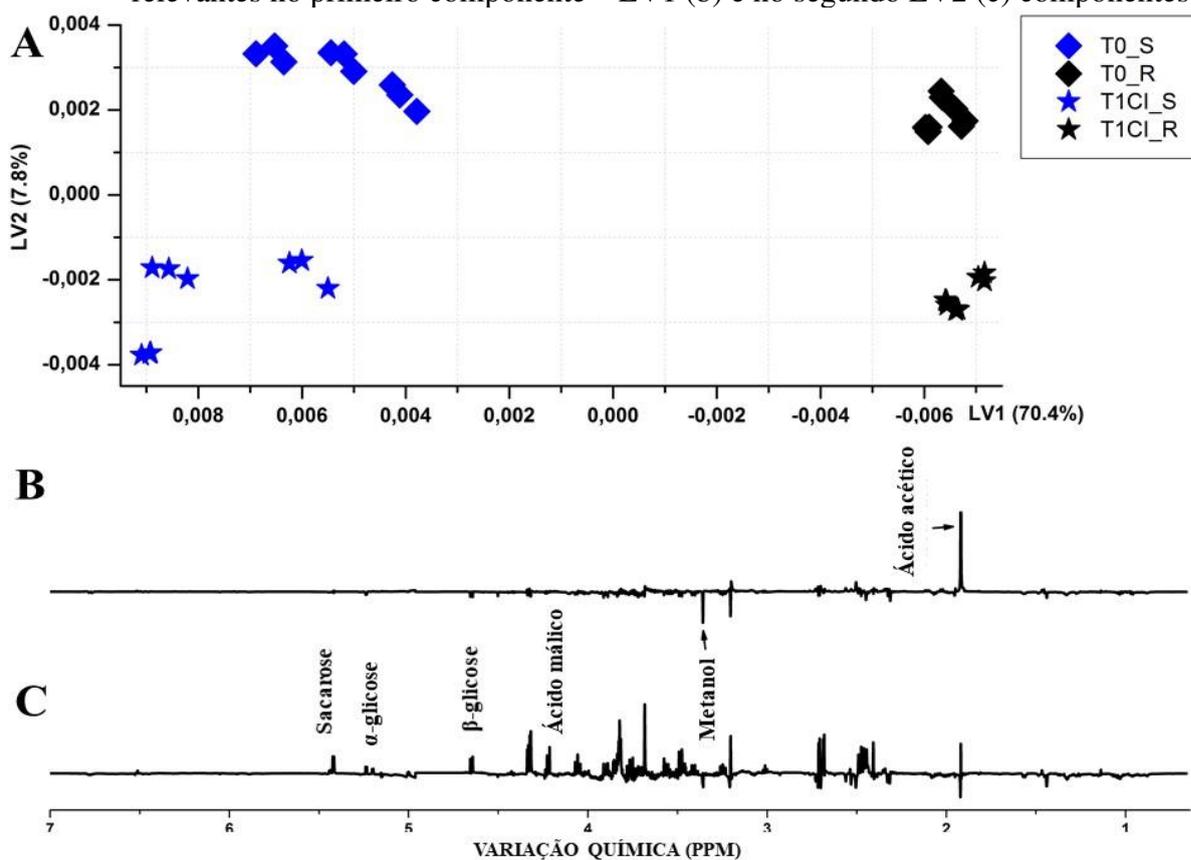


Fonte: Elaborado pelo autor.

Pode-se observar na Figura 18, as diferenças observadas sem a presença do inseto se acentuam com a presença deste. Ainda assim, a resistência e suscetibilidade é o fator preponderante na distinção dos grupos. Assim, as amostras resistentes se agruparam valores

negativos de LV1 (70.4 %) e as amostras susceptíveis se agruparam em valores positivos do mesmo eixo. Conforme observado no gráfico das variáveis de LV1 (Figura 18b), as amostras resistentes possuem maiores teores de ácido acético enquanto que as suscetíveis, maiores teores de metanol. Em LV2 é possível verificar que as amostras controle e as amostras na gaiola com presença do inseto se comportam de maneira diferente. Em scores positivos de LV2, estão alocadas as amostras controle e em valores negativos do mesmo eixo, as amostras da gaiola, com a presença do inseto. De acordo com os dados de LV2 (Figura 18c), pode-se observar que as amostras controle possuem maiores teores de sacarose e alfa e beta glicose e ácido málico enquanto que as amostras da gaiola com a presença do inseto possuem menores teores dos mesmos compostos.

Figura 18 – Análise de componentes principais (a) com linhagens resistentes e suscetíveis do acesso CNPH 00-915, em gaiolas e no telado com infestação, destacando metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b) e no segundo LV2 (c) componentes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

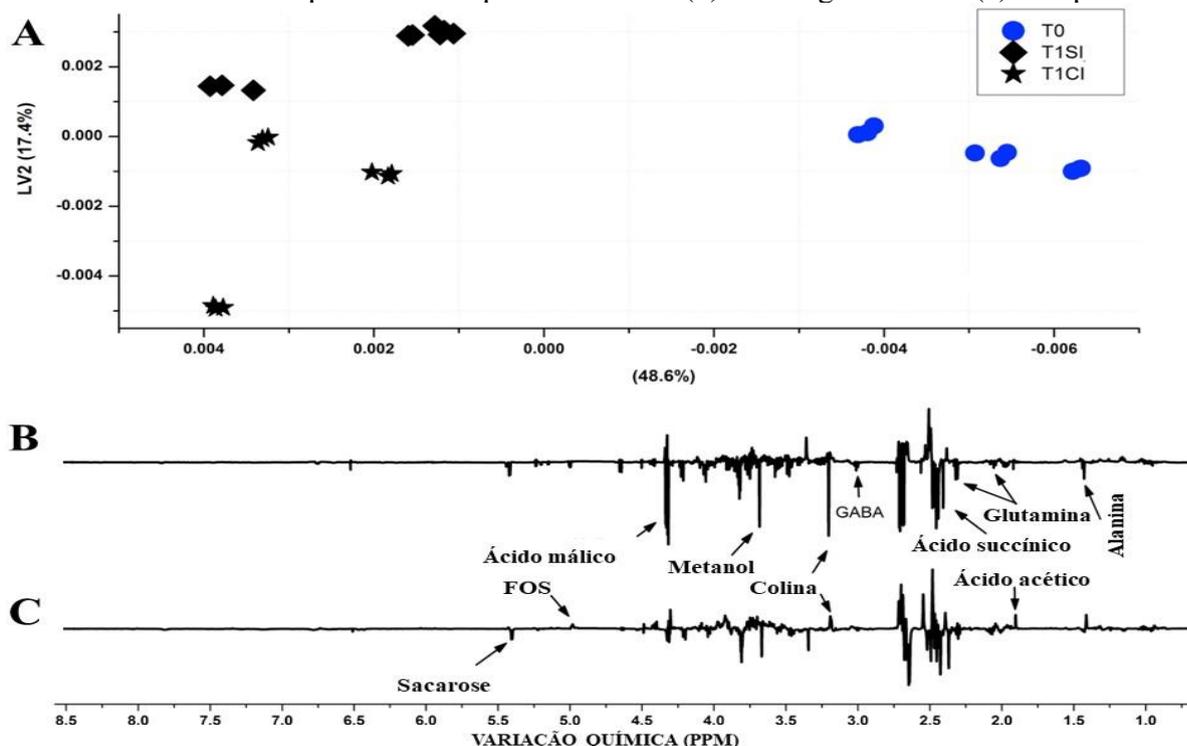
É possível observar que o ácido acético está associado com as amostras suscetíveis, assim como, os açúcares, a colina e o metanol estão associados com as amostras resistentes. Os grupamentos das amostras estão distribuídos de forma que houve variação nos metabólitos dos

acessos entre resistentes e suscetíveis, que decorre da variação genética.

## 6 Genótipo Tântalo

Inicialmente, o genótipo Tântalo, resistente à mosca-minadora foi avaliado pelo modelo de classificação em que todas as amostras foliares coletadas foram avaliadas conjuntamente, sendo elas: folhas coletadas antes da infestação (T0), após a infestação com a presença da mosca-minadora (T1CI) e, após a ‘infestação’ sem a presença do inseto (T1SI). Para o genótipo em questão não foi avaliada uma linhagem suscetível (Figura 19).

Figura 19 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis do híbrido Tântalo, nas gaiolas e telado com e sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b) e no segundo LV2 (c) componentes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Para o genótipo Tântalo, as amostras foliares coletadas antes da infestação apresentaram metabólitos primários ou concentração destes diferentes dos observados nas amostras foliares das plantas que foram infestadas com a mosca-minadora e das plantas que ficaram em gaiolas sem o inseto. Desta forma, o eixo LV1 com 69,0% da variância total acumulada explicou o efeito do ambiente, uma vez que, as amostras foliares coletadas antes da infestação ficaram posicionadas nos escores negativos, enquanto que, as amostras foliares das plantas que foram

para o laboratório e colocadas em gaiolas com e sem mosca-minadora se encontram nos escores positivos do mesmo eixo (Figura 19a).

As amostras foliares coletadas antes da infestação apresentaram maiores concentrações dos metabólitos primários ácido málico, metanol, GABA, colina, glutamina, ácido succinico e alanina, enquanto que, as amostras foliares coletadas após infestação com e sem (plantas que permaneceram em gaiolas sem o inseto) a mosca-monadora apresentaram os menores teores dessas mesmas substâncias (Figura 19b).

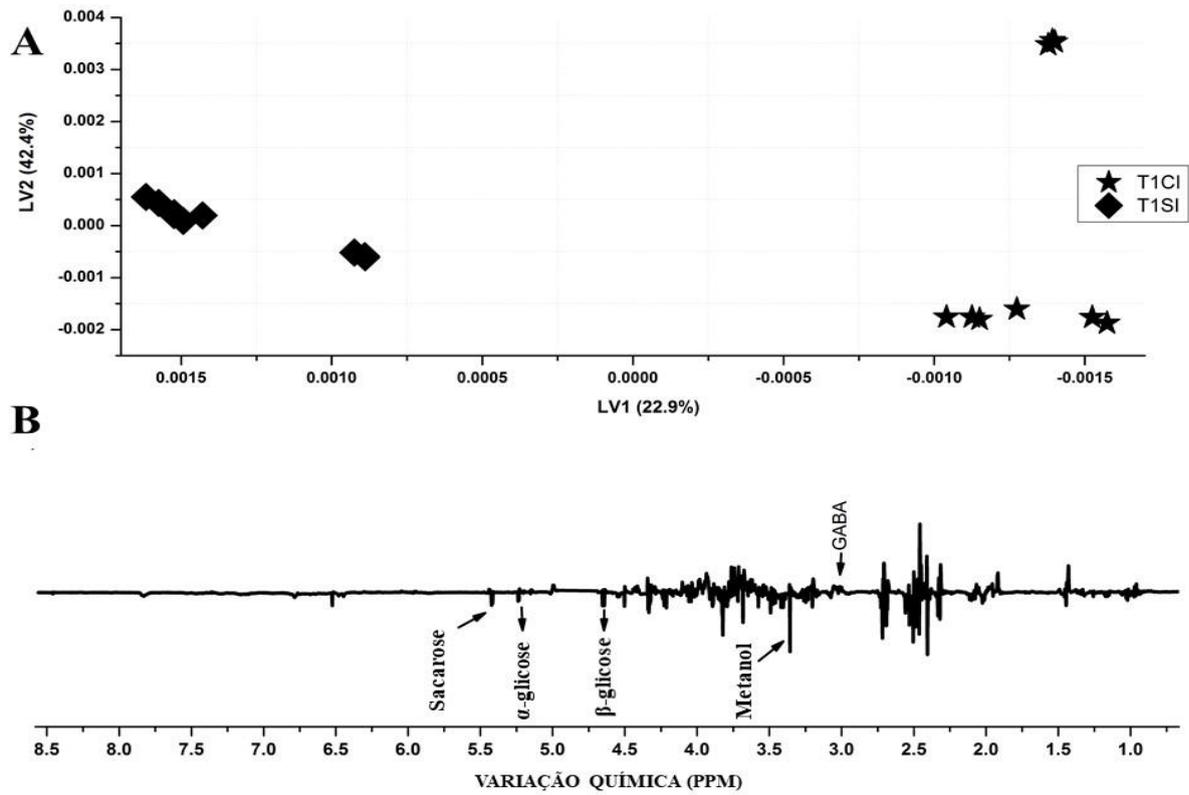
No eixo LV2 foi observado que houve diferença nos metabólitos primários produzidos ou na concentração destes quando o genótipo é ou não infestado pela mosca-minadora, independente, da mudança de ambiente (Figura 19b). Contudo, para melhor observar a variabilidade entre esses grupos, foi desenvolvido um modelo exclusivamente para eles.

Com as amostras foliares coletadas após o período de infestação foi verificado que as plantas que foram infestadas com mosca-minadora distinguiram das plantas que em gaiolas sem contato com o inseto quanto aos metabólitos primários produzidos ou a concentração destes (Figura 20b).

Desta forma, o eixo LV1, que conta com 69,0% da variância total acumulada, explicou o efeito da presença do inseto na planta, em que as amostras que foram infestadas com mosca-minadora foram posicionadas nos escores negativos. Já, as amostras foliares das plantas que não tiveram contato com inseto foram alocadas nos escores positivos do mesmo eixo (Figura 20a). As amostras foliares infestadas com a mosca-minadora apresentaram maiores teores dos metabólitos primários sacarose,  $\alpha$  e  $\beta$ -glicose e metanol, enquanto que, as amostras que não tiveram contato com inseto apresentaram os menores teores dessas mesmas substâncias (Figura 20b). Conforme observado no gráfico das variáveis de LV1 (Figura 20b), as amostras infectadas e com a presença do inseto apresentam maiores teores dos metabólitos sacarose,  $\alpha$  e  $\beta$ -glicose e metanol enquanto que as amostras infectadas apresentam os menores teores de todas essas substâncias.

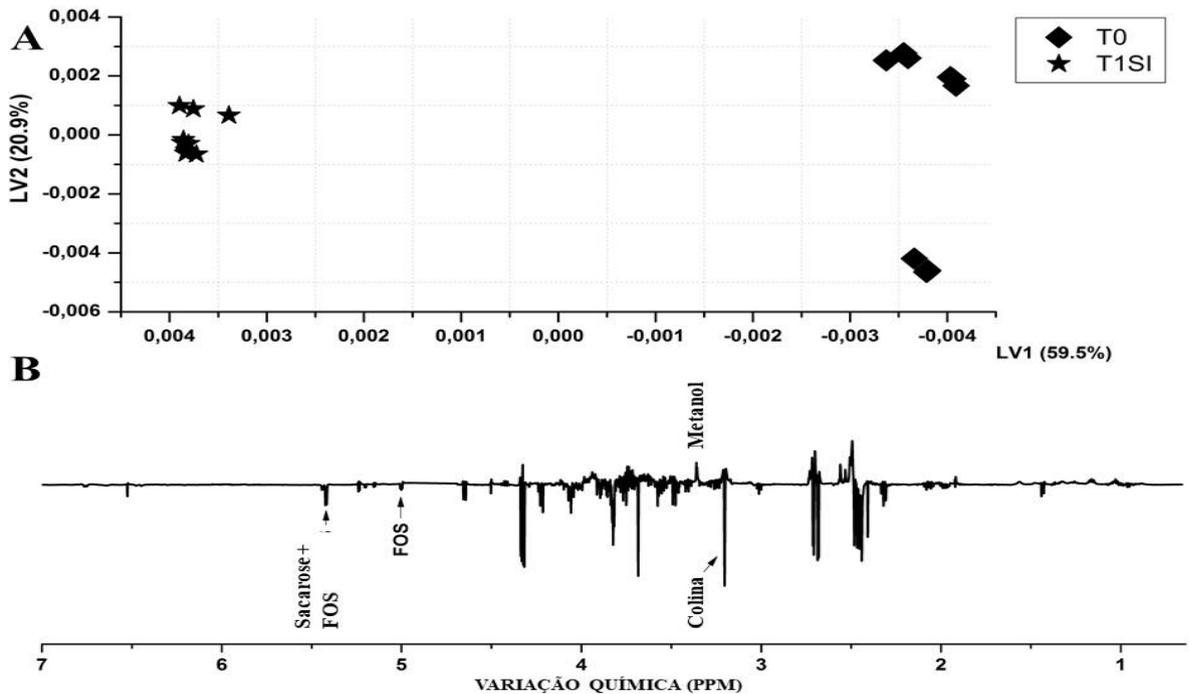
É possível observar na Figura 21, em LV1 é possível verificar que as amostras controle e as amostras na gaiola sem presença do inseto. Em scores negativos de LV1, estão alocadas as amostras controle e em escores positivos do mesmo eixo, as amostras da gaiola, sem a presença do inseto.

Figura 20 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis do híbrido Tântalo, na gaiola com e sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 21 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis do híbrido Tântalo, no telado e na gaiola sem infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).



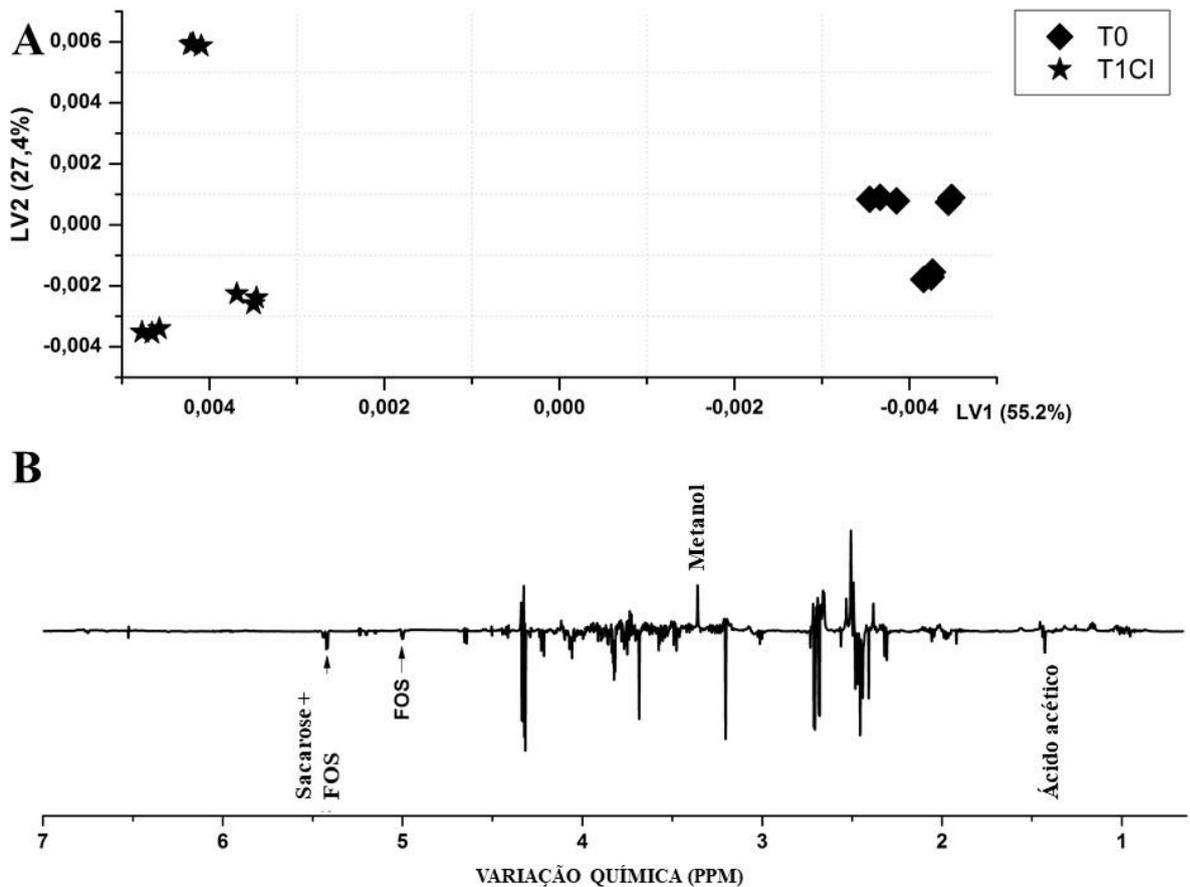
Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com os dados de LV1 (Figura 21b), pode-se observar que as amostras

controle possuem maiores teores de sacarose, FOS e colina enquanto que as amostras da gaiola sem a presença do inseto possuem menores teores dos mesmos compostos e maiores teores de metanol.

É possível observar na Figura 22, em LV1 é possível verificar que as amostras controle e as amostras na gaiola com presença do inseto. Em escores negativos de LV1, estão alocadas as amostras controle e em escores positivos do mesmo eixo, as amostras da gaiola, com a presença do inseto. De acordo com os dados de LV1 (Figura 22b), pode-se observar que as amostras controle possuem maiores teores de sacarose, FOS e colina e ácido acético enquanto que as amostras da gaiola com a presença do inseto possuem menores teores dos mesmos compostos e maiores teores de metanol.

Figura 22 – Análise de componentes principais (a) com plantas resistentes e suscetíveis do híbrido Tântalo, no telado e na gaiola com infestação, destacando os metabólitos relevantes no primeiro componente – LV1 (b).



Fonte: Elaborado pelo autor.

## 7 DISCUSSÃO

Na avaliação de perfil metabólico é possível identificar metabólitos de diferentes classes e semelhança dos metabólitos constituintes das folhas de meloeiro em todos os genótipos. O metabolismo analisado, de todos os genótipos, foi afetado pela mudança de ambiente, possivelmente, por alterações de temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade devido a transferência das plantas da casa de vegetação para o laboratório, onde permaneceram pelo período de infestação, com e sem a presença da mosca-minadora.

O ataque da mosca-minadora nos genótipos de meloeiro pode ser afetada pela variação na concentração de metabólitos na folha. Como a resistência nos genótipos é caracterizada por antibiose, que está relacionada aos fatores químicos produzidos através do metabolismo da planta, em que o inseto sofre influencia negativa em seu ciclo de vida devido substâncias químicas específicas (BOIÇA JUNIOR; JESUS, 2009).

No geral, no genótipo BAGMEL 56 é possível observar uma diferenciação na concentração metabólica dos acessos no telado e nas gaiolas devido o estresse causado no transporte, enquanto que no CNPH-915 também é possível observar o mesmo efeito, assim como, a variação na concentração de metabólitos devido a influência genética nos acessos resistentes e suscetível. No Tântalo, o comportamento das concentrações de metabólitos foi semelhante ao dos demais acessos resistentes. Os metabólitos das plantas são produzidos a partir de estímulos bióticos ou abióticos (TAIZ; ZEIGER, 2015).

Nas linhagens resistente e suscetível do genótipo BAGMEL 56 divergiram pouco quanto à variação na concentração dos metabólitos nos cenários analisados, se destacando na situação de telado (T0) em que os acessos resistentes apresentaram maiores concentrações de metanol e nos acessos suscetíveis apresentaram maiores concentrações de colina. Nas linhagens resistente e suscetível do genótipo CNPH-915 divergiram muito quanto à variação na concentração dos metabólitos em todos os cenários analisados, em que os acessos resistentes apresentaram maiores concentrações de metanol e colina e nos acessos suscetíveis apresentaram maiores concentrações de ácido acético. No híbrido resistente Tântalo o metabólito que apresentou maior variação de concentração em todos os cenários analisados foi o metanol.

O metanol se destacou como o metabólito que teve suas concentrações elevadas dos demais em diversos cenários e em todos os genótipos ligados a resistência. No geral esse metabólito dentro do BAGMEL 56 apresenta maiores concentrações nos acessos da gaiola com a presença do inseto em comparação aos demais. No CNPH-915 ele apresenta maiores concentrações nos acessos resistentes no telado e nas gaiolas sendo possível ser uma

característica genética específica do genótipo. No híbrido comercial resistente Tântalo, esse metabólito apresenta maiores concentrações nos acessos da gaiola com a presença do inseto. O metanol é nocivo para insetos-pragas. A emissão de metanol aumenta no caso de ataque por herbivoria. Sua volatilidade permite que ele saia rapidamente das células vegetais através dos estômatos e resulta em um efeito imediato sobre os insetos-pragas. O metanol emitido no ar por uma planta machucada ou uma planta comprometida por um herbívoro serve como um alarme para a própria planta e as plantas vizinhas para ativação de vias de defesa (SRIVASTAVA *et al.*, 2023).

A infestação e ataque por patógenos, causam um rápido aumento na produção de metanol nos experimentos com a lagarta *Manduca sexta* alimentando-se de *N. attenuata* mostraram emissão de metanol induzida por herbivoria (ZHOU *et al.*, 2022). A emissão de metanol reflete a defesa indireta das plantas contra insetos, promove a comunicação célula a célula e adapta as plantas a vários estresses ambientais. Em sua origem central são considerados os grupos éster metílico da pectina, um dos principais componentes da parede celular da planta. O metanol é produzido através da hidrólise dos ésteres metílicos da pectina pelas metilesterases da pectina e liberado da planta através dos estômatos. Quando a parede celular é danificada devido a ferimentos mecânicos ou outras tensões, as emissões de metanol aumentam. O metanol gasoso da planta ferida induz reações de defesa em folhas intactas da mesma planta e de plantas vizinhas, ativando genes induzíveis por metanol que regulam a resistência da planta (BANERJI *et al.*, 2024).

O ácido acético se destacou como o metabólito que teve suas concentrações elevadas dos demais em diversos cenários e nos genótipos CNPH-915 e Tântalo ligados a suscetibilidade. No geral esse metabólito dentro do BAGMEL 56 não se destacou, pois, a suscetibilidade dentro dos cenários apresentados está relacionado com outros ácidos orgânicos, como: cítrico, málico e succínico. O ácido cítrico é um ácido orgânico fraco e um intermediário no ciclo ácido. Pode ser usado para proteção de plantas contra os fitopatógenos. É um componente importante da resposta ao estresse em *Leymus chinensis*, e a aplicação exógena de 50 mg.L<sup>-1</sup> de ácido cítrico desempenhou um papel positivo na tolerância ao estresse (MORGUNOV *et al.*, 2017). O ácido succínico é identificado e apresenta forte sinal. É um intermediário metabólico do ciclo do ácido tricarbóxico (LI *et al.*, 2021). No CNPH-915, o ácido acético apresenta maiores concentrações nos acessos suscetíveis em todos os cenários analisados, podendo ser uma característica específica do genótipo. No híbrido comercial resistente Tântalo, o ácido acético e outros ácidos orgânicos são identificados mesmo que em níveis baixos nos diferentes cenários analisados. Misturas binárias de ácido acético atraíram um grande número de herbívoros adultos machos e

fêmeas, da mesma e diferente espécie em pomares de maçã (EL-SAYED *et al.*, 2018). O ácido acético foi testado sozinho e em diferentes combinações como atrativo de mariposas em macieira e todos os resultados dos diferentes tratamentos foram significativos (GIACOMUZZI *et al.*, 2017).

Os demais metabólitos destacados apresentam variadas funções na planta. A sacarose é identificada em todos os genótipos analisados e não é possível identificar padrões nos cenários analisados. Os padrões de transporte da sacarose podem ser alterados quando os tecidos são afetados, gerando novos sumidouros que competem pelos produtos da fotossíntese (SCHULTZ *et al.*, 2013; ZORIĆ *et al.*, 2019). Assim as variações de sacarose são esperadas após o ataque de insetos na planta pois apresenta diversas funções no metabolismo vegetal. Ambos os metabólitos,  $\alpha$ -glicose e  $\beta$ -glicose, são essenciais para o crescimento e desenvolvimento de plantas. Possuem sinais de RMN distintos que podem ser facilmente identificados (LI *et al.*, 2022).

O estresse causado pelo ambiente ativou rotas diferentes nos genótipos resistentes e suscetível, pois em mesma situação ambiental expressaram diferentes metabólitos. A colina se destaca nos suscetíveis do BAGMEL 56 antes da infestação. No CNPH-915 se destaca em todos os resistentes e no Tântalo apenas na situação de telado. A colina é liberada pelas plantas para tolerar o estresse, pois desempenha um papel vital como componente chave na osmorregulação, resistência ao estresse das plantas, assim, presume-se, que a colina desempenha um papel como metabólito regulador de estresses (NEMADODZI *et al.*, 2024). O aumento de colina está relacionado à absorção de fósforo na planta, e o aumento dos fenóis totais, enzimas para regular a defesa do hospedeiro nas folhas apoiou sua fotossíntese (VINCI *et al.*, 2018; KATAM *et al.*, 2022).

No geral, o ácido gama-aminobutírico (GABA) apresentou maiores concentrações nos genótipos BAGMEL 56 e Tântalo. O GABA é um aminoácido de quatro carbonos, identificado como uma molécula sinalizadora e presente em todas as espécies de plantas. Sua versatilidade funcional inclui o equilíbrio carbono/nitrogênio, desenvolvimento da planta e extremamente responsivo a herbivoria de insetos (LI *et al.*, 2021). As cucurbitáceas são únicas por terem evoluído um floema extra-fascicular específico, que carrega metabólitos relacionados à defesa, enquanto o floema fascicular é comum a todas as plantas superiores e carrega metabólitos primários, como oligossacarídeos da família da rafinose (SADON *et al.*, 2023). Além disso, o estresse abiótico aumenta os níveis de rafinose nas plantas (WASANO *et al.*, 2009; LOJKOVA *et al.*, 2020).

A alanina apresenta maiores concentrações no BAGMEL 56 suscetível no telado e no

Tântalo em telado. A alanina é sintetizada a partir do ácido glutâmico e sua transaminação com oxoglutarato produz glutamato e piruvato, uma reação reversível, conferindo a esse aminoácido dupla função entre o metabolismo do carbono e do nitrogênio (KENDZIOREK *et al.*, 2012; ALFOSEA-SIMÓN *et al.*, 2021). Ela acumula-se durante o estresse nas folhas e induz transcricionalmente suas próprias vias de degradação para permitir a remoção rápida após a liberação do estresse. Esta indução pode ser bloqueada pelo aumento do conteúdo de alguns outros aminoácidos (O'LEARY *et al.*, 2020).

Os açúcares estão presentes em todos os genótipos pois apresentam função sinalizadora, modulando diversos processos metabólicos. O seu acúmulo alivia os efeitos prejudiciais do estresse, aumentando a produção de antioxidantes e compostos semelhantes aos da fixação fotossintética de CO<sub>2</sub>, que atuam como um osmótico, mantendo a pressão osmótica dentro da célula, regulador da homeostase do pH e reduzindo a permeabilidade da membrana durante o estresse (SIDDIQUI *et al.*, 2019).

## 8 CONCLUSÃO

O principal metabólito primário associado à resistência é o metanol e à suscetibilidade é o ácido acético.

## 9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tema abordado nesta pesquisa está na fronteira do conhecimento e em crescente expansão, em diversas áreas. O objetivo do trabalho foi exitoso em associar metabólitos primários à resistência e suscetibilidade em meloeiro à mosca-minadora. Os parâmetros biológicos das amostras foram sinérgicos com os níveis de metabólitos encontrados, em cada genótipo.

De acordo com a literatura, os metabólitos ácido acético e metanol são cada vez mais estudados, contudo, foram explorados em poucas espécies vegetais e, pouco se tem informações para a cultura do melão. Devido o metabolismo primário ser muito dinâmico é interessante que esse estudo seja aprofundado com enzimas, outras vias metabólicas e metabólitos secundários, para que se tenha um panorama mais amplo do mecanismo de resistência e, ou, suscetibilidade do germoplasma de meloeiro à mosca-minadora.

## REFERÊNCIAS

ABDELNUR, Patricia Verardi. Metabolômica e espectrometria de massas. **Embrapa Agroenergia-Circular Técnica** (INFOTECA-E), Brasília, p. 4, 2011.

ACILA-SAKAR, German. Resource allocation and defense against herbivores in wild and model plants. **Evolutionary Ecology of Plant-Herbivore Interaction**, p. 37–61, 2020.

AGRÍCOLA FAMOSA. **Produção e tipos de melão**. 2024. Disponível em: <https://agricolafamosa.com.br/produtos/>. Acesso em: 18 jan. 2024.

ALFOSEA-SIMÓN, Marina *et al.* Physiological, nutritional and metabolomic responses of tomato plants after the foliar application of amino acids aspartatic acid, glutamic acid and alanine. **Frontiers in Plant Science**. v.11, 2021.

ALMEIDA, Diogo Filipe Loureiro Santos. **Estudo das vias metabólicas das plantas na síntese de pigmentos naturais**. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2017. Disponível em: [https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/6104/1/PPG\\_26189.pdf](https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/6104/1/PPG_26189.pdf). Acesso em: 18 jan. 2024.

ALLWOOD, James William *et al.* Inter-laboratory reproducibility of fast gas chromatography–electron impact–time of flight mass spectrometry (GC–EI–TOF/MS) based plant metabolomics. **Metabolomics** **5**, p. 479–496, 2009.

BALLABIO, Davide *et al.* Classification tools in chemistry. Part 1: linear models. PLS-DA. **Analytical Methods**, v. 5(16), p. 3790-3798, 2013.

BARAH, Pankaj *et al.* Multidimensional approaches for studying plant defence against insects: from ecology to omics and synthetic biology. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 2, p. 479-493, 2015.

BARBOSA, Júlio César. **Epidemiologia de begomovirose em tomateiro sob condições de campo e de cultivo protegido**. 2007. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Universidade de São Paulo. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11135/tde-28032008-151541/pt-br>. Acesso em: 18 jan. 2024.

BARROS, Adamastor Pereira. **Biologia de *Liriomyza sativae* Blanchard 1938 (Diptera: Agromyzidae) em tomateiros submetidos à aplicação de silício**. 61f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2016.

BASIJ, Moslem *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, n. 3, p. 395, 2011.

BIAIS, Benoit *et al.* <sup>1</sup>H NMR, GC–EI–TOFMS, and Data Set Correlation for Fruit Metabolomics: Application to Spatial Metabolite Analysis in Melon. **Analytical Chemistry**. v.81(8), p.2884-2894, 2009.

BOIÇA JUNIOR, Arlindo Leal *et al.* Resistência de plantas: Definições e aplicações como tática no controle de insetos. **Tópicos em Entomologia Agrícola II**. p. 133- 141, 2009.

BOWN, Allan Willian *et al.* Gamma-aminobutyrate: defense against invertebrate pests? **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 9, p. 421-468, 2006.

BRASIL, Antonio Marcos Soares *et al.* Representatividade do custo de controle da mosca minadora na produção de melão: um estudo de caso na empresa Santa Júlia Agro Comercial Exportadora de Frutas Tropicais Ltda. **Custos e Agronegócio on line**, v. 8, p.42-58, 2007.

BRUICE, Paula. **Química Orgânica**. 4º edição. Rio de Janeiro: Pearson Prentice Hall, 2006.

CARMO, Ignacio Lund Gabriel da Silva *et al.* Management and post-harvest characteristics of melon cultivars and their prospects in the Roraima savannah: a review. **Contribuciones a las Ciencias Sociales**, [s.l.], v. 16, n. 12, p. 32508-32520, 2023.

CATAPAN, Valdenir *et al.* **Principais pragas de hortaliças-fruto nas famílias das Solanáceas, Cucurbitáceas e Fabáceas**. Maringá: EDUEM, pp. 357-386. 2018.

CAVALCANTE NETO, Jose Galdino *et al.* Potential of parents and hybrids experimental of the yellow melon. **Ciência Rural**, v. 50, n. 2, p. 1-9, 2020.

CELIN, Elaine Facco. **Novas fontes de resistência à mosca-minadora *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) em meloeiro**. 82 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1075014>. Acesso em: 18 jan. 2024.

CELIN, Elaine Facco *et al.* New sources of resistance to leafminers (*Liriomyza sativae*) in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, p. 1-12, 2017a.

CELIN, Elaine Facco *et al.* Simple genetic inheritance conditions resistance to *Liriomyza sativae* in melon. **Euphytica**, Holanda, v. 213, n. 101, p. 1-11, 2017b.

CLARK, Christopher *et al.* Application of magnetic resonance imaging to pre-andpost-harvest studies of fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v.11, p.1-21, 1997.

COSTA, Ewerton Marinho *et al.* Determination of damaged leaf area and physiological responses of melon plants submitted to different infestation levels of *Liriomyza sativae*. **Horticultura Brasileira** 35, p.571-575, 2017.

COSTA, José Maria da. **Novas fontes de resistência em meloeiro a *Liriomyza sativae*, *Acidovorax avenae* e *Alternaria* spp.** 83 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró. 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufersa.edu.br/items/812d65e5-361a-4308-bf90-20c29f0bdaa9>. Acesso em: 18 jan. 2024.

COSTA-LIMA, Tiago Cardoso da. **Efeito da temperatura e da UR na biologia de *Liriomyza trifolii* (Burgess, 1880) (Diptera: Agromyzidae) em *Vigna unguiculata* (L.)**

**Walp.** Dissertação (Mestrado em Entomologia). Universidade de São Paulo. 2007. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-27022008-174152/publico/tiagocostalima.pdf>. Acesso em: 18 jan. 2024.

CRISÓSTOMO, João Ribeiro *et al.* Melhoramento genético do meloeiro. In: VIDAL NETO, Fernandes Carlos *et al.* **Melhoramento genético de plantas no Nordeste**. Brasília,DF: Embrapa, p. 209-246, 2013.

DEULOFEU, Carlos. **Características de mercados y tipos de melones en Europa, Africa, Asia, Norteamérica, América Central y América del Sur**. 2015, 13p. Disponível em: <https://www.bibliotecahorticultura.com/publicaciones/hortalizas/melon-y-sandia/el-melon-en-el-mundo/>. Acesso em: 05 out. 2023.

DOGIMONT, Catherine *et al.* 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.

DOROKHOV, Yuri *et al.* Methanol in Plant Life. **Frontiers in Plant Science**. v. 9, p. 6, 2018.

EMBRAPA. **Recomendação de cultivares de melão do tipo amarelo e pele de sapo em cultivares no verão e inverno do submédio do Vale do São Francisco**. 2022. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1147240/1/Melao-Amarelo-Pele-de-Sapo-Submedio-Vale-Sao-Francisco.pdf>. Acesso em: 18 jan. 2024.

EMPRAPA. **Sistema de produção de melão**. 2010. Disponível em: [http://www.cpatia.embrapa.br:8080/sistema\\_producao\\_spmelao/mercado.html](http://www.cpatia.embrapa.br:8080/sistema_producao_spmelao/mercado.html). Acesso em: 03 out. 2023.

FANG, Chuanying *et al.* Exploring the Diversity of Plant Metabolism. **Trends in Plant Science**, v. 24, n. 1, p. 83-98, 2019.

FAO. ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA. **Crops and livestock products**. 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Acesso em: 01 out. 2023.

FERNANDEZ, Olivier. *et al.* Fortune telling: metabolic markers of plant performance. **Metabolomics**, v. 12, n. 10, p. 1–14, 2016.

FERREIRA, Elaine Cristina Batista. **Estrutura genética de populações naturais de *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae)**. 2014. 32 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

FERREIRA, Roberta Rocha *et al.* Fontes e herança da resistência à mosca minadora em acessos de melão amarelo. **Revista Caatinga**, v. 35(4), p. 747–754. Mossoró. 2022. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/caatinga/article/view/11332>. Acesso em: 18 jan. 2024.

FREEMAN, Brian *et al.* An overview of plant defenses against pathogens and herbivores. **The Plant Health Instructor**, 2008.

- FREITAS, João Vito *et al.* Chemometric analysis of NMR and GC datasets for chemotype characterization of essential oils from different species of *Ocimum*. *Talanta*, 180, p. 329-336, 2018.
- FUKUSAKI, Eiichiro *et al.* Plant metabolomics: potential for practical operation. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 100, n. 4, p. 347-354, 2005.
- FÜRSTENBERG-HÄGG, Joel *et al.* Plant defense against insect herbivores. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 10242-10297, 2013.
- GARCÍA, Antonio Augusto *et al.* Metabolismo secundário de plantas. **Reduca (biología)**, v. 2, n. 3, p.119-145, 2009.
- GIRELLI, Chiara Roberta. 1H-NMR-based metabolomic profiles of different sweet melon (*Cucumis melo* L.) Salento varieties: Analysis and comparison. **Food Research International**, v.114,p. 81-89, 2018.
- GOIANA, Elaine *et al.* Dwarf cashew resistance to whitefly (*Aleurodicus cocois*) linked to morphological and histochemical characteristics of leaves. **Pest Management Science**, v. 76, p. 464–471, 2020.
- GOULART, Henrique *et al.* Pheromones: A green alternative for integrated pest management. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p.1205-1224, 2015.
- GREEN, Jonathan *et al.* Leaf colour as a signal of chemical defence to insect herbivores in wild cabbage (*Brassica oleracea*). **PloSONE**, Califórnia, v. 10(9): e0136884, p. 1-20, 2015.
- GUIMARÃES, Jorge Anderson *et al.* Recomendações Técnicas para o Manejo da Mosca Minadora no Meloeiro. Fortaleza, CE. EMBRAPA. **Comunicado Técnico**, 107. p. 6, 2005.
- GUIMARÃES, Jorge Anderson *et al.* Manejo integrado de pragas do meloeiro. In: **Proteção integrada de plantas**. EMBRAPA, Agroindústria Tropical, p. 227-236, 2008.
- GUIMARÃES, Jorge Anderson *et al.* **Biologia e manejo de mosca minadora no meloeiro**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças. 9p.2009.
- GUIMARÃES, Jorge Anderson *et al.* **Avaliação da resistência de híbridos de melão tipo amarelo à mosca-minadora *Liriomyza* spp.** Brasília: Embrapa Hortaliças, 16 p. 2009.
- GULLAN, Penny *et al.* **Insects: A summary of Entomology**. Roca LTDA, São Paulo. 480 p. 2012.
- HEINEMANN, Björn *et al.* The role of amino acid metabolism in signaling and metabolic adaptation to stress-induced energy deficiency in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 72, p. 4634–4645, 2021.
- INGRISANO, Rachele *et al.* Proline, cysteine and branched-chain amino acids in abiotic stress response of land plants and microalgae. **Plants**. v. 12, p. 15, 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema IBGE de Recuperação Automática. **Produção de melão**, 2022. Rio de Janeiro: IBGE. 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/melao/br>. Acesso em: 01 out. 2023.

ISAH, Tasiu. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. **Biological Research**, v. 52, n. 39, p. 52-39, 2019.

JEFREE, Christopher. **The cuticle, epicuticular waxes and trichomes of plants, with reference to their structure, functions and evolution**. In: JUNIPER, Burn *et al.* Insects and the plant surface. London, Edward Arnold, p. 360, 1986.

KATAM, Ramesh *et al.* Advances in Plant Metabolomics and Its Applications in Stress and Single-Cell Biology. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 23, p. 35, 2022.

KENNEDY, George *et al.* Leafminer resistance in muskmelon. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 103, p. 571- 574, 1978.

KIM, Hye Kyong *et al.* Sample preparation for plant metabolomics. **Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques**, v. 21, n. 1, p. 4–13, 2010.

KINNERSLEY, Alan *et al.* Gamma aminobutyric acid (GABA) and plant responses to stress. **Critical Reviews in Plant Sciences**. p. 479-509. 2010.

KRAPP, Anne. Plant nitrogen assimilation and its regulation: A complex puzzle with missing pieces. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 25, p. 115–122, 2015.

LAL, Manju. Metabolism of Storage Carbohydrates. In: **Plant Physiology, Development and Metabolism**. [s.l.] Springer, 2018. p. 339–377.

LANDAU, Elena Charlotte. Análise integrada da dinâmica da produção agropecuária e da paisagem natural no Brasil nas últimas décadas. **Embrapa Milho e Sorgo - Capítulo em livro científico (ALICE)**, Brasília, 2020.

LARA, Fernando. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. 2ª ed. São Paulo: Ícone, p. 336, 1991.

LI, Jiancai *et al.* Harmonizing biosynthesis with post-ingestive modifications to understand the ecological functions of plant natural products. **Natural Product Reports**. v. 39, p. 1383-1392, 2022.

LI, Li *et al.* The versatile GABA in plants, **Plant Signaling & Behavior**, v. 16, n. 3, p. 12. 2021.

LI, Suhong *et al.* Mechanisms of high concentration valine-mediated inhibition of peach tree shoot growth. **Frontiers in Plant Science**. v. 11, p. 13, 2020.

LOJKOVA, Lea *et al.* Enantiomers of carbohydrates and their role in ecosystem interactions: A review. **Symmetry**, v. 12, n. 3, p. 470, 2020.

MALOOK, Saif Ul *et al.* Molecular and Biochemical Mechanisms of Elicitors in Pest Resistance. **Life**, v. 1, p. 22, 2022.

MAOZ, Itay *et al.* Amino acids metabolism as a source for aroma volatiles biosynthesis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 67, 2022.

MARASCHIN, Marcelo *et al.* Metabolômica e quimiometria como ferramentas para análises químio(bio) diversas. In. RESENDE, Rodrigo R. (Ed.) **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria**. Blucher, v. 4, p. 17-50, 2017.

MARTI, Guillaume *et al.* Metabolomics reveals herbivore-induced metabolites of resistance and susceptibility in maize leaves and roots. **Plant, Cell & Environment**, v. 36, n. 3, p. 621–639, 2013.

MEDEIROS, David B *et al.* The knowns and unknowns of intracellular partitioning of carbon and nitrogen, with focus on the organic acid-mediated interplay between mitochondrion and chloroplast. **Journal of Plant Physiology**, v. 266, p. 11, 2021.

MONICA, Soumya *et al.* A review on management of leafminer in horticultural crops. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 9, n. 2, p. 1204-1213, 2021.

MORAIS, Antonio Alves *et al.* **Melhoramento para resistência aos insetos-praga**. In: FRITSCHÉ-NETO, Roberto *et al.* editores. **Melhoramento de plantas para condições de estresse bióticos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, MG, p. 153-185, 2012.

MORENO-DELA FUENTE, Ana *et al.* Changes in melon plant phytochemistry impair *Aphis gossypii* growth and weight under elevated CO<sub>2</sub>. **Scientific Reports**, v. 11, p. 12, 2021.

MOSTAFA, Salma *et al.* Plant responses to Herbivory, Wounding, and Infection. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 23, n. 13, p. 7031, 2022.

NEMADODZI, Lufuno Ethel. <sup>1</sup>H NMR-Based metabolomics profile of green and red amaranthus grown in open field versus greenhouse cultivation system. **Metabolites**. p. 24, 2024.

NICK, Carlos *et al.* **Melão: do plantio à colheita**. Viçosa-MG, Ed. UFV, p. 11, 2019.

NUNES, Glauber Henrique de Sousa *et al.* Resistência de acessos de meloeiro à mosca-minadora *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 3, p. 746-754, 2013.

O'LEARY, Brendan *et al.* Metabolite regulatory interactions control plant respiratory metabolism via target of rapamycin (TOR) kinase activation. **The Plant Cell**, v. 32, n. 3, p. 666-682, 2020.

OLIVEIRA, Frederico Inacio Costa de *et al.* **A cultura do melão**. Sistemas de produção de melão no Brasil. Cap. 1., p. 17-31, 2017. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1074940/1/CLV17007.pdf>. Acesso em: 05 out. 2023.

OLIVEIRA, Demetrios Jose de Albuquerque. **Caracterização química de acesso do complexo *Saccharum* para resistência a pragas da ordem lepdoptera**. 208 f. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia). Universidade Federal de Alagoas. 2021. Disponível em: <https://www.repositorio.ufal.br/jspui/handle/123456789/8443>. Acesso em: 18 jan. 2024.

OLIVEIRA, Josielma Monteiro *et al.* Leaf morphology of melon meidates feeding and oviposition preference, and immature survival of *Liriomyza sativae* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae). **Phytoparasitica**. p. 479-489, 2021.

OLIVEIRA, Sabrina Juvenal. **Antibiose e antixenose à mosca-minadora *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) em germoplasma de meloeiro**. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Ceará. 2019.

RAUF, Aunu *et al.* Leafminers in vegetables, ornamental plants and weeds in Indonesia: surveys of host crops, species composition and parasitoids. **International Journal of Pest Management**, [s.l.], v. 46, n. 4, p. 257-266, 2000.

SABATO, Diego *et al.* Seeds morpho-colourimetric analysis as complementary method to molecular characterization of melondiversity. **Scientia Horticulturae**, 192, p. 441-452, 2015.

SADON, Pierre *et al.* Aphid adaptation to cucurbits: sugars, cucurbitacin and phloem structure in resistant and susceptible melons. **BMC Plant Biology**. v. 23, p. 14, 2023.

SANTANA, Mábio João. **O uso da ressonância magnética nuclear na análise do perfil químico de sucos de uva do tipo integral e nectar**. 150 f. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal de Goiás. 2017. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/items/1f2f1ace-588a-4fce-815d-cb4019ee5632>. Acesso em: 18 jan. 2024.

SIDDIQUI, Husna *et al.* Glucose: Sweet or bitter effects in plants-a review on current and future perspective. **Carbohydrate Research**, v. 487, p. 28, 2019.

SILVA, Luiz Guilherme. **Uma breve revisão sobre RMN e algumas de suas aplicações**. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Uberlândia, 2018.

SMITH, Charles Michael. Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches. Berlin. **Springer**. p. 423, 2005.

SOUSA, Viviane *et al.* Investigating *Liriomyza* (Diptera: Agromyzidae) populations from northeastern Brazil: mtDNA analyses of the global pest *L. sativae* and *L. huidobrenses*. **Annals of the Entomological Society of America**, 115(3), p. 285-303, 2022.

SRIVASTAVA, Alka *et al.* Failure of methanol detoxification in pests confers broad spectrum insect resistance in PME overexpressing transgenic cotton. **Plant Science**, v 333, 2023.

STEINBRENNER, Adam *et al.* Herbivore-Induced Changes in Tomato (*Solanum lycopersicum*) Primary Metabolism: A Whole Plant Perspective. **Journal of Chemical**

**Ecology**, v. 37, n. 12, p. 1294–1303, 2011.

TAIZ, Lincon *et al.* Fisiologia Vegetal. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p. **FLORESTA, Curitiba, PR**, v. 45, n. 2, p. 303-314, 2015.

THIELLEMENT, Herman *et al.* Proteomics for genetic and physiological studies in plants. **Electrophoresis**, v. 20, n. 10, p. 2013-2026, 1999.

TRISTÁN, Ana Isabel *et al.* Evaluation of ORAC, IR and NMR metabolomics for predicting ripening stage and variety in melon (*Cucumis melo* L.). **Food Chemistry**. p. 372, 2022.

TUGIZIMANA, Fidele *et al.* Plant metabolomics: A new frontier in phytochemical analysis. **South African Journal of Science**, v. 109, n. 5/6, p. 1-11, 2013.

UNDAS, Anna *et al.* The use of metabolomics to elucidate resistance markers against damson-hop aphid. **Journal of Chemical**, v. 44, n. 7, p. 711-726, 2018.

VIDAL, Maria de Fátima. **Agropecuária - Fruticultura**. Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste - ETENE Ano 7. Nº 228. 2022. Disponível em: [https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/1326/3/2022\\_CDS\\_228.pdf](https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/1326/3/2022_CDS_228.pdf). Acesso em: 01 out. 2023

WISHART, David *et al.* HMDB 3.0 - the human metabolome database in 2013. **Nucleic acids research**, 41(D1), D801-D807. 2012.

YANG, Qingqing *et al.* Connections between Amino Acid Metabolisms in Plants: Lysine as an Example. **Frontiers in Plant Science**. v. 11, p. 8, 2020.

ZAINAL, Bokhary *et al.* 1H NMR metabolomics profiling unveils the compositional changes of hydro-cooled rockmelon (*Cucumis melo* L. *reticulatus* cv Glamour) during storage related to in vitro antioxidant activity. **Scientia Horticulturae**. v.246, p.618-633, 2019.

ZHAO, Yannan *et al.* Malate Circulation: Linking Chloroplast Metabolism to Mitochondrial ROS. **Trends in Plant Science**, v. 25, p. 446-454, 2020.

ZHOU, Shaoqun *et al.* Molecular ecology of plant volatiles in interactions with insect herbivores. **Journal of Experimental Botany**, v. 73, p. 449–462, 2022.

ZORIĆ, Ana Sedlarevic *et al.* Resource allocation in response to herbivory and gall formation in *Linaria vulgaris*. **Plant Physiology and Biochemistry**. p. 224–232. 2019.