**PRATEAMENTO FOLIAR EM ABOBOREIRAS: ASPECTOS
BIOQUÍMICOS DESSA FITOTOXEMIA E SUA INFLUÊNCIA NA
COLONIZAÇÃO DOS TECIDOS POR *Sphaerotheca fuliginea***

FABIANA VIEIRA HOTO

Dissertação apresentada à Escola Superior
de Agricultura "Luiz de Queiroz",
Universidade de São Paulo, para obtenção
do título de Mestre em Agronomia, Área de
Concentração: Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Dezembro - 1998

**PRATEAMENTO FOLIAR EM ABOBOREIRAS: ASPECTOS
BIOQUÍMICOS DESSA FITOTOXEMIA E SUA INFLUÊNCIA NA
COLONIZAÇÃO DOS TECIDOS POR *Sphaerotheca fuliginea***

FABIANA VIEIRA HOTO

Bióloga

Orientador: Prof. Dr. SÉRGIO F. PASCHOLATI

Dissertação apresentada à Escola Superior
de Agricultura "Luiz de Queiroz",
Universidade de São Paulo, para obtenção
do título de Mestre em Agronomia, Área de
Concentração: Fitopatologia.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Dezembro - 1998

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Hoto, Fabiana Vieira

Prateamento foliar em aboboreiras: aspectos bioquímicos dessa fitotoxemia e sua influência na colonização dos tecidos por *Sphaerotheca fuliginea* / Fabiana Vieira Hoto. - - Piracicaba, 1998.

58 p. : il.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1998.
Bibliografia.

1. Abobora 2. Distúrbio fisiológico vegetal 3. Fitotoxina 4. Fungo fitopatogênico
5. Mesófilo 6. Metabolismo vegetal 7. Mosca-branca 8. Oídio 9. Relação inseto-
planta 10. Tecido vegetal I. Título

CDD 635.62

SALMO 23

O Senhor é o meu Pastor: nada me faltará.

Ele me faz repousar em pastos verdejantes. Leva-me para junto das
águas de descanso; refrigera-me a alma.

Guia-me pelas veredas da justiça por amor do seu nome.

Ainda que eu ande pelo vale da sombra da morte, não temerei mal
nenhum, porque tu estás comigo: a tua vara e o teu cajado me consolam.

Preparas-me uma mesa na presença de meus adversários, unges-me a
cabeça com óleo; o meu cálice transborda.

Bondade e misericórdia certamente me seguirão todos os dias de minha
vida e habitarei na casa do Senhor para todo o sempre.

A Deus dedico este trabalho,

por sua bondade,

inspiração e amor infinitos.

AGRADECIMENTOS

Nenhum trabalho pode ser completo sem a amizade, o auxílio e a compreensão de algumas pessoas que encontramos ao longo do caminho e que aos poucos, vão contribuindo valiosamente de modo direto ou não, para seu fim. Por esta razão, deixo aqui os meus sinceros agradecimentos:

Aos meus pais José Antônio Hoto e Noêmia Vieira Hoto, pelo amor que nos acompanha, pelo apoio financeiro e moral, por tudo o que me ensinaram ao longo destes anos e também por jamais terem me abandonado; sem vocês a vida certamente seria mais difícil, triste e insuportável. Tanto que lhes dedico todo meu amor;

Ao meu irmão Robinson, por sua amizade, amor e conselhos sempre oportunos;

Ao professor Sérgio F. Pascholati, pela amizade, incentivo constante e valiosos ensinamentos dele recebidos durante o período em que estive sob sua orientação;

Ao professor Jorge A.M. Rezende pelas excelentes sugestões, ao professor Breno Leite, bem como aos demais professores e aos funcionários do Departamento de Fitopatologia (ESALQ/USP), sem os quais não seria possível a realização deste trabalho;

À professora Neusa L. Nogueira, do Centro de Energia Nuclear Aplicada à Agricultura (CENA/USP), pelo auxílio no preparo dos cortes histológicos de folhas de aboboreiras;

À minha grande amiga Hyloeia Félix Sabbag e a tantos outros, como Hélio M. Kamida, Adriana X. Soares, Sílvia de Afonseca, Célia R. Tremacoldi, Luciana di Ciero, Nelson Wulff, Denise M. Tombolato,

Andresa Rizzo, Kátia R. E. Flores, José R. Stangarlin, Sandra M. Vacchi, Mário e Lia Benassi, Maria Ângela M. Chaves, Quelmo Novaes e Nilceli Fernandes pelo carinho e estímulos recebidos; a João A. Gambaro por todo seu apoio, paciência e companheirismo, amenizando as dificuldades;

Aos colegas e dirigentes da 21^a turma de Aprendizes do Evangelho;

À FAPESP-Fundação de Amparo à Pesquisa, pelo financiamento deste projeto;

À todos que de algum modo contribuíram para sua realização.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xi
SUMARY.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Origem e importância das cucurbitáceas.....	4
2.2. O “prateamento” foliar em aboboreiras.....	6
2.3. Alterações bioquímicas em interações planta-insetos.....	10
2.4. Ocorrência de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em aboboreiras.....	13
2.5. Interações entre oídio e “prateamento” foliar em aboboreiras.....	16
2.6. Alterações bioquímicas em interações planta- fitopatógenos.....	17
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1. Material vegetal e manutenção das moscas brancas.....	19
3.2. Fungos patogênicos a cucurbitáceas.....	19
3.3. Coleta do material vegetal utilizado nas avaliações bioquímicas.....	20
3.4. Caracterização bioquímica de extrato foliar de aboboreiras com e sem sintomas de “prateado”.....	21
3.4.1. Quantificação de proteínas totais.....	21
3.4.2. Quantificação de carboidratos totais.....	21
3.4.3. Quantificação de fenóis totais.....	22

3.4.4. Quantificação de clorofilas totais.....	23
3.5 Germinação de conídios em tecido de aboboreira.....	23
3.6 Observações das alterações histológicas e desenvolvimento de <i>S. fuliginea</i> nos tecidos vegetais.....	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1. Caracterização bioquímica dos extratos foliares com e sem “prateado”	26
4.2. Germinação dos conídios em tecido de aboboreira.....	30
4.3. Considerações finais.....	32
5. CONCLUSÕES.....	34
6. ANEXOS.....	35
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 2- Folhas de uma mesma aboboreiras exibindo sintomas de oídio (o) e de “prateamento” foliar (p). Foto cedida pelo professor Jorge Alberto Marques Rezende, do departamento de Fitopatologia (ESALQ/USP).....	36
Figura 3- Conteúdo de proteínas totais em extrato foliar coletado de <i>Cucurbita pepo</i> , <i>Cucurbita moschata</i> e do híbrido Tetsukabuto, exibindo (CP) ou não (SP) sintomas de “prateado”. Médias $\pm$ erro padrão.....	37
Figura 4- Conteúdo de clorofila em extrato foliar coletado de <i>Cucurbita pepo</i> , <i>Cucurbita moschata</i> e do híbrido Tetsukabuto, exibindo (CP) ou não (SP) sintomas de “prateado”. Médias $\pm$ erro padrão.....	38
Figura 5- Conteúdo de carboidratos totais em extrato foliar coletado de <i>Cucurbita pepo</i> , <i>Cucurbita moschata</i> e do híbrido Tetsukabuto, exibindo (CP) ou não (SP) sintomas de “prateado”. Médias $\pm$ erro padrão.....	39
Figura 6- Conteúdo de fenóis totais em extrato foliar coletado de <i>Cucurbita pepo</i> , <i>Cucurbita moschata</i> e do híbrido Tetsukabuto, exibindo (CP) ou não (SP) sintomas de “prateado”. Médias $\pm$ erro padrão.....	40

- Figura 7- Conídios (co) de *C. gloeosporioides* f. sp. *cucurbitae* germinados em tecido foliar de *Cucurbita pepo* exibindo sintomas de “prateado” . Notar a presença de tubo germinativo (tg) e apressório (ap),(aum.400X).....41**
- Figura 8- Conídios (c) de *Sphaerotheca fuliginea* germinados em tecido foliar (*Cucurbita pepo*) sadio (A) e com sintomas de “prateado” (B). Em A, observa-se a colonização da superfície foliar por hifas (hi) do patógeno. Em B, notar os conídios não germinados (cn) e também a presença de conídios em cadeia (cc) indicando a colonização do tecido “prateado”42**
- Figura 9- A) Corte transversal de tecido foliar de aboboreira (*Cucurbita pepo*) sadia mostrando a estruturação das células parenquimáticas (ce) e epidérmicas (ep); B) corte transversal de tecido foliar da aboboreira sadia inoculada com oídio;notar alterações na epiderme (al) e a presença de estruturas fúngicas.....43**
- Figura 10- A) Corte transversal de tecido foliar de aboboreira (*Cucurbita pepo*) exibindo sintomas de “prateado” . Notar a desestruturação das células do parênquima paliçádico (pç) e lacunoso (lc), além de espaços entre as camadas celulares (indicados pelas setas); B) corte transversal de tecido foliar da aboboreira com “prateado” e inoculada com oídio; notar espaços abaixo da epiderme (setas) e a**

ausência de estruturas fúngicas (aum. 400x).....	44
---	-----------

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1- Influência do “prateamento” foliar em aboboreira (<i>Cucurbita pepo</i>), sobre a germinação de conídios e a formação de apressórios por <i>Sphaerotheca fuliginea</i> e <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>cucurbitae</i>	45
--	----

PRATEAMENTO FOLIAR EM ABOBOREIRAS: ASPECTOS
BIOQUÍMICOS DESSA FITOTOXEMIA E SUA INFLUÊNCIA NA
COLONIZAÇÃO DOS TECIDOS POR *Sphaerotheca fuliginea*

Autora: FABIANA VIEIRA HOTO

Orientador: Prof. Dr. SÉRGIO F. PASCHOLATI

RESUMO

Nos últimos anos, as lavouras de aboboreiras têm sido infestadas por *Bemisia tabaci* (biótipo-B), conhecida por mosca branca. Esse inseto induz o fenômeno do “prateamento” da face superior das folhas, uma desordem fisiológica que afeta processos como fotossíntese e respiração. Por outro lado, recentemente, vem sendo observado em aboboreiras mantidas em campo e casa de vegetação, uma redução nos sintomas de oídio, causado pelo ectoparasita fúngico *S. fuliginea*, em folhas “prateadas”, quando comparado ao seu desenvolvimento em folhas sem “prateado”.

Neste trabalho, estudou-se aspectos do metabolismo de plantas afetadas pelo “prateamento”, bem como a influência desta fitotoxemia na colonização de tecido foliar por *Sphaerotheca fuliginea*. No tocante ao metabolismo, os resultados evidenciaram uma redução no conteúdo de clorofila em todos os materiais de aboboreiras exibindo “prateado” (*Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* e no híbrido Tetsukabuto *C. moschata* x *C. maxima*), indicando a influência da fitotoxemia na fotossíntese. Por sua vez, o conteúdo de proteínas, carboidratos e fenóis mostrou-se reduzido em plantas de *C. pepo* com sintomas de “prateado”.

Em contraste, com exceção do conteúdo de proteínas em *C. moschata*, o qual mostrou-se igual aos das plantas controle da mesma espécie (sem “prateamento”), o conteúdo de carboidratos e fenóis mostrou-se maior em folhas de *C. moschata* e do híbrido (o conteúdo de proteínas também foi maior no híbrido) com sintomas de “prateamento”. Embora esses resultados pareçam conflitantes, os mesmos indicam que o “prateamento” em cucurbitáceas, independentemente da sintomatologia característica exibida pelos diferentes materiais vegetais, acarreta alterações metabólicas que não seguem um padrão definido. Deve-se ressaltar ainda a desestruturação (aparecimento de espaços intercelulares e desarranjo das células parenquimáticas) do mesófilo foliar em *C. pepo*, com “prateado”, o que pode se evidenciado através de cortes histológicos.

Com relação a germinação de conídios de *S. fuliginea* sobre folhas de *C. pepo* com “prateado”, os resultados evidenciaram uma redução significativa de 74 % na germinação e 84 % na formação de apressórios. Em contraste, para o hemibiotrófico *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *cucurbitae*, agente causal da antracnose, a germinação de conídios e a formação de apressórios não foi alterada significativamente em tecidos exibindo “prateamento”. Essas observações apontam para a existência de mecanismos em folhas com “prateado” atuando seletivamente durante a fase de pré-penetração contra *S. fuliginea*, um biotrófico. Assim, no tocante ao desenvolvimento do oídio em plantas de aboboreiras com “prateamento”, pode-se sugerir que a menor colonização dos tecidos, evidenciada pela ausência ou diminuição dos sinais do fitopatógeno sobre a superfície da folha, deve-se às reduções na germinação e formação de apressórios pelos conídios, bem como pela desestruturação do mesófilo foliar.

SQUASH SILVER LEAF: BIOCHEMICAL ASPECTS OF THIS DISORDER AND ITS INFLUENCE ON THE DEVELOPMENT OF *Sphaerotheca fuliginea* ON THE TISSUES

Author: FABIANA VIEIRA HOTO

Adviser: SÉRGIO F. PASCHOLATI

SUMMARY

During the last years, *Cucurbita* species have been largely infested by *Bemisia tabaci* (B-biotipe), commonly known as whitefly. This insect induces the disorder known as silver leaf which affects the upper surface of leaves and alters metabolic processes such as photosynthesis and respiration. On the other hand, recently, on squash plants kept under field or greenhouse conditions, it has been observed a reduction in the incidence of powdery mildew, caused by the ectoparasite *S. fuliginea*, on silvered leaves when compared to normal green leaves.

In this work, some metabolic aspects of plants exhibiting silver leaf were examined as well as the influence of this disorder on growth of *S. fuliginea* on the leaf tissue. Regarding the metabolism, the results showed a reduction in chlorophyll content in all squash plants (*Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* and Tetsukabuto hybrid - *C. moschata* x *Cucurbita maxima*) with silvered leaves suggesting an influence of this disorder on photosynthesis. In the case of *C. pepo*, the content of protein, carbohydrate and phenols was reduced in leaves exhibiting silver leaf. In contrast, with the exception of protein content in *C. moschata*, that was the same as in the normal green leaves of plants from the same species, the content of carbohydrates and phenols was higher in leaves of *C. moschata* and Tetsukabuto hybrid (the protein content was higher in the hybrid too) with silver leaf symptoms. Although these results seem to be

conflicting, they indicate that the silver leaf disorder in squashes, regardless of the typical symptoms exhibited by the different plant materials, can cause metabolic changes that do not follow a standard pattern. Microscopical observations of *C. pepo* leaf cross sections exhibiting the disorder also pointed out changes in the structure of the mesophyll that were seen as new intercellular spaces and disorganization of parenchyma cells.

Regarding the conidia of *S. fuliginea* on leaves of *C. pepo* with silvering symptoms, the results showed a high reduction in germination (74%) and appressorium formation (84%) when compared to normal green leaves. In contrast, for the hemibiotroph fungus *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *cucurbitae*, causal agent of anthracnose, conidium germination and appressorium formation were not significantly altered in silvered tissue. These observations point out for the possible existence of mechanisms in silvered leaves acting selectively, during the pre-penetration stage, against *S. fuliginea*, a biotroph organism. Thus, concerning the development of the powdery mildew on squash plants exhibiting silvered leaves, it can be suggested that the lower tissue colonization by the fungus, seen as the absence or reduction of the signals of the plant pathogen on leaf surface, is due to the reduction in conidium germination and appressorium formation as well as to structural changes in leaf mesophyll.

1. INTRODUÇÃO

Dentre as hortaliças tipicamente tropicais, as cucurbitáceas ocupam um lugar de destaque no Brasil, sendo muito apreciadas por populações de baixa e média rendas. No entanto, há determinadas desordens fisiológicas e doenças que limitam a sua produção causando prejuízos aos agricultores (Cohen & Eyal, 1988; Daayf et al., 1995; Gonzalez et al., 1992).

Uma desordem fisiológica conhecida popularmente por “prateamento foliar”, causa importantes perdas econômicas. Embora sua etiologia ainda não tenha sido totalmente esclarecida, sabe-se que esta desordem está ligada à mosca branca *Bemisia tabaci* (biótipo-B) (Gennadius) (Costa et al., 1993a; Paris et al., 1987). Este inseto utiliza a planta como hospedeira, onde completa etapas de desenvolvimento e reprodução, extraindo da seiva os nutrientes essenciais à sua sobrevivência. (Gruenhagen et al., 1993; Jiménez et al., 1995).

Trabalhos recentes evidenciaram que a doença é uma fitotoxemia sistêmica associada à alimentação de ninfas da mosca branca (Cohen et al., 1992; Schuster et al., 1991). Antes de 1987, a ocorrência desta desordem fisiológica era relatada apenas na Flórida (E.U.A.), não havendo registros de prejuízos para os produtores.

Antes de 1987, a ocorrência desta desordem fisiológica era relatada apenas na Flórida (E.U.A.), não havendo registros de prejuízos para os produtores. Entretanto, a partir de 1988 passou a atingir as lavouras mais extensivamente. Esse aumento das áreas afetadas coincidiu com a elevação populacional de *B. tabaci*, o que motivou os pesquisadores a iniciarem estudos sobre este assunto (Brown & Costa, 1991; Maynard & Cantliffe, 1989; Mcgrath & Gilrein, 1994).

Desde 1991, a presença de altas populações de mosca branca tem sido observada em território brasileiro, colonizando entre outras espécies vegetais, as três variedades de aboboreiras mais cultivadas atualmente, *Cucurbita pepo* L., *C. maxima* Duch. ex Lam. e *C. moschata* (Duch. ex Lam.) Duch. ex Poir. Em função de apresentarem-se suscetíveis à essa fitotoxemia, estas variedades representam risco de perda de produtividade para o agricultor, havendo portanto a necessidade de estudos complementares que possam vir a ampliar as opções de manejo desta praga (Nagai et al., 1992; Paris et al., 1993).

Além do “prateamento foliar”, uma outra doença infecciosa muito comum, tanto em cucurbitáceas selvagens quanto em cucurbitáceas cultivadas (principalmente pepino, melancia, melão e chuchu), é o oídio, causada pelo fungo *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht. Et Fr.) Poll. O patógeno ataca principalmente as folhas, sendo sua colonização caracterizada por pequenas lesões circulares, cobertas por manchas pulverulentas e de coloração clara, que correspondem aos conídios e conidióforos do fungo (Bedendo, 1995).

Recentemente, um fato curioso envolvendo esta doença vem sendo observado em campo e casa de vegetação, onde percebe-se a redução de sintomas de oídio em folhas “prateadas”, comparado ao

desenvolvimento normal em folhas sadias (Rezende et al., 1997). Essa redução sugere a existência de fator desconhecido, de natureza química e/ou estrutural, capaz de afetar o crescimento deste patógeno. Assim, foi objetivo deste trabalho estudar alguns aspectos bioquímicos do metabolismo de folhas exibindo “prateado”, bem como a influência desses tecidos na colonização por *S. fuliginea*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Origem e importância das cucurbitáceas

As cucurbitáceas estão distribuídas nos trópicos e regiões temperadas, sendo representadas por 118 gêneros e 825 espécies, cuja maioria compõem ecossistemas nativos, sendo pouco conhecidas taxonomicamente; as que apresentam importância econômica são utilizadas principalmente na nutrição humana e de animais domésticos. Dentro desta família, os frutos dos gêneros *Cucurbita* (abóbora, abobrinha), *Cucumis* (pepino e melão) e *Citrullus* (melancia) são os mais consumidos (Bates et al., 1990).

Embora a literatura sobre o centro de origem das cucurbitáceas cultivadas seja bastante extensa e divergente, atualmente os botânicos aceitam a tese da origem americana para as mesmas, dentre as quais *Cucurbita moschata*, *C. maxima* e *C. pepo*. Dentro deste consenso, Whitaker & Davis (1962) citam a proposta de Muller & Pax., em 1894, para a origem geográfica destas três espécies:

Cucurbita moschata: América Central e norte da América do Sul;

Cucurbita maxima: norte do México e oeste do Estados Unidos;

Cucurbita pepo: Bolívia, Chile e Argentina.

Apesar das cucurbitáceas não serem consideradas de importância econômica como, por exemplo, o arroz, trigo, batata e tomate, as espécies cultivadas são potencialmente importantes, uma vez que além de servirem como alimento, são também vegetais adaptados ao clima das regiões tropicais e sub-tropicais. As populações de baixa renda estão concentradas em maior quantidade nessas regiões, crescendo muito a cada ano e necessitando de produtos alimentícios economicamente acessíveis e ao mesmo tempo nutritivos (Whitaker, 1990).

Neste sentido, as cucurbitáceas atendem bem as necessidades acima, uma vez que os frutos são ótimas fontes de vitaminas A e D, bem como as sementes, que são muito ricas em proteínas, sendo também utilizadas na extração de óleos comestíveis. No Chile, por exemplo, as folhas são amplamente usadas em saladas e cozidos, e as flores, ricas em carotenóides (precursores de vitaminas), são consumidas em ensopados, guisados ou simplesmente fritas. Nas regiões sul do México e também na Bolívia, frutos jovens e sementes entram na constituição de bebidas fermentadas preparadas a partir de milho, além das várias modalidades de doces (Andres, 1990).

Em países como Guatemala, México e Colômbia, as sementes são utilizadas como vermífugo e sua eficácia vem sendo alvo de estudos na área de plantas medicinais, tornando-as elementos importantes da medicina popular, tendo participação ativa em farmacopéias das sociedades do Velho e Novo Mundo. Além disso, outros usos menos freqüentes envolvem a aplicação das fibras de algumas espécies de cucurbitáceas, como *Luffa aegyptiaca* Mill., na fabricação de esponjas para banho (Bates et al., 1990). No Brasil, as cucurbitáceas também ocupam um lugar de destaque, apresentando um consumo bastante

popular, com base na utilização de frutos maduros ou imaturos (sendo conhecidas neste caso, pelo nome genérico de abobrinha). O melhoramento destas hortaliças no estado de São Paulo iniciou-se no Instituto Agrônomo de Campinas, junto a Seção de Olericultura, com base nas pesquisas de Prado no ano de 1942, surgindo os frutos conhecidos e comercializados atualmente, com formato e coloração uniformes, polpa enxuta e pouco fibrosa (Rochelle, 1970).

2.2. O “prateamento” foliar em aboboreiras

Entretanto, apesar de possuírem todas as vantagens citadas no item 2.1., estas hortaliças estão sujeitas a desordens fisiológicas e à doenças infecciosas, sendo algumas delas limitantes para sua produção, refletindo em perdas com conseqüentes prejuízos aos produtores (Kimati et al., 1980; Maynard & Cantliffe, 1989; Nagai et al., 1992; Provvidenti, 1990).

Uma doença que recentemente tem preocupado os produtores de abóboras, é o “prateamento” foliar ou simplesmente “prateado”. Trata-se de uma desordem fisiológica que também ocasiona grandes perdas nesta cultura, uma vez que provoca queda de produção, sendo os frutos menores e descoloridos em relação aos sadios. Embora sua etiologia ainda não seja totalmente conhecida, sabe-se que este fenômeno ocorre quando os cultivares são infestados por populações de *Bemisia tabaci* (Gennadius), conhecida como mosca branca (Gonzalez et al., 1992; Nagai et al., 1992).

Descrita inicialmente por Gennadius em 1889 em plantas de fumo (*Nicotiana* sp), a mosca branca apresenta taxonomia complexa devido às semelhanças entre as espécies, que muitas vezes geram conflitos entre os estudiosos. Por exemplo, alguns autores defendem a hipótese de que a espécie causadora do “prateado” em aboboreiras não é a *B. tabaci*, mas sim uma nova espécie denominada *Bemisia argentifolii* (Bellows & Perring, n. sp.), e utilizam como argumentos características morfológicas, análises de aloenzimas e de genoma (Bellows et al., 1994; Perring et al., 1993).

Por sua vez, outros pesquisadores questionam esta hipótese afirmando tratar-se de biótipos e não de espécies distintas, defendendo a necessidade de estudos mais aprofundados a níveis molecular e genético. Embora os resultados dessas pesquisas apontem mesmo para um biótipo, sempre vale ter em mente a complexidade taxonômica deste inseto, o que dificulta a identificação rápida e precisa (Brown et al., 1995; Coats et al., 1994). Assim, até que se corrobore esta hipótese, optou-se num consenso geral, pelo uso da denominação *Bemisia tabaci*, sendo considerada biótipo-B quando referida à indução do “prateamento” foliar de aboboreiras e outras desordens fisiológicas, e biótipo-A (também conhecida por mosca branca da batata-doce), quando referida à mosca não indutora de desordens fisiológicas (Brown & Bird, 1995).

Nos últimos 10 anos, a colonização de vegetais por *B. tabaci* tem sido um problema proeminente em agrossistemas tropicais e subtropicais, e em casas de vegetação de áreas temperadas, com prejuízos chegando a milhões de dólares, seja pela transmissão de vírus, seja pela indução de novas desordens fisiológicas, como o “amadurecimento

irregular do tomate” e o “prateamento” foliar em aboboreiras (Brown et al., 1995; Costa & Brown, 1991; Lourenção & Nagai, 1993).

A mosca branca alimenta-se da seiva vegetal ao mesmo tempo que detecta-se uma substância adocicada na superfície foliar. Quando sua densidade populacional aumenta, há larga produção desta substância (composta pelos açúcares trealose, melose, sacarose, frutose e glicose), com subsequente desenvolvimento de fungos oportunistas como as fumaginas, escurecendo as superfícies das folhas e frutos, comprometendo ainda mais a fotossíntese e a respiração (Davidson et al., 1994; Gruenhagen et al., 1993; Krügner, 1995; Yee et al., 1996).

O “prateamento” foliar em aboboreiras, conhecido nos E.U.A. como “squash silverleaf”, ocorria esporadicamente e apenas na Flórida antes de 1987, sem causar prejuízos substanciais aos produtores. Porém, a partir de 1988 passou a atingir mais extensivamente as lavouras de abóboras, coincidindo com o aumento populacional de *B. tabaci* (biótipo-B), e também com relatos de ocorrência em várias outras regiões do mundo, inclusive no Brasil, despertando o interesse dos pesquisadores que só então iniciaram estudos mais aprofundados sobre esta desordem fisiológica (Brown & Costa, 1991; Lourenção & Nagai, 1993; Maynard & Cantliffe, 1989; Mcgrath & Gilrein, 1994).

Esta rápida disseminação pode ser explicada pelo fato de que a mosca branca adapta-se com facilidade a várias culturas, desde ornamentais àquelas utilizadas na alimentação e vestuário humano, podendo ser citados como exemplos, poinsetia, tomate, feijão, brócoli, citros, alface, cucurbitáceas, batata-doce, uva e algodão, além de algumas ervas daninhas (Brown et al., 1995). Com a chegada do verão (temperaturas elevadas) e aumento nas populações de *B. tabaci*, há

também maior oviposição, sendo que as fêmeas colocam seus ovos na superfície inferior das folhas, onde os mesmos permanecem fixos, passando por 4 estádios até a eclosão e saída do inseto adulto, podendo completar vários ciclos no mesmo ano. Conhecendo melhor a biologia do inseto, os pesquisadores passaram a questionar seu papel no “prateamento” foliar de aboboreiras, e através de bioensaios onde estas plantas foram expostas à moscas adultas e ninfas, pôde-se investigar quem seria o responsável pela indução ativa dos sintomas de “prateado” (Costa et al., 1993b).

Assim, demonstrou-se que a mosca adulta quase não induzia tais sintomas, ao passo que aboboreiras mantidas em contato exclusivo com as ninfas, expressavam muito intensamente os sintomas em todas as plantas, indicando a existência de uma relação positiva entre a severidade da doença e a quantidade de ninfas presentes. Com estes trabalhos, os cientistas concluíram que esta desordem fisiológica tratava-se de uma fitotoxemia sistêmica associada à alimentação de ninfas de *B. tabaci* (biótipo-B), cujo mecanismo de ação ainda não foi completamente desvendado (Cohen et al., 1992; Schuster et al., 1991).

Estudos como estes vêm sendo realizados até a atualidade e muito já é conhecido sobre o comportamento da *B. tabaci* (biótipo-B) quanto ao seu hábito alimentar, condições climáticas favoráveis, ciclo de vida, excreção de exudatos no tecido vegetal, transmissão de vírus, entre outros tópicos. No entanto, devido à sua alta resistência a inseticidas, facilidade em adaptar-se a novos hospedeiros e presença de temperaturas elevadas durante quase todo o ano, os produtores enfrentam sérias dificuldades quanto ao controle desta praga (Anthony et

al., 1995; Costa et al., 1993; Salvucci et al., 1997; Wisler et al., 1998; Yee et al., 1996).

Atualmente, as três variedades de aboboreiras mais cultivadas, no Brasil, *Cucurbita pepo*, *C. maxima* e *C. moschata*, apresentam-se suscetíveis à esta fitotoxemia, agravando o problema do agricultor, que passa a conviver com o risco de perdas na produção de frutos. Assim, justifica-se a necessidade de pesquisas envolvendo esta doença, não apenas voltada para o entendimento do seu modo de ação, mas também centrada na busca de formas para controlar a mosca branca (Paris et al., 1993).

2.3. Alterações bioquímicas em interações planta-insetos

Com relação à interações planta - inseto, sabe-se que praticamente todas as partes do vegetal são suscetíveis ao ataque de insetos fitófagos fazendo das plantas uma excelente fonte alimentar para exploração. No entanto, também é conhecido que boa parte dos compostos secundários produzidos pelas plantas oferecem um certo grau de proteção contra tais insetos. Lara (1991) cita a resistência de variedades de sorgo com alta deposição de lignina e sílica a *Athetregona varia soccata* Rond. Por sua vez, Edwards & Wratten (1980) observaram este tipo de mecanismo de resistência no caso da mosca responsável pela broca em hastes de gramas. Os ovos são depositados na superfície vegetal e as larvas recém eclodidas penetram nas hastes, que por sua vez apresentam um feixe interno de fibras muito densas e silicificadas, impedindo o desenvolvimento desta mosca. Por outro lado, tal fato não ocorre em aveia, tornando esta cultura vulnerável ao ataque desta praga.

Edward & Wratten (1980) também defendem a idéia de que insetos sugadores, como os afídeos, que removem líquido do floema, não são danosos apenas por ocasionar a redução da área foliar sadia diminuindo a capacidade fotossintética, mas também por competirem com os brotos em desenvolvimento pelos açúcares e nutrientes presentes no floema. Além do mais, durante a alimentação, o inseto injeta saliva contendo uma série de aminoácidos, enzimas e hormônios. Em seu trabalho, Brown (1994) esclarece que a mosca branca, assim como os afídeos, é um inseto sugador que ao alimentar-se dos nutrientes do floema, injeta saliva no meio celular do hospedeiro, que sofreria a consequência do efeito das substâncias contidas no fluido salivar (fitotoxemias seriam um exemplo desse efeito).

Além do mais, existem vários exemplos onde pesquisadores observaram que uma baixa infestação de insetos fitófagos, é capaz de ocasionar efeitos bastante danosos ao vegetal utilizado como hospedeiro, tais como clorose, deformação foliar, declínio de massa, indução de senescência prematura e redirecionamento de nutrientes na planta. Como exemplo, pode-se citar o efeito fitotóxico ocasionado por *Schizaphis graminum* Rondani (biótipo-E) sobre tecidos suscetíveis de trigo, onde ocorrem danos às membranas celulares e cloroplastos, sendo que os fatores responsáveis pela fitotoxemia sistêmica seriam polissacarídeos presentes na saliva do inseto (Jiménez et al., 1995).

Com relação ao “prateamento” foliar em aboboreiras, Ramos et al. (1995) e Jimenez et al. (1995) observaram que o efeito desta fitotoxemia na planta pode ser caracterizado pelo clareamento das nervuras e despigmentação foliar associados à presença de ninfas de mosca branca e RNAs (4,2 e 4,6 kb) em folhas sintomáticas. Ramos et al. (1995) em

estudos anatômicos, utilizando cortes transversais e paradermais de folhas “prateadas” de *C. pepo*, evidenciaram algumas alterações estruturais como turgescência celular, presença de espaços sub-epidermais, além de constatarem que as camadas de cutícula, pectina e celulose da parede de células epidérmicas formaram uma estrutura compacta. Neste mesmo trabalho, os autores realizaram a eletroforese de preparações de folhas de aboboreiras sintomáticas, o que revelou uma proteína de peso molecular de aproximadamente 48 kDa, que não foi encontrada em preparações de folhas assintomáticas.

Também estudando a citologia dessa doença, Jimenèz et al. (1995) observaram os espaços sub-epidermais, reduções no conteúdo de clorofila, danos ultraestruturais nos cloroplastos das células do parênquima paliçádico do mesófilo deformado. Estes autores detectaram um processo de autólise celular, comum em fitotoxemias induzidas por homópteras, mas este dano não foi correlacionado à penetração direta do estilete. Além disso, não foram encontradas partículas virais nem corpos de inclusão, o que afasta a hipótese do “prateamento” estar ligado à algum vírus. Duas novas proteínas do fluido intercelular foram induzidas nos tecidos foliares “prateados” e a expressão constitutiva de uma proteína foi suprimida. Por sua vez, ensaios enzimáticos com proteínas do fluido intercelular indicaram a redução da atividade de quitinase e peroxidase.

2.4. Ocorrência de *Sphaerotheca fuliginea* em aboboreiras

Além do “prateamento foliar”, um fator importante em culturas de aboboreiras é a ocorrência de oídio, uma doença fúngica cujo quadro sintomatológico é bastante típico: as lesões iniciam-se como manchas pequenas e arredondadas (apresentando um crescimento branco ou cinza claro, cujo aspecto pulverulento sobre as lesões corresponde aos conidióforos e conídios do patógeno), que podem vir a coalescer, culminando em necrose. Dependendo das condições climáticas e das plantas afetadas, pode haver colonização de toda a parte aérea (Bedendo, 1995; Kimati et al., 1980).

O fungo responsável por esta doença é denominado *Sphaerotheca fuliginea* e trata-se de um ascomiceto pertencente à família Erysiphaceae, sendo sua fase imperfeita (*Oidium* sp.) a principal responsável pelo oídio no Brasil. Devido a fatores climáticos, como altas temperaturas e ausência de chuvas durante grande parte do ano, o desenvolvimento do fungo é favorecido, principalmente em condições de cultivo em estufas, prática cada vez mais comum para hortaliças (Askary et al., 1997). O patógeno é um fungo biotrófico, possuindo uma forma bastante evoluída de parasitismo, podendo ser considerado como um ectoparasita capaz de obter os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, através da emissão de haustórios no interior das células vegetais hospedeiras, existindo uma alta especificidade entre patógeno e hospedeiro. Esta interação pode ser observada na ilustração da Figura 1 (Conti et al., 1990).

Figura 1: Ilustração da colonização de tecido foliar por *Oidium* sp.

(Adaptado de Bedendo, 1995).

Embora a morte da planta não seja comum, esta doença pode ocasionar sérios danos à cultura, decorrentes da interferência fúngica nos processos vitais de fotossíntese e respiração da planta, que por conseqüência acaba perdendo seu vigor e comprometendo toda a produção (Cohen & Cohen, 1986; Daayf et al., 1995).

Nas últimas duas décadas, várias medidas para o controle de oídio têm sido recomendadas, e muito vem sendo estudado a este respeito. Enquanto alguns pesquisadores sugerem a limpeza de estufas e o plantio de variedades resistentes (Askary et al., 1997), outros por sua vez buscam resultados satisfatórios em métodos alternativos, como a utilização de micoparasitas e indução de resistência. A literatura científica oferece-nos vários exemplos nesses tópicos. Verhaar et al. (1997)

testaram o fungo *Verticillium lecanii* (no caso, um micoparasita) contra o oídio em plantas de pepino, aplicando-o 5 e 9 dias antes da inoculação do patógeno nas plantas, e também 2 dias após, obtendo considerável redução da doença. Seguindo esta mesma idéia, Belanger & Benyagoub (1997) desenvolveram estudos envolvendo o controle de oídio em roseiras (*Sphaerotheca pannosa*), mantidas sob condições de casa de vegetação, utilizando a levedura antagonista *Sporothrix flocculosa*, reduzindo do mesmo modo o desenvolvimento de colônias de oídio sobre as plantas inoculadas.

Conti et al. (1996) investigaram o possível envolvimento do ácido salicílico na resistência induzida em pepino contra oídio. Neste trabalho, os autores utilizaram o vírus causador de necrose em fumo (TNV) para induzir a produção de ácido salicílico (exceto em plantas utilizadas como controle, onde o vírus foi substituído por água). Os autores constataram que nas plantas tratadas houve diminuição na germinação dos esporos, com o encurtamento dos tubos germinativos e baixa formação de haustórios. Além disso, as células epidérmicas apresentavam-se freqüentemente lignificadas, sendo observada a formação de calose e papilas em torno das hifas de penetração. De acordo com estes pesquisadores, os resultados evidenciaram que a aplicação de ácido salicílico em cucurbitáceas poderia reduzir a incidência de oídio nestas plantas.

Embora estes exemplos de possíveis medidas alternativas de manejo do oídio sejam animadores, as condições climáticas altamente favoráveis e o eficiente modo de disseminação dos conídios (uma vez que estes são formados em cadeia), usualmente reduzem a eficácia destas medidas, havendo ainda a necessidade de se utilizar estes

biocontroladores em conjunto com fungicidas. Todavia, o controle químico também pode tornar-se um problema para o produtor, uma vez que os fungicidas, quando utilizados em concentrações não fitotóxicas e aplicados repetidamente, ocasionam o rápido desenvolvimento de resistência por parte do patógeno, inviabilizando seu controle (Askary et al. 1997). Em vista do exposto, trabalhos dessa natureza são necessários para que estratégias de controle mais eficientes possam ser encontradas (Askary et al., 1997; Daayf et al., 1995; Kabitarani & Bhagirath, 1991; Urquhart et al., 1994; Verhaar, et al., 1996).

2.5. Interações entre oídio e “prateamento” foliar em aboboreiras

Nos últimos anos, o oídio e o “prateamento” foliar vêm sendo estudadas separadamente em aboboreiras. Todavia, observações recentes tanto em campo quanto em casa de vegetação, indicam a existência de uma relação entre ambas as doenças (Figura 2). Folhas de aboboreiras exibindo sintomas de “prateado” geralmente não apresentam as eflorescências típicas de oídio em sua face superior, demonstrando que nestas folhas “prateadas” pode existir algum(s) fator(es) capaz(es) de interferir(em) no desenvolvimento do fungo (Rezende et al., 1997). Moran & Schultz (1998), com base em trabalho envolvendo aboboreiras, insetos e fungos, sugerem que quando esses agentes colonizam a mesma planta hospedeira, os mesmos podem levar a alterações bioquímicas, o que ocasionaria uma colonização diferencial dos tecidos.

2.6. Alterações bioquímicas em interações planta-fitopatógenos

Sabe-se que a célula da planta ao ser invadida, lança mão de uma série de mecanismos na tentativa de conter o agente agressor. Estes mecanismos podem ser de natureza bioquímica ou estrutural, podendo promover por exemplo, o desenvolvimento de caloses e papilas, ou ainda ocasionar a morte da célula levando também à morte do invasor e isolando as demais células vegetais onde o patógeno não é encontrado. Há casos em que a parede celular torna-se mais rígida (através de intensa lignificação), dificultando a expansão do agente agressor para demais partes da planta (Pascholati, 1995).

Além destas barreiras físicas da planta, utilizadas na contenção do patógeno, há também barreiras químicas sendo muito destes compostos, resultantes do metabolismo secundário do vegetal, como por exemplo glicosídeos cianogênicos, compostos fenólicos, terpenóides e esteróis, fitoalexinas e ácido salicílico (Bennett & Wallsgrove, 1994). No trabalho de Snyder & Nicholson (1990), os autores demonstraram a indução de fitoalexinas pigmentadas (3-deoxiantociadinas) facilmente visíveis, no sistema sorgo-*Colletotrichum graminicola*. Neste caso, as vesículas contendo fitoalexinas direcionavam-se e dispunham-se em redor das hifas do patógeno, onde eram rompidas liberando as fitoalexinas, que por sua vez ocasionavam a morte do fungo na célula hospedeira.

Além desses mecanismos de defesa presentes no vegetal, Hammond-Kosack & Jones (1996) também citam as proteínas relacionadas a patogênese (como quitinases e glucanases) e a reação de hipersensibilidade, como respostas ao ataque de agentes agressores. A

respeito da reação de hipersensibilidade, em interações com patógenos biotróficos, que estabelecem associações íntimas (através de haustórios) com a célula vegetal, esta entraria em colapso na intenção de conter o avanço das hifas fúngicas, que estariam em busca de nutrientes. Ao mesmo tempo, esta descompartimentalização celular liberaria substâncias altamente tóxicas que teriam uma ação conjunta no combate ao fungo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material vegetal e manutenção das moscas brancas

Para a realização dos experimentos propostos neste trabalho foram utilizadas as seguintes variedades de aboboreiras: *Cucurbita pepo*, *C. moschata* e *C. moschata* x *C. maxima* (híbrido Tetsukabuto), que foram semeadas em solo (1 parte de areia + 2 parte de terra + 2 partes de esterco bovino) autoclavado contido em vasos de alumínio de 2 L (3 sementes/vaso), e mantidas sob condições de casa de vegetação, com descarte e reposição periódica das plantas. Do mesmo modo, as populações de moscas também foram mantidas em aboboreiras, sendo que estas, ao apresentarem a 3ª folha emergida já eram colocadas em contato com as moscas que as utilizavam como hospedeiras.

3.2. Fungos patogênicos a cucurbitáceas

Os bioensaios envolvendo a germinação de esporos foram realizados com os seguintes fungos:

- a) Biotrófico: *Sphaerotheca fuliginea* (isolado de aboboreira);
- b) Hemibiotrófico: *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cucurbitae* (Berk et Mont) Menten et Kimati (sin. *C. lagenarium*) (isolado de melancia).

O fungo hemibiotrófico foi mantido a 23 °C sob luz constante, em placas de petri Pirex contendo meio de cultivo de aveia (12 g de aveia, 4,5 g de ágar/ 300 mL de água destilada), enquanto que a manutenção do biotrófico (oídio) foi efetuada nas plantas de abóbora mantidas em condições de casa de vegetação.

3.3. Coleta do material vegetal utilizado nas avaliações bioquímicas

Para cada espécie de aboboreira semeada, utilizou-se 10 vasos, dos quais 5 foram colocados no interior de caixas especiais fechadas com tela de nylon (conhecidas como “gaiolas” e usadas em experimentos nas áreas de Entomologia e Virologia para confinamento de insetos), evitando-se a infestação por moscas brancas e garantindo-se a sanidade destas plantas. Em contrapartida, os outros 5 vasos foram colocados em contato com as moscas, propiciando o desenvolvimento de sintomas de “prateamento” foliar. Para que as folhas coletadas apresentassem sempre a mesma idade (padronização fisiológica), optou-se em coletar as amostras de todas as aboboreiras somente após a emergência da 10ª folha, uma vez que neste ponto os sintomas de “prateamento” já eram evidentes e as plantas ainda não estavam com seus processos metabólicos voltados à floração.

Assim, dos 5 vasos contendo as 15 plantas doentes, foram destacadas 5 folhas ao acaso (evitando-se a coleta de folhas senis), sendo que cada uma correspondeu a uma repetição. De cada folha, retirou-se 2 discos de 1,5 cm de diâmetro, que foram pesados, embalados em papel alumínio e mantidos em congelador até o momento de sua

utilização para as determinações bioquímicas. Utilizou-se esta mesma metodologia para as aboboreiras sadias.

3.4. Caracterização bioquímica de extrato foliar de aboboreiras com e sem sintomas de “prateado”

3.4.1. Quantificação de proteínas totais

As amostras de tecido vegetal foram colocadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0) e trituradas em homogeneizador (modelo Sorvall) durante 1 min. O homogenato foi então filtrado utilizando-se de papel de filtro Whatman nº 1 e em seguida centrifugado a 20.000 g por 25 min, a 4 °C. Do sobrenadante coletado, com o auxílio de uma pipeta “Pasteur”, retirou-se uma alíquota de 800 µL que foi misturada, sob agitação, a 200 µL de reagente de Bradford concentrado (Bradford, 1976). Decorridos 5 min, determinou-se espectrofotometricamente a absorbância das amostras a 595 nm, sendo o conteúdo proteico expresso em mg de proteínas/grama de tecido fresco (g.t.f.), com base em curva de calibração, tendo a albumina de soro bovino (ASB), como proteína padrão.

3.4.2. Quantificação de carboidratos totais

Do sobrenadante das amostras, obtido como descrito no item 3.3.1., coletou-se uma alíquota de 500 µL à qual foi acrescentado 1,5 mL de solução de 1 % de hidrazida do ácido p-hidróxibenzóico (0,5 g

dissolvidos inicialmente em 10 mL de HCl e adicionados em 40 mL de NaOH). Seqüencialmente, esta mistura foi colocada em banho-maria (em ebulição) por 5 min, e resfriada em água gelada. A absorbância foi determinada a 410 nm em espectrofotômetro e os resultados expressos em mg de glicose/g.t.f., tendo a glicose como carboidrato padrão (Lever, 1972).

3.4.3. Quantificação de fenóis totais

Em tubos de ensaio contendo 10 mL de metanol acidificado (HCl 0,1 %), foram colocadas as amostras de tecido vegetal, sendo as mesmas homogeneizadas (homogeinizador modelo Sorvall) por 1 min e filtradas através de papel de filtro Whatman nº 1. O filtrado de cada amostra foi submetido a um evaporador rotativo (40 °C) com pressão negativa, e o resíduo ressuspenso em 2 mL de água destilada. A seguir, adicionou-se 5 mL de hexana à amostra, seguido de agitação vigorosa, para a remoção total de clorofila e outros pigmentos. Na seqüência, a hexana foi retirada com o auxílio de pipeta “Pasteur” e o volume final completado para 2,5 mL com água destilada, do qual separou-se uma alíquota de 150 µL que foi adicionada a 1,5 mL de solução de 2% de carbonato de sódio preparada no momento da dosagem.

Por último, acrescentou-se 150 µL do reagente Folin-Ciocalteau 2N (1:1; v/v), sob agitação suave. Decorridos 30 min, a absorbância das amostras foi determinada espectrofotometricamente a 750 nm e os resultados expressos como equivalentes de ácido clorogênico/g.t.f. (Campbell & Campbell, 1986; Gayon, 1972; Harborne & Harborne, 1989).

3.4.4. Quantificação de clorofilas totais

As amostras de tecido vegetal foram colocadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de acetona 80 %, utilizada sempre a 4 °C. Todo o procedimento foi realizado protegendo-se as amostras da luz. Em seguida, estas foram trituradas por 1 min em homogeneizador (modelo Sorvall) e filtradas através de papel de filtro Whatman nº 1, sendo o volume completado para 50 mL com acetona 80 %. Determinou-se a absorbância das amostras a 663 e 645 nm em espectrofotômetro, sendo o conteúdo de clorofila total de cada amostra expresso em mg de clorofila/g.t.f. (Arnon, 1949; Hammerschmidt & Nicholson, 1977).

3.5. **Germinação de conídios em tecido de abóboreira**

Realizou-se uma série sucessiva de experimentos envolvendo a germinação de esporos *in vivo* no tecido foliar, para se observar a influência do “prateado” sobre *S. fuliginea* e *C. gloeosporioides* f. sp. *cucurbitae*. Todos os experimentos foram conduzidos em condições assépticas, utilizando-se materiais esterilizados em estufa e autoclave. Os tratamentos empregados consistiram de: tecido foliar sadio inoculado com *C. gloeosporioides*; tecido foliar “prateado” inoculado com *C. gloeosporioides*; tecido sadio inoculado com *S. fuliginea* e tecido “prateado” inoculado com *S. fuliginea*.

Os discos foliares (0,5 cm Ø cada), sadios e “prateados”, em um total de 8 discos/tratamento, foram colocados em placas de Petri contendo ágar-água 2%. A seguir, procedeu-se à inoculação dos discos,

através da colocação de gotas de 30 µL de suspensão de esporos do fungo *C. gloeosporioides* (10^5 esporos/ml) sobre a superfície de cada disco foliar, e deposição dos esporos de *S. fuliginea* diretamente sobre a superfície foliar através de pincelamento de lesões provenientes de folhas de aboboreiras naturalmente infectadas. Após a inoculação, as placas de Petri foram mantidas a 28 °C sob luz constante; decorrido 16 h, os discos inoculados com *C. gloeosporioides* foram submetidos à técnica de clareamento foliar descrita a seguir, enquanto que os discos inoculados com *S. fuliginea* só foram submetidos ao clareamento 24 horas após.

A técnica de clareamento consiste na despigmentação das amostras inoculadas e sadias através da exposição dos discos foliares, previamente colocados sobre a superfície de lâminas de vidro, ao gás resultante da reação química ocorrida entre o hipoclorito de sódio (contendo 7 % de cloro ativo) e ácido sulfúrico comercial, utilizados na proporção de 3:2 (v/v), respectivamente. Tanto o ácido quanto o hipoclorito foram colocados em contato um com o outro no interior de um recipiente plástico (11x11 cm) hermeticamente fechado para a liberação do gás, sendo os discos expostos a esse gás por aproximadamente 15 min (Dalisay & Kuc, 1995).

Após o clareamento foliar, foi avaliada, com o auxílio de um microscópio óptico, a germinação ou não dos esporos no próprio tecido vegetal, tendo como parâmetros as porcentagens de esporos germinados e apressórios.

3.6. Observações das alterações histológicas e desenvolvimento de *S. fuliginea* nos tecidos vegetais

Foram preparados cortes transversais de tecido foliar de aboboreira para visualização do padrão de resposta do tecido e desenvolvimento de *S. fuliginea*, sendo utilizados os seguintes tratamentos: planta sadia, planta com “prateado”, planta sadia inoculada com *S. fuliginea* e planta com “prateado” inoculada com *S. fuliginea*. As amostras foram submetidas a uma pré-fixação com glutaraldeído-paraformaldeído em tampão cacodilato (2 h a 4 °C), lavadas com tampão cacodilato 0,1 M por 30 min e pós-fixadas com tetróxido de ósmio 2 % em tampão cacodilato 0,1 M (1 h a 4 °C); nova lavagem foi efetuada, utilizando-se solução salina 0,9 % em água deionizada (3 vezes por 5 min). Após este preparo, o material vegetal foi pré-corado com acetato de uranila 2,5 % (16 h a 4 °C), desidratado em acetona 25 %, 50 %, 75 %, 90 % e 100 % e infiltrado com resina, sendo o procedimento finalizado com a emblocagem dos discos (também com resina - Epon). Os blocos permaneceram no interior de uma estufa (a 70 °C) por 12 h para a secagem completa da resina. Decorrido este período, os cortes foram obtidos com o auxílio de um micrótomo e transferidos para lâminas de vidro, colocadas sobre uma chapa de ferro previamente aquecida. Ainda sobre esta chapa, as lâminas foram cobertas com azul de toluidina (1 min) para coloração e visualização microscópica das estruturas nas amostras (Abo-Foul et al., 1996; Jimenez et al., 1995; Schweizer et al., 1995).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização bioquímica dos extratos foliares com e sem “prateado”

Como descrito no item 3.3, todas as amostras foram coletadas quando as plantas já apresentavam 10 folhas emergidas. Por tratarem-se de experimentos relacionados a aspectos bioquímicos e fisiológicos de plantas, a adoção de tais padronizações a cerca de idade fisiológica foi necessária a fim de que as variações nos níveis de produção de metabólitos fossem reduzidas caso fossem amostradas folhas provenientes de plantas com idades diferentes.

Exemplificando, caso fosse dosada a quantidade de proteínas totais em uma planta com apenas 5 folhas emergidas, esta certamente não corresponderia à quantidade obtida de uma outra com 10 folhas, e deste modo elas não poderiam ser consideradas repetições de um mesmo tratamento.

As Figuras 3, 4, 5 e 6 correspondem respectivamente aos valores de proteínas, clorofilas totais, carboidratos e fenóis, obtidos dos

três materiais genéticos. Assim, na Figura 3 nota-se que *C. pepo* e o híbrido apresentaram resultados opostos, ou seja, na planta híbrida a quantidade de proteínas totais em tecido foliar “prateado” foi maior do que em tecido sadio, ao passo que *C. pepo* apresentou baixo índice de proteínas no tecido “prateado”, quando comparado ao sadio, e *C. moschata* não mostrou diferenças entre os dois tratamentos.

Embora não reflita o metabolismo proteico como um todo, Jimenèz e colaboradores (1995), trabalhando com o “prateado” em *C. pepo*, demonstraram que em tecido jovem da aboboreira havia uma redução na enzima quitinase. Por outro lado, em algumas interações planta-inseto, alguns biótipos de homoptera podem aumentar o conteúdo de nitrogênio e aminoácidos na seiva das plantas (Wu & Trower, 1973). Além disso, Ramos et al. (1995) demonstraram o aparecimento de uma proteína de 48 kDa em folhas de *C. pepo* com “prateado”, estando essa proteína localizada nas células do parênquima lacunoso e nos elementos de vasos e células companheiras do floema

No tocante ao conteúdo de clorofilas (Figura 4), observou-se o mesmo comportamento entre as diferentes aboboreiras, uma vez que todas mostraram menor teor de clorofila em tecido com “prateado” do que em tecido sadio. Esses resultados concordam com os obtidos por Jimenèz et al. (1995) em plantas de *C. pepo* com “prateado”, os quais evidenciaram uma redução no conteúdo de clorofila em plantas com diferentes idades, bem como uma modificação dos cloroplastos que se mostraram arredondados e com as membranas alteradas.

Os resultados encontrados eram esperados, uma vez que o “prateado” é uma doença relacionada à alteração da fotossíntese (Ramos et al., 1995). De acordo com Narayanan, citado por Ramos et

al. (1995), o “prateamento foliar” é associado com baixas taxas fotossintéticas, sendo que as folhas “prateadas” exibem uma assimilação de carbono 35% menor do que as folhas sadias.

Por sua vez, na Figura 5, observa-se que tecidos do híbrido e de *Cucurbita moschata* “prateados” exibiram uma quantidade de carboidratos maior do que o encontrado no tecido sadio, enquanto que em *C. pepo* estes valores foram o inverso. Embora a diminuição no conteúdo de carboidratos em *C. pepo* possa ser um possível reflexo da diminuição do conteúdo de clorofila (Figura 5), essa correlação aparentemente não é verdadeira para *C. moschata* e para o híbrido Tetsukabuto, que exibiram aumentos no conteúdo de carboidratos e redução no conteúdo de clorofila. O aumento no conteúdo de carboidratos provavelmente não resulta da degradação dos constituintes celulares das aboboreiras, visto que Ramos et al. (1995) não encontraram evidências histoquímicas que demonstrassem a quebra da celulose da parede celular de plantas de *C. pepo* com sintomas de “prateado”. Por outro lado, alguns trabalhos evidenciam a possibilidade de homópteros redirecionarem o fluxo de nutrientes na planta (Gerloff & Ortman, 1971; Wu & Thrower, 1973), o que poderia explicar os aumentos observados nas concentrações de carboidratos.

Com relação aos compostos fenólicos, verificou-se uma maior concentração de fenóis totais em folhas “prateadas” do híbrido e de *C. moschata*, comparando-se com *C. pepo*, que mostrou resultado inverso, como ilustra o gráfico da Figura 6. Geralmente, as plantas mostram-se pouco atrativas aos insetos quando altas concentrações de fenóis estão presentes nos tecidos (Bennett & Wallsgrove, 1994). Quando na presença de cultivares com diferentes concentrações de fenóis,

normalmente os insetos procuram os tecidos da cultivar exibindo a menor concentração destes compostos. As observações contidas na Figura 6 talvez possam explicar o atraso detectado na manifestação dos sintomas de “prateado” nas aboboreiras de *C. moschata* e do híbrido em relação a *C. pepo*.

Os resultados mostrados na Figura 10, exibindo cortes transversais de tecidos foliares afetados pelo “prateado” reforçam esta idéia, pois revelam a ocorrência de alterações drásticas nas células, tais como o desarranjo das camadas paliçadas e lacunosas do parênquima. Resultados semelhantes foram obtidos por Jimenèz et al. (1995) e Ramos (1995), os quais demonstraram intensa vacuolização nestes locais, degradação dos componentes celulares (autólise celular), além da substituição do amido por material eletro-denso opaco nos cloroplastos, havendo ainda degradação dos pigmentos clorofilados, transformando os cloroplastos em uma estrutura arredondada e não funcional.

Estes três materiais de aboboreiras, como todo vegetal, apresentam mecanismos de resistência ao ataque de patógenos, insetos ou qualquer agente agressor, que são estimulados assim que a planta percebe a invasão (Ryals et al, 1996). Entretanto, a velocidade com que tais mecanismos são ativados varia consideravelmente em cada vegetal, sendo que, uma demora acentuada para o início deste processo pode significar o comprometimento da planta; do mesmo modo, uma resposta rápida à agressão poderia representar um atraso na manifestação de sintomas, indicando que o vegetal estaria encontrando maneiras de compensar a doença.

Através dos resultados expressos nos gráficos das Figuras 3, 4, 5 e 6 pode-se observar que *C. moschata* e o híbrido reagiram mais rapidamente à fitotoxemia, o que possivelmente permitiu a essas plantas realizarem normalmente os processos de fotossíntese e respiração por mais tempo que *C. pepo*, material bastante sensível a esta desordem fisiológica; *C. pepo*, portanto, exibindo o “prateado” mais rapidamente apresentou valores mais baixos de proteínas, carboidratos, fenóis e clorofila totais.

4.2. Germinação dos conídios em tecido de aboboreira

Bioensaios envolvendo testes de germinação de esporos são rotineiramente empregados pelos pesquisadores, uma vez que possibilitam a estes acompanhar a influência de tratamentos aplicados, facilitando a compreensão dos resultados obtidos. Daaf et al. (1995), por exemplo, utilizaram testes de germinação para estudar o efeito de extrato foliar de *Reynoutria sachalinensis* sobre oídio em plantas de pepino, demonstrando uma redução na porcentagem de esporos germinados em presença deste extrato. Do mesmo modo, Askary et al. (1997) também utilizaram estes bioensaios como ferramenta auxiliar em estudos citoquímicos e ultraestruturais do efeito antagonista de *Verticillium lecanii* sobre o oídio em cultura de pepino, permitindo aos autores, acompanharem esta interação microscopicamente.

Os resultados obtidos neste trabalho estão resumidos na Tabela 1. O fungo hemibiotrófico *C. gloeosporioides* não exibiu alterações significativas no processo de germinação e formação de apressórios em presença de tecido foliar “prateado” (Tabela 1; Figura 7), comparado

aos resultados observados para os esporos inoculados em tecido sadio. No entanto, podemos notar que para o fungo biotrófico *S. fuliginea*, comprovadamente houve uma redução na germinação e formação de apressórios em tecido foliar “prateado” quando comparado com o sadio (Tabela 1; Figura 8).

De acordo com os relatos de Rezende et al. (1997), o oídio não cresce normalmente em folhas “prateadas” de aboboreiras, mas observações sobre o comportamento de outros fitopatógenos como *C. gloeosporioides* f.sp. *cucurbitae* frente a esta desordem fisiológica ainda não haviam sido feitas. Como comentado, constatou-se que o “prateamento” afetou o desenvolvimento do fungo biotrófico, não exercendo porém, um efeito sobre o patógeno hemibiotrófico, o qual não necessita da célula hospedeira viva para realizar sua nutrição, podendo desenvolver-se e esporular mesmo após a morte do tecido vegetal colonizado.

Através das constatações de Ramos et al. (1995), sabe-se que esta fitotoxemia induz a autólise celular, sem causar danos evidentes na parede e cutícula das células hospedeiras (inclusive sendo esta característica que confere o efeito do “prateamento”, já que, havendo a ausência de pigmentos clorofilados, a luz, ao incidir sobre a cutícula, volta aos olhos revelando para a retina uma tonalidade “prata” na superfície foliar) das plantas afetadas (Figura 2). Assim, como *S. fuliginea* invade a célula vegetal de modo não agressivo, através da dissolução da parede celular e invaginação da membrana celular do hospedeiro (Agrios, 1997), expandindo-se em busca de nutrientes, uma vez que encontre os componentes celulares degradados e células em

processo de autólise, não conseguiria se desenvolver do mesmo modo que faria em uma célula vegetal sadia.

Por outro lado, a inibição da germinação e formação de apressórios por *S. fuliginea* em aboboreiras com “prateado”, pode indicar a existência de mecanismos bioquímicos pré e/ou pós formados que influenciariam essas etapas iniciais do processo de infecção. Apesar do conteúdo de compostos fenólicos em *C. pepo* com “prateado” ter sido menor do que em plantas sadias (Figura 6), esses resultados não eliminam a hipótese de defesas bioquímicas. Trabalhos com pepino (*Cucumis sativus*) e melão (*Cucumis melo*) evidenciaram a deposição de material autofluorescente, possivelmente de natureza fenólica, e a lignificação da parede celular em resposta a inoculação com *S. fuliginea* (Cohen et al., 1990; Conti et al., 1994). Além disso, trabalho recente de Fawe et al. (1998) mostra o acúmulo de uma fitoalexina do tipo flavonóide em pepino, em resposta ao tratamento com silício, contribuindo para a resistência das plantas contra o oídio.

4.3. Considerações finais

Deve-se ressaltar, neste ponto, as dificuldades inerentes ao trabalho com “prateamento” em aboboreiras, em função da necessidade de condições adequadas para a manutenção das plantas livres da mosca branca. Além disso, no tocante ao patossistema oídio-aboboreira, os experimentos envolvendo esse patógeno biotrófico são dificultados pela necessidade da manutenção de plantas doadoras.

Porém, independentemente destas dificuldades e com base nos trabalhos conduzidos, foi possível demonstrar de maneira generalizada os

efeitos do “prateamento” no metabolismo de plantas de aboboreira, ocasionando alterações no conteúdo de proteínas, carboidratos e fenóis, as quais não seguiram um padrão definido para os diferentes materiais genéticos utilizados. Observou-se como resposta comum à todas as aboboreiras, uma redução no conteúdo de clorofila, evidenciando de modo indireto uma possível interferência nos processos de fotossíntese e respiração das plantas. Como a literatura sobre os aspectos histopatológicos e fisiológicos do “prateamento” em aboboreiras mostra-se bastante escassa, visto essa fitotoxemia ser muito recente, esses resultados são bastante importantes como contribuição na elucidação das bases fisiológicas do fenômeno.

Por sua vez, os resultados também apontam para a possível existência de mecanismos em folhas com “prateado” atuando seletivamente durante a fase de pré-penetração contra *S. fuliginea*. Assim, sugere-se que a menor colonização dos tecidos de aboboreira pelo fungo, evidenciada pela ausência ou diminuição dos sinais do fitopatógeno sobre a superfície da folha, deve-se às reduções na germinação e formação de apressórios pelos conídios, bem como possivelmente pela desestruturação do mesófilo foliar. Esses resultados são inéditos na literatura envolvendo o “prateamento” em aboboreiras e o oídio, abrindo portanto, novos horizontes para trabalhos nessa área.

5. CONCLUSÕES

Através dos resultados deste trabalho, concluiu-se que o “prateamento” em cucurbitáceas, acarreta alterações no conteúdo de proteínas, carboidratos e fenóis, que não seguem um padrão definido, com exceção de uma redução no conteúdo de clorofila, comum a *C. pepo*, *C. moschata* e o híbrido Tetsukabuto.

Quanto ao desenvolvimento de *S. fuliginea* em plantas de aboboreira com “prateado”, sugere-se que a menor colonização dos tecidos deve-se às reduções na germinação e formação de apressórios pelos conídios, bem como possivelmente pela desestruturação do mesófilo foliar.

ANEXOS

Figura 2: Folhas de uma mesma abóboreira exibindo sintomas de oídio (o) e de “prateamento” foliar (p). Foto cedida pelo professor Dr. Jorge Alberto Marques Rezende, do Departamento de Fitopatologia (ESALQ/USP).

Figura 3: Conteúdo de proteínas totais em extrato foliar coletado de *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* e do híbrido Tetsukabuto, exibindo (CP) ou não (SP) sintomas de “prateado”. Médias $\pm$ erro padrão.

Figura 4: Conteúdo de clorofila em extrato foliar coletado de *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* e do híbrido Tetsukabuto, exibindo (CP) ou não (SP) sintomas de “prateado”. Médias $\pm$ erro padrão.

Figura 5: Conteúdo de carboidratos totais em extrato foliar coletado de *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* e do híbrido Tetsukabuto, exibindo (CP) ou não (SP) sintomas de “prateado”. Médias $\pm$ erro padrão.

Figura 6: Conteúdo de fenóis totais em extrato foliar coletado de *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* e do híbrido Tetsukabuto, exibindo (CP) ou não (SP) sintomas de “prateado”. Médias $\pm$ erro padrão.

Figura 7: Conídios (co) de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cucurbitae* germinados em tecido foliar de *Cucurbita pepo* exibindo sintomas de “prateado”. Notar a presença de tubo germinativo (tg) e apressório (ap), (aum. 400X).

Figura 8: Conídios (c) de *Sphaerotheca fuliginea* germinados em tecido foliar (*Cucurbita pepo*) sadio (A) e com sintomas de “prateado” (B). Em A, observa-se a colonização da superfície foliar por hifas (hi) do patógeno. Em B, notar os conídios não germinados (cn) e também a presença de conídios em cadeia (cc) indicando a colonização do tecido “prateado” (aum. 400X).

Figura 9- A) Corte transversal de tecido foliar de aboboreira (*Cucurbita pepo*) sadia mostrando a estruturação das células parenquimáticas (ce) e epidérmicas (ep); B) corte transversal de tecido foliar da aboboreira sadia inoculada com oídio; notar alterações na epiderme (al) e a presença de estruturas fúngicas (ef) (aum. 400x).

Figura 10- A) Corte transversal de tecido foliar de aboboreira (*Cucurbita pepo*) exibindo sintomas de "prateado". Notar a desestruturação das células do parênquima paliçádico (pc) e lacunoso (lc), além de espaços entre as camadas celulares (indicados pelas setas); B) corte transversal de tecido foliar da aboboreira com "prateado" e inoculada com oídio; notar espaços abaixo da epiderme (setas) e a ausência de estruturas fúngicas (aum. 400x).

Tabela 1: Influência do “prateamento” foliar em aboboreira (*Cucurbita pepo*), sobre a germinação de conídios e a formação de apressórios por *Sphaerotheca fuliginea* e *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cucurbitae*.

Tratamentos*	Germinação (%)	Apressórios (%)
<i>S. fuliginea</i>		
CP	23,5 ± 3,5**	12,5 ± 4,5
SP	92,5 ± 3,5	79,0 ± 7,0
<i>C. gloeosporioides</i>		
CP	73,0 ± 2,9	60,5 ± 1,1
SP	79,0 ± 0,0	66,5 ± 1,1

* CP: tecido foliar com “prateado”; SP: tecido foliar sadio;

** Médias ± erro padrão.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABO-FOUL, S.; RASKIN, V. I.; SZTEJNBERG, A.; MARDER, J. B.
Disruption of chlorophyll organization and function in powdery mildew diseased cucumber leaves and its control by the hyperparasite *Ampelomyces quisqualis*. *Phytopathology*, v. 86, p. 195-199, 1996.
- ANDRES, T. C. Biosystematics, theories on the origin, and breeding potential of *Cucurbita ficifolia*. In: ROBINSON, R. W.; BATES, D. M.; JEFFREY, C. (Ed.) **Biology and utilization of the cucurbitaceae**. New York: Cornell University Press, 1990. Cap. 9. p. 102-119.
- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. San Diego: Academic Press, 1997. 635p.
- ANTHONY, N. M.; BROWN, J. K.; MARKHAM, P. G.; FFRENCH-CONSTANT, R. H. Molecular analysis of cyclodiene resistance associated mutations among populations of the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 51, p. 220-228, 1995.

ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloroplasts in *Beta vulgaris*.
Plant Physiology, v. 24, p. 1-15, 1949.

ASKARY, H.; BENHAMOU, N.; BRODEUR, J. Ultrastructural and cytochemical investigations of the antagonistic effect of *Verticillium lecanii* on cucumber powdery mildew. **Phytopathology**, v. 87, p. 359-368, 1997.

BATES, D. M.; ROBINSON, R. W.; JEFFREY, C. Preface In: ROBINSON, R. W.; BATES, D. M.; JEFFREY, C. (Ed.) **Biology and utilization of the cucurbitaceae**. New York: Cornell University Press, 1990.

BEDENDO, I. P. Oídios. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia - princípios e conceitos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1995. v.1. p.866-871.

BELANGER, R. R.; BENYAGOUB, M. Challenger and prospects for integrated control of powdery mildews in the greenhouse. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 19, p. 310-314, 1997.

BELLOWS, T. S.; PERRING, T. M.; GILL, R. J.; HEADRICK, D. H. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 87, p. 195-206, 1994.

- BENNETT, R. N.; WALLSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **New Phytologist**, v. 127, p. 617-633, 1994.
- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BROWN, J.K. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. **FAO Plant Protection Bulletin**, v. 42, p. 3-32, 1994.
- BROWN, J.K.; COSTA, H.S. First report of whitefly-associated squash silverleaf disorder of *Brassica* species in Arizona and California. **Plant Disease**, v. 76, p. 426, 1991.
- BROWN, J. K.; COATS, S. A.; BEDFORD, I. D.; MARKHAM, P. E.; BIRD, J. FROHLICH, D. R. Characterization and distribution of esterase electromorphs in the whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae). **Biochemical Genetics**, v. 33, p. 205-214, 1995.
- BROWN, J. K.; FROHLICH, D. R.; ROSELL, R. C. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? **Annual Review Entomology**, v. 40, p. 511-534, 1995.

- BROWN, J. K.; BIRD, J. Variability within the *Bemisia tabaci* species complex and its relation to new epidemics caused by geminiviruses. **CEIBA**, v. 36, p. 73-80, 1995.
- CAMPBELL, S. M.; CAMPBELL, J. B. **Matemática de laboratório: aplicações médicas e biológicas**. 3 ed. São Paulo: Ed. Rocca, 1986, 347 p.
- COATS, S. A.; BROWN, J. K.; HENDRIX, D. L. Biochemical characterization of biotype-specific esterases in the whitefly, *Bemisia tabaci* Genn. (Homoptera: Aleyrodidae). **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 24, p. 723-728, 1994.
- COHEN, S.; DUFFUS, J. E.; LIU, H. Y. A new *Bemisia tabaci* biotype in the Southwestern United States and its role in silverleaf of squash and transmission of lettuce infectious yellows virus. **Phytopathology**, v. 82, p. 86-90, 1992.
- COHEN, S.; COHEN, Y. Genetics and nature of resistance to race 2 of *Sphaerotheca fuliginea* in *Cucumis melo* RI 124111. **Phytopathology**, v. 76, p. 1165-1167, 1986.
- COHEN, Y.; EYAL, H. Epifluorescence microscopy of *Sphaerotheca fuliginea* race 2 on susceptible and resistant genotypes of *Cucumis melo*. **Phytopathology**, v. 78, p. 144-148, 1988.

COHEN, Y.; EYAL, H.; HANANIA, J. Ultrastructures, autofluorescence, callose deposition and lignification in susceptible and resistant muskmelon leaves infected with the powdery mildew fungus *Sphaerotheca fuliginea*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 36, p. 194, 1990.

CONTI, G. G.; BASSI, M.; CARMINUCCI, D.; GATTI, L.; BOCCI, A. M. Preinoculation with tobacco necrosis virus enhances peroxidase activity and lignification in cucumber, as a resistance response to *Sphaerotheca fuliginea*. **Journal of Phytopathology**, v. 128, p. 191-202, 1990.

CONTI, G. G.; BASSI, M.; MAFFI, D.; VIOLINI, G.; MAGNANI, L.; GATTI, L. Induced systemic resistance against *Sphaerotheca fuliginea* in cucumber: efficiency of tobacco necrosis virus (TNV) and copper sulphate (CuSO_4) in eliciting defense reactions. **Journal of Phytopathology**, v. 140, p. 123-132, 1994.

CONTI, G. G.; PIANEZZOLA, A.; ARNOLDI, A.; VIOLINI, G.; MAFFI, D. Possible involvement of salicylic acid in systemic acquired resistance of *Cucumis sativus* against *Sphaerotheca fuliginea*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 102, p. 537-544, 1996.

CORRÊA Jr., A. Estudos bioquímicos e fisiológicos da diferenciação de estruturas de infecção da ferrugem do café (*Hemileia vastatrix* Berk e Br.) Piracicaba, 1990. 146 p. Dissertação (M.S.) - Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz"/USP.

- COSTA, H. S.; BROWN, J. K. Variation in biological characteristics and esterase patterns among populations of *Bemisia tabaci*, and possible association of one population with silverleaf symptom development. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 61, p. 211-219, 1991.
- COSTA, H. S.; BROWN, J. K.; SILVASUPRAMANIAM, S.; BIRD, J. Regional distribution, insecticide resistance, and reciprocal crosses between the A and B biotypes of *Bemisia tabaci*. *Insect Scientia Applicata*, v. 14, p. 255-266, 1993a.
- COSTA, H. S.; ULLMAN, D. E.; JOHNSON, M. W.; TABASHNIK, B. E. Squash silverleaf symptoms induced by immature, but not adult, *Bemisia tabaci*. *Phytopathology*, v. 83, p. 763-766, 1993.
- DAAYF, F.; SCHMITT, A.; BÉLANGER, R. R. The effects of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber. *Plant Disease*, v. 79, p. 577-580, 1995.
- DALISAY, R. F.; KUC, J. A. Persistence of induced resistance and enhanced peroxidase and chitinase activities in cucumber plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v. 47, p. 315-327, 1995.
- EDWARDS, P. J.; WRATTEN, S. D. **Ecologia das interações entre insetos e plantas**. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária Ltda., 1980, 62p.

DAVIDSON, E. W.; SEGURA, B. J.; STEELE, T.; HENDRIX, D. L.
Microorganisms influence the composition of honeydew produced by
the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. **Journal of Insect
Physiology**, v. 40, p. 1069-1076, 1994.

GAYON, P. R. **Plant Phenolics**. Edinburgh: Constable Ltda. 1972. 247p.

GERLOFF, E. D.; ORTMAN, E. E. Physiological changes in barley
induced by greenbug feeding stress. **Crop Science**, v. 11, p. 174-
176.

GONZALEZ, R. A.; GOLDMAN, G. E.; NATWICK, E. T.; ROSENBERG,
H. R.; GRIESHOP, J. I.; SUTTER, S. R.; FUNAKOSHI, T.; DAVILA-
GARCIA, S. Whitefly invasion in Imperial Valley costs growers,
workers millions in losses. **California Agriculture**, v. 46, p. 7-8,
1992.

GRUENHAGEN, N. M.; PERRING, T. M.; BEZARK, L. G.; DAOUD, D. M.;
LEIGH, T. F. Silverleaf whitefly present in the San Joaquin Valley.
California Agriculture, v. 47, p. 4-8, 1993.

HAMMERSCHMIDT, R.; NICHOLSON, R. L. Resistance of maize to
anthracnose: changes in host phenols and pigments.
Phytopathology, v. 67, p. 251-258, 1977.

- HAMMOND-KOSACK, K. E.; JONES, J. D. G. Resistance gene dependent plant defense responses. **The Plant Cell**, v. 8, p. 1773-1791, 1996.
- HARBORNE, J. B. General procedures and measurement of total phenolics. In: DEY, P. M. & HARBORNE, J. B.(Ed.) **Methods in plant biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1989. v.1, p. 2-3.
- JIMÉNEZ, D. R.; YOKOMI, R. K.; MAYER, R. T.; SHAPIRO, J. P. Cytology and physiology of silverleaf whitefly: induced squash silverleaf. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 43, p. 227-242, 1995.
- KABITARANI, A. & BHAGIRATH, TH. Resistance of squash (*Cucurbita moschata*) to infection process and sporulation of powdery mildew fungus (*Sphaerotheca fuliginea*). **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 61, p. 783-784, 1991.
- KIMATI, H.; CARDOSO, C. O. N.; BERGAMIN FILHO, A. Doenças das Cucurbitáceas. In: GALLI, F. (Ed.) **Manual de fitopatologia-doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1980. Cap. 16, p. 251-269.

- KRÜGNER, T. L. A natureza da doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de fitopatologia - princípios e conceitos**. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 1995. Cap.3, p. 34-44.
- LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo: Ed. Ícone, 1991. 336p.
- LEVER, M. A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. **Analytical Biochemistry**, v. 47, p. 273-279, 1972.
- LOURENÇÃO, A. L.; NAGAI, H. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no estado de São Paulo. Apresentado ao 14º Congresso Brasileiro de Entomologia, Esalq/USP, Piracicaba, 1993.
- MAYNARD, D. N.; CANTLIFFE, D. J. Squash silverleaf and tomato irregular ripening: new vegetable disorder in Florida. **Florida Cooperative Extension Service**, v. 37, 4 p. 1989.
- McGRATH, M. T. & GILREIN, D. First report of squash silverleaf disorder associated with B-biotype sweetpotato whitefly in New York. **Plant Disease**, v. 78, p. 641, 1994.
- MORAN, P. J.; SCHULTZ, J. C. Ecological and chemical associations among late season squash pests. **Environmental Entomology**, v. 27, p. 39-44, 1998.

- NAGAI, H.; LOURENÇÃO, A. L.; VEGA, J.; MELO, A. T. M. Ocorrência da “folha prateada de aboboreira” associada à mosca branca (*Bemisia tabaci*). **Horticultura Brasileira**, v. 10, p. 62, 1992.
- PARIS, H. S.; NERSON, H.; BURGER, Y. Leaf silvering of *cucurbita*. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 67, p. 593-598, 1987.
- PARIS, H. S.; STOFFELLA, P. J.; POWELL, C. A. Susceptibility to leaf silvering in the cultivar groups of summer squash. **Euphytica**, v. 69, p. 69-72, 1993.
- PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de fitopatologia - princípios e conceitos**. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 1995. Cap. 22, p. 417-453.
- PERRING, T. M.; COOPER, A. D.; RODRIGUEZ, R. J.; FARRAR, C. A. & BELLOWS, T. S. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. **Science** (Washington, DC), v. 259, p. 74-77, 1993.
- PROVVIDENTI, R. Viral diseases and genetic sources of resistance in *Cucurbita* species In: ROBINSON, R. W.; BATES, D. M.; JEFFREY, C. (Ed.) **Biology and utilization of the cucurbitaceae**. New York: Cornell University Press, 1990. Cap. 35, p. 427-435.

RAMOS, L. J.; BHARATHAN, N.; McMILLAN, R. T.; NARAYANAN, K. R. Histopathological changes associated with silverleaf syndrome in squash. **Plant Pathology**, v. 44, p. 316-324, 1995.

REZENDE, J. A. M.; BROWN, J. K. ; BEDENDO, I. P.; LOURENÇÃO, A. L. Observation on the acquired resistance of zucchini squash silverleaf, caused by *Bemisia argentifolii*, to powdery mildew. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, p. 568, 1997.

RYALS, J. A.; NEUENSCHWANDER, H.; WILLITS, M. G.; MOLINA, A.; STEINER, H.; HUNT, M. D. Systemic acquired resistance. **The Plant Cell**, v. 8, p. 1809-1819, 1996.

ROCHELLE, L. A. Descrição taxonômica de cultivares de *Cucurbita moschata* Duchesne, *Cucurbita maxima* Duchesne e *Cucurbita pepo*, L. Piracicaba, 1970. 98 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP.

SALVUCCI, M. E.; WOLFE, G. R.; HENDRIX, D. L. Concentration on carbohydrate metabolism in *B. argentifolii*: biochemical mechanism and physiological role for trehalose synthesis in the silverleaf whitefly. **Journal of Insect Physiology**, v. 43, p. 457-464, 1997.

SCHUSTER, D. J.; KRING, J. B.; PRICE, J. F. Association of the sweetpotato whitefly with a silverleaf disorder of squash. **Hortscience**, v. 26, p. 155-156, 1991.

- SCHWEIZER, P.; VALLÉLIAN-BINDSCHEDLER, L.; MÖSINGER, E.
Heat induced resistance in barley to the powdery mildew fungus
Erysiphe graminis f. sp. *hordei*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 47, p. 51-66, 1995.
- URQUHART, E. J.; MENZIES, J. G.; PUNJA, Z. K. Growth and biological control activity of *Tilletiopsis* species against powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) on greenhouse cucumber. **Phytopathology**, v. 84, p. 341-351, 1994.
- VERHAAR, M. A.; HIJWEGEN, T.; ZADOKS, J. C. Glasshouse experiments on biocontrol of cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) by mycoparasites *Verticillium lecanii* and *Sporothrix rugulosa*. **Biological Control**, v. 6, p. 358-360, 1996.
- VERHAAR, M. A.; OSTERGAARD, K. K.; HIJWEGEN, T.; KADOKS, J. C. Preventive and curative applications of *Verticillium lecanii* for biological control of cucumber powdery mildew. **Biocontrol Science and Technology**, v. 7, p. 543-551, 1997.
- WHITAKER, T. W. Cucurbits of potential economic importance. In: ROBINSON, R. W.; BATES, D. M.; JEFFREY, C. (Ed.). **Biology and utilization of the cucurbitaceae**. New York: Cornell University Press, 1990. Cap.25, p. 318-324.

- WISLER, G. C.; LI, R. H.; LIU, H. Y.; LOWRY, D. S; DUFFUS, J. E.
Tomato chlorosis virus: a new whitefly transmitted, phloem-limited,
bipartite closterovirus of tomato. **Phytopathology**, v. 88, p. 402-409,
1998.
- WU, A.; THROWER, L. B. Translocation into mature leaves. **Plant and
Cell Physiology**, v. 14, p.1225-1228, 1971.
- YEE, W.L.; HENDRIX, D. L.; TOSCANO, N. C.; CHU, C.C.;
HENNBERRY, T. J. Diurnal field patterns of honeydew sugar
secretion by *B. argentifolii* nymphs on cotton. **Environmental
Entomology**, v. 25, p. 776-782, 1996.