ANÁLISE DO POLIMORFISMO GENÉTICO DE BICHO-MINEIRO (*Leucoptera coffeella)* EM POPULAÇÕES ORIUNDAS DE SISTEMAS AGROFLORESTAIS DO MUNICÍPIO DE SÃO JOAQUIM DA BARRA, SP

Jessica Costa Rodrigues Batista[1], Brígida Sperchi de Oliveira Machado[2], Marcos de Lucca Junior[3], Alexandre Moraes Cardoso[3].

[1]IFSP - Barretos. jessica.costa@aluno.ifsp.edu.br; [2]IFSP - Barretos. Discente Agronomia; [3]IFSP - Barretos. Docentes Agronomia

Palavras-chave: Fluxo Gênico, Heterozigosidade, Manejo Integrado, Ecologia da Paisagem.

Introdução

A cafeicultura é uma atividade estratégica para o Brasil, sendo o país um dos maiores produtores e exportadores mundiais de café (EMBRAPA CAFÉ, 2023). Historicamente marcada pela transição para monoculturas em pleno sol, essa abordagem intensiva gera desafios para a sustentabilidade e aumenta a vulnerabilidade a pragas. Nesse contexto, os Sistemas Agroflorestais (SAF), que combinam espécies perenes com o cafeeiro, promovem a biodiversidade e o controle biológico natural, surgindo como alternativas promissoras (Nair, 1993).

O bicho-mineiro-do-cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville, 1842), é a praga mais importante do café na América Latina (Dantas *et al.*, 2021), sendo sua fase larval a principal causadora de danos. A larva se alimenta do parênquima foliar, formando a lesão característica conhecida como "mina" (Figura 1), o que compromete a área fotossintetizante e pode levar à desfolha e perdas de produtividade que podem atingir 50% (Righi *et al.*, 2013).

Figura 1 – Mina causada pela alimentação da larva de *Leucoptera coffeella* na folha do cafeeiro.

Fonte: Adaptado de Almeida *et al.* (2020, p. 14)

Embora a importância do SAF na dinâmica populacional seja conhecida, ainda há uma lacuna sobre como o tempo de estabelecimento e a complexidade desses sistemas influenciam na estrutura populacional e na variedade genética deste organismo.

Para estudar a variabilidade genética do bicho-mineiro, a técnica de PCR com marcadores ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) é frequentemente empregada. Esta técnica é rápida, de baixo custo e altamente informativa, pois detecta polimorfismo em regiões do genoma dispersas aleatoriamente, sendo ideal para a análise da diversidade genética em populações de insetos sem a necessidade de conhecimento prévio da sequência do genoma (Luz, Strioto e Mangolin, 2020 e Kurane, Shinde e Harsulkar 2009).

A compreensão do polimorfismo genético é crucial, pois permite inferir sobre o potencial de adaptação do organismo a diferentes pressões seletivas e orientar estratégias de manejo.

Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo principal analisar o polimorfismo genético de populações de *L. coffeella* em sistemas agroflorestais com diferentes tempos de implantação, sendo um sistema consolidado (cerca de 20 anos) e outro mais recente (cerca de 5 anos), visando fornecer subsídios para o Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida na Fazenda São Luiz, São Joaquim da Barra, SP, comparando duas áreas de café em SAF: Área 1 (consolidada, 20 anos, sistema diversificado com frutíferas e outras espécies florestais) e Área 2 (recente, cerca de 5 anos, consórcio

apenas com bananeiras). Ao longo de 2024 foram coletadas 40 folhas minadas.

O material coletado foi levado ao laboratório e mantido em câmaras úmidas sob temperatura controlada (25 ± 3 ºC) e fotofase de 12 horas, para estimular a conclusão do ciclo de desenvolvimento do inseto. Os adultos obtidos foram armazenados em álcool 70%.

A extração de DNA genômico, a partir de indivíduos adultos de *L. coffeella*, foi realizada com base em adaptações do método com reagente orgânico tipo Trizol. A metodologia final foi estabelecida após um rigoroso processo de otimização do protocolo, com ajuste fino de reagentes e processos. O protocolo otimizado seguiu as diretrizes descritas por Nascimento *et al.* (2025).

A amplificação do DNA foi realizada pela técnica de marcadores ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*), utilizando-se cinco *primers* selecionados após testes preliminares, conforme o método descrito por Zietkiewicz, Rafalski e Labuda (1994). Os dados binários resultantes da eletroforese foram processados usando o software GENES, que permitiu a avaliação da Heterozigosidade Esperada (H_e), do Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC) e da Análise de Variância Molecular (AMOVA). O dendrograma UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) foi construído utilizando o software MEGA.

Resultados e Discussão

Os resultados da genotipagem por ISSR, com 13 bandas polimórficas, revelaram uma diferença significativa na variabilidade genética intrapopulacional entre os agroecossistemas.

A diversidade foi quantificada pela Heterozigosidade Esperada (H_e), que mede a probabilidade de um indivíduo ser heterozigoto e reflete a variabilidade dentro da população, e pelo Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC), que indica o poder discriminatório do marcador utilizado (ISSR).

A Tabela 1 indica que a população do SAF Antigo (Área 1) demonstrou uma maior diversidade e informatividade do marcador (PIC) em comparação com o SAF Novo (Área 2).

Essa maior diversidade é atribuída à maior complexidade e estabilidade do agroecossistema consolidado (Monteiro *et al.*, 2020), que pode oferecer refúgios e nichos ecológicos mais variados, suportando maior variabilidade genética nos organismos que ali vivem.

Tabela 1 – Índices de diversidade genética (H_e e PIC) médios para populações de *L. coffeella* dos dois Sistemas Agroflorestais.

População	SAF	H_e Média	PIC Média
Área 1	Antigo (20 anos)	0,3678	0,2901
Área 2	Novo (~5 anos)	0,1454	0,1203

Fonte: Autora

Em contraste com a diversidade interna, a estrutura genética interpopulacional, avaliada pela AMOVA, demonstrou alta similaridade entre as áreas. Conforme a Tabela 2, a variação genética é predominantemente distribuída dentro das populações, indicando um intenso fluxo gênico (N_m>1) (Simões *et al.*, 2019).

Esse resultado é explicado pela presença de corredores de mata ciliar e remanescentes florestais que conectam as duas áreas de estudo, facilitando a dispersão e o intercâmbio de indivíduos adultos, e mantendo um corredor reprodutivo para o organismo na paisagem.

Tabela 2 – Análise de Variância Molecular (AMOVA) para a diversidade genética de populações de *L. coffeella*.

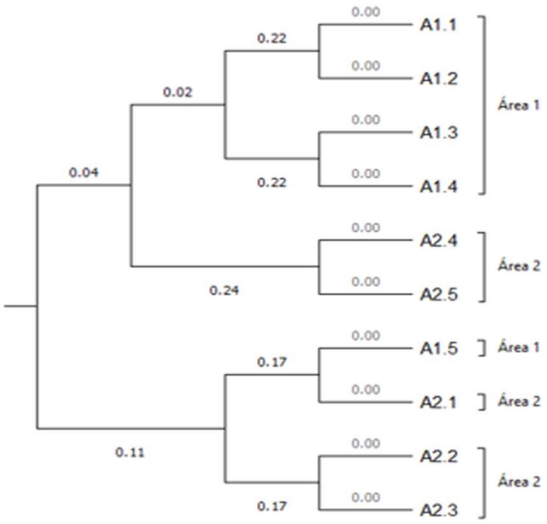
Fonte de Variação	Componentes de Variação (%)
Entre Pop.	4,17%
Dentro das Pop.	95,83%
Total	100%

Fonte: Autora

A Figura 2, que apresenta o dendrograma UPGMA, corrobora essa conclusão ao demonstrar o agrupamento misto dos indivíduos das duas áreas. Não houve formação de *clusters* distintos por área, confirmando que o alto fluxo gênico impede o isolamento genético do organismo na paisagem. Esses achados reforçam a necessidade de estratégias de Manejo Integrado de Pragas (MIP) coordenadas e regionalizadas, sobretudo para evitar o

desenvolvimento de indivíduos resistentes em casos de uso de inseticidas químicos.

Figura 2 – Dendrograma UPGMA de similaridade genética de *Leucoptera coffeella* com base em marcadores ISSR.



Fonte: Autora

Conclusões

O tempo de estabelecimento e a complexidade do SAF influenciam positivamente a variabilidade genética intrapopulacional do bicho-mineiro. No entanto, o alto fluxo gênico observado garante a homogeneização genética do organismo em escala regional.

Esses resultados fornecem subsídios importantes para o planejamento regionalizado do Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Agradecimentos

Agradeço ao Programa de Apoio à Ciência e Tecnologia (PACTec) do IFSP pelo apoio financeiro concedido ao projeto. Ao IFSP-Barretos pela infraestrutura disponibilizada e aos proprietários da Fazenda São Luiz, Rodrigo e Denise, pela acolhida e cessão das áreas de estudo. Registro também minha gratidão a todos os meus familiares, amigos e professores que contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa.

Referências Bibliográficas

ALMEIDA, J. D. de et al. **Bicho-mineiro (Leucoptera coffeella): uma revisão sobre o inseto e perspectivas para o manejo da praga.** Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 16, 2020. (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 372). Disponível em: https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1128859/1/documentos-372-fin.pdf. Acesso em: 05 set. 2025.

DANTAS, J. *et al.* A comprehensive review of the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) — a major pest for the coffee crop in Brazil and other Neotropical countries. **Insects**, Basel, v. 12, n. 12, p. 1130, 2021. DOI: https://doi.org/10.3390/insects12121130. Disponível em: https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1139369/1/A-Comprehensive-Review-of-the-Coffee-Leaf.pdf. Acesso em: 10 set. 2025.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA CAFÉ. Dados estatísticos da cafeicultura brasileira. [S. l.]: Embrapa, 2023. Disponível em: https://www.embrapa.br/cafe. Acesso em: 19 out. 2025.

KURANE, J.; SHINDE, V.; HARSULKAR, A. Application of ISSR marker in pharmacognosy: current update. **Pharmacognosy Reviews**, v. 3, n. 6, p. 216–228, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/234880902_Application_of_ISSR_marker_in_pharmacognosy. Acesso em: 01 out.2025.

LUZ, G. C.; STRIOTO, D. K.; MANGOLIN, C. A.; MACHADO, M. F. P. S. ISSR markers to assess genetic diversity of cultivated populations from artificial selection of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. **Breed. Sci.**, v. 70, n. 4, p. 508-514, 2020. DOI: https://doi.org/10.1270/jsbbs.20014. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7495195/. Acesso em: 01 out. 2025.

MONTEIRO, L. F. *et al.* Diversidade de insetos em horta de sistema agroflorestal. In: **CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, 14., 2020, Campinas. Anais [...]. Campinas: CIIC, 2020. ISBN 978-65-88414-00-2. Disponivel em: https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1126330/diversidade-de-insetos-em-horta-de-sistema-agroflorestal. Acesso em: 15 out. 2025.

NAIR, P. K. R. **An introduction to agroforestry**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993.

NASCIMENTO, E. F. M. B *et al.* Optimization of genomic DNA and total RNA extraction protocols from microlepidopterans for high-fidelity long-read sequencing. **BMC Methods**, v. 2, p. 19, 2025. DOI: https://doi.org/10.1186/s44330-025-00038-3. Disponível em: https://bmcmethods.biomedcentral.com/articles/10.1186/s44330-025-00038-3?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 08 out. 2025.

RIGHI, C. A. *et al.* Influence of rubber trees on leaf-miner damage to coffee plants in an agroforestry system. **Agroforestry Syst**, v. 87, p. 1351–1362, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10457-013-9642-9. Acesso em: 11 out. 2025.

SIMÕES, B. I. E. *et al.* Diversidade genética de populações do bicho-mineiro em regiões cafeeiras do Brasil. In: **SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL**, 10., 2019, Vitória, ES. Anais [...]. Vitória, ES: Consórcio Pesquisa Café, 2019. Disponível em: https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1113239/1/Diversidadegeneticadepopulacoesdobichomineiro.pdf. Acesso em: 05 set. 2025.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, v. 20, n. 2, p.176-183, 1994. Disponível em: https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151. Acesso em: 02 set. 2025.