

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

DAYANA EFFGEN FANTINATO

**EFEITOS DA ADUBAÇÃO FOLIAR COM SILÍCIO NA RESISTÊNCIA  
DO CACAUEIRO (*Theobroma cacao* L.) À VASSOURA-DE-BRUXA  
(*Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora)**

VITÓRIA  
2014

DAYANA EFFGEN FANTINATO

**EFEITOS DA ADUBAÇÃO FOLIAR COM SILÍCIO NA RESISTÊNCIA  
DO CACAUEIRO (*Theobroma cacao* L.) À VASSOURA-DE-BRUXA  
(*Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. DSc. Camilla Rozindo Dias Milanez (UFES)

Co-orientador: Prof. DSc. Marco Antonio Galeas Aguilar (CEPLAC)

VITÓRIA

2014

## DAYANA EFFGEN FANTINATO

**“EFEITOS DA ADUBAÇÃO FOLIAR COM SILÍCIO NA RESISTÊNCIA DO  
CACAUUEIRO (*Theobroma cacao* L.) Á VASSOURA-DE-BRUXA (*Moniliophthora  
perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal na área de concentração Fisiologia Vegetal.


Aprovada em 26 de Fevereiro de 2014.

### COMISSÃO EXAMINADORA



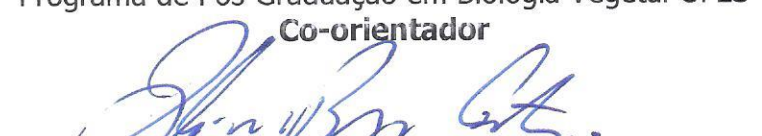
---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Camilla Rozindo Dias Milanez**  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal-UFES  
Orientadora



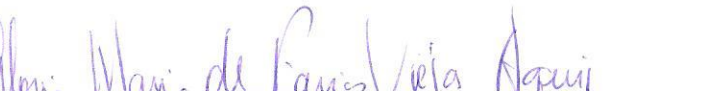
---

**Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Marco Antonio Galeas Aguilar**  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal-UFES  
Co-orientador



---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Viviana Borges Corte**  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal - UFES  
Examinador Interno



---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Glória Maria de Farias Viegas Aquije**  
IFES  
Examinador Externo

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal pela estrutura física permitindo a realização do trabalho.

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

À CEPLAC de Linhares-ES pela doação das mudas e do espaço físico; pela ajuda de toda equipe durante a condução do experimento; pelas inúmeras caronas e por todo apoio. Em especial, agradeço ao Dr. Marco Antônio pela co-orientação e ao Dr. Spaggiari pela disponibilidade. Muito obrigada!

À CEPLAC de Ilhéus-BA, à Prof<sup>a</sup> Dra. Karina e a Louise pela doação do inóculo, pelo acolhimento no laboratório e pelos ensinamentos.

Ao secretário do PPGBV Ricardo pela competência e prestatividade.

À Prof<sup>a</sup> Dra. Camilla por mais uma vez ter me acolhido no laboratório com mais uma orientação; pelas palavras e ensinamentos, pela confiança e por todo apoio e dedicação fundamentais para a realização deste trabalho.

À amiga Larissa pelo apoio e pela grande ajuda nas análises estatísticas.

Aos companheiros do LABAV, da Botânica e à Betinha por terem tornado esta caminhada alegre e descontraída; à Ana, Tati e ao Leonardo pela imensa ajuda.

Aos companheiros de turma do mestrado pela distração e apoio nestes dois anos.

A Lorena Bah pela amizade, palavras, apoio e compreensão de todos esses anos.

Aos meus amigos Maíra e Ramon, que mesmo distantes estão sempre presentes.

Ao Yuri pelas palavras de otimismo e conforto e pela confiança.

A minha mãe Anilene e meus irmãos Anellyne e Rouillyem pelos ensinamentos e por terem sempre acreditado em mim.

*“Lute com determinação, abrace a vida com paixão,  
perca com classe e vença com ousadia,  
porque o mundo pertence a quem se atreve  
e a vida é muito para ser insignificante”*

*Charles Chaplin*

## RESUMO

### **Efeitos da adubação foliar com silício na resistência do cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.) à vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora)**

O grande interesse econômico do cacauzeiro (*Theobroma cacao*) é devido, principalmente, à utilização de suas sementes para a produção de manteiga de cacau e chocolate. No entanto, esse agronegócio tem enfrentado uma crise em decorrência da vassoura-de-bruxa, considerada uma das doenças mais destrutivas do cacauzeiro e causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*. Uma alternativa no manejo de doenças em plantas que tem sido utilizada é a indução de resistência, podendo ser obtida através de tratamentos utilizando produtos a base de silício. Assim o objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficácia de diferentes doses de silício na proteção de plantas de cacauzeiro, genótipo Catongo, contra a doença vassoura-de-bruxa por meio da análise de características morfo-fisiológicas e bioquímicas. O delineamento experimental foi em Blocos Casualizados (DBC), com 4 repetições, em arranjo fatorial 2 x 4, constituído de dois fatores de inoculação (inoculado e não-inoculado) e quatro doses de silício ( $0 \text{ mg mL}^{-1}$ ;  $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ ;  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$  e  $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ) com o produto AgriSil (98% de  $\text{SiO}_2$ ), resultando em 32 parcelas com 10 plantas cada, totalizando 320 plantas. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão. Foram realizadas análises enzimáticas, trocas gasosas, teor de silício foliar e densidade estomática. Plantas inoculadas apresentaram aumento da fotossíntese e das atividades de quitinases e polifenoloxidasas com a aplicação de doses crescentes de Si. Já a densidade estomática mostrou-se máxima na dose  $0,79 \text{ mg/mL}$  de Si, enquanto a concentração máxima de Si nas folhas foi obtida na dose  $0,7 \text{ mg/mL}$  de Si. Os resultados sugerem que doses crescentes de silício demonstram-se benéficas para amenizar os efeitos causados por *M. perniciosa* em mudas de cacauzeiros.

**Palavras-chave:** cacauicultura, fitopatologia, resistência induzida, quitinase, polifenoloxidase.

## ABSTRACT

### **Effects of foliar fertilization with silicon on resistance of cocoa (*Theobroma cacao* L.) to witches' broom (*Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora)**

The economic interest of cocoa (*Theobroma cacao*) is because, mainly, of using its seeds to produce cocoa butter and chocolate. However, this business has encountered a crisis caused, mainly, by witches' broom, caused by the fungal *Moniliophthora perniciosa*, that could induce losses of until 90% of the production, been considered one of the most destructive disease of cocoa. One management alternative of diseases that has been used it's the induced resistance, that could be obtained by treatments using products with silicon. Therefore, we verified the efficiency of different dose of silicon in protection against the disease witches' broom in the clonal Catongo of cocoa inoculated with *M. perniciosa* by analysis of morpho-physiological and biochemical characteristics. The experimental design was in randomized blocks (DBC), with four replications in a factorial 2 x 4, consisting of two factors of inoculation (inoculated and non-inoculated) and four doses of silicon (0 mg mL<sup>-1</sup> ; 0,5 mg mL<sup>-1</sup>; 1,0 mg mL<sup>-1</sup> e 2,0 mg mL<sup>-1</sup>) with the product AgriSil (98% of SiO<sub>2</sub>), resulting in 32 plots with 10 plants each, totaling 320 plants. The results obtained were submitted to analysis of variance and regression. Evaluations about enzyme analysis, gas exchange, foliar silicon content and stomatal density were conducted. Inoculated plants presented increased of photosynthesis and of chitinase and polyphenoloxidase activities with application of growing doses of Si. Already stomatal density showed maxim in the dose 0,79 mg/mL of Si, while the foliar silicon content was obtained in the dose 0,7 mg/mL of Si. The results suggest that growing doses of silicon demonstrated beneficial to ease the effects caused by *M. perniciosa* in cocoa seedlings.

**Keywords:** cocoa farming, phytopathology, induced resistance, chitinase, polyphenoloxidase.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Vista geral do experimento em casa de vegetação. Indivíduos do genótipo Catongo de *Theobroma cacao* com 37 dias.....24
- Figura 2:** Vista geral das plantas de *T. cacao* inoculadas em câmara úmida.....26
- Figura 3:** Detalhe de plantas de *T. cacao* inoculada (à esquerda) e não inoculada (à direita). Notar o desenvolvimento inicial da vassoura-de-bruxa (seta) na planta inoculada.....27
- Figura 4:** Trocas gasosas em plantas de *T. cacao*, submetidas a diferentes doses de SiO<sub>2</sub>. (A) Condutância estomática; (B) Concentração interna de CO<sub>2</sub>; (C) Transpiração; (D) Fotossíntese líquida.....32
- Figura 5:** Densidade estomática em plantas de *T. cacao* inoculadas, submetidas a diferentes doses de SiO<sub>2</sub>.....33
- Figura 6:** A-B: Impressões epidérmicas da face abaxial foliar de plantas de *T. cacao* inoculadas submetidas a diferentes doses de SiO<sub>2</sub>. (A) Dose 1,0mg/mL. (B) Dose 2,0 mg/mL. Estômatos indicados pelas setas.....33
- Figura 7:** Atividade enzimática em plantas de *T. cacao*, submetidas a diferentes doses de SiO<sub>2</sub>. (A) Atividade da enzima PPO. (B) Atividade da enzima CHI.....34
- Figura 8:** Concentração foliar de silício em plantas de *T. cacao*, submetidas a diferentes doses de SiO<sub>2</sub>.....35



## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Análise do teor de silício no substrato Plantmax utilizado no experimento.....25

**Tabela 2:** Pontos de Máximo (PMáx ) e Mínimo (PMín) das variáveis estudadas para cada tratamento (doses de silício).....31

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2. OBJETIVO</b> .....	13
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
3.1 <i>THEOBROMA CACAO</i> L.....	14
3.2 A DOENÇA VASSOURA-DE-BRUXA.....	16
3.3 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA.....	19
3.4 O SILÍCIO.....	21
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	24
4.1 ÁREA DE ESTUDO.....	24
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	24
4.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.4 INOCULAÇÃO COM O FUNGO <i>MONILIOPHTHORA PERNICIOSA</i> .....	25
4.5 ANÁLISE DE TROCAS GASOSAS.....	27
4.6 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE ESTOMÁTICA.....	27
4.7 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS E DAS ATIVIDADES ENZIMÁTICAS.....	28
4.7.1 Obtenção do extrato.....	28
4.7.2 Proteínas totais.....	28
4.7.3 Quitinase (CHI; EC 3.2.1.14).....	28
4.7.4 Polifenoloxidase (PPO; EC 1.30.3.1).....	29
4.7.5 Peroxidase do guaiacol (POD; EC 1.11.1.7).....	29
4.8 Determinação do teor foliar de silício.....	30
4.9 Análise estatística.....	30
<b>5. RESULTADOS</b> .....	32
5.1 ANÁLISES DE TROCAS GASOSAS.....	32
5.2 DENSIDADE ESTOMÁTICA.....	33

5.3 ATIVIDADE ENZIMÁTICA.....	34
5.4 TEOR FOLIAR DE SILÍCIO.....	35
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>36</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>39</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O cacauieiro (*Theobroma cacao*) é uma espécie perene de porte arbóreo com origem na região do Alto Amazonas, sendo encontrada tanto nas terras baixas, em florestas úmidas sob a proteção de árvores maiores, como em florestas de altitudes variáveis, com menor umidade, e com árvores em menor densidade (Almeida e Valle, 2007). A espécie pertencia inicialmente à família Sterculiaceae de acordo com a classificação feita por Cronquist (1981). Entretanto, estudos filogenéticos a incluíram na família Malvaceae (Alverson *et al.*, 1999; Souza e Lorenzi, 2005).

As sementes do fruto do cacau representam a principal importância do cultivo do cacauieiro, sendo utilizadas para a produção de chocolate, produtos farmacêuticos e cosméticos. A polpa do fruto também é bastante comercializada, inclusive em mercados internacionais. Da polpa das sementes é extraído o mel do cacau, podendo ser utilizado na fabricação de vinhos, vinagres, licores e geléias (Menezes e Carmo-Neto, 1993).

O município de Linhares ocupa atualmente a 3ª posição entre os maiores produtores de cacau no país, apresentando cerca de 20 mil hectares de terras cultivadas com a espécie, o que representa aproximadamente 95% da área plantada com o cacauieiro no estado (Bisi, 2012).

No entanto, o agronegócio cacauieiro tem enfrentado uma crise devido, principalmente, à doença vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*. Essa doença é caracterizada pelo superbrotamento de lançamentos foliares, com proliferação de gemas laterais e engrossamento de tecidos infectados. A vassoura de bruxa pode causar perdas de até 90% da produção, sendo considerada uma das doenças mais destrutivas do cacauieiro (Evans, 1981; Evans e Bastos, 1979).

No Brasil, essa praga tem causado sérios problemas econômicos, sociais e ecológicos principalmente no sul da Bahia, levando a perdas de até 100% nas fazendas (Faleiro *et al.*, 2004; Rubini *et al.*, 2005; Scarpari, 2005). Já no Espírito Santo, a doença apareceu em fevereiro de 2001, em duas fazendas do município de Linhares.

Diferentes estratégias de controle da doença foram adotadas desde seu surgimento, como a poda fitossanitária (Stahel, 1915), os controles químicos (Van Hall e Drost, 1909) e biológico e o melhoramento genético visando resistência à

doença. Porém, algumas técnicas ainda não apresentaram resultados totalmente satisfatórios e/ou econômicos, como o elevado custo da poda fitossanitária; e susceptibilidade de materiais resistentes em alguns países (Baker e Holiday, 1957).

Uma alternativa no manejo de doenças que tem sido utilizada é a indução de resistência (Bettiol, 1991), a qual se caracteriza pela ativação dos mecanismos latentes de resistência da planta. A indução de resistência pode ser obtida através de tratamentos utilizando produtos a base de silício, que além de apresentar eficácia na proteção contra algumas doenças (Datnoff *et al.*, 2007), também proporcionam melhoras no aspecto nutricional da planta, incrementando a produção e qualidade dos produtos agrícolas.

Estudos existentes sobre a adubação foliar silicatada demonstram o potencial do silício para a agricultura brasileira, como aumento da resistência contra patógenos (Menzies *et al.*, 1992; Carré-Missio *et al.*, 2012) e da produção de biomassa (Korndörfer e Datnoff, 1996), respondendo em estabilidade da produção e até em aumento da produtividade (Arruda, 2009; Crusciol *et al.*, 2010). Nesse contexto, a nutrição mineral da planta pode ser considerada um fator ambiental sujeito à fácil manipulação, de modo a se tornar um componente fundamental no controle de doenças (Marschner, 1995).

O silício, nas folhas, é depositado na forma de sílica amorfa na epiderme, formando uma barreira de resistência mecânica à entrada de fungos para o interior da planta após sua polimerização na superfície da folha (Epstein, 1994; Korndörfer *et al.*, 2001; Korndörfer *et al.*, 2002; Kaiser *et al.*, 2005; Guével *et al.*, 2007). O silício ainda proporciona uma proteção ativa induzida, iniciando uma sequência de reações bioquímicas de defesa na planta, levando a produção de peroxidases, polifenoloxidase e fenilalanina-amonioliasa (precursoras da síntese de compostos de defesa da planta) (Gomes *et al.*, 2008), além de acumular compostos fenólicos e quitinases, os quais geram uma estrutura capaz de proteger e resistir ao ataque microbiano (Epstein, 1999).

A análise de crescimento das plantas mostra que o uso do silício tem-se mostrado benéfico sobre o aumento da produção de diversas culturas (Lee *et al.*, 1985; Menzies *et al.*, 1992; Carvalho-Pupatto, 2003; Gomes *et al.*, 2008), além de favorecer a fotossíntese, interferindo na arquitetura das plantas, de modo a proporcionar folhas mais eretas, apresentando maior atividade fotossintética

(Korndörfer e Datnoff, 1996; Agarie *et al.*, 1998; Lana *et al.*, 2003; Souza *et al.*, 2010; Carré-Missio *et al.*, 2012).

Devido à importância econômica do cultivo do cacau, faz-se necessária a revisão dos modelos agrícolas para modernização dessa atividade, desenvolvendo tecnologias de qualidade e de baixo custo que permitam reduzir a queda da produção, como o uso da adubação silicatada. Acredita-se que as plantas inoculadas com *Moniliophthora perniciosa* e tratadas com silício apresentem maior resistência ao fungo quando comparadas às plantas inoculadas, porém sem aplicação foliar de silício.

## **2. OBJETIVO**

Verificar a eficácia de diferentes doses de silício na proteção contra a doença vassoura de bruxa em indivíduos do genótipo Catongo de *Theobroma cacao* inoculados com *Moniliophthora perniciosa* por meio da análise de características morfo-fisiológicas e bioquímicas.

## **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### 3.1. *Theobroma cacao* L.

A espécie *Theobroma cacao* L. (cacaueiro) pertence à ordem Malvales, sendo a única utilizada comercialmente para a produção de chocolate. Outrora classificada como pertencente à família Sterculiaceae por Cronquist (1981), *T. cacao* foi realocada para a família Malvaceae como proposto por estudos filogenéticos (Alverson *et al.*, 1999; Souza e Lorenzi, 2005; Judd, *et al.*, 2009). O cacaueiro (*Theobroma cacao* L.) é uma árvore com origem nas regiões tropicais da América Central, estendendo-se da bacia amazônica até o sul do México (Cuatrecasas, 1964).

O povo indígena pré-colombiano de El Salvador utilizava as sementes do fruto até como moeda, pagando tributos e comprando mercadorias. O nome da planta (cacahuati) e da bebida (chocoatl) é proveniente dos antigos astecas e maias, que aproveitavam a polpa do cacau para fazer suco e das sementes torradas, faziam uma pasta comestível muito apreciada (Alvarenga *et al.*, 1941). Em referência à origem divina atribuída pelos povos mesoamericanos, Lineu em 1737 denomina o gênero de *Theobroma*, que significa alimento dos deuses (Efraim, 2009).

Nas florestas o cacaueiro pode ultrapassar os 15 metros e em condições de cultivo, atinge a altura de 5 a 8 metros (Purdy e Schmidt, 1996). Nas áreas de maior produção, têm-se uma média anual de chuvas entre 1250 e 2800 mm e temperaturas superiores a 15°C (Purdy e Schmidt, 1996). Embora exigente quanto às condições de clima e solo, *T. cacao* repõe à terra parte do que dela é retirado, de forma a manter o equilíbrio ecológico e constituindo-se num cultivo perene e renovável. Desta forma, a cacaucultura apresenta não apenas importância econômica como também importância ambiental (CEPLAC, 2012).

O cacaueiro caracteriza-se por apresentar uma copa globosa, com pequenas flores hermafroditas avermelhadas inseridas no tronco e nos ramos principais, de onde também surgem os frutos com formato e tamanhos variáveis, de 15 a 30 cm de comprimento (Lorenzi e Matos, 2002). Cada fruto contém entre 20 e 40 sementes envoltas numa polpa mucilaginosa, adquirindo tonalidade alaranjada, amarela ou roxa, de acordo com a variedade (Elkon, 2004). A produção dos frutos tem início após dois a três anos do plantio e se prolonga por mais de 30 anos, existindo

lavouras com até 100 anos de idade, dependendo das condições edafoclimáticas e da variedade (Purdy e Smith, 1996).

Com base em suas características morfológicas e na distribuição geográfica, o fruto do cacauéiro é dividido em três grupos, sendo eles o *Criollo*, o *Forastero* e o *Trinitario* (N'goran *et al.*, 1994). No Brasil é cultivado o grupo racial *Forastero*; na Venezuela, Colômbia, Equador, América Central e México, cultiva-se o *Criollo*; já o grupo *Trinitario* é, considerado por alguns autores, originário de um cruzamento natural entre os grupos *Forastero* e *Criollo* (Almeida e Valle, 2007; 2009). Os chocolates produzidos pelos grupos *Trinitario* e *Criollo* apresentam qualidade excelente e sabor e aroma suaves (Beckett, 2009).

Os frutos do grupo *Forastero* apresentam formato mais arredondado, casca dura e superfície quase lisa, e sementes achatadas triangulares e firmemente alojadas à polpa, cujo sabor é mais ácido e apresenta característica adstringente, quando comparado ao grupo *Criollo* (Lajus, 1982). O fruto do grupo *Criollo* é caracterizado pela sua forma alongada com uma ponta proeminente com superfície externa enrugada apresentando sulcos profundos. Suas sementes apresentam coloração branca ou rósea clara e sua casca vermelha ou verde quando imaturo. Já os frutos do grupo *Trinitario* são identificados pela junção de caracteres de ambos os grupos anteriores, com coloração de frutos e sementes variáveis (Lopes, 2000).

As sementes do fruto do cacauéiro passam por um processo de fermentação, secagem e torrefação (Barel *et al.*, 1985). O farelo do cacau, obtido após torra do grão, vem sendo utilizado na alimentação de ovinos (Silva *et al.*, 2005; Carvalho *et al.*, 2006). As amêndoas correspondem à parte mais explorada do fruto, sendo destinadas ao preparo principalmente de chocolate; enquanto a manteiga de cacau é utilizada pelas indústrias farmacêuticas e de cosméticos; e a polpa vem conquistando mercados internacionais com a fabricação de geleias, vinagres, licores, vinhos, sucos e sorvetes (Menezes e Carmo-Neto, 1993; Almeida e Valle, 2007).

O cacauéiro é cultivado na África Ocidental (70% da produção mundial), Costa do Marfim (40%), Gana (20%), Camarões (5%) e Nigéria (5%). Nas Américas, seu cultivo estende-se da Colômbia para a Venezuela, América Central e México, alcançando também as Guianas. O Brasil, antes de 1989, era o segundo maior produtor de cacau, tornando-se o sexto lugar no mercado mundial em 2010 com



uma produção em torno de 155 mil toneladas/ano de amêndoas secas de cacau. (International Cocoa Organization – ICCO, 2012).

O estado da Bahia já teve o cultivo do cacau como o principal produto agrícola gerador de capital, chegando a representar mais de 50% das exportações, sendo o principal estado produtor de cacau no país (64% da produção nacional), seguido pelo Pará (25%), Rondônia (8%) e Espírito Santo (3%) (Martini, 2004; Mandarino e Sena Lopes, 2009; Lopes, 2011). O Espírito Santo iniciou o cultivo do cacau em 1895, no município de Linhares, se estabelecendo principalmente na região do baixo Rio Doce (Costa, 1989). O município produz uma média de cerca de 10 mil toneladas por ano, apresentando aproximadamente 20 mil hectares das terras cultivadas com a espécie, o que representa 95% da área plantada com *T. cacao* no estado (Bisi, 2012).

Até a década de 70, a cacauicultura foi estabelecida com sementes provenientes de populações naturais de cacauzeiros ou de plantações cultivadas à beira dos rios (Almeida e Antônio Neto, 2000). Somente a partir dos anos 60 começaram a ser utilizadas sementes de variedades melhoradas no Brasil com a criação da CEPEC (Centro de Pesquisas do Cacau) pela CEPLAC (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira), a partir da orientação da implantação de 356 mil hectares na Bahia até o início dos anos 90 (Menezes e Carmo-Neto, 1993).

### 3.2. A DOENÇA VASSOURA-DE-BRUXA

A vassoura-de-bruxa é uma das principais e mais destrutivas doenças do cacauzeiro, podendo levar a perda de até 90% da produção. Essa doença é causada pelo fungo basidiomiceto *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora que também atinge outras espécies da família Malvaceae e possui hospedeiros nas famílias Solanaceae, Bixaceae, Malpighiaceae e Bigoniaceae (Luz *et al.*, 2006). Sua fitopatologia abrange todas as partes em crescimento do cacauzeiro, particularmente os brotos e os frutos (Stahel, 1915).

Em 1915 a vassoura-de-bruxa teve seu agente etiológico descrito por Stahel como *Marasmius pernicius*. Singer, em 1942, reclassificou esse fungo ao gênero *Crinipellis*, passando a ser identificado como *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer. Recentemente, Aime e Phillips-Mora (2005) sugeriram que fosse reclassificado como *Moniliophthora perniciosa* a partir de análises filogenéticas do fungo causador da

vassoura-de-bruxa e do fungo *Moniliophthora roreri*, causador da doença monilíase, que ataca exclusivamente os frutos do cacau (CEPLAC, 2012).

O fungo *M. perniciosa* apresenta um ciclo de vida dividido em duas fases principais, uma parasítica onde micélio é monocariótico e não possui grampos de conexão, com crescimento apenas intercelular; e a saprofítica, havendo grampo de conexão e micélio dicariótico, podendo crescer inter ou intracelularmente (Evans, 1982; Dias, 2001). Primeiramente ocorre a dicarionização do micélio com sequente formação de um micélio secundário, agora dicariótico e fibulado, que apresenta hifas mais estreitas, as quais invadem as células do tecido levando à morte das antigas vassouras verdes (formadas no início da infecção). As vassouras, agora necróticas, passam a apresentar uma coloração amarronzada, permanecendo presas à planta ou podendo cair no solo. O micélio então leva à produção de basidiomas que geram os basidiósporos, de modo a fechar o ciclo de vida do fungo (Pereira, 1990).

Os tecidos meristemáticos são os principais locais da planta que sofrem o ataque do patógeno, provocando sintomas característicos de desequilíbrio hormonal na interação planta-patógeno (Luz *et. al.*, 1997). As almofadas florais, quando infectadas, podem produzir brotos vegetativos (vassouras vegetativas de almofadas florais), flores anormais e ou frutos partenocárpicos abortivos. O surgimento dessas flores hipertrofiadas originam frutos deformados com aspecto de morango, os quais morrem prematuramente. Os frutos infectados ainda jovens adquirem um aspecto de cenoura, enquanto os mais desenvolvidos exibem uma mancha negra, denominada podridão negra (Scarpari *et. al.*, 2005).

Ainda podem ocorrer vassouras compostas com todas essas características, porém em ramos. Nesse caso, a penetração do fungo ocorre na base da gema ou por nó ou entrenó em crescimento. O fungo irá estimular o surgimento de um broto com hipertrofia ortotrópico, denominado vassoura terminal ou, se plagiotrópico, vassoura axilar. Quando a resposta do tecido à infecção ocorre de maneira severa, acaba resultando na morte da gema terminal. Nos frutos desenvolvidos com pelo menos 8cm de comprimento, a vassoura apresenta uma lesão negra, dura e irregular na parte externa do fruto (Luz, *et. al.*, 1997; Silva, *et. al.*, 2000).

Descoberta no Suriname em 1895, a vassoura-de-bruxa é atualmente responsável pela ocorrência de um grande impacto econômico nos países produtores de cacau como Brasil, Colômbia, Equador, Granada, Guiana, Panamá, São Vicente, Trinidad, Tobago, Ilhas do Caribe e Bolívia (Pereira, 1990). No Brasil,

esta praga apareceu pela primeira vez na Bahia no município de Uruçuca, em 1989 (Pereira *et al.*, 1989) e desde então tem causado sérios problemas econômicos, sociais e ecológicos principalmente no sul da Bahia, levando a perdas de até 100% nas fazendas (Faleiro *et al.*, 2004; Rubini *et al.*, 2005; Scarpari, 2005). Já no Espírito Santo, a doença apareceu em fevereiro de 2001, em duas fazendas do município de Linhares.

Devido ao impacto causado pela vassoura-de-bruxa à cultura do cacau, o governo, juntamente com os produtores, buscaram medidas que visassem diminuir o problema causado por *M. pernicioso*. A partir de 1990 deu-se o início do plantio de clones resistentes em seleções locais, realizadas em condições de fazendas por agricultores e pesquisadores de instituições governamentais (Leal *et al.*, 2008). A CEPLAC vem ampliando a variabilidade genética da espécie *T. cacao* através de estudos das características individuais dos genótipos, identificando novas fontes e genes de resistência de modo a estabelecer populações base para o melhoramento (CEPLAC, 2012).

Para o controle da vassoura-de-bruxa, além do uso de clones resistentes, devem ser realizadas podas fitossanitárias e controle químico (Purdy e Schmidt, 1996; Lana, 2004) como a aplicação de fungicidas (Dias, 2001). Quando a aplicação é recomendada, o fungicida mais utilizado é o óxido cuproso, aplicado mensalmente na dosagem de 2 (Costa e Matuo, 1999) a 3g por planta (Macedo, 1995; Almeida *et al.*, 1998). Pelo fato do patógeno atacar somente tecidos meristemáticos em atividade, o uso de fungicidas não tem se apresentado como satisfatório devido ao fato desse não proteger tecidos em crescimento, o que leva ao seu uso frequente pela necessidade de aplicações contínuas, tornando a técnica inviável devido ao custo (Bastos, 1989; Conrath *et al.*, 2002; Rehem, 2006).

A poda fitossanitária, que consiste na remoção dos tecidos infectados, é o método de controle mais utilizado, sendo efetiva somente quando realizada de forma extensiva. Em plantações onde a prática é realizada, consegue-se manter um nível de perdas de produção de apenas 5-10% (Almeida e Andebrhan, 1989). Após a remoção, o material é empilhado dentro da plantação e coberto com folhagem, de modo a impedir que os basidiocarpos se desenvolvam, uma vez que sua formação é dependente da luz (Bastos, 1988). A eficiência e custo dessa prática dependem da severidade da doença, do nível de infecção da lavoura, da altura das plantas e da situação epidêmica local (Andebrhan *et al.*, 1999). Apesar de reduzir fontes de

inóculo, as infecções observadas em áreas onde foi realizada a poda são provenientes das fontes não removidas ou localizadas em outras áreas (Lana, 2004).

Outra técnica que vem sendo aplicada em diversas culturas agrícolas (Juliatti *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2008; Carré-Missio *et al.*, 2009; Fernandes *et al.*, 2009; Soratto *et al.*, 2012) é a utilização do silício com a finalidade de aumentar a resistência natural das plantas com menor custo e sendo mais ecologicamente correta (Korndöffer *et al.*, 1996). Existem duas propostas para explicar a ação do silício nas plantas; o aumento do silício na parede celular impede o crescimento e a penetração do fungo e de outros patógenos nos tecidos da planta; a ativação dos mecanismos naturais de defesa da planta como a produção de compostos fenólicos, quitinases, peroxidases e acúmulo de lignina, além da interação que pode existir entre a barreira física e química (Figueiredo e Rodrigues, 2004).

### 3.3. INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

As plantas estão constantemente sujeitas a agressões por agentes abióticos e bióticos que causam doenças, levando à perda da produção. Em fitopatologia, imunidade é regra e suscetibilidade é exceção (Agrios, 1997) devido ao fato dos mecanismos de defesa das plantas existirem em multiplicidade e serem extremamente eficientes. Esses mecanismos são capazes de responder a essas agressões mediante a interação entre molécula elicitora e proteínas de membrana das células vegetais. Essa resistência natural de plantas a uma série de microrganismos é baseada nas barreiras e em mecanismos de defesa já existentes ou pós-formados (Taiz e Zeiger, 2004).

Os fatores de resistência já existentes estão presentes na planta antes do contato com o patógeno, enquanto os pós-formados estão ausentes ou em baixos níveis antes da infecção, sendo então produzidos ou ativados em resposta ao patógeno. Os fatores envolvidos na resistência podem ser classificados em estruturais ou bioquímicos. Os estruturais agem como barreiras físicas, enquanto os bioquímicos atuam por meio da produção de substâncias tóxicas ao patógeno ou então criando condições adversas ao desenvolvimento desse na planta (Pascholati e Leite, 1994; Durrant e Dong, 2004).

Através de tratamentos com agentes bióticos ou abióticos de natureza orgânica, inorgânica ou sintética, essas defesas também podem ser ativadas de forma mais eficiente. Moléculas capazes de ativar respostas de defesa nas plantas são chamadas de elicitores e atuam como indutores de resistência (Sticher *et. al.*, 1997). Os elicitores são capazes de induzir a resistência local adquirida (RLA), a resistência sistêmica induzida (RSI) ou a resistência sistêmica adquirida (RSA) (Terry e Joyce, 2004).

Na resistência local (*hypersensitive reaction* ou HR), ocorre a morte de células na região onde o agressor entra no vegetal. Dessa forma, a planta acaba impedindo o acesso do patógeno a células vizinhas, de modo a limitar a infecção. Apesar dessa reação ter sido identificada há mais de 100 anos, ainda não está totalmente entendido se a morte celular é uma causa direta da resistência ou consequência de mecanismos de sinalização que levariam às reações capazes de inibir a ação do patógeno (Margis-Pinheiro *et. al.*, 2012).

Quando há resistência induzida, os mecanismos latentes ou inativos se tornam acionados ou ativos após serem expostos a agentes de indução (Pascholati, 1995). A planta reconhece o microrganismo e a partir daí ocorre o desencadeamento de respostas celulares que abortarão o processo de infecção. Esse processo é desencadeado quando um sinal externo, o elicitor, liga-se a um receptor na superfície da célula vegetal e através dele o sinal primário é transmitido para o interior da célula, ativando os mensageiros secundários, que amplificam o sinal e regulam a expressão de genes específicos, determinando o desenvolvimento de interações compatíveis (doença) ou incompatíveis (resistência) (Leite *et. al.*, 1997).

Apesar de apresentarem resultados fenotipicamente semelhantes, a resistência sistêmica adquirida é um fenômeno distinto da resistência sistêmica induzida. Em ambos os fenômenos, as plantas, após a exposição a um agente indutor, têm seus mecanismos de defesa ativados no sítio de indução e também em locais distantes. Quando se utiliza o termo “adquirido”, o elicitor em questão é um agente patogênico ou parasita, enquanto o termo “induzido” indica o uso de um agente benéfico, simbiote ou abiótico (Metraux *et. al.*, 1990).

Apesar de existir várias discordâncias no conceito de RSA e RSI, Metraux (2001), afirma que pesquisadores têm assumido que RSA envolve o acúmulo de proteínas relacionadas com patogênese com mecanismos induzidos de defesa da planta. Sua indução salicilato-depedente pode resultar em alterações visuais, como

necrose, nas plantas que sofreram indução e geralmente é induzida por patógenos ou ativadores químicos. Não há acúmulo de proteínas relacionadas com a patogênese em RSI, assim como não há alterações visuais na planta que sofreu induções. O agente indutor é geralmente um organismo não-patogênico e sua indução não é salicilato-dependente, existindo então outra rota de sinalização mais relacionada a jasmonato e etileno.

### 3.4. O SILÍCIO

O silício é o segundo elemento mais abundante da crosta terrestre (27% em massa), sendo superado apenas pelo oxigênio. Na natureza, ocorre geralmente na forma de óxidos (quartzo, quartzo-ametista, ágata, jaspe e opala), e silicatos (hornblendas, asbestos, feldspatos, micas e argilo-minerais) (Mineropar, 2005). A absorção desse elemento pelas plantas ocorre na forma de  $\text{Si(OH)}_4$ , porém não se conhece totalmente os mecanismos para sua absorção e translocação para dentro da plantas, além de variarem de acordo com a espécie vegetal. Devido a essa variação e ao conteúdo de silício bem como a relação Si/Ca, na matéria seca, autores classificam as espécies em acumuladoras, intermediárias e não acumuladoras (Epstein, 1994; Marschner, 1995).

Depois de absorvido pela planta, 99% do silício acumula-se e encontra-se na forma de ácido silícico polimerizado, o restante (1%) encontra-se na forma coloidal ou iônica (Korndörfer *et. al.*, 2002). O silício também é encontrado nas plantas na forma de sílica amorfa hidratada ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ), também chamada de opala ou fitólito, tornando-se imóvel de forma a não se distribuir dentro da planta. A sílica hidratada pode estar depositada no lúmen e na parede celular, nos espaços intercelulares ou nas camadas externas, em raízes, folhas, e brácteas das inflorescências de cereais (Epstein, 1994).

A ação do silício nas plantas tem apresentado vários efeitos benéficos como o aumento da atividade fotossintética, promoção de plantas mais eretas, redução da transpiração, aumento da resistência mecânica das células, maior resistência também a insetos e outros patógenos como fungos, além da diminuição do efeito tóxico de determinados metais pesados (Epstein, 1994; Korndörfer *et. al.*, 2002; Lana *et. al.*, 2003). O silício é o único elemento que confere resistência a diversos

estresses causados em plantas e que não causa danos quando acumulado em excesso (Savant *et. al.*, 1999; MA *et. al.*, 2003).

Apesar de controlada geneticamente, a resistência e tolerância das plantas às doenças são bastante influenciadas por fatores ambientais. A nutrição mineral é considerada como um fator ambiental, sendo facilmente manipulado de modo a se tornar um importante componente de controle de doenças (Marschner, 1995). Além das barreiras física e química, o silício age no hospedeiro afetando sinais entre hospedeiro e patógeno, resultando numa ativação mais rápida e extensiva dos mecanismos de defesa da planta (Samuels *et. al.*, 1991; Chérif *et. al.*, 1992a; Chérif *et. al.*, 1992b; Chérif *et. al.*, 1994).

O uso do silício leva à ativação de genes de produção de fenóis, fitoalexinas e enzimas relacionadas com mecanismos de defesa da planta (Epstein, 1994; Fawe *et. al.*, 2001; Kauss *et. al.*, 2003; Rodrigues *et. al.*, 2004). Segundo Moldes *et. al.* (2006), diferentes concentrações de silício promovem a atividade de enzimas antioxidantes como a catalase, ascorbato peroxidase, guaiacol peroxidase e superóxido dismutase. O silício age como modulador influenciando a sinalização e extensão de respostas de defesa como um mensageiro secundário em resistência do sistema de defesa, podendo também se ligar a grupos de hidroxilas de proteínas envolvidas nas transduções de sinais ou interferindo como co-fator catiônico das enzimas envolvidas nos eventos das defesas contra patógenos (Fauteux *et. al.*, 2005).

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 ÁREA DE ESTUDO**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Estação Experimental Filogônio Peixoto (ESFIP), pertencente ao Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), órgão de pesquisa da Comissão Executiva da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), localizada no município de Linhares, Espírito Santo (Figura 1).





Figura 1: Vista geral do experimento em casa de vegetação. Indivíduos do genótipo Catongo de *Theobroma cacao* com 37 dias.

#### 4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi instalado no Delineamento de Blocos Casualizados (DBC), com quatro repetições, em arranjo fatorial 2 x 4, constituído de dois fatores de inoculação (inoculado e não-inoculado) e quatro doses de silício ( $0 \text{ mg mL}^{-1}$ ;  $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ ;  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$  e  $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ) com produto AgriSil contendo 98% de  $\text{SiO}_2$ , resultando em 32 parcelas com 10 plantas cada, totalizando 320 plantas.

#### 4.3 MATERIAL BOTÂNICO

Foram utilizadas mudas seminais do genótipo Catongo de *Theobroma cacao* L., o qual apresenta susceptibilidade à doença vassoura-de-bruxa. As sementes foram coletadas na estação da CEPLAC e pré-germinadas em água. Após a protrusão da raiz primária as plântulas foram transferidas para tubetes contendo substrato Plantmax, cujo teor de silício foi determinado por meio de análise química do solo (tabela 1), realizada no Laboratório de Análise Agronômica e Ambiental

Fullin. Após 15 dias, as mudas foram submetidas aos tratamentos de silício, constituídos de quatro doses com 0,0mg/mL; 0,5mg/mL; 1,0mg/mL e 2,0mg/mL. As aplicações da solução foram realizadas nas faces adaxial e abaxial das folhas com borrifador manual, aplicando-se em torno de 6mL por planta até o ponto de escorrimento, sendo totalizadas quatro aplicações, com intervalos de 15 dias. A fonte de silício utilizada foi o Agri Sil<sup>®</sup>, SiO<sub>2</sub> 98%.

Tabela 1: Análise do teor de silício no substrato Plantmax utilizado no experimento.

Parâmetro Analisado	Unidade	Valor	Classificação <sup>(1)</sup>
Silício	mg/dm <sup>3</sup>	12,94	Médio

(1) Classificação baseada nos manuais de recomendação de adubação do Estado do Espírito Santo (Dadalto e Fullin, 2001; Prezotti *et al.*, 2007).

#### 4.4 INOCULAÇÃO COM O FUNGO *MONILIOPHTHORA PERNICIOSA*

O inóculo foi obtido pelo Centro de Pesquisas do Cacau - CEPEC/CEPLAC de Ilhéus-Ba. Uma semana após a última aplicação das doses de silício, plantas do genótipo Catongo foram submetidas à inoculação com uma suspensão de  $2 \times 10^5$  basidiósporos viáveis de *Moniliophthora perniciosa* (isolado CPK CEPEC/CEPLAC) pela deposição de 30  $\mu$ L no meristema apical. A inoculação foi realizada no final da tarde, em câmara úmida (Figura 2), com umidade relativa do ar saturada por 24 horas antes e após a inoculação, com o intuito de propiciar condições ideais para a germinação do fungo e sua penetração no hospedeiro. Após esse procedimento, as plantas inoculadas foram transferidas para a casa de vegetação juntamente com as plantas não inoculadas (Figura 3) (Frias *et al.*, 1995; SILVA *et al.*, 2000). A percentagem de germinação dos basidiósporos foi quantificada antes e depois da inoculação, em lâminas escavadas com três cavidades. As lâminas foram mantidas no mesmo ambiente das plantas inoculadas (câmara úmida) e em incubadora (25°C) por 24 horas.



Figura 2: Vista geral das plantas de *T. cacao* inoculadas em câmara úmida.

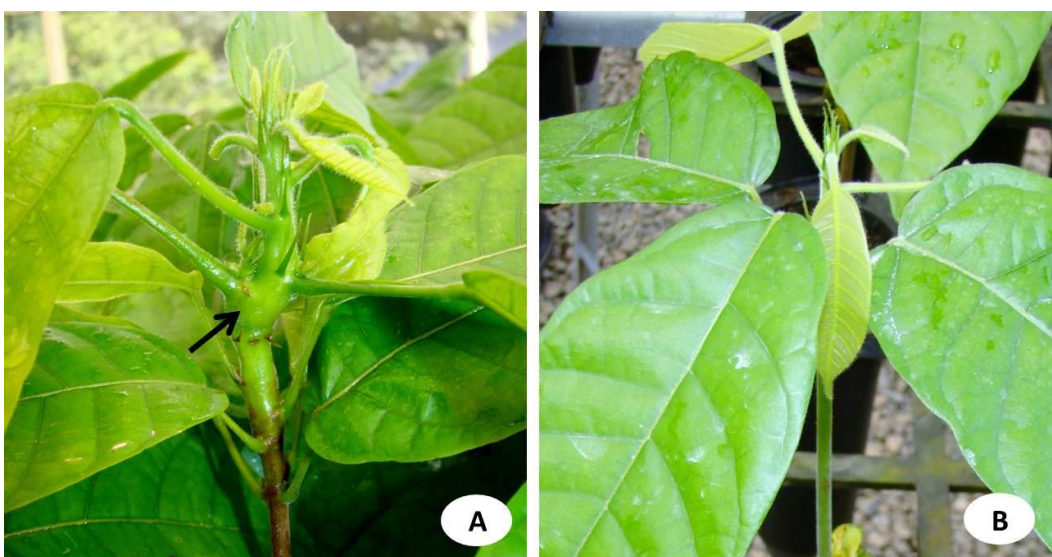


Figura 3: Detalhe de plantas de *T. cacao*. A. Inoculada (à esquerda). B. Não inoculada. Notar o desenvolvimento inicial da vassoura-de-bruxa (seta) na planta inoculada.

#### 4.5 ANÁLISE DE TROCAS GASOSAS

As medições de trocas gasosas foram efetuadas em folhas jovens completamente expandidas do 2º ou 3º nó a partir do ápice do eixo ortotrópico, no horário entre 7 e 10 horas da manhã, utilizando-se concentração atmosférica de

CO<sub>2</sub> e temperatura ambiente. Foi utilizada uma folha por planta, sendo selecionadas duas plantas por bloco, totalizando 8 plantas por tratamento, nas quais realizaram-se três medições de trocas gasosas por folha selecionada, totalizando-se 24 medições por tratamento. As medidas foram obtidas em sistema fechado por um analisador de gases infravermelho portátil LI-6400 portable photosynthesis system (LI-COR, Nebraska, USA), em irradiância de 1000  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Foram avaliadas as variáveis: assimilação de CO<sub>2</sub> ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), transpiração ( $E$ ,  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$ ).

#### 4.6 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE ESTOMÁTICA

A determinação da densidade estomática ( $\text{n}^{\circ}/\text{mm}^2$ ) foi realizada através da impressão epidérmica da face abaxial em lâminas de vidro com adesivo instantâneo (Super Bonder). As observações e a documentação fotográfica foram realizadas em fotomicroscópio modelo Eclipse 50i, (Nikon, Japão). As análises quantitativas foram realizadas utilizando-se o software de análise de imagens TSview.

#### 4.7 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS E DAS ATIVIDADES ENZIMÁTICAS

##### 4.7.1 Obtenção do extrato

As mesmas folhas utilizadas para a análise de trocas gasosas foram utilizadas para a extração de proteínas e enzimas. Foi homogeneizado 0,4g de tecido foliar em tampão fosfato de potássio 100mM (pH 6,8), EDTA-Na<sub>2</sub> 0,1mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1%(p/v), utilizando almofariz e pistilo gelados. O homogeneizado foi centrifugado a 12000x g durante 15min a 4°C (Parida et. al., 2004). O sobrenadante foi utilizado para a quantificação de proteínas totais e ensaios das atividades das enzimas polifenoloxidase, quitinase e peroxidase do guaiacol.

#### 4.7.2 Proteínas totais

O conteúdo de proteínas totais foi quantificado de acordo com Bradford (1976). Para tanto, 100 µL de sobrenadante do extrato (item 4.9.1) foi misturado com 2000 µL de reagente de Bradford, seguido de agitação com auxílio de vortex. Após 5 minutos, a absorbância foi determinada a 595 nm em espectrofotômetro (ThermoScientific®, Genesys 10S) e os resultados foram expressos como mg de proteína/g tecido fresco (mg ptn/g MF), tendo a albumina de soro bovino como proteína padrão.

#### 4.7.3 Quitinase (CHI; EC 3.2.1.14)

A atividade da CHI foi determinada pela liberação de fragmentos solúveis de quitina carboximetilada marcada com remazol brilhante violeta (“Chitin azure” – SIGMA). A metodologia utilizada foi a de Stangarlin *et al.* (2000), com modificações. Foi utilizado 150 µL de extrato (item 4.9.1), 650 µL de tampão acetato de sódio 50 mM pH 5,2 e 200 µL de “Chitin azure”. Após incubação a 40°C por 20min., a reação foi paralisada com 200 µL de HCl 1M e seguida de centrifugação a 10000 g/10 min. a 4°C. A absorbância foi determinada a 550nm através de leitura espectrofotométrica (espectrofotômetro ThermoScientific®, Genesys 10S). Os resultados foram expressos em unidades de absorbância/min/mg de proteína (UA/min/mg ptn).

#### 4.7.4 Polifenoloxidase (PPO; EC 1.30.3.1)

Foi utilizada a metodologia descrita por Cañal *et al.* (1988), com modificações. A atividade da PPO foi determinada pela conversão do catecol em quinona, sendo utilizado 20 µL do extrato (item 4.9.1), 1 mL de catecol 20 mM e 1 mL de tampão fosfato de sódio 100 mM pH 6,8. Após 2 min. de reação, foi feita a leitura a 420 nm em espectrofotômetro ThermoScientific®, Genesys 10S. Os resultados foram expressos em unidades de absorbância/min/mg de proteína (UA/min/mg ptn).

#### 4.7.5 Peroxidase do Guaiacol (POD; EC 1.11.1.7)

Para a atividade da peroxidase do guaiacol, foi utilizada a metodologia descrita por Cakmak *et. al.* (1993), com modificações. A reação foi constituída de 10  $\mu\text{L}$  de extrato e 200  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato de sódio (100 mM, pH 6,8) com guaiacol 20 mM e 100  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio 20 mM. O aumento da absorbância devido à oxidação do guaiacol foi registrado a 470 nm depois de dois minutos de reação usando um espectrofotômetro ThermoScientific®, Genesys 10S. Os resultados foram expressos em unidades de absorbância/min/mg de proteína, utilizando coeficiente de extinção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  com valor  $26,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg ptn}$ ).

#### 4.8 DETERMINAÇÃO DO TEOR FOLIAR DE SILÍCIO

Para a determinação do teor de silício foi utilizada a metodologia de Korndörfer *et al.* (2004). Folhas do 2º ou 3º nó a partir do ápice do eixo ortotrópico foram submetidas a uma lavagem com água destilada e colocadas para secagem em estufa a 70°C, por 72 horas, sendo em seguida moídas. Amostras de 0,1 g da parte aérea foram colocadas em tubos plásticos, seguido do acréscimo de 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  p.a (30%) e 3 mL de NaOH (1:1) para digestão. Os tubos foram agitados e colocados em banho-maria a 90°C por uma hora e em seguida levados para autoclave por um período de 1 hora a 123°C e 1,5 atm de pressão. Após retirar os tubos da autoclave adicionou-se 45 mL de água destilada, deixando em repouso por um dia. Uma alíquota de 2 mL da matéria digerida foi retirada e colocada em copos plásticos de 50 mL. Em seguida acrescentaram-se 18 mL de água destilada, 1 mL de HCl (1:1) e 2 mL de molibdato de amônio, seguido de uma leve agitação. O Si presente no material transforma-se em  $\text{H}_4\text{SiO}_4$  que desenvolve a cor amarela na presença do agente complexante, que é o molibdato de amônio em meio ácido. Depois de 5 a 10 minutos, adicionaram-se 2 mL de ácido oxálico, procedendo-se novamente uma leve agitação. Após dois minutos foi feita a leitura em espectrofotômetro (modelo ThermoScientific®, Genesys 10S, EUA) no comprimento de onda de 410 nm. Para quantificação foi realizada uma curva padrão a partir de uma solução padrão 1000 ppm de Si, obtida com silicato de sódio puro.

#### 4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão. Na análise de variância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Na análise de regressão, a escolha do modelo que melhor se ajustou aos dados foi baseada no maior coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e na significância do modelo detectado pela análise de variância da regressão. Os pontos de máximo e mínimo foram obtidos na curva de regressão das plantas de *T. cacao* (Tabela 2). Todas as análises foram executadas pelo Programa Assistat 7.6 beta (2012), UAEG-CTRN-UFCG, Campina Grande – PB.

Tabela 2: Pontos de Máximo (PMáx ) e Mínimo (PMín) das variáveis estudadas para cada tratamento (doses de silício).

Características	Plantas inoculadas				Plantas não inoculadas			
	PMáx	Dose de silício	PMín	Dose de silício	PMáx	Dose de silício	PMín	Dose de silício
Teor foliar de silício	1,2	0,698	--	--	1,09	0,707	--	--
<i>Gs</i>	--	--	--	--	0,225	1,72	--	--
<i>Ci</i>	299,50	1,30	--	--	--	--	--	--
<i>E</i>	0,31	1,20	--	--	0,505	1,38	--	--
<i>A</i>	--	--	--	--	5,94	1,3	--	--
Densidade estomática	111,61	0,797	--	--	--	--	--	--
CHI	--	--	-7,1E-9	-0,83	--	--	--	--
PPO	--	--	3,3E-12	0,25	1578,52	61,65	--	--



## 5. RESULTADOS

### 5.1 ANÁLISES DE TROCAS GASOSAS

As plantas não inoculadas (NI) apresentaram valores mais elevados em todas as doses para as variáveis de trocas gasosas ( $G_s$ ,  $C_i$ ,  $E$  e  $A$ ) em comparação às plantas Inoc. De modo geral, essas variáveis demonstraram valores mais reduzidos, para ambas as plantas, na dose 0 mg/mL, apresentando incremento com a aplicação do Si.

Para as plantas NI, os valores máximos de  $G_s$ ,  $E$  e  $A$  foram, respectivamente, 0,225 (mol  $H_2O/m^2/s$ ); 0,505 (mmol  $H_2O/m^2/s$ ) e 5,94 ( $\mu mol CO_2/mol ar$ ) nas doses 1,72; 1,38 e 1,3 de silício. O  $C_i$  apresentou um padrão crescente, com valor mais elevado na dose 2,0 mg/mL. Para as plantas Inoc, os valores máximos de  $E$  e  $C_i$  foram, respectivamente, 0,31 (mmol  $H_2O/m^2/s$ ) e 299,5 ( $\mu mol CO_2/mol ar$ ) nas doses 1,20 mg/mL e 1,30 mg/mL. Para  $G_s$  e  $A$ , foi observada uma tendência linear crescente com valores mais elevados na dose 2,0 mg/mL (Figura 4).

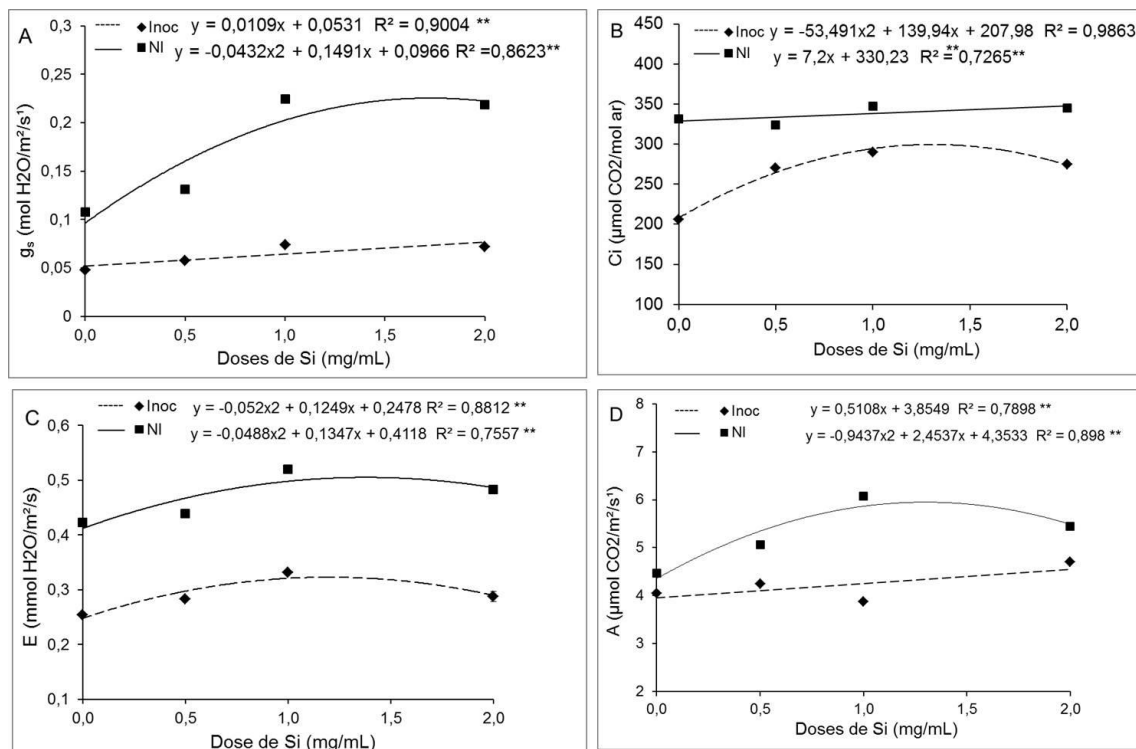


Figura 4: Trocas gasosas em plantas de *T. cacao*, submetidas a diferentes doses de  $SiO_2$ . (A) Condutância estomática; (B) Concentração interna de  $CO_2$ ; (C) Transpiração; (D) Fotossíntese líquida.

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

### 5.2 DENSIDADE ESTOMÁTICA

Não houve diferença significativa da densidade estomática para as plantas NI, no entanto, para as plantas Inoc, o maior valor (111,61 n° estômatos/mm<sup>2</sup>) foi obtido na dose 0,79 mg/mL de silício (Figura 5 e 6).

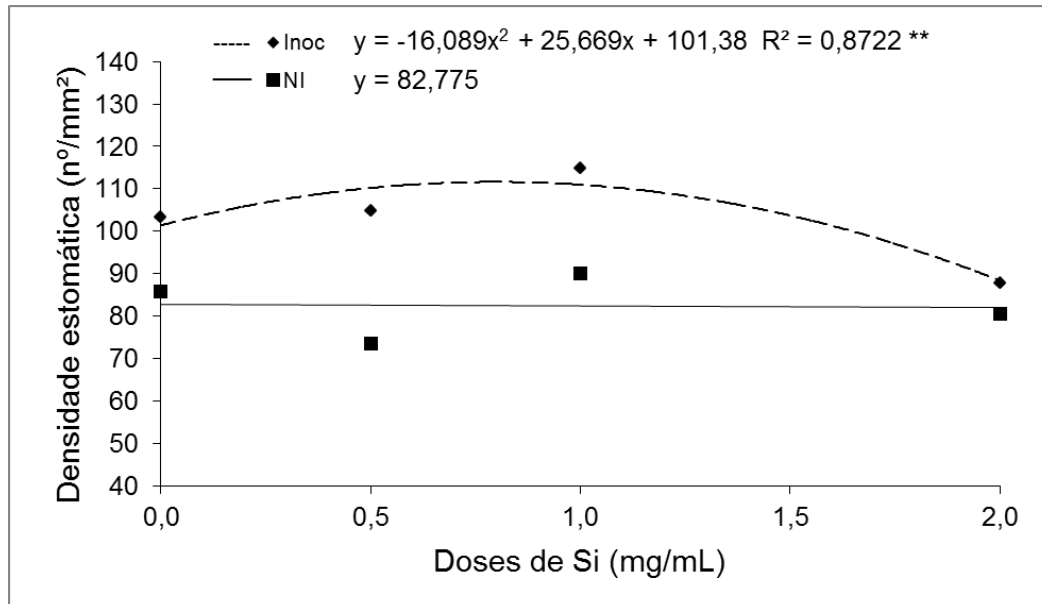


Figura 5: Densidade estomática em plantas de *T. cacao*, submetidas a diferentes doses de SiO<sub>2</sub>.

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

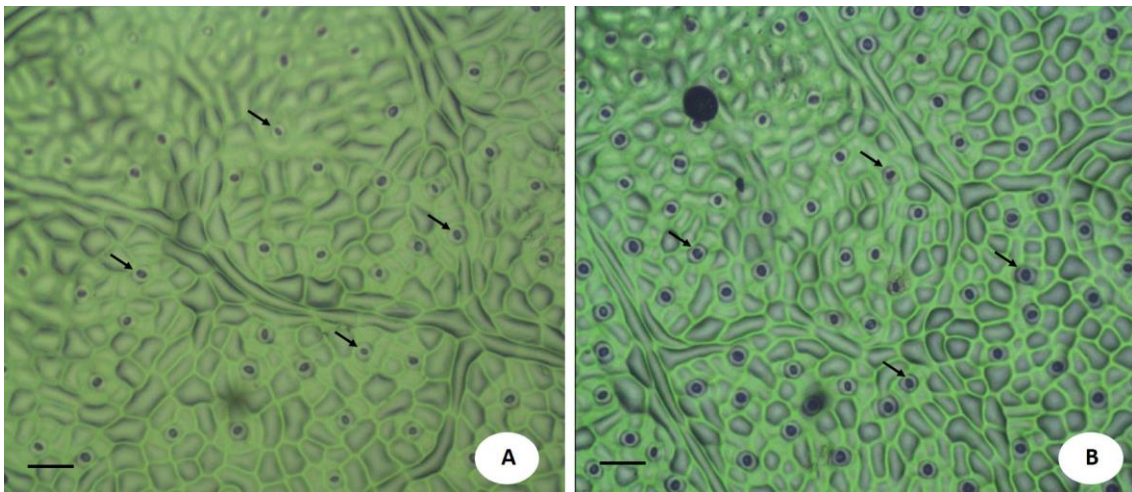


Figura 6: A-B: Impressões epidérmicas da face abaxial foliar de plantas de *T. cacao* inoculadas e submetidas a diferentes doses de SiO<sub>2</sub>. (A) Dose 1,0mg/mL. (B) Dose 2,0 mg/mL. Estômatos indicados pelas setas. Barra = 100 µm

### 5.3 ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Não houve diferença significativa da atividade da POD para ambas as plantas. Plantas Inoc apresentaram aumento das atividades enzimáticas de PPO e CHI com o aumento das doses (Figura 7). Não houve diferença significativa da atividade da PPO para as plantas NI, porém, para plantas Inoc, foi obtido o valor mínimo da atividade dessa enzima na dose 0,25 mg/mL de silício (Figura 7A). Plantas Inoc apresentaram maior atividade de CHI em todas as doses quando comparadas com plantas NI (Figura 7B). Em ambas as plantas, houve aumento da atividade dessa enzima com o aumento das doses, principalmente em plantas Inoc, sendo observado um aumento quadrático.

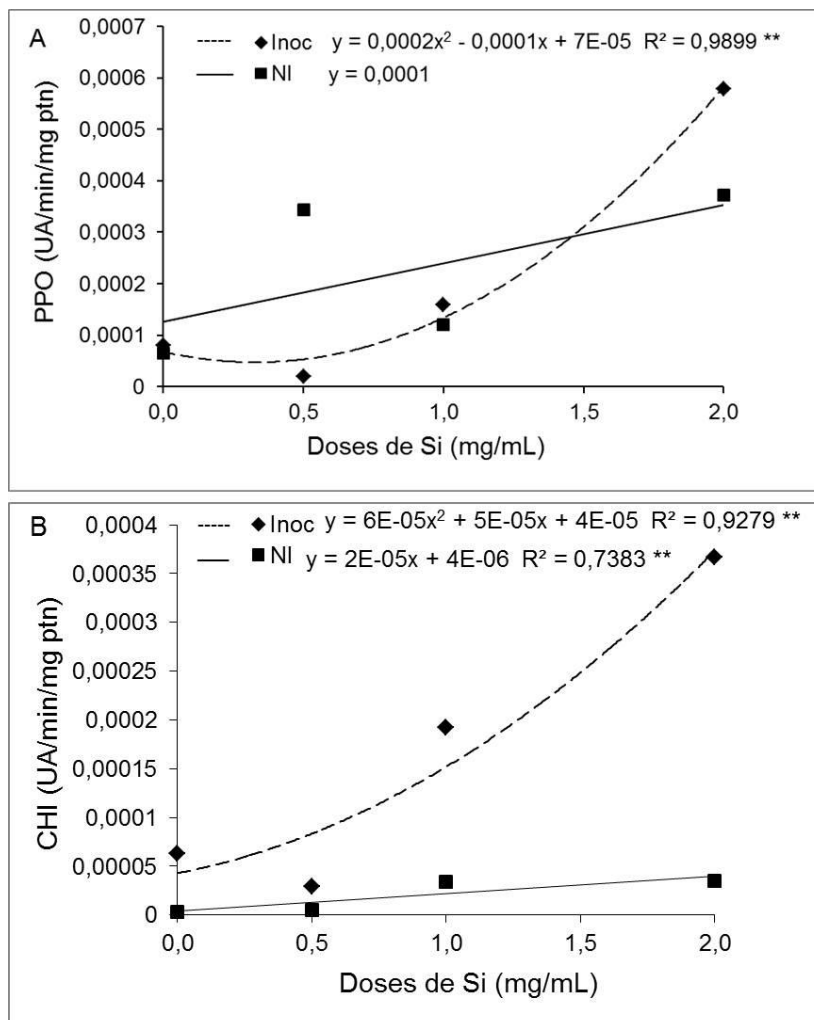


Figura 7: Atividade enzimática em plantas de *T. cacao*, submetidas a diferentes doses de SiO<sub>2</sub>. (A) Atividade da enzima PPO. (B) Atividade da enzima CHI.

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

#### 5.4 TEOR FOLIAR DE SILÍCIO

Plantas inoculadas (Inoc) e plantas não inoculadas (NI) apresentaram valores máximos na dose 0,7 mg/mL (1,2% e 1,09%, respectivamente), seguida por uma redução com o aumento das doses (Figura 8).

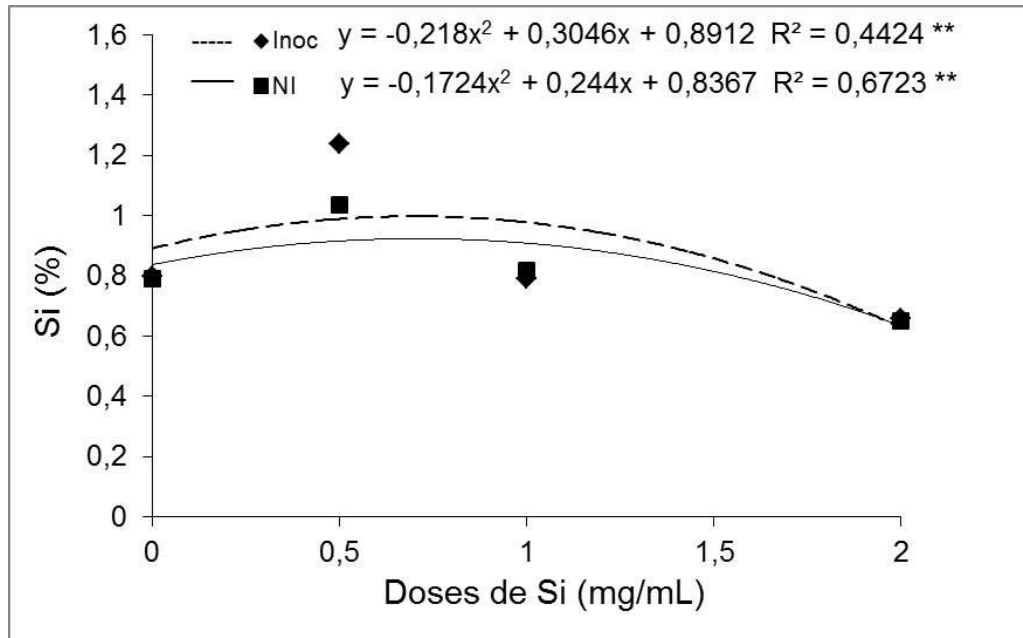


Figura 8: Concentração foliar de silício em plantas de *T. cacao*, submetidas a diferentes doses de  $\text{SiO}_2$ .

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

## 6. DISCUSSÃO

O silício tem sido utilizado em diversas culturas agrícolas (Juliatti *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2008; Carré-Missio *et al.*, 2009; Fernandes *et al.*, 2009; Soratto *et al.*, 2012) com a finalidade de aumentar a resistência natural das plantas (Korndöffer *et al.*, 1996). Os resultados obtidos no presente trabalho reforçam esse fato uma vez que a aplicação de Si em plantas inoculadas promoveu vários efeitos benéficos, como aumento das atividades fotossintética e enzimática. Segundo Figueiredo e Rodrigues (2004), o aumento do silício na parede celular impediria o crescimento e a penetração do fungo e ativaria mecanismos naturais de defesa da planta como o aumento de lignificação nas paredes celulares.

A relação benéfica do Si contra patógenos é relatada em estudos com plantas de cafeeiro (Martinati, 2008; Carré-Missio *et al.*, 2009; Pereira *et al.*, 2009; Carré-Missio *et al.*, 2012), soja (Juliatti, 2004; Barros, 2011; Cruz, 2012), milho (Barros, 2011), feijoeiro (Beraldo, 2012), batata (Soratto, 2012), dentre outros. Porém, quando se trata de estudos sobre os efeitos da vassoura-de-bruxa em cacauzeiros, destaca-se o trabalho de Silva *et al.*, (2008), ao verificar o efeito de nutrientes combinados com indutores de resistência na proteção contra essa doença.

Embora plantas inoculadas tenham apresentado menor atividade fotossintética, a aplicação de doses de Si promoveu aumento dessa atividade, corroborando o efeito benéfico do silício sobre a fotossíntese, como observado em plantas de girassol (Zanão Júnior, 2011), arroz (Agarie *et al.*, 1992; Carvalho *et al.*, 2008), e sorgo (Hattori *et al.*, 2005). A melhoria da arquitetura das plantas, proporcionada pela aplicação do silício, promove melhor interceptação da luz solar, com melhor eficiência na assimilação de CO<sub>2</sub> (Gong *et al.*, 2005; Gomes *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2010).

A menor atividade fotossintética obtida em plantas de cacauzeiro inoculadas com *M. perniciosa* reforça a influência que os patógenos exercem sobre as plantas. A fotossíntese líquida das folhas é reduzida desde a infecção pelo patógeno. Essa redução pode ser causada pela menor interceptação da irradiação, devido à perda da área foliar fotossintetizante resultante de danos causados pelo patógeno na estrutura e nas reações bioquímicas foliares (Machado *et al.*, 2006).

O aumento observado da fotossíntese e condutância estomática em plantas NI com aplicação de Si também foi relatado por Zanão Júnior (2011) em plantas de girassol. Hattori *et al.* (2005) observaram que em maiores doses de Si, plantas de

sorgo mantiveram elevada condutância estomática e fotossíntese, que promoveu aumento da taxa de crescimento relativo e da eficiência do uso da água.

A elevação da densidade estomática promovida pela aplicação de Si permite que as plantas regulem o transporte de água e transpiração de forma mais eficaz (Lukovic *et al.*, 2009). Resultado semelhante também foi encontrado por Asmar (2011) em plantas de bananeira, Donegá (2009) em folhas de coentro, Silva (2007) ao trabalhar com plantas de gérbera e Braga (2009) com plantas de abacaxi.

As maiores atividades enzimáticas de quitinases e polifenoloxidasas em plantas inoculadas, quando comparadas a plantas não inoculadas, mesmo na ausência de Si, é um fato já relatado em cacauzeiros (Okey *et al.*, 1997; Macagnan *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2008; Camilo, 2009). Por se tratarem de enzimas relacionadas à patogênese, quitinases e polifenoloxidasas são ativadas pela rota da SAR (*systemic acquired resistance*), a qual é induzida por patógenos ou indutores químicos (Sticher *et al.*, 1997; Sánchez *et al.*, 2000).

No presente trabalho, a maior atividade enzimática de polifenoloxidase em função da elevação das doses de Si corrobora mais uma vez a ação desse elemento como promotor do aumento da resistência em plantas infectadas por patógenos, como relatado em outros trabalhos sobre cacauzeiros (Silva *et al.*, 2008) e outras culturas como cafeeiros, soja e pepineiros (Chérif *et al.*, 1994; Juliatti, 2004; Gomes *et al.*, 2005; Carré-Missio *et al.*, 2009; Gomes *et al.*, 2009; Pereira, 2009; Barros, 2011; Carré-Missio *et al.*, 2012; Cruz, 2012; Soratto *et al.*, 2012). A maior atividade de quitinase em plantas inoculadas quando comparadas a plantas não inoculadas também é relatada para diferentes espécies vegetais (Agrios, 2005; Schroder *et al.*, 1992; Yi e Hwang, 1996; Beltrame, 2010; Campos *et al.*, 2009). O acúmulo e síntese de quitinases nos tecidos da planta também têm sido frequentemente associados aos mecanismos de defesa a doenças, podendo ser desencadeados por patógenos, metabólitos provenientes de microrganismos ou substâncias químicas que agem como indutores de resistência (Roulin e Buchala, 1995).

A aplicação de silício também pode promover o aumento da atividade de quitinases em plantas infectadas por diferentes patógenos (Chérif *et al.*, 1994; Martinati, 2008; Carré-Missio *et al.*, 2009; Cruz, 2012), de modo a afetar os sinais entre hospedeiro e patógeno, ativando esse e outros mecanismos de defesa de forma mais rápida e extensiva (Rodrigues *et al.*, 2005). Os resultados obtidos no presente trabalho corroboram esse fato.

De acordo com a classificação das plantas quanto ao acúmulo de silício são consideradas plantas acumuladoras desse elemento aquelas que apresentam teor foliar acima de 1% de Si na matéria seca (Ma *et al.*, 2001). No presente estudo, o valor observado no ponto máximo (0,7 mg/mL de Si) proporcionou um acúmulo de Si foliar superior a 1%, sendo que o aumento da concentração das doses promoveu a queda da concentração foliar de Si. Pinto (2011) ao estudar três genótipos de cacaueteiro, incluindo o Catongo, também obteve valores acima de 1% com a aplicação foliar de Si. Entretanto, diversos autores não encontraram diferenças na concentração de Si foliar após sua aplicação nas folhas (Botelho *et al.*, 2009; Pererira *et al.*, 2009; Zanão Júnior, 2009; Pinto, 2011; Carré-Misso *et al.*, 2012; Zanetti, 2013). Essas diferenças observadas podem ser justificadas pela polimerização do silício na superfície foliar. Segundo Knight e Kinrade (2001), para que ocorra a absorção do silício pelas plantas, é necessário o controle da concentração de sua solução, evitando a ocorrência de polimerização, tornando-o menos disponível para ser absorvido.

## 7. CONCLUSÃO

Dentre as doses aplicadas, a dose de 2,0 mg/mL de silício foi a mais eficaz na proteção de *Theobroma cacao* contra a doença vassoura-de-bruxa, promovendo incremento da atividade fotossintética, bem como o aumento das atividades das enzimas quitinase e polifenoloxidase em plantas inoculadas.

## 8. REFERÊNCIAS

AGARIE, S.; AGATA, W.; KAUFMAN, P.B. Involvement of silicon in the senescence of rice leaves. **Plant Production Science**, v. 1, p. 104-105, 1998.

AGARIE, S.; AGATA, W.; KUBOTA, F.; KAUFMAN, P.B. Physiological roles of silicon in photosynthesis and dry matter production in rice plants. **Journal of Crop Science**, v. 60, p. 200-206, 1992.

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. San Diego, Elsevier Academic Press, 1997. 635p.

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**, 5<sup>th</sup> ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 922p.

AIME, M.C.; PHILIPS-MORA, W. The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. **Mycologia**, v. 97, p. 1012-1022, 2005.

ALMEIDA, A-A.F. de.; VALLE, R.R. Ecophysiology of cacao tree. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, n. 4, p. 425-448, 2007.

ALMEIDA, A-A.F. de.; VALLE, R.R. **Cacao: ecophysiology of growth and production**: In: Ecophysiology of Tropical Tree Crops. Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge, NY, p. 37-70, 2009.

ALMEIDA, C.M.V.C.; ANTÔNIO NETO, F. Custo de produção de sementes de variedades híbridas de cacau em Rondônia, Brasil. **Agrotrópica**, Itabuna. V. 12, p. 129-134, 2000.

ALMEIDA, L.C.C.; ANDEBRHAN, T. Recuperação de plantações de cacau com alta incidência de vassoura de bruxa na Amazônia brasileira. **Agrotrópica**, Itabuna, v. 1, p. 133-136, 1989.

ALMEIDA, L.C.C.; NIELLA, G.R.; BEZERRA, J.L. Efeito de remoções de partes doentes do cacau associado a intervalos de aplicação de óxido cuproso no controle da vassoura de bruxa na Bahia. **Agrotrópica**, Itabuna, v. 10, p. 95-102, 1998.

ALVARENGA, P.; AMAROLI, P.; CÁCERES, J.; EGUIZÁBAL, C.; FERNÁNDEZ, J.A.; FOWLER, W.; LAURIA, A.; FUENTES, H.L.; MELHADO, O.E.; PANAMENO E WALTER, K. História de El Salvador. **El Salvador: Ministério de Educación**; Centro América, n. 249, p. 49-5, 1941.



ALVERSON, W.S.; WHITLOCK, B.A.; NYFFELER, R.; BAYER, C.; BAUM, D.A. Phylogeny of the core Malvales: evidence from ndhF sequence data. **American Journal of Botany**, v. 86, n. 10, p. 1474-1486, 1999.

ANDEBRAHN, T.; FIGUEIRA, A.; YAMADA, M.M.; CASCARDO, J. FURTEK, D.B. Molecular fingerprinting suggests two primary outbreaks of witches' broom disease (*Crinipellis pernicioso*) of *Theobroma cacao* in Bahia, Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 105, p. 167-175, 1999.

ARRUDA, D. P. de. **Avaliação de extratores químicos na determinação de silício disponível em solos cultivados com cana-de-açúcar**. 2009. 78p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

ASMAR, S.A. Silício na micropropagação de bananeira: características morfofisiológicas. 2011. 90p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2011.

BAKER, R.E.D.; HOLLIDAY, P. Witches' broom disease of cocoa (*Marasmius perniciosus* Stahel). **Phytopathological Paper**, v. 2, p. 42, 1957.

BAREL, M.; LEON, D.; VICENT, J.C. The influence of cocoa fermentation time on the production of pyrazines in chocolate. **Café cacao Thé**, v. 29, n. 4, p. 277-86, 1985.

BARROS, R. Estudo sobre a aplicação foliar de acibenzolar-s-metil para indução de resistência à ferrugem asiática em soja e cercosporiose em milho. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 4, p. 519-528, 2011.

BASTOS, C.N. Resultados preliminares sobre a eficácia de *Trichoderma viride* no controle da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso*) do cacauero. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 13, p. 340-343, 1988.

BASTOS, C.N. Avaliação de fungicidas sistêmicos no controle da vassoura de bruxa do cacauero. **Agrotropica**, Itabuna, v. 1, p. 128-132, 1989.

BECKETT, S.T. Industrial chocolate manufacture and use. 4 ed. London: Chapman and Hall, p. 20-23, 2009.

BELTRAME, A.B. **Interação *Phytophthora nicotianae* – porta-enxerto de citros (tangerina Sunki e citrumelo Swingle): efeito no sistema radicular, aspectos fisiológicos e bioquímicos**. 2010. 138 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2010.

BETTIOL, W. Componentes do controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Ed.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1991. P. 1-5.

BERALDO, A.L.A. **Expressão diferencial de genes induzidos por antracnose em feijoeiro em resposta à indução da resistência por silício**. 2012. 172 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2012.

BISI, A. **Manual ensina cacauicultores a renovar lavoura**. Disponível em: <[http://www.linhares.es.gov.br/Noticias/Noticia\\_Impressao.aspx?id=743](http://www.linhares.es.gov.br/Noticias/Noticia_Impressao.aspx?id=743)>. Acesso em: 08 set. 2012.

BOTELHO, D.M.S.; POZZA, E.A.; ALVES, E.; NETO, F.A.; BARBOSA, J.B.; CASTRO, D.M. Aspectos anatômicos e fisiológicos de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) com cercosporiose (*Cercospora coffeicola* Berk. & Cook.) adubadas com ácido silícico. **Coffee Science**, v. 4, p. 93-99, 2009.

BRADFORD, M.A. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAGA, F.T. **Silício, luz e substrato na micropropagação de abacaxizeiro [*Ananas comosus* (L.) Merr. “Gomo de Mel”]**. 2009. 95p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

CAKMAK, I. STRBOE, D.; MARSCHNER, H. Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germinating wheat seeds. **Journal of Experiment Botany**, v. 44, p. 127-132, 1993.

CAMILLO, F.R. **Indutores de resistência contra a vassoura-de-bruxa no cacauero: mecanismos de ação e avaliação em campo**. 2009. 66p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

CAMPOS, A.D.; HAMPE, M.M.V.; FERREIRA, A.G.; ANTUNES, I.F.; CASTRO, L.A.S. de. Indução de resistência sistêmica à antracnose em feijoeiro-comum pela raça delta avirulenta de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 1, p. 15-21, 2009.

CAÑAL, M.J.; TAMÉS, R.S.; FERNÁNDEZ, B. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in *Cyperus esculentus* leaves following glyphosate applications. **Plant Physiology**, v. 74, p. 125-130, 1988.

CARRÉ-MISSIO, V.; RODRIGUES, F.A.; SCHURT, D.A.; PEREIRA, S.C.; OLIVEIRA, M.G.A.; ZAMBOLIM, L. Ineficiência do silício no controle da ferrugem do cafeeiro em solução nutritiva. **Tropical Plant Pathology**. v. 34, n. 6, p. 416-421, 2009.

CARRÉ-MISSIO, V.; RODRIGUES, F.A.; SCHURT, D.A.; REZENDE, D.C.; MOREIRA, W.R.; KORNDÖRFER, G.H.; ZAMBOLIM, L. Componentes epidemiológicos da ferrugem do cafeeiro afetados pela aplicação foliar de silicato de potássio. **Tropical Plant Pathology**, v. 37, n. 1, p. 50-56, 2012.

CARVALHO, G.G.P. de.; PIRES, A.J.V.; VELOSO, C.M.; SILVA, F.F. da.; SILVA, R.R. Desempenho e digestibilidade de ovinos alimentados com farelo de cacau (*Theobroma cacao* L.) em diferentes níveis de substituição. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 2, p. 115-122, 2006.

CARVALHO, M.P.; ZANÃO JÚNIOR, L.A.; ÁVILA, V.T.; ALVAREZ, V.H. Características fisiológicas de plantas de arroz cultivadas em solução nutritiva com

fontes de silício. In: **Congresso Brasileiro de Botânica**. Anais. Natal, Sociedade Brasileira de Botânica, 2008. CD-ROM.

CARVALHO-PUPATTO, J.G. **Trocas gasosas e eficiência do uso da água da cultura do arroz irrigado por aspersão em função da aplicação de silício**. 2003. 151p. Tese (Doutorado) - Botucatu, UNESP/FCA, 2003.

CEPLAC. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. Disponível em: [Http://www.ceplac.gov.br/radar/radar\\_cacau.html](Http://www.ceplac.gov.br/radar/radar_cacau.html). Acesso em 15 de outubro de 2012.

CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R.R. Defenses responses induced by soluble silicon in cucumber plants roots infected by *Pythium* spp. **Phytopathology**, St. Paul, v. 84, n. 3, p. 236-242, 1994.

CHÉRIF, M.; BENHAMOU, J.G.; BÉLANGER, R.R. Silicon induced resistance in cucumber plants against *Pythium ultimum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 41, p. 411-425, 1992a.

CHÉRIF, M.; MENZIES, J.G.; BENHAMOU, N.; BÉLANGER, R.R. Studies of silicon distribution in wounded and *Pythium ultimum* infected by cucumber plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 41, p. 371-385, 1992b.

CONRATH, U.; PIETERSE, M.J.; MAUCHI-MANI, B. Priming in plant-pathogen interaction. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 5, p. 210-216, 2002.

COSTA, J.B.C. **Prospecção de indutores de resistência para o manejo da vassoura-de-bruxa do cacaueiro**. 2008. 86p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

COSTA, N.C.S. **Terra e povoamento na implantação da lavoura cacaueira no Espírito Santo: um estudo de caso: Linhares – 1900 a 1930**. 1989. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 1989.

COSTA, A.Z.M.; MATUO, T. Determinação de níveis de fungicida óxido cuproso em frutos de cacauzeiros para o controle da vassoura-de-bruxa. **Agrotropica**, Itabuna, v. 11, p. 77-82, 1999.

CUATRECASAS, J. Cacao and its allies: a taxonomic revision of the genus *Theobroma*. **Bulletin of the United States National Museum**. Smithsonian Institution Press, Washington, v.35, p. 379-614, 1964.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. Columbia University Press, New York, NY, 1981.

CRUSCIOL, C.A.C.; SORATTO, R.P. Importância do silício na tolerância das plantas a estresses de natureza abiótica. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE SILÍCIO NA AGRICULTURA, Viçosa. **Silício na Agricultura**, v. 1, p. 27 – 45, 2010.

CRUZ, M.F.A. da. **Indutores de resistência e silício na interação *Glycine max L. (Merrill) – Phakopsora pachyrhizi***. 2012. 74 p. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

DADALTO, G.G. & FULLIN, E.A. Manual de recomendação de calagem e adubação pra o estado do Espírito Santo. 4ª aproximação. Vitória, SEEA/INCAPER, 266 p., 2001.

DATNOFF, L.E.; RODRIGUES, F.A.; SEEBOLD, K.W. Silicon and Plant Nutrition. In: Datnoff, L.E. Elmer, W.H.; Huber, D.M. (Eds). Mineral nutrition and plant disease. Saint Paul MN. ASP Press, p. 233-246, 2007.

DIAS, L.A.S. Origem e dispersão de *Theobroma cacao* L: novo cenário. In: DIAS, L.A.S. Melhoramento genético do cacauzeiro. Minas Gerais: FUNAPE, p.87-88, 2001.

DONEGÁ, M.A. Relação K:Ca e a aplicação de silício na solução nutritiva para o cultivo hidropônico de coentro. 2009. Dissertação (Mestrado Ciências) - ESALQ, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

DURRANT, W.E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. Annual Review of Phytopatology, v. 42, p. 185-209, 2004.

EFRAIM, P. Contribuição à melhoria de qualidade de produtos de cacau no Brasil, através da caracterização de derivados de cultivares resistentes à vassoura-de-bruxa e de sementes danificadas pelo fungo. 2009. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2009.

ELKON, J. O livro de receitas com chocolate. Rio de Janeiro: Editora Record, 2004. 152 p.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. Proceedings of National Academy of Sciences, v. 91, p. 11-17, 1994.

EPSTEIN, E. Silicon. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. Palo Alto, v. 50, p. 641-664, 1999.

EVANS, H.C. Pod roto f cacao caused by *Moniliophthora roreri*. Phytopathological Papers, n. 24, p. 44, 1981.

EVANS, H.C.; BASTOS, C.N. Preliminary results os research on witches' broom disease of cacao (*Crinipellis pernicioso*) in the Amazonian region of Brazil. In: International Cocoa Research Conference, 7, Proceedings. Duala, Cameron, p. 255-256, 1979.

EVANS, H.C.; SOLORZANO, G.R. Witches' broom disease: wrong experiment, right results. In: International Cocoa Research Conference, p. 8, 1981. Proceedings. Cartagena, Colômbia, p. 415-418, 1982.

FALEIRO, F.G.; NIELLA, G.R.; CERQUEIRA, A.R.R.N.; DAMACENO, V.O.; GOMES, L.M.C.; FALEIRO, A.S.G. Produção de Micélio de *Crinipellis pernicioso* em Quatro Meios de Cultura, Visando Extração de DNA. Revista Fitopatologia Brasileira, v. 29, 2004.

FAUTEUX, F. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. *FEMS Microbiology Letters*, Amsterdam, v. 249, p. 1-6, 2005.

FAWE, A.; Silicon and disease resistance in dicotyledons. In: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDÖRFER, G.H. (Ed.). *Silicon in agriculture*. Amsterdam: Elsevier Science Publishing, 2001. P. 159-169.

FERNANDES, A.L.T.; MERRIGHI, A.L.N.; SILVA, G.A.; FRAGA JÚNIOR, E.F.F. Utilização do silício no controle de pragas e doenças do cafeeiro irrigado. *Agronomia*. n. 6, p. 11-52, 2009.

FIGUEIREDO, F.C.; RODRIGUES, C.R. Silício líquido solúvel. *Revista Campo e Negócio*. n. 44, 2004.

FRIAS, G.A.; PURDY, L.H.; SCHMIDT, R.A. An inoculation method for evaluating resistance of cacao to *Crinipellis pernicioso*. *Plant Disease*, v. 79, p. 787, 1995.

GOMES, F.B.; MORAES, J.C.; NERI, D.K.P. Adubação com silício como fator de resistência a insetos-praga e promotor da produtividade em cultura de batata inglesa em sistema orgânico. *Ciência Agrotecnologia*, v. 33, n. 1, p. 18-23, 2009.

GOMES, F.B.; MORAES, J.C.; SANTOS, C.D.; ANTUNES, C.S. O uso do silício como indutor de resistência em batata a *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Neotropical Entomology*, v. 37, p. 185-190, 2008.

GOMES, F.B.; MORAES, J.C.; SANTOS, C.D.; GOUSSAIN, M.M.; Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. *Scientia Agricola*, v. 62, n. 6, p. 547-551, 2005.

GONG, H.J.; ZHU, X.Y.; CHEN, K.M.; WANG, S.M.; ZHANG, C.C. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Science*, v. 169, n. 2, p. 313-321, 2005.

GUÉVEL, M.H.; MENZIES, J.G.; BÉLANGER, R.R. Effect of root and foliar applications of soluble silicon on powdery mildew control and growth of wheat plants. *European Journal of Plant Pathology*, v. 119, p. 429-436, 2007.

HATTORI, T.; INANAGA, S.; ARAKI, H.; AN, P.; MORITA, S.; LUXOVA, M.; LUX, A. Application of silicone enhanced drought tolerance in *Sorghum bicolor*. *Physiologia Plantarum*, v. 123, p. 459-466, 2005.

INTERNATIONAL COCOA ORGANIZATION – ICCO. Quaterly Bulletin of Cocoa Statistics, v. XXXVI, n. 3, Cocoa year, 2009/2010. Disponível em: <Http://www.icco.org>>. Acesso em 29 de novembro de 2012.

JUDD, W.S., CAMPBELL; C.S; KELLOGG E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M.J. *Sistemática vegetal: um enfoque filogenético*. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

JULIATTI, F.C.; PEDROSA, M.G.; LANNA, R.M.Q.; BRITO, S.H. de; MELO, B. de. Influência do silício na redução de podridão de sementes por *Fusarium semitectum* na cultura da soja. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 20, n. 2, p. 57-63, 2004.

KAISER, C.; MERWE, R. van der; BKKER, T.F.; LABUSCHAGNE, N. In-vitro inhibition of mycelial growth of several phytopathogenic fungi, including *Phytophthora cinnamomi* by soluble silicon. *South African Avocado growers' Association Yearbook*, v. 28, p. 70-74, 2005.

KAUSS, H.; SEEHAUS, K.; FRANKE, R.; GILBERT, S.; DIETRICH, R.A.; KRÖGER, N. Silica deposition by a strongly cationic proline-rich protein from systemically resistant cucumber plants. *Plant Journal*, Oxford, v. 33, p. 87-95, 2003.

KNIGHT, C.T.G.; KINRADE, S. A primer on the aqueous chemistry of silicon. In: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDÖRFER, G.H. (Ed.). *Silicon in agriculture*. Amsterdam: Elsevier, 2001. P. 57-86.



KORNDÖRFER, G.H.; DATNOFF, L.E. Adubação com silício: uma alternativa para o aumento da produtividade controle de doenças e pragas do arroz, milho e cana-de-açúcar. Uberlândia: UFU, 1996.

KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.S.; NOLLA, A. Análise de silício: solo, planta e fertilizante. Uberlândia (Boletim Técnico n. 2) 2004.

KORNDÖRFER, G.H.; SNYDER, G.H.; ULLOA, M.; POWELL, G.; DATNOFF, L.E. Calibration of soil and plant silicon analysis for rice production. *Journal of Plant Nutrition*, v. 24, n. 7, p. 1071-1084, 2001.

KORNDÖRFER, G.H., PEREIRA, H.S.; CAMARGO, M.S. Papel do silício na produção de cana-de-açúcar. *Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil*, v. 21, n. 2, p. 6-9, 2002.

LAJUS, B. Estudos de alguns aspectos da tecnologia do cacau. 1982. 85p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1982.

LANA, T.G. Caracterização genética e fisiológica de *Crinipellis pernicios*. 2004. 89p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

LANA, R.M.Q.; KORNDÖRFER, G.H.; ZANÃO JÚNIOR, L.A.; SILVA, A.F. da; LANA, A.M.Q. Efeito do silicato de cálcio sobre a produtividade e acumulação de silício no tomateiro. *Bioscience Journal*, v. 19, p. 15-20, 2003.

LEAL, J.B.; SANTOS, L.M.; SANTOS, C.A.P.; PIRES, J.L.; AHNERT, D.; ORREA, R.X. Diversidade genética entre acessos de cacau de fazendas e de banco de germoplasma na Bahia. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, n. 7, 2008.

LEE, K.S.; AHN, S.B.; RHEE, G.S.; YEON, B.Y.; PARK, J.K. Studies of silica application to nursery beds on rice seedling growth. *Research Report Rural Development Administration, Plant Environmental, Mycology, Farm Product Utilization of Korea Republic*, v. 27, n. 1, p. 23,27, 1985.

LEITE, B.; RONCATO, L.D.B.; PASCHOLATI, S.F.; LAMBAIS, M.R. Reconhecimento de transdução de sinais moleculares em interações planta-fungos patogênicos. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, v. 5, p. 235-280, 1997.

LOPES, A.S. Estudo químico e nutricional de amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L.) e cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* S.) em função do processamento. 2000. 112p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

LOPES, U.V.; MONTEIRO, W.R.; PIRES, J.L.; CLEMENT, D.; YAMADA, M.M. GRAMACHO, K.P. Cacao breeding in Bahia, Brazil – strategies and results. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 1, p. 73-81, 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. *Plantas Medicinais no Brasil – Nativas e Exóticas*. Instituto Plantarum de Estudos de Flora Ltda, 2002. 528p.

LUKOVIĆ, J., MAKSIMOVIĆ, I., ZORIC, L., NAGL, N., PERČIĆ, M., POLIC, D., PUTNIK-DELIĆ, M. Histological characteristics of sugar beet leaves potentially linked to drought tolerance. *Industrial Crops and Products*, v. 30, n. 2, p. 281-286, 2009.

LUZ, E.D.M.N.; BEZERRA, J.L.; RESENDE, M.L.V.; OLIVEIRA, M.L. Doenças do cacauzeiro. In: Ribeiro do Vale, F.X. e Zambolim, L. (Eds) *Controle de doenças de plantas*. Brasília. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. p. 611-656, 1997.

LUZ, E.D.M.N.; SOUZA, J.T.; OLIVEIRA, M.L.; BEZERRA, J.L.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Vassoura-de-bruxa no cacauzeiro: novos enfoques sobre uma velha doença. In: LUZ, W.C. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*. Passo Fundo, v. 14. 2006. p. 59-111.

MACAGANAN, D.; ROMEIRO, R.S da; BARACAT-PEREIRA, M.C.; LANNA-FILHO, R.; BATISTA, G.S.; POMELLA, A. W.V. Atividade de enzimas associadas ao estado

de indução em mudas de cacaueteiro expostas a dois actinomicetos residentes do filoplano. *Summa Phytopathologica*, v. 34, n. 1, p. 34-37, 2008.

MACEDO, L.F.V. Manual de Recomendações para o controle da vassoura de bruxa. Itabuna: CEPLAC, 1995, f. 16.

MACHADO, E.C.; OLIVEIRA, R.F.; RIBEIRO, R.V.; MEDINA, C.L.; STUCHI, E.S.; MARIN, F.R.; SILVA, J.A.B.; SILVA, S.R. Fluxo da seiva e fotossíntese em laranjeira 'Natal' com clorose variegada dos citros. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 41, p. 911-918, 2006.

MANDARINO, E.P.; SENA GOMES, A.R. Produtividade do cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) cultivados em blocos monoclonais, no sul da Bahia, Brasil. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico n. 197. 32p. 2009.

MARGIS-PINHEIRO,. A defesa das plantas contra as doenças. *Ciência Hoje on line*, v. 147. Disponível em: <http://cienciahoje.uol.com.br/controlpanel/materia/search.do> Acesso em 18 de setembro de 2012.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2. ed. New York: Academic Press, 1995. 887 p.

MARTINATI, J.C. Aspectos bioquímicos em plantas de cafeeteiro tratadas com silício. 2008. 113 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MARTINI, M.H. Caracterização das sementes de seis espécies de *Theobroma* em relação ao *Theobroma cacao* L. 2004. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

MENEZES, S.; CARMO NETO, D. A Modernização da agribusiness do cacau. Salvador: CARGILL, 1993. 180 p.

MENZIES, J.G.; BOWEN, P.; EHRET, D.L.; GLASS, A.D.M.; Foliar applications of potassium silicate reduce severity of powdery mildew on cucumber, muskmellow, and zucchini squash. *Journal of American Society for Horticultural Science*, v. 117, n. 6, p. 902-905, 1992.

METRAUX, J.P. Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. *European Journal of Plant Pathology*, n. 107, p. 13-18, 2001.

METRAUX, J.P.; SIGNER, H.; RYALS, J.; WARD, E.; WYSS-BENZ, M.; GAUDIN, J.; RASCHDORF, K.; SCHMID, E.; BLUM, W.; INVERARDI, B. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science*, v. 250, p. 1004-1006, 1990.

MINEROPAR. Minerais do Paraná S.A. Geoquímica de Solo do Estado do Paraná – horizonte B. Curitiba: Mineropar, v. 1, 2005. 408 p.

MOLDES, C.A.; BATISTA, G.B.; FONTÃO-FILHO, O.; AZEVEDO, R.A.; TSAI, S.M. Actividad de enzimas antioxidantes em algodón com diferentes dosis de silicio. In: REUNIÓN DE LA ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FISIOLÓGÍA VEGETAL, 26., 2006, Chascomus, Argentina. Chascomus: AAFV, 2006. 1 CD-ROM.

N'GORAN, J.A.K.; LAURENT, V.; RISTERUCCI, A.M.; LANAUD, C. Comparative genetic diversity studies of *Theobroma cacao* L. using RFLP and RAPD markers. *Heredity*, v. 73, n. 6, p. 589-597, 1994.

OKEY, E.N.; DUNCAN, E.J.; SIRJU-CHARRAN, G.; SREENIVASAN, T.N. Phytophthora Canker Resistance in Cacao: Role of Peroxidase, Polyphenoloxidase and Phenylalanine Ammonia-lyase. *Journal of Phytopathology*, v. 145, p. 295-299, 1997.

PARIDA, A.K.; DAS, A.; MOHANTY, B.P. Defense potentials to NaCl in a mangrove *Bruguiera parviflora*: differential changes of isoforms of some antioxidant enzymes. *Journal of Plant Physiology*, v. 161, p. 531-542, 2004.

PASCHOLATI, S.F. Fitopatógenos: arsenal enzimático. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). Manual de fitopatologia. Princípios e conceitos. São Paulo: Ceres, v. 1, p. 343, 364, 1995.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. Revisão Anual de Patologia de Plantas, Passo Fundo, v. 2, p. 1-51, 1994.

PEREIRA, J.L. First occurrence of witches' broom disease in the principal cocoa-growers region of Brazil. Tropical Agriculture, v. 67, n. 2, p. 188-189, 1990.

PEREIRA, S.C.; RODRIGUES, F.A.; CARRÉ-MISSIO, V.; OLIVEIRA, M.G.A.; ZAMBOLIM, L. Efeito da aplicação foliar de silício na resistência à ferrugem e na potencialização da atividade de enzimas de defesa em cafeeiro. Tropical Plant Pathology, v. 34, n. 4, p. 223-230, 2009.

PEREIRA, S.L.; RAM, A.; FIGUEIREDO, I.M.; ALMEIDA, L.C.C. Primeira ocorrência da vassoura-de-bruxa na principal região produtora de cacau do Brasil. Agrotrópica, v. 1, p. 79-81, 1989.

PINTO, D.G. Fotossíntese, crescimento e composição química em plantas de *Theobroma cacao* L. submetidas a diferentes concentrações de silicato de potássio e sua interação com insetos-praga. 2011. 84p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2011.

PURDY, L.H.; SCHMIDT, R.A. Satus of cacao witches' broom: Biology, epidemiology, and Management. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, California, US, v. 34, p. 573-594, 1996.

REHEM, B.C. Respostas fisiológicas de clones de *Theobroma cacao* L. ao alagamento do substrato. 2006. 29p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2006.

RODRIGUES, F.A.; MCNALLY, D.J.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; LABBE, C.; BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G. Silicon enhances the accumulation of diterpenoid

phytoalexins in rice: a potential mechanism for blast resistance. *Phytopathology*, St. Paul, v. 94, n. 2, p. 177-183, 2004.

RODRIGUES, F.A.; DATNOFF, L.E. Silicon and rice disease management. *Fitopatologia Brasileira*, v. 30, n. 5, p. 457-469, 2005.

ROULIN, S.; BUCHALA, A.J. The induction of  $\beta$ -1,3-glucanase and other enzymes in groundnut leaves infected with *Cercospora arachidicola*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, London, v. 46, p. 471-489, 1995.

RUBINI, M.R.; SILVA-RIBEIRO, R.T.; POMELLA, A.W.V.; MAKI, C.S.; ARAÚJO, W.L.; SANTOS, D.R.; AZEVEDO, J.L. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicios*, causal agent of Witches' Broom Disease. *International Journal Biological Science*, v.1 n. 1, p. 24-33, 2005.

SAMUELS, A.L.; GLASS, A.D.M.; EHRET, D.L.; MENZIES, J.G. Mobility and deposition of silicon in cucumber plants. *Plant, Cell and Environment*, Oxford, v.14, p. 485-492, 1991.

SANCHÉZ, E.; SOTO, J.M.; GARCIA, P.C.; LÓPEZ-LEFEBRE, L.R.; RIVEIRO, R.M.; RUIZ, J.M.; ROMERO, L. Phenolic compounds and oxidative metabolism in green bean plants under nitrogen toxicity. *Australian Journal of Plant Physiology*, v. 27, p. 973-978, 2000.

SAVANT, N.K.; KORNDÖRFER, G.H.; SNYDER, G.H.; DATNOFF, L.E. Silicon nutrition and sugarcane production: a review. *Journal of Plant Nutrition*, v. 12, n. 22, p. 1853-1903, 1999.

SCARPARI, L.M.; MEINHARDT, L.W.; MAZZAFERA, P.; POMELLA, A.W.V.; SCHIAVINATO, M.A.; CASCARDO, J.C.M.; PEREIRA, G.A.G. Biochemical changes during the development of witches' broom: the most important disease of cocoa in Brazil caused by *Crinipellis pernicios*. *Journal of Experimental Botany*, v. 56, n. 413, p. 865-877, 2005.

SCHRODER, M.; HAHLBROCK, K.; KOMBRINK, E. Temporal and spatial patterns of 1,3- $\beta$ -glucanase and chitinase induction in potato leaves infected by *Phytophthora infestans*. *The Plant Journal*, v. 2, n. 2, p. 161-172, 1992.

SILVA, D.P. Meios de cultura e fontes de silício no desenvolvimento in vitro de gérbera. 2007. 84p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

SILVA, S.D.V.M.; LUZ, E.D.M.N.; GRAMACHO, K.P.; ALBUQUERQUE, P.S.B.; BEZERRA, J.L. Standardization of the belt system method to assess cacao genotypes to witches' broom resistance. In: *Proceedings 13th International Cocoa Research Conference*, Kota Kinabalu, Malaysia, 2000.

SILVA, I.L.S.S.; RESENDE, M.L.V. de.; JÚNIOR, P.M.R; COSTA, J.C.B.; CAMILO, F.R.; BAPTISTA, J.C.; SALGADO, S.M.L. Efeito de nutrientes combinados com indutores de resistência na proteção contra a vassoura-de-bruxa no cacauero. *Ciência Agrotecnica*, v. 32, n. 1, p. 61-67, 2008.

SILVA, H.G. de O.; PIRES, A.J.V.; SILVA, F.F. da.; VELOSO, C.M.; CARVALHO, G.G.P. de.; CEZÁRIO, A.S.; SANTOS, C.C. Digestibilidade aparente de dietas contendo farelo de cacau ou torta de dendê em cabras lactantes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 40, n. 4, p. 405-411, abr. 2005.

SORATTO, R.P.; FERNANDES, A.M.; CRUSCIOL, C.A.C.; SOUZA-SCHLICK, G.D. de. Produtividade, qualidade de tubérculos e incidência de doenças em batata, influenciados pela aplicação foliar de silício. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 47. n. 7, p. 1000-1006, 2012.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. *Botânica Sistemática – Guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII*. Plantarum, Nova Odessa, 2005.

SOUZA, J.V. de; RODRIGUES, C.R.; LUZ, J.M.Q.; CARVALHO, P.C. de; RODRIGUES, T.M.; BRITO, de. C.H. Silicato de potássio via foliar no milho: fotossíntese, crescimento e produtividade. *Bioscience Journal*, v. 26, n. 4, p. 502-513, 2010.

STAHEL, G. *Marasmius perniciosus* nov. spec. *Bulletin Departament van den Landbouw*, v. 33, p. 1-26, 1915.

STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F.; LABATE, C.A. Efeito de *Phaeoisariopsis griseola* na atividade de ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase, clorofilase,  $\beta$ -1,3-glucanase e quitinase em cultivares de *Phaseolus vulgaris*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.25, p. 59-66, 2000.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; METRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 35, p. 235-270, 1997.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*, 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TERRY, L.A.; JOYCE, D.C. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief view. *Postharvest Biology and Technology*, v. 32, p. 1-13, 2004.

VAN HALL, C.J.J.; DROST, A.W. The witch-broom disease in Suriname, its cause and treatment. *Bulletin Department Landbouw*, v. 11, p. 62-66, 1909.

YI, S.Y.; HWANG, B.K. Differential induction and accumulation of  $\beta$ -1,3-glucanase and chitinase isoforms in soybean hypocotyls and leaves after compatible and incompatible infection with *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v. 48, p. 179-192, 1996.

ZANÃO JÚNIOR, L.A. Produção de girassol ornamental e rosas em vasos por influência da fertilização silicatada. 2011. 77p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.



ZANÃO JÚNIOR, L.A.; FONTES, R.L.F.; ÁVILA, de. V.T. Aplicação do silício para aumentar a resistência do arroz à mancha-parda. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 44, n. 2, p. 203-206, 2009.

ZANETTI, L.V. Efeitos da pulverização foliar com silício na tolerância de *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) ao déficit hídrico. 2013. 61p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2013.