

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

DAYANA EFFGEN FANTINATO

**EFEITOS DO VENTO SOBRE CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS,
FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE MUDAS DE *Theobroma cacao* L.
(Malvaceae) E USO DO SILÍCIO COMO AMENIZADOR DO ESTRESSE**

VITÓRIA
2018

DAYANA EFFGEN FANTINATO

**EFEITOS DO VENTO SOBRE CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS,
FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE MUDAS DE *Theobroma cacao* L.
(Malvaceae) E USO DO SILÍCIO COMO AMENIZADOR DO ESTRESSE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção de título de Doutor em Biologia Vegetal.

Área de Concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientadora: Prof^a Dr^a Camilla Rozindo Dias Milanez

VITÓRIA

2018

DAYANA EFFGEN FANTINATO

**EFEITOS DO VENTO SOBRE CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS,
FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE MUDAS DE *Theobroma cacao* L.
(Malvaceae) E USO DO SILÍCIO COMO AMENIZADOR DO ESTRESSE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção de título de Doutor em Biologia Vegetal.

Aprovada em 07 de agosto de 2018.

COMISSÃO EXAMINADORA:

Dra. Camilla Rozindo Dias Milanez - UFES
Orientadora e Presidente da Comissão

Dra. Viviana Borges Corte - UFES
Examinadora interna

Dra. Silvia Tamie Matsumoto - UFES
Examinadora interna

Dra. Glória Maria de Farias Viégas Aquije - IFES
Examinadora externa

Dr. Carlos Alberto Spaggiari de Souza - CEPLAC
Examinador externo

Aos meus pais e irmãos que me deram ensinamentos e oportunidades na vida.

Ao Yuri, cuja confiança me motivou até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) pela formação acadêmica, infraestrutura e equipamentos disponibilizados;

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo pela concessão da bolsa de doutorado e pela taxa de bancada;

À Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira de Linhares, Espírito Santo, pela infraestrutura e mudas cedidas para a execução do projeto;

A minha orientadora prof.^a Dr.^a Camilla Milanez, por ter me acolhido no laboratório desde a graduação. Muito obrigada pelos ensinamentos, conselhos, oportunidades e por ter me trilhado até aqui;

Ao Dr. Carlos Spaggiari pela oportunidade de execução do projeto em Linhares, pelo infinito apoio, incentivo, pela disponibilidade de sempre e amizade.

Ao João, agrônomo e gerente da fazenda Dedo de Deus, por ter concedido o espaço e as mudas e pela disponibilidade de sempre em nos receber;

Aos professores do PPGBV pelo conhecimento transmitido;

Aos membros da banca por terem aceitado participar das correções deste trabalho;

Ao amigo Leonardo pela infinita ajuda tanto na solução de problemas e sugestões como no auxílio no desenvolvimento da tese;

À amiga Tatiane pelo companheirismo e execução dos experimentos, incluindo às idas à Linhares. Agradeço o apoio e a ajuda de sempre durante todos esses anos;

Aos amigos da Botânica, em especial Fran, Ian, Liliane, Vinícius e Lívia, pela ajuda em campo, execução de análises e pela força e descontração ao longo desses anos;

À equipe do Laboratório de Anatomia Vegetal (LABAV) pelo exemplo de bons profissionais durante todo esse tempo de convivência e especialmente ao Léo, Dany e Carol pelo companheirismo, apoio e conselhos ao longo de todos esses anos;

Aos meus amigos que, mesmo de longe, sempre me motivaram. Essa caminhada só foi possível devido a ajuda de todos vocês. Muito obrigada!

O pessimista reclama do vento. O otimista espera
que ele mude. O realista ajusta as velas.

William Ward

RESUMO

O cacauzeiro (*Theobroma cacao*) é uma espécie perene, de porte arbóreo originária da região do Alto Amazonas. A importância econômica dessa espécie está relacionada principalmente as suas sementes, as quais são utilizadas para a fabricação do chocolate. Dentro do cenário nacional, o Espírito Santo ocupa a 3ª posição como maior produtor, sendo que a maior parte dessa produção se encontra no município de Linhares. No Espírito Santo, os novos plantios de cacauzeiro passaram a ser a pleno sol. Nessa condição, as plantas se encontram mais expostas à ação de ventos. Sabe-se que o vento é caracterizado como uma variável ambiental que interfere no crescimento das plantas, contudo, pouco se sabe a respeito de seus efeitos nas características anatômicas, fisiológicas e bioquímicas do cacauzeiro. Na tentativa de amenizar estresses abióticos, a adubação silicatada tem se mostrado promissora com efeitos positivos no crescimento, nas trocas gasosas e defesas bioquímicas. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência do vento através da análise de trocas gasosas, das características morfoanatômicas, dos teores de carboidratos estruturais e lignina sobre mudas de cacauzeiro. A partir dos resultados, avaliaram-se os efeitos de uma possível ação do silício na melhoria do comportamento do cacauzeiro diante do estresse causado pelo vento. Para tanto, num primeiro experimento, foram utilizadas mudas enxertadas com o genótipo PS-1319 de *T. cacao* em duas áreas, sendo uma aberta, mais exposta ao vento e outra consorciada com bananeiras, com menor incidência de vento. Foram realizadas análises mensais de crescimento nessas plantas durante 12 meses e ao final desse período, avaliaram-se a anatomia foliar, as trocas gasosas e o teor de carboidratos estruturais e lignina. No segundo experimento, mudas do mesmo genótipo foram cultivadas em viveiro e submetidas a tratamentos com silício, aplicado na folha e no solo, nas concentrações de 2 mM e 1 mM, respectivamente. Posteriormente, as mudas foram submetidas a uma fonte de vento com velocidade média de 2,25 m/s, das 11h as 18h, durante 28 dias. Ao final do experimento, foram realizadas análise de crescimento, anatomia foliar, teor de carboidratos estruturais foliares e lignina, trocas gasosas e análises bioquímicas. Os resultados mostraram que as plantas da área aberta tiveram maior densidade, condutância estomática e maior fotossíntese. Anatomicamente, as folhas foram mais espessas, apresentando maiores parênquimas paliçádico e esponjoso, maior

epiderme abaxial e adaxial, além de maior nervura central e teores de hemicelulose e lignina. Contudo, houve redução do crescimento. A avaliação sobre os efeitos do silício sobre as plantas sujeitas ao vento demonstrou que a adubação silicatada atuou de maneira positiva promovendo maior robustez, maiores valores de área e diâmetro caulinar, densidade estomática e espessura da folha com aumento da nervura, epiderme adaxial e parênquima paliçádico, melhoria da eficiência intrínseca do uso da água e menor transpiração, além de ter tornado a atividade enzimática eficiente, proporcionando economia energética.

Palavras chave: cacauicultura, enzimas, estresse abiótico, lignina, morfoanatomia, trocas gasosas.

ABSTRACT

The cacao tree (*Theobroma cacao*) is a perennial species, of arboreal origin originating in the Upper Amazon region. The economic importance of this species is mainly related to its seeds, which are used for the manufacture of chocolate. Within the national scenario, Espírito Santo occupies the 3th position as the largest producer, and most of this production is in the municipality of Linhares. In Espírito Santo, the cultivation of cacao began to be full sun. In this condition, the plants are more exposed to the action of winds. It is known that wind is characterized as an environmental variable that interferes with plant growth, however, little is known about its effects on the anatomical, physiological and biochemical characteristics of cacao. In an attempt to ameliorate abiotic stresses, silicate fertilization has shown promise with positive effects on growth, gas exchange and biochemical defenses. In this context, the objective of the present work was to evaluate the influence of the wind through the analysis of gas exchange, the morphoanatomic characteristics, the contents of structural carbohydrates and lignin on cocoa seedlings. From the results, the effects of a possible action of the silicon in the improvement of the behavior of the cacao tree in the face of the stress caused by wind were evaluated. For this, in a first experiment, seedlings grafted with the genotype PS-1319 of *T. cacao* were used in two areas, one being open, more exposed to the wind and another one consorted with banana trees, with lower wind incidence. Monthly growth analyzes were performed on these plants for 12 months and at the end of this period, leaf anatomy, gas exchange and the content of structural carbohydrates and lignin were evaluated. In the second experiment, seedlings of the same genotype were grown in nurseries and submitted to silicon treatments, applied to the leaf and soil, at concentrations of 2 mM and 1 mM, respectively. Later, the seedlings were submitted to a wind source with an average velocity of 2.25 m / s, from 11 am to 6 pm, for 28 days. At the end of the experiment, growth analysis, foliar anatomy, foliar and lignin carbohydrate content, gas exchange and biochemical analysis were performed. The results showed that the plants of the open area had higher density, stomatal conductance and greater photosynthesis. Anatomically, the leaves were thicker, presenting larger palisade and spongy parenchyma, greater abaxial and adaxial epidermis, besides a larger central vein and hemicellulose and lignin contents. However, there was a reduction in growth. The evaluation of the effects of silicon on the plants subjected to

the wind showed that the silicate fertilization had a positive effect, promoting greater robustness, higher values of area and stem diameter, stomatal density and leaf thickness with increase of the vein, adaxial epidermis and palisade parenchyma, improving the intrinsic efficiency of water use and lower transpiration, and having made the enzymatic activity efficient, providing energy savings.

Key words: cocoa farming, enzymes, abiotic stress, lignin, morphoanatomy, gas exchange.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Plantas de cacaueteiro com 12 meses de idade. À esquerda, um indivíduo da área consorciada com bananeiras, menos exposta ao vento, e no meio e à direita, indivíduos da área aberta, mais exposta ao vento.....42

Figura 2 - Altura e diâmetro caulinar de plantas de cacaueteiro durante 12 meses em área consorciada, com menor exposição ao vento e outra aberta, com maior exposição ao vento.....43

Figura 3 - Secções transversais do limbo de plantas de cacaueteiro em área aberta e consorciada. (A e C) Área consorciada, com menor exposição ao vento. (B e D) Área aberta, com maior exposição ao vento. As barras em A e B correspondem a 50 µm e, em C e D, a 25 µm. (Ep) epiderme (Fi) fibras (FI) floema (PE) parênquima esponjoso (PP) parênquima paliçádico (Xi) xilema.44

CAPÍTULO 2

Figura 1 - Visão geral do experimento com mudas de cacaueteiro adubadas com Si e expostas ao vento. À frente, grupo de plantas submetidas aos ventiladores, e ao fundo, grupo de plantas sem exposição ao vento (controle).....60

Figura 2 - Secções transversais do limbo de plantas de cacaueteiro adubadas com Si e expostas ao vento. (A) Com vento (B) Com vento e Si no no solo. As barras correspondem a 25 µm. (Fi) fibras (FI) floema (Xi) xilema.....71

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 – Parâmetros de anatomia foliar de cacauero em área aberta e consorciada com bananeiras.....	44
Tabela 2 – Parâmetros de trocas gasosas de folhas de cacauero em área aberta e consorciada com bananeiras.....	45
Tabela 3 - Teores de lignina e de carboidratos estruturais em folhas de cacauero em área aberta e consorciada com bananeiras.....	45

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Efeitos do vento e da aplicação de Si via foliar e via solo sobre o acúmulo de silício nas folhas e no solo dos tratamentos de <i>T. cacao</i>	68
Tabela 2 - Efeitos do vento e da aplicação de Si via foliar e via solo sobre análise de crescimento de <i>T. cacao</i>	70
Tabela 3 - Efeitos do vento e da aplicação de Si via foliar e via solo sobre as características anatômicas foliares de <i>T. cacao</i>	72
Tabela 4 - Efeitos do vento e da aplicação de Si via foliar e via solo sobre as trocas gasosas de <i>T. cacao</i>	73
Tabela 5 - Efeitos do vento e da aplicação de Si via foliar e via solo sobre a atividade das enzimas de folhas de <i>T. cacao</i>	74
Tabela 6 - Efeitos do vento e aplicação de Si via foliar e via solo sobre o teor de lignina e carboidratos estruturais em folhas de <i>T. cacao</i>	74

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2	OBJETIVO GERAL.....	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1	O Cacaueiro.....	17
3.2	O vento e sua ação nas plantas.....	21
3.3	O silício e seus efeitos nas plantas.....	24
4	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
CAPÍTULO 1: Morfoanatomia, trocas gasosas e teores de carboidratos estruturais e de lignina em plantas jovens de cacaueiro cultivadas em área aberta e com quebra-vento.....		
1	INTRODUÇÃO.....	36
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	37
2.1	Condição experimental e material botânico	37
2.2	Análise de crescimento.....	38
2.3	Análise morfologia e anatomia foliar.....	38
2.4	Análise de trocas gasosas.....	39
2.5	Determinação do teor de lignina.....	39
2.6	Determinação do teor de celulose.....	40
2.7	Determinação do teor de hemicelulose.....	41
2.8	Análise estatística.....	42
3	RESULTADOS.....	42
4	DISCUSSÃO.....	46
5	CONCLUSÃO.....	49
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
CAPÍTULO 2: Adubação silicatada em <i>Theobroma cacao</i> L. submetido ao vento.....		
1	INTRODUÇÃO.....	58
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	59
2.1	Delineamento experimental e análise estatística.....	59
2.2	Área experimental e material botânico.....	60
2.3	Determinação do silício foliar.....	60
2.4	Determinação do silício do solo.....	61

2.5	Análise de crescimento.....	62
2.6	Análise anatômica foliar.....	62
2.7	Análise de trocas gasosas.....	63
2.8	Determinação das proteínas totais e das atividades enzimáticas.....	63
2.8.1	Obtenção do extrato aquoso.....	63
2.8.2	Proteínas totais.....	64
2.8.3	Superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1).....	64
2.8.4	Peroxidase do guaiacol (POD; EC 1.11.1.7).....	64
2.8.5	Peroxidase do ascorbato (APX; EC 1.11.1.11).....	65
2.8.6	Catalase (CAT; EC 1.11.1.6).....	65
2.8.7	Polifenoloxidase (PPO; EC 1.30.3.1).....	65
2.9	Determinação do teor de lignina.....	65
2.10	Determinação do teor de celulose.....	66
2.11	Determinação do teor de hemicelulose.....	67
3	RESULTADOS	68
4	DISCUSSÃO	75
5	CONCLUSÃO	79
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

1 INTRODUÇÃO GERAL

O cacauieiro (*Theobroma cacao* L.) 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, juntamente com todo o Gênero *Theobroma* (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 geleias (Menezes e Carmo-Neto, 1993).

Um dos métodos de cultivo do cacauieiro ocorre por meio do corte e queima, no qual a semente é plantada diretamente no campo, sob a sombra de cultivos temporários, sendo posteriormente mantidas sem o sombreamento. Nesse tipo de plantio, nota-se a falta de sombreamento que seria proporcionado por outras plantas, o que permite a ação de ventos fortes em plantas jovens de cacauieiro, acarretando em estresse (Ruf e Schroth, 2004).

O vento tem influência direta sob o microclima de uma área ou região, afetando o crescimento das culturas de forma positiva ou não. Os ventos excessivos e contínuos apresentam-se como um grande problema para o desenvolvimento de atividades agrícolas (Pereira et al., 2007). Sob a ação de ventos, as plantas podem apresentar alterações na transpiração, absorção de CO₂, além de danos estruturais nas folhas e ramos (Mota, 1983).

A adubação silicatada tem sido utilizada visando amenizar os estresses causados às plantas, proporcionando diversos efeitos benéficos como aumento da atividade fotossintética e da resistência mecânica das células, redução da transpiração foliar, além de melhoria na arquitetura das folhas (Epstein, 1994; Korndörfer et al., 2002; Lana et al., 2003). O silício também atua no processo de aumento da atividade de determinadas enzimas antioxidantes como catalase,

ascorbato peroxidase, guaiacol peroxidase e superóxido dismutase (Fauteux et al., 2005).

Devido à importância econômica do cacauero atrelada à nova forma de cultivo adotada para essa espécie, o estudo de análises morfoanatômicas, fisiológicas e bioquímicas pode ajudar a elucidar os mecanismos de aclimação apresentados por essas plantas mediante o estresse causado pelo vento, e, nesse contexto, o uso do silício pode se apresentar como estimulador da tolerância dessas plantas ao vento.

2 OBJETIVO GERAL

O objetivo do trabalho foi avaliar o comportamento de mudas de *T. cacao* expostas ao vento por meio de análises morfoanatômicas, fisiológicas e bioquímicas bem como averiguar uma possível ação do silício como redutor dos efeitos causados por esse estresse.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O Cacaueiro

O cacaueiro (*Theobroma cacao* L.) pertence à Ordem Malvales, sendo a única espécie 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 (Judd, et al., 2009) juntamente com o Gênero *Theobroma* (Alverson et al., 1999; Souza e Lorenzi, 2005). O cacaueiro é uma árvore com origem na América do Sul que se propagou naturalmente para a América Central (Bearden et al., 2000).

Os pipiles, povo indígena pré-colombiano de El Salvador, utilizavam 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. 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 cacauicultura apresenta não apenas importância econômica como também importância ambiental (CEPLAC, 2017).

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 (Carvalho et al., 2006; Silva et al., 2005). 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).

Em 1585, o chocolate começou a ser enviado da América Central à Espanha, tornando-se cada vez mais popular pela Europa, dando início ao cultivo do cacauéiro em várias regiões da América Central e do Sul, Caribe, Ásia e África (Alvarenga et al., 1941).

O cacauero, atualmente, é cultivado principalmente na África Ocidental (70% da produção mundial), Costa do Marfim, Gana, Camarões e Nigéria. Nas Américas, seu cultivo estende-se da Colômbia para a Venezuela, América Central e México, alcançando também as Guianas. No Brasil, o cacauero se adaptou perfeitamente ao clima e solos do sul da Bahia, sendo, antes de 1989, o segundo maior produtor de cacau, tornando-se o sexto lugar no mercado mundial em 2017 com uma produção em torno de 155 mil toneladas/ano de amêndoas secas de cacau. (IBGE/SIDRA/LSPA, 2018).

No oeste da África e sudeste da Ásia, entre 80 e 85% do cacauero é cultivado em área de pequenos agricultores familiares, os quais geralmente não adotam nenhum tipo de insumo externo, enquanto no Brasil, Malásia e Equador, o cultivo é feito principalmente em grandes propriedades (Rice e Greenberg, 2000; Duguma et al., 2001; Hartemink, 2005). Já no oeste de Gana, maior parte da Costa do Marfim, na Indonésia e Malásia, o cultivo do cacau é feito em sistemas com pouca ou nenhuma sombra (Schroth et al., 2004).

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, seguido pelo Pará e Espírito Santo (IBGE/SIDRA/LSPA, 2018). O Espírito Santo iniciou o cultivo do cacau em 1880, por meio do mentor Joaquim Francisco Calmon, porém sem sucesso. Em 1917 houve o estabelecimento da cultura principalmente na região do baixo Rio Doce (Costa, 1989) com a chegada dos produtores da Bahia Dr. Filogônio Peixoto e do coronel Antônio de Negreiros com a adoção do sistema de cultivo cabruca ou mata raleada. O município de Linhares 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, 2015).

Até a década de 70, a cacauicultura foi estabelecida com sementes provenientes de populações naturais de cacaueros ou de plantações cultivadas à beira dos rios (Almeida e Antônio Neto, 2000). Posteriormente, 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).

Por se tratar de uma espécie ombrófila, o cacauero tradicionalmente era cultivado em sistemas agroflorestais (SAF) (Somarriba e Beer, 2010), havendo relatos sobre o início do seu cultivo sombreado datar no começo dos anos 1500, na América Central (Bergmann, 1969). Outras regiões do mundo também adotaram o cultivo do cacau sombreado em SAF como o sudeste da Bahia e de Camarões, sudoeste da Nigéria e leste de Gana (Schroth et al., 2004).

Piasentin e Saito (2014), por meio de revisão bibliográfica, identificaram 6 métodos de implantação e manejo do cacauero no sudeste da Bahia ao longo dos séculos, os quais variam desde o plantio completamente exposto ao sol até o contendo sombreamento denso. Alguns relatos de pesquisadores do início do século XX trazem o corte e queima como primeiro método de cultivo adotado na região (Ruf e Zadi, 2003; Ruf e Schroth, 2004).

Segundo Gregório Bondar, nesse método, toda vegetação era derrubada com posterior queima do material cortado. Nele ocorre o plantio de culturas temporárias como mandioca e milho, as quais fornecem sombreamento provisório às plantas jovens de cacauero até sua colheita, sendo posteriormente mantido sem sombreamento até o surgimento espontâneo de árvores. Depois de 7 a 10 anos, as árvores eram removidas deixando as plantas de cacauero sem sombreamento durante toda fase adulta.

Outra forma de cultivo adotado no sudeste da Bahia é o sistema 'cabruca' ou sob a mata raleada, uma adaptação do método de corte e queima (Ruf e Schroth, 2004). Segundo os mesmos autores, era removido geralmente um terço da vegetação arbórea nativa e vegetação herbácea, de modo a abrir espaços para o cultivo do cacauero. As árvores remanescentes eram aproveitadas como sombreamento provisório e definitivo e a vegetação cortada não era queimada, ela permanecia para se decompor na plantação. Essa prática tornou-se necessária a fim de evitar a perda de substâncias húmicas no solo causada pelo método anterior.

Além disso, o método cabruca é mais econômico por permitir reduzir o custo de mão de obra para a implantação e o manejo, pois o sombreamento permanente permite maior controle de plantas espontâneas, de modo a reduzir o número de roçagens necessárias. O sombreamento também era considerado necessário principalmente no alto de ladeiras, nas cabeceiras de colinas e nos tabuleiros, a fim de proteger as plantas dos ventos fortes, e em áreas com solos de baixa fertilidade e rasos (Ruf e Schroth, 2004).

A partir de 1964, no período de expansão e intensificação da lavoura cacauceira, houve adoção de práticas e insumos modernos, com utilização de fertilizantes químicos, pesticidas e sementes melhoradas. Dessa forma, o sistema cabruca passou a ser desvalorizado por se caracterizar pelo conhecimento local de agricultores e uso de tecnologia simples, além de ser menos produtivo devido à baixa densidade de plantas.

Apesar de ser ecologicamente viável, e também de apresentar menores riscos à produção, o sistema cabruca passou a ser considerado como uma forma de manejo pouco viável economicamente (Müller e Gama-Rodrigues, 2012). A partir de 1964 houve a adoção do método denominado de 'derruba total', no qual era feita roçagem com posterior retirada de todas as árvores existentes na área (Alvim, 1976).

3.2 O vento e sua ação nas plantas

O vento pode ser genericamente designado como qualquer tipo de movimento do ar atmosférico na superfície ou a grandes alturas (Sonnemaker, 2012). A formação do vento é dada pelo gradiente de pressão atmosférica, o qual é gerado pelo aquecimento diferencial dos locais na superfície, e é modificado pelo movimento de rotação da Terra, do atrito com a superfície terrestre e a força centrífuga ao seu movimento. As principais características do vento são a direção, força, velocidade e frequência de calma (Tubelis e Nascimento, 1980), sendo que o relevo apresenta efeito muito acentuado de modo a definir a direção e a velocidade do vento.

São necessários dois fatores para especificar o vento: sua direção e força de velocidade. A rota que o vento segue é definida como direção, ou seja, de e para qual ponto da bússola o vento sopra (norte, nordeste, sul, etc.). A velocidade ou força faz referência à intensidade que esses ventos são formados, podendo ser medida em metros por segundo, milhas por horas ou como força na escala de Beaufort (Forsdyke, 1981). A taxa de movimento do ar de uma localidade geralmente é dada como a média da velocidade do vento em um intervalo de tempo (Burton et al., 2011).

Tanto a direção como a intensidade do vento são influenciadas no decorrer da sua rota, como por exemplo os movimentos de frentes atmosféricas ciclônicas, movimento de rotação da terra e o atrito com a superfície terrestre e objetos a sua frente (Ayoade, 2007). Tanto a topografia como a massa vegetal afetam a velocidade do vento, assim como a posição do local em relação às linhas costeiras e caminhos de circulação dos ventos. Dessa forma, o vento influencia diretamente o microclima de uma área, apresentando efeitos benéficos ou não sobre as culturas (Pereira et al., 2002).

Quando os microclimas são favoráveis, ocorre o sincronismo do desenvolvimento da planta com as condições ambientais, de modo a favorecer a velocidade de extensão do crescimento (Larcher, 2006). Assim, o grau de susceptibilidade de uma planta em relação à ação do vento está diretamente relacionado aos fatores ambientais e de localização de florestas (Ataíde et al., 2015).

As plantas que sofrem com mais constância a ação dos ventos são aquelas localizadas em áreas onde a frequência e velocidade destes são mais elevadas. Essa localização é dependente da topografia do lugar, que pode afetar tanto a exposição da planta ao vento quanto a velocidade, intensidade e turbulência das correntes de ar. Os topos de morros, por apresentar superfícies mais elevadas e escarpadas, não oferecem tanto abrigo para as plantas quando comparados aos vales. Entretanto, o grau do abrigo varia conforme a forma do vale e a direção do vento (Ruel, 1998)

Utilizando-se a escala do vento de Beaufort, a velocidade do vento pode ser estimada por meio de observações das condições da superfície do local (Primault, 1979). Pela escala, tem-se a caracterização do vento variando entre força 0 até 12. O vento com força 0, considerado calmo, apresenta velocidade que vai de 0 a 0,5 m.s⁻¹, tendo ausência do menor deslocamento dos objetos mais leves. Ventos com força 2, com velocidade entre 2,0 e 3,1 m.s⁻¹, são caracterizados como uma brisa leve, com observação de uma leve agitação das folhas enquanto ventos com força 4, atingem velocidade entre 5,6 a 8,2 m.s⁻¹, sendo considerados como moderado, movendo os pequenos galhos das árvores.

A ação mecânica do vento pode resultar tanto em efeitos positivos como negativos, de acordo com sua intensidade. O vento pode auxiliar, por exemplo, o processo de polinização, estimular a quebra de gradiente térmico e de umidade no perfil da cultura, moderar o fluxo de CO₂, dentre outros benefícios, sendo ideal

quando presente de forma moderada. Por outro lado, quando em elevadas velocidades, sua ação mecânica nas plantas promove alterações morfológicas, que favorecem a entrada de patógenos no tecido da planta, até mesmo a queda de folhas, flores e frutos e galhos (Ometto e Caramori, 1981).

É possível caracterizar a ação do vento quanto aos seus efeitos provocados nas plantas expostas, que podem ser diretos ou indiretos. Os efeitos indiretos são caracterizados pela ocorrência de ferimentos nas folhas e ramos, permitindo a penetração de patógenos. Dentre os efeitos diretos, estão as injúrias observadas na região do colo causados pelo atrito com o solo e lesões acompanhadas de perda das folhas, flores e frutos. (IBC, 1981). A queda prematura das folhas resulta em mudanças fisiológicas em resposta à perda de água, mudanças hormonais e redução na taxa de alongamento celular.

As folhas se caracterizam como os órgãos mais intolerantes a ao vento, resultando em alterações nas taxas fotossintéticas e de transpiração (Wada et al., 2014; Huang et al., 2016). O efeito do vento sobre a fotossíntese tem sido bastante estudado e considerado como mais variável e complexo do que outro estresse ambiental (Huang et al., 2016). A influência do vento atinge diretamente a fotossíntese e a fisiologia da planta devido a estímulo mecânico. Além disso, esse estresse apresenta efeito indireto na alteração da camada de ar limítrofe, aumentando a concentração de CO₂ (Nagano et al., 2013) e reduzindo as taxas fotossintéticas, resultando em fechamento estomático (Zhao et al., 2011).

A redução do tamanho da planta e o maior desenvolvimento do diâmetro caulinar são apresentados como um comportamento de adaptação da planta, visando melhor suportar o estresse mecânico proporcionado pelo vento, de modo a torná-la mais compacta e menos flexível. É comum ocorrer também redução da área foliar e menor incremento da massa seca da parte aérea (Caramori et al., 1986). A susceptibilidade ou resistência das plantas submetidas a ação dos ventos está relacionada ao seu tamanho, característica da sua copa e sistema radicular, além da própria intensidade do vento e as condições ambientais do local (Nielsen, 2005).

Alguns estudos têm demonstrado o aumento de carboidratos estruturais (celulose e hemicelulose) e lignina visando suporte da morfogênese bem como reduzir as dilacerações foliares (Barbehenn et al., 2015). Entretanto, devido ao fato da fotossíntese reduzir em ambientes com ventos, a resposta de associação entre alocação de carboidratos ainda não é muito bem definida (Yang et al., 2017).

Considerando o vento como estresse mecânico para as plantas, o uso de quebra-ventos tem como principal finalidade reduzir a velocidade do vento de forma a melhorar as condições ambientais para o desenvolvimento de culturas. Quebra-ventos arbóreo são constituídos por barreiras de renques de árvores dispostos em direção perpendicular aos ventos dominantes. Através de sua implantação, ocorre redução nas perdas de água do solo por evapotranspiração, aumento da temperatura do ar e do solo ao longo o dia, controle da erosão eólica, além da diminuição dos danos causados às plantas (IBC, 1981). Apesar dos benefícios relatados pela utilização de quebra-ventos, sua utilização ainda é pequena na agricultura (Volpe e Schöffel, 2001).

3.3 O silício e seus efeitos nas plantas

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 mineral inerte nas areias, tais como quartzo, caulinita, micas, feldspato e outros argilominerais silicatados (Mineropar, 2005; Reis et al., 2007). No solo, o silício encontra-se como ácido monossilício, sua parte na forma não dissociada dado seu elevado pKa (9,6), apresentando comportamento de base, apesar de ser um ácido (Savant et al., 1997).

A absorção desse elemento pelas plantas ocorre na forma de $\text{Si}(\text{OH})_4$, porém não se conhece totalmente os mecanismos para sua absorção e translocação para dentro da planta, 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 (Marschner, 1995; Epstein, 1994).

Muitas plantas são capazes de acumular altos níveis de Si em suas partes aéreas, mas esse elemento se acumula em qualquer tecido da planta, representando de 0,1 a 10% da matéria seca (Ma e Takahashi, 1990). A diferença no acúmulo de Si entre as espécies tem sido associada às diferentes capacidades de absorção desse elemento pelas raízes. O transporte radial de Si pode ocorrer através de duas formas, da solução externa para as células corticais da raiz, podendo ocorrer por transportadores, gastando energia, ou pode acontecer sem

gasto de energia. No transporte do Si das células corticais para o xilema, o carregamento desse tecido é mediado por um tipo de transportador, podendo também ocorrer por difusão passiva (Ma e Yamaji, 2008).

O menor acúmulo de Si em dicotiledôneas pode ter explicação através da menor densidade de transportadores da solução externa para a célula cortical e um defeito ou até ausência de um transportador de células corticais para o xilema (Ma e Yamaji, 2008). Todavia, vários estudos relatam a interferência positiva do Si no crescimento de dicotiledôneas (Zhu et al., 2004; Guo et al., 2006; Gunes et al., 2007; Gunes et al., 2008; Mali e Aery, 2009; Crusciol et al., 2009).

Depois de absorvido pela planta, 99% do silício acumulado 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).

Do ponto de vista fisiológico e metabólico, o Si não é considerado um elemento essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas (Epstein, 1994). Contudo, o aumento na disponibilidade desse elemento tem levado ao aumento de crescimento e produtividade, dado que o Si pode atuar na forma indireta sobre alguns aspectos da fisiologia e bioquímica da planta, principalmente quando essas estão submetidas a algum tipo de estresse, seja de natureza biótica ou abiótica (Ma e Yamaji, 2008).

Em relação ao fornecimento do Si às plantas através do solo ou das folhas, as influências dessas formas de adubação ainda não são totalmente esclarecidas. A absorção radicular ocorre somente quando o Si estiver a forma do ácido monossilício neutro (H_4SiO_4), devido às condições do pH da grande maioria dos solos cultivados. Contudo, as formas aniônicas (H_3SiO_4^- e $\text{H}_2\text{SiO}_4^{2-}$) são eficientes em suprir a planta de Si (Casey et al., 2003; Mitani et al., 2005). A maior parte do Si, por ser transportado pelo xilema, fica retida na parede celular dos vasos, não ocorrendo redistribuição para as outras partes da planta (Ma e Takahashi, 1990). No interior da planta, mais de 90% do Si encontra-se na forma insolúvel, na forma de sílica-gel ou opala (Parry e Smithson, 1964).

Quando fornecido à planta na forma de adubação no solo, a disponibilidade do Si deve ser constante às raízes, visando garantir seu suprimento para o desenvolvimento vegetal. Ministrado via foliar, devem ser realizadas reaplicações de modo a cobrir as novas folhas lançadas e repor o Si fornecido anteriormente lavado pela chuva (Reis et al., 2007).

Independente da forma de aplicação, a ação do silício nas plantas tem se mostrado benéfica de modo a aumentar a atividade fotossintética, promover plantas mais eretas, reduzir a transpiração, aumentar a resistência mecânica das células à insetos e outros patógenos como fungos, além de diminuir o efeito tóxico de determinados metais pesados (Epstein, 1994; Korndörfer et al., 2002; Lana et al., 2003; Pinto et al., 2014). O silício é o único elemento que confere resistência a diversos estresses causados em plantas (Savant et al., 1999).

Uma vez absorvido, o Si se acumula nos pontos de transpiração e nas paredes dos vasos do xilema, podendo ser importante para prevenir a compressão dessas células xilemáticas quando a taxa de transpiração for elevada (Balastra, 1989; Raven, 2014). Ainda no funcionamento como barreira mecânica, o Si quando depositado sobre as células epidérmicas, dificulta a penetração do tubo infectivo dos fungos (Lima Filho et al., 1999).

O silício pode agir como um elemento indutor de mecanismos de defesa, levando à ativação de genes de produção de compostos fenólicos, suberina, lignina, calose, 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, peroxidase do ascorbato, peroxidase do guaiacol e dismutase do superóxido.

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 cofator catiônico das enzimas envolvidas nos eventos das defesas contra patógenos (Fauteux et al., 2005). Uma rápida deposição de compostos fenólicos ou de lignina nos locais mais atingidos pelo estresse se apresenta como um mecanismo de defesa, sendo que a presença de Si facilita esse mecanismo de resistência (Menzies et al., 1991).

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

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.

ALVIM, P.T. Cocoa research in Brazil. In: SIMMONS, J. (Ed.). **Cocoa production: economic and botanical perspectives**. Nova York: Praeger, 1976. p. 272-298.

ATAÍDE, G.M.; CASTRO, R.V.O.; CORREIA, A.C.G.; REIS, G.G. dos; REIS, M.G.F.; ROSADO, A.R. Interação árvores e ventos: aspectos ecofisiológicos e silviculturais. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 2, p. 523-536, 2015.

AYOADE, J. O. **Introdução à Climatologia para os Trópicos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 2007.

BALASTRA, M.L.F.C.; PEREZ, C.M.; JULIANO, B.O.; VILLREAL, P. Effects of silica level on some properties of *Oriza sativa* Straw and Hull. **Canadian Journal of Botany**, v. 67, n. 8., p. 2356-2363, 1989.

BARBEHENN, R. V.; HAUGBERG, N.; KOCHMANSKI, J. e MENACHEM, B. Effects of leaf maturity and wind stress on the nutrition of the generalist caterpillar *Lymantria dispar* feeding on poplar. **Physiological Entomology**, v. 40, p. 212-222, 2015.

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

BEARDEN, M.M.; PEARSON, D. A.; REIN, D.; CHEVAUX, K.A.; CARPENTER, D.R.; KEEN, C.L.; SCHMITZ, H. Potential Cardiovascular Health Benefits of Procyanidins Present in Chocolate and Cocoa. In: PARLIAMENT, T.H.; HO, C.T.; SCHIEBERLE, P. (Ed.). **Caffeinated beverages** – Health benefits, physiological effects and chemistry. Washington, DC: ACS, cap. 19, p. 177-186. 2000.

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

BERGMANN, J.F. The distribution of cacao cultivation in pre-columbian America. **Annals of the Association of American Geographers**, v. 59, n. 1, p. 85-96, 1969.

BISI, A. **Manual ensina cacauicultores a renovar lavoura**. Disponível em: <http://www.linhares.es.gov.br/Noticias/Noticia_Impressao.aspx?id=743>. Acesso em: 08 set. 2015.

BURTON, T.; JENKINS, N.; SHARPE, D.; BOSSANYI, E. **Wind energy handbook**. Nova York: John Willey & Sons, 2011. 729 p.

CARAMORI, P. H.; OMETTO, J. C.; VILLA NOVA, N. A.; COSTA, J. D. Efeitos do vento sobre mudas de cafeeiro mundo novo e catuaí vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 21, n. 11, p. 1113-1118, 1986.

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.

CASEY, W.H.; KINRADE, S.D.; RAINS, C.T.G.; EPSTEIN, D.W. Aqueous silicate complexes in wheat, *Triticum aestivum* L. **Plant Cell Environment**, v. 27, n. 1, p. 51-54, 2003.

CEPLAC. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. Disponível em: Http://www.ceplac.gov.br/radar/radar_cacau.html. Acesso em 15 de outubro de 2017.

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.

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

CRUSCIOL, C. A. C.; PULZ, A. L.; LEMOS, L. B.; SORATTO, R. P.; LIMA, G. P. P. Effects of silicon and drought stress on tuber yield and leaf biochemical characteristics in potato. **Crop Science**, v. 49, n. 3, p. 949-954, 2009.

DUGUMA, B.; GOCKOWSKI, J.; BAKALA, J. Smallholder cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivation in agroforestry systems of West and Central Africa: challenges and opportunities. **Agroforestry Systems**, v. 51, n. 3, p. 177-188, 2001.

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.

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.

FORSDYKE, A. G. **Previsão do tempo e clima**. São Paulo: Melhoramentos, 1981, 159 p.

GUNES, A.; PILBEAM, D. J.; INAL, A.; COBAN, S. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, I: Growth, antioxidant mechanisms, and lipid peroxidation. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 39, n. 13, p. 1885-1903, 2007.

GUNES, A.; KADIOGLU, Y. K.; PILBEAM, D. J.; INAL, A.; COBAN, S.; AKSU, A. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, II: Essential and nonessential element uptake determined by polarized energy dispersive X-ray fluorescence. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 39, n. 13, p. 1904-1927, 2008.

GUO, Z. G.; LIU, H. X.; TIAN, F. P.; ZHANG, Z. H.; WANG, S. M. Effect of silicon on the morphology of shoots and roots of alfafa (*Medicago sativa*). **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 46, p. 1161-1166, 2006.

HARTEMINK, A.E. Nutrient stocks, nutrient cycling, and soil changes in cocoa ecosystems: a review. **Advances in Agronomy**, v. 86, p.227-253, 2005.

HUANG, P.; WAN, X. e LIEFFERS, V.J. Daytime and nighttime wind differentially affects hydraulic properties and thigmomorphogenic response of poplar saplings. **Physiologia Plantarum**, v. 157, p. 85-94, 2016.

IBC. **Cultura do café no Brasil**. Rio de Janeiro. 1981, p.212-5.

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

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.

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. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1982.

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.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RiMa, 2006, 550 p.

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

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

LIMA FILHO, O.F.de; LIMA, M.T.G. de; TSAI, S.M. O silício na agricultura. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 87, p. 1-7 1999.

MA, J.F.; TAKAHASHI, E. The effect of silicic acid in a P-deficient soil. **Plant and Soil**, v. 126, n. 1, p. 121-125, 1990.

MA, J.F.; YAMAJI, N. Functions and transport of silicon in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 65, p. 3049-3057, 2008.

MALI, M.; AERY, N.C.; Effect of silicon on growth, biochemical constituents, and mineral nutrition of cowpea. **Journal of Plant Nutrition**, v. 40, n. 6, p. 1041-1052, 2009.

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

MENEZES, S.; CARMO NETO, D. **A Modernização da agrobusiness do cacau**. Salvador: CARGILL, 1993.

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

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

MITANI, N.; TAMAI, K.; KONISHI, S.; YAMAJI, N.; YANO, M.; MA, J.F. Characterization of silicon uptake system and isolation of LS11 gene from rice root. In: **Silicon in Agriculture Conference**, 3, 2005, Uberlândia: UFU, 124p.

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 Fisiología Vegetal**, 26., 2006, Chascomus, Argentina. Chascomus: AAFV, 2006. 1 CD-ROM.

MOTA, F. S. **Meteorologia Agrícola**. São Paulo: Livraria Nobel, 1983. 376 p.

MÜLLER, M. W. e GAMA-RODRIGUES, A. C. Sistemas agroflorestais com o cacauero. In: VALLE, R. R. (Ed.). **Ciência, tecnologia e manejo do cacauero**. 2. ed. Ilhéus: CEPLAC, 2012. p. 246-271.

NAGANO, S.; NAKANO, T.; HIKOSAKA, K.; MARUTA, E. Arct. Antarc. Alp. Res. 45, 229 (2013).

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.

NIELSEN, C. N. Forest management for improved wind stability. In: **Adaptive physiology and tree management**. Samfundslitteratur Life Sciences, Thorvaldsensvej Denmark, 2005.

OMETTO, J.C. e CARAMORI, P.H. Características do vento e suas implicações em algumas plantas. In: **Resumos do Congresso Brasileiro de Agrometeorologia**, v. 2, Pelotas, RS: Sociedade Brasileira de Agrometeorologia, p.260-267. 1981.

PARRY, D.W.; SMITHSON, F. Types of opaline silica depositions in the leaves of British grasses. **Annals of Botany**, London, v. 28, n. 109, p. 169-185, 1964.

PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, R.; SENTELHAS, P. C. **Agrometeorologia: Fundamentos e aplicações práticas**. Guaíba: Agropecuária, 2002, 478 p.

PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, L. R. & SENTELHAS, P. C. **Meteorologia Agrícola**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – USP, 2007. 125 p.

PIASENTIN, F.B. e SAITO, C.H. Os diferentes métodos de cultivo de cacau no sudeste da Bahia, Brasil: aspectos históricos e percepções. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas**, v. 9, n. 1, p. 61-78, 2014.

PINTO, D.G.; AGUILAR, M.A.G.; SOUZA, C.A.S.; SILVA, D.M.; SIQUEIRA, P.R.; CAO, J.R. Fotossíntese, crescimento e incidência de insetos-praga em genótipos de cacau pulverizados com silício. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 30, p. 715-724, 2014.

PRIMAULT, B. Wind measurement. In: SEEMANN, J.; CHIRKOV, Y.I.; LOMAS, J.; PRIMAULT, B. **Agrometeorology**. Heidelberg: Springer-Verlag, p. 84-96. 1979.

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

RAVEN, P.H.; EICHHORN, S.E.; EVERT, R.F. **Biologia Vegetal**. Guanabara Koogan, 2014. 876.

REIS, T.H.P.; GUIMARÃES, P.T.G.; FIGUEIREDO, F.C.; POZZA, A.A.A.; NOGUEIRA, F.D.; RODRIGUES, C.R. **O silício na nutrição e defesa de plantas**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2007. 124 p. (EPAMIG. Boletim Técnico, 82).

RICE, R.A.; GREENBERG, R. Cacao cultivation and the conservation of biological diversity. **Ambio**, v. 29, n. 3, p.167-173, 2000.

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.

RUEL, J. C.; PIN, D.; COOPER, K. Effect of topography on wind behavior in a complex terrain. **Forestry**, v. 71, n. 3, p. 261-265, 1998.

RUF, F.; SCHROTH, G. Chocolate forests and monocultures: a historical review of cacao growing and its conflicting role in tropical deforestation and forest. In: SCHROTH, G.; FONSECA, G. A. B.; HARVEY, C. A.; GASCON, C.; VASCONCELOS, H. L.; IZAC, A. N. (Eds.). **Agroforestry and biodiversity conservation in tropical landscapes**. Washington: Island Press, 2004. p. 107-134.

RUF, F.; ZADI, H. Cocoa: from deforestation to reforestation. **National Zoological Park**, 2003. Disponível em: <<http://nationalzoo.si.edu/scbi/migratorybirds/research/cacao/ruf.cfm>>. Acesso em: 07 out. 2016.

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.

SCHROTH, G.; FONSECA, G.A.B.; HARVEY, C.A.; GASCON, C.; VASCONCELOS, H.L.; IZAC, A.N. (Eds.). **Agroforestry and biodiversity conservation in tropical landscapes**. Washington: Island Press, 2004.

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.

SOMARRIBA, E.; BEER, J. Productivity of *Theobroma cacao* agroforestry systems with timber or legume service shade trees. **Agroforestry Systems**, v. 81, n. 2, p. 109-121, 2010.

SONNEMAKER, J. B. **Meteorologia PP-PC-IFR-PLA**. São Paulo: Asa, 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.

TUBELIS, A.; NASCIMENTO, F.J.L. **Meteorologia descritiva: fundamentos e aplicações brasileiras**. São Paulo: Livraria Nobel, 1980. 374 p.

VOLPE, C.A. e SCHÖFFEL, E.R. Quebra-vento. In: RUGGIERO, C. **Bananicultura**, Jaboticabal: FUNEP, 2001. p.196-211.

WADA, H.; MASUMOTO-KUBO, C.; GHOLIPOUR, Y.; NONAMI, H. e TANAKA, F. Rice chalky ring formation caused by temporal reduction in starch biosynthesis during osmotic adjustment under foehn-induced dry wind. **Plos One**, v. 9, n. 10, 2014.

YANG, X.; ZHANG, P.; WU, Q.; YAN, H.; YU, M.; WANG, G. e WU, T. Effects of Simulated Wind Load on Leaf Photosynthesis and Carbohydrate Allocation in Eight Quercus Species. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 11, p. 652-657, 2017.

ZHAO, H.L.; ZHAO, X.Y.; ZHANG, T.H.; ZHOU, L. **International Proceedings of Chemical, Biological and Environmental Engineering**, Mumbai, India, 2011.

ZHU, Z.; WEI, G.; LI, J.; QIAN, Q.; YU, J. Silicon alleviates salt stress and increase antioxidante enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science**, Shannon, v. 167, p. 527-533, 2004.

CAPÍTULO 1

Morfoanatomia, trocas gasosas e teores de carboidratos estruturais e de lignina em plantas jovens de cacauero cultivadas em área aberta e com quebra-vento

Resumo

O cultivo do cacauero no Espírito Santo é realizado tanto pelo método cabruca, consistindo na retirada de algumas espécies vegetais, como em áreas abertas, com as plantas totalmente expostas ao tempo, apresentando custo de implantação mais elevado, além de causar impactos sobre o cacauero, uma vez que o estado enfrenta sérios problemas em relação ao vento. As plantas, ao se desenvolverem em ambientes onde os ventos são mais intensos, podem apresentar injúrias mecânicas, aumento da transpiração foliar e redução fotossintética, o que acarreta em menor crescimento do vegetal. Nesse contexto, o uso de quebra-ventos vem sendo utilizado visando reduzir a intensidade dos ventos sobre as plantas. As informações existentes na literatura a respeito da ação mecânica do vento sobre as plantas de cacauero são escassas e sem comprovação experimental. Visto que em locais com ventos intensos o cultivo da espécie é praticamente impossível sem proteção, hipotetizou-se neste trabalho que as plantas expostas ao vento apresentem alterações nas análises morfoanatômicas, fisiológicas e bioquímicas. Assim, objetivou-se caracterizar os efeitos do crescimento de mudas do genótipo PS-1319 de *T. cacao* (L.) em áreas com e sem quebra-vento por meio de análises morfoanatômicas, de trocas gasosas e dos teores de carboidratos estruturais e de lignina. Para tanto, mudas de 3 meses de idade, após enxertia, foram plantadas em duas áreas, uma aberta e outra em consórcio com bananeiras. Foram realizadas análises mensais de crescimento durante 12 meses. Ao final do experimento, foram avaliadas as características de anatomia foliar, trocas gasosas e os teores de carboidratos estruturais e lignina. Os resultados mostraram que as plantas da área aberta tiveram maior densidade e condutância estomática e maior fotossíntese. A anatomia das folhas revelou maior espessamento dos parênquimas paliçádico e esponjoso, maior epiderme abaxial e adaxial, além de maior nervura central e teores

de hemicelulose e lignina. Houve menor crescimento e maior diâmetro caulinar. Concluiu-se que o cacauero na ausência de quebra-vento apresenta elevado custo energético de reparo e manutenção. As plantas apresentaram perda foliar, danos mecânicos nas folhas, as quais foram espessas com maior teor de lignina e hemicelulose. A maior fotossíntese obtida nessas plantas não levou ao crescimento das plantas, sendo provavelmente utilizada na tentativa de suprir essa alta demanda energética anteriormente relatada.

Palavras-chave: análise de crescimento, cacau, fotossíntese, lignina, vento

Abstract

The cocoa farming in Espírito Santo is carried out both through the *cabruca* method, consisting of the withdrawal of some plant species, as well as in open areas, with plants fully exposed to time, presenting a higher implantation cost, besides causing impacts on the cacao tree, since the state faces serious problems with the wind. The plants, when developing in environments where the winds are more intense, may present mechanical injuries, increase of the transpiration foliar and photosynthetic reduction, which causes less plant growth. In this context, the use of windbreaks has been used to reduce the intensity of the winds on the plants. The tree species *T. cacao* is native to South America and has its seeds as the main economic importance. The literature on mechanical wind action on cacao plants is scarce. Since in places with intense winds the cultivation of the species is practically impossible without protection, hypothesized in this work that the plants exposed to the wind present changes in the morpho-anatomical, physiological and biochemical analyzes. The objective of this study was to characterize the growth effects of *T. cacao* (L.) PS-1319 genotypes in areas with and without windbreaks through morphological analysis, gas exchange, and structural carbohydrate and lignin contents. For that, 3-month-old seedlings were planted in two areas, one open and one consortium with banana trees. Monthly growth analyzes were performed for 12 months. At the end of the experiment, leaf anatomy, gas exchange, and structural carbohydrate and lignin contents were evaluated. The results showed that the plants of the open area had higher density and stomatal conductance and greater photosynthesis. The anatomy of the leaves revealed a greater thickening of the palisade and spongy parenchyma, greater abaxial and adaxial epidermis, besides a larger central vein and hemicellulose and lignin contents. There was lower growth and larger diameter caulinar. It was concluded that cacao in the absence of windbreak presents a high energy cost of repair and maintenance. The plants presented leaf loss, mechanical damages in the leaves, which were thicker with higher lignin content and hemicellulose. The higher photosynthesis obtained in these plants did not lead to the growth of the plants, being probably used in the attempt to supply this high energy demand previously reported.

Key words: growth analysis, cocoa, photosynthesis, lignin, wind

INTRODUÇÃO

No Espírito Santo o cacauero é cultivado principalmente no sistema denominado cabruca, caracterizado pela remoção de algumas espécies vegetais de modo a abrir espaços para o cultivo da planta. Embora seja considerado mais econômico, esse sistema passou ser desvalorizado, passando a ser promovido um método com retirada de todas as árvores existentes no local, deixando as plantas totalmente expostas ao tempo. Esse método de cultivo tem sido adotado por resultar em aumento da produtividade nos primeiros anos, mesmo que sua implantação chegue a custar quatro vezes mais quando comparado ao sistema cabruca (Alvim, 1976).

O vento se constitui uma variável ambiental que promove estresse nas plantas assim como outros fatores ambientais como temperatura e luz, apesar de não receber a mesma importância (Coutand, 2010). As plantas reagem de maneiras distintas ao vento, sendo caracterizada por Whitehead (1961) em três grupos: as que escapam da ação do vento devido ao seu porte; as que toleram devido a características morfológicas; e as sensíveis, cujos crescimento e produtividade diminuem com a velocidade do vento.

As plantas que se desenvolvem em ambientes com vento apresentam injúrias mecânicas como dilaceração e necrose de folhas, redução da altura, aumento da transpiração foliar e incremento do diâmetro caulinar (Puijalon et al., 2011; Houston et al., 2016). O vento ainda pode favorecer o ataque e disseminação de doenças e ser uma das causas da redução da produção do cacauero (Alvim, 1977). Dentre as culturas, as perenes são as mais afetadas pelos efeitos do vento pois possuem maior porte e permanecem por períodos mais longos no campo (Resende e Resende Júnior, 2011).

Uma das formas de reduzir a intensidade dos ventos sobre as plantas é pelo uso de sistemas de quebra-vento. Na agricultura, esses sistemas apresentam diversas funções como a conservação da umidade do solo e aumento da eficiência da irrigação e do uso da água (Volpe e Schöffel, 2001), além da proteção das plantas contra os efeitos causados pelo vento, de modo a afetar seu desenvolvimento. Nesse contexto, a bananeira (*Musa* sp.) tem sido utilizada como quebra-vento revelando-se como benéfica ao atenuar a velocidade do vento, de modo a favorecer maior umidade do ar (Pezzopane et al., 2005), além de ser uma

oportunidade para otimizar recursos, fornecendo equilíbrio entre alimentos e geração de renda (Asten et al., 2011).

A espécie arbórea *T. cacao* é originária da América do Sul e apresenta propagação natural para a América Central (Bearden et al., 2000), ocorrendo em regiões de clima quente e úmido. A principal importância econômica da planta provém de suas sementes, as quais são utilizadas para a produção do chocolate (Almeida e Valle, 2007). A lavoura cacaeira ainda apresenta importância ambiental uma vez que, embora seja uma planta exigente quanto às condições de clima e solo, restitui à terra parte daquilo que retira, constituindo-se um cultivo perene e renovável (CEPLAC, 2015).

As informações existentes na literatura a respeito da ação mecânica do vento sobre as plantas de *T. cacao* são escassas. Em locais com ventos frequentes, tem sido observado que é praticamente impossível cultivar o cacaeiro sem proteção por quebra-ventos (Alvim et al., 1978). Assim, hipotetizou-se neste trabalho que análises morfoanatômicas, fisiológicas e bioquímicas poderiam elucidar as mudanças mecânicas promovidas pela ação do vento em cacaeiro, além de contribuir para o entendimento dos mecanismos utilizados por essas plantas para sua aclimação. Assim, o objetivo do trabalho foi caracterizar os efeitos da ausência de quebra-vento no crescimento do genótipo PS-1319 de *T. cacao* por meio de análises morfoanatômicas, de trocas gasosas e dos teores de carboidratos estruturais e de lignina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Condição experimental e material botânico

O experimento foi conduzido na fazenda Dedo de Deus, localizada no município de Linhares, Espírito Santo, e instalado em duas áreas com intensidades de ventos distintas. Na área aberta, os cacaeiros estavam sujeitos a ventos mais intensos. Na área consorciada com bananeiras (espaçamento de 3,5m x 2,80m), as mudas de cacaeiros eram sujeitas a menor intensidade do vento. Foi utilizado um anemômetro portátil (Instrutherm) para se obter as médias das velocidades do vento nas áreas do estudo. A velocidade média anual do vento na área de consórcio com

bananeiras foi de 3,1 m/s com radiação máxima de 734 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, enquanto na área aberta (tratamento com maior exposição ao vento) foi de 6,7 m/s com 814 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de luminosidade máxima. O solo das áreas apresenta classificação textural franco argilosa, com 40% de argila (Laboratório de Análise Agronômica e Ambiental Fullin). Foram utilizadas mudas após a exortia com o genótipo PS-1319 de *T. cacao*, com três meses. A duração do experimento foi de 12 meses.

2.2 Análise de crescimento

As medidas de crescimento foram realizadas mensalmente durante os 12 meses. Foram realizadas medidas de altura e diâmetro caulinar em 10 indivíduos por área. A altura (cm) foi medida a partir da gema apical até a base caulinar com o auxílio de uma trena e o diâmetro caulinar (mm) foi obtido utilizando-se um paquímetro digital posicionado a 1 cm a partir do solo.

2.3 Análise morfologia e anatomia foliar

Durante o experimento, foram feitas observações mensais de necroses foliares nas plantas das áreas aberta e consorciada. Ao final do experimento, foram coletadas 10 folhas totalmente expandidas, sendo uma por indivíduo. Essas folhas estavam localizadas no 3º nó a partir da gema apical, e após a coleta, foram fixadas em FAA 70 (formaldeído, ácido acético e etanol 70%) por 48 horas (Johansen, 1940) e, posteriormente, conservadas em etanol 70%. Para o seccionamento das amostras, foram utilizadas porções do terço mediano do limbo foliar. Os cortes foram feitos utilizando-se micrótomo de mesa, sendo posteriormente clarificados e corados com solução de Azul de Astra e Safranina 1% (Kraus e Arduin, 1997) e as lâminas foram montadas em glicerina pura. A determinação da densidade estomática ($\text{n}^\circ/\text{mm}^2$) foi realizada pela impressão da epiderme em lâminas de vidro com utilização de adesivo instantâneo Tekbond® na face abaxial da folha.

As análises anatômicas quantitativas foram realizadas por meio de medições da nervura foliar (NF), da espessura total do limbo foliar (LF), da epiderme adaxial (EAD) e abaxial (EAB) da folha e dos parênquimas paliçádico (PP) e esponjoso (PE) e o valores obtidos em μm . As observações e a documentação fotográfica foram realizadas com câmera fotográfica digital (Nikon digital DS-Ri1, DS-U3, Nikon Tec.

Comportation, Tokyo, Japan) acoplada ao microscópio óptico (Nikon, Eclipse 50i, Tec. Comportation, Tokyo, Japan) e a um software de análise de imagens (Nikon NIS-Elements, Tec. Comportation, Tokyo, Japan). Todas as análises quantitativas foram realizadas com auxílio do software ImagJ1 (US National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA).

2.4 Análise de trocas gasosas

Ao final do experimento, as medidas de trocas gasosas foram realizadas no período da manhã em folhas totalmente expandidas a partir do segundo nó. Foram utilizadas duas folhas por indivíduo num total de 10 indivíduos. Para as medidas, foi utilizado um analisador de gás infravermelho (LI-6400XT LI-COR, Lincoln, USA) acoplado com fonte de luz vermelho/azul (LI-6400-02B LED). Foram obtidos os dados de assimilação líquida de CO₂ (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (gs) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) concentração intercelular de CO₂ (C_i) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$), taxa de transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e o déficit de pressão de vapor (DPV) (KPa). A eficiência intrínseca do uso da água foi calculada pela razão A/gs ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$).

2.5 Determinação do teor de lignina

Foi utilizada a metodologia de Dos Santos et al. (2008). Para tanto, ao final do experimento, foram utilizadas duas folhas por indivíduos de um total de 10 indivíduos. As amostras foram secas em estufa a 60 °C até a obtenção de massa constante. Em seguida foram trituradas em moinho de bola e colocadas em tubos falcon, contendo tampão fosfato de sódio e potássio 50 mM, pH 7, sendo posteriormente centrifugados por 5 min. O sobrenadante foi descartado e iniciou-se um processo de lavagem sequencial, com centrifugação e descarte do sobrenadante, com tampão fosfato 50 mM em pH 7, triton X-100 1% em tampão fosfato com pH 7, NaCl 1 M em tampão fosfato pH 7, água deionizada e acetona 100%. O precipitado foi seco em estufa a 60 °C por 24 horas e deste, 50 mg foram retirados e homogeneizados com ácido tioglicólico e HCl 2 M, sendo posteriormente deixados em banho maria a 95 °C por 60 minutos e em seguida centrifugados. Após o descarte do sobrenadante, o precipitado foi lavado com água deionizada e

centrifugado. O precipitado recebeu NaOH 0,5 M e foi deixado em mesa agitadora por 18 horas, sendo posteriormente centrifugado.

Após descarte do sobrenadante, o precipitado foi homogeneizado com NaOH 0,5 M, centrifugado e acidificado com HCl P.A. e mantido por 12 horas em geladeira a 4 °C para precipitação da lignina ligada ao ácido tioglicólico, sendo em seguida, centrifugado com descarte do sobrenadante. O precipitado foi lavado com água deionizada e novamente foi submetido a centrifugação, sendo mantido em estufa a 60 °C por 24 horas. Adicionou-se NaOH 0,5 M ao precipitado e utilizou-se uma solução de lignina SIGMA como padrão. A absorbância dessa solução foi determinada em espectrofotômetro a 280nm e os valores calculados com base na curva de lignina solúvel (0-100 µg mL⁻¹) e expressos em µg de lignina solúvel por miligrama de massa seca.

2.6 Determinação do teor de celulose

Para a determinação de celulose, utilizou-se a metodologia de Brendel et al. (2000). Ao final do experimento, foram utilizadas duas folhas por indivíduos de um total de 10 indivíduos. As folhas foram posteriormente secas em estufa a 60 °C até a obtenção de massa constante e trituradas em moinho de bola e misturadas com ácido acético 80% e ácido nítrico 69% em tubos de vidro rosqueados. Os vidros foram deixados em banho-maria a 100°C, por 1 hora e, após esfriar, as amostras foram transferidas para tubos falcon de 15 mL. Foi então adicionado etanol 99% e os tubos foram agitados em vortex, sendo posteriormente centrifugados. O sobrenadante foi descartado do tubo e adicionou-se etanol 99%, sendo novamente centrifugado, tendo o sobrenadante descartado, e depois adicionou-se de água deionizada. Novamente centrifugaram-se os tubos com posterior descarte do sobrenadante.

Os tubos tiveram adição de NaOH 17% a cada um deles, e foram deixados em temperatura ambiente por 10 minutos, sendo então centrifugados e tendo seus sobrenadantes descartados. Posteriormente, foi adicionada de água deionizada e mais uma vez os tubos sofreram centrifugação e descarte do sobrenadante. Então, os tubos receberam água deionizada juntamente com ácido acético 80% e, após terem sido agitados em vortex, receberam mais água deionizada sendo então centrifugados com posterior descarte do sobrenadante. Foi realizada uma última

lavagem do material com água deionizada, com centrifugação e descarte do sobrenadante a cada lavagem. O material então foi seco em estufa e pesado após atingir massa constante.

2.7 Determinação do teor de hemicelulose

A determinação de hemicelulose foi realizada seguindo o método proposto por Schädel et al. (2010), sendo realizada ao final do experimento. Foram utilizadas duas folhas por indivíduos, de um total de 10 indivíduos, que, após secas, foram trituradas em moinho de bola, e acondicionadas em micro tubos de 2 mL com etanol 80% e levadas em banho maria a 80°C por 20 minutos, sendo posteriormente centrifugados a 10°C por 5 minutos, tendo os sobrenadantes descartados. A etapa de adição do etanol até a centrifugação foi repetida 3 vezes.

O pellet obtido da última centrifugação foi seco em estufa 50°C por 24h, com posterior acréscimo de DMSO 90% e mantido em placa agitadora por 24 horas para a extração do amido. O material então foi centrifugado por 5 minutos a 10°C, tendo seu sobrenadante descartado e recebido água deionizada, sofrendo mais uma centrifugação e descarte do sobrenadante. Essa lavagem com água deionizada foi repetida 3 vezes com o pellet final sendo seco em estufa a 50°C por 24 horas.

Ao material seco foi adicionado detergente neutro, para se extrair resíduos solúveis e pectinas, e sulfito de sódio (mg/mL), para a extração de proteínas. Posteriormente os tubos foram levados para banho maria a 100°C por 60 minutos com agitação, sendo centrifugados por 5 minutos a 10°C e descartados os sobrenadantes. O precipitado foi lavado com água deionizada quente, acetona 100% e água deionizada. Após centrifugação e descarte do sobrenadante, o material foi seco em estufa a 50°C por 24 horas e posteriormente pesado.

Os tubos contendo as amostras receberam detergente ácido e foram levados em banho maria a 100°C por 60 minutos com agitação. Após sofrerem centrifugação e terem os sobrenadantes descartados, os tubos, contendo os precipitados, foram lavados com água deionizada, centrifugados e tiveram os sobrenadantes descartados. O precipitado de cada tubo foi seco em estufa a 50°C por 24 horas e pesados. A celulose de cada amostra foi obtida pela diferença gravimétrica entre a fração total de parede celular e a fração de celulose e lignina.

2.8 Análise estatística

Todos os dados foram submetidos à análise de variância com as médias comparadas pelo teste T considerando diferenças significativas para valores de $p \leq 0,05$. As análises foram realizadas utilizando-se o software InfoStat (Versão 2011, Grupo InfoStat, FCA, Universidade Nacional de Córdoba, Argentina).

3 RESULTADOS

Nas plantas na área aberta, foram observadas alterações foliares como dilacerações, necroses internervurais e marginais e até abscisão de algumas folhas. Já as plantas consorciadas permaneceram sem alterações foliares (Figura 1). Ambos os grupos de plantas (área aberta e consórcio com bananeiras) apresentaram aumento na altura e no diâmetro do caule, sendo que esse aumento teve início a partir do segundo mês para altura, e a partir do quarto mês para o diâmetro caulinar. As plantas da área aberta apresentaram menor altura ao longo da duração do experimento e menor diâmetro caulinar, sendo que a maior diferença para a altura foi observada no sexto mês após o plantio (38%) e, para o diâmetro do caule, no sétimo mês (40,9%) (Figura 2).



Figura 1 – Plantas de cacaveiro com 12 meses de idade. À esquerda, um indivíduo da área consorciada com bananeiras, menos exposta ao vento, e no meio e à direita, indivíduos da área aberta, mais exposta ao vento.

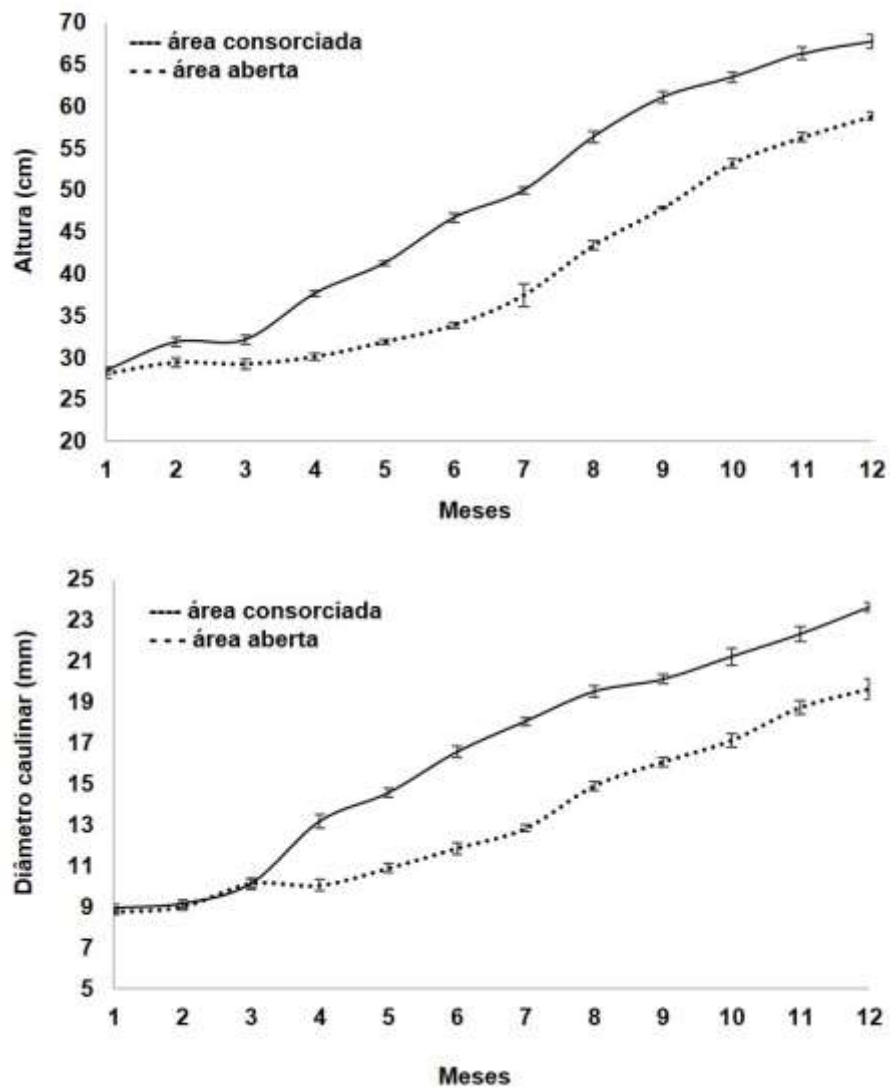


Figura 2 – Altura e diâmetro caulinar de plantas de cacauero durante 12 meses em área consorciada, com menor exposição ao vento e outra aberta, com maior exposição ao vento.

As variáveis anatômicas foram significativamente afetadas pelo vento, apresentando os maiores valores para todas as análises estudadas (Tabela 1). Plantas da área aberta apresentaram maior área de nervura (10%), limbo foliar (30%), epiderme adaxial (11%), epiderme abaxial (12%), parênquima paliçádico (64)% e parênquima esponjoso (37%) em relação às plantas consorciadas (Figura 3). As plantas da área aberta tiveram maior densidade estomática (60%) em relação às plantas consorciadas.

Tabela 1 – Parâmetros de anatomia foliar de cacauero em área aberta e consorciada com bananeiras.

Variáveis	Área consorciada	Área aberta
Nervura foliar (μm)	591,3	650,2*
Limbo foliar (μm)	131,6	170,9*
Epiderme adaxial (μm)	20,2	22,3*
Epiderme abaxial (μm)	10,4	11,7*
Parênquima paliçádico (μm)	38,9	63,6*
Parênquima esponjoso (μm)	51,0	69,8*
Densidade estomática ($\text{n}^\circ/\text{mm}^2$)	298	479*

O asterisco indica diferença significativa entre as médias dos tratamentos ($P \leq 0,05$, Teste T).

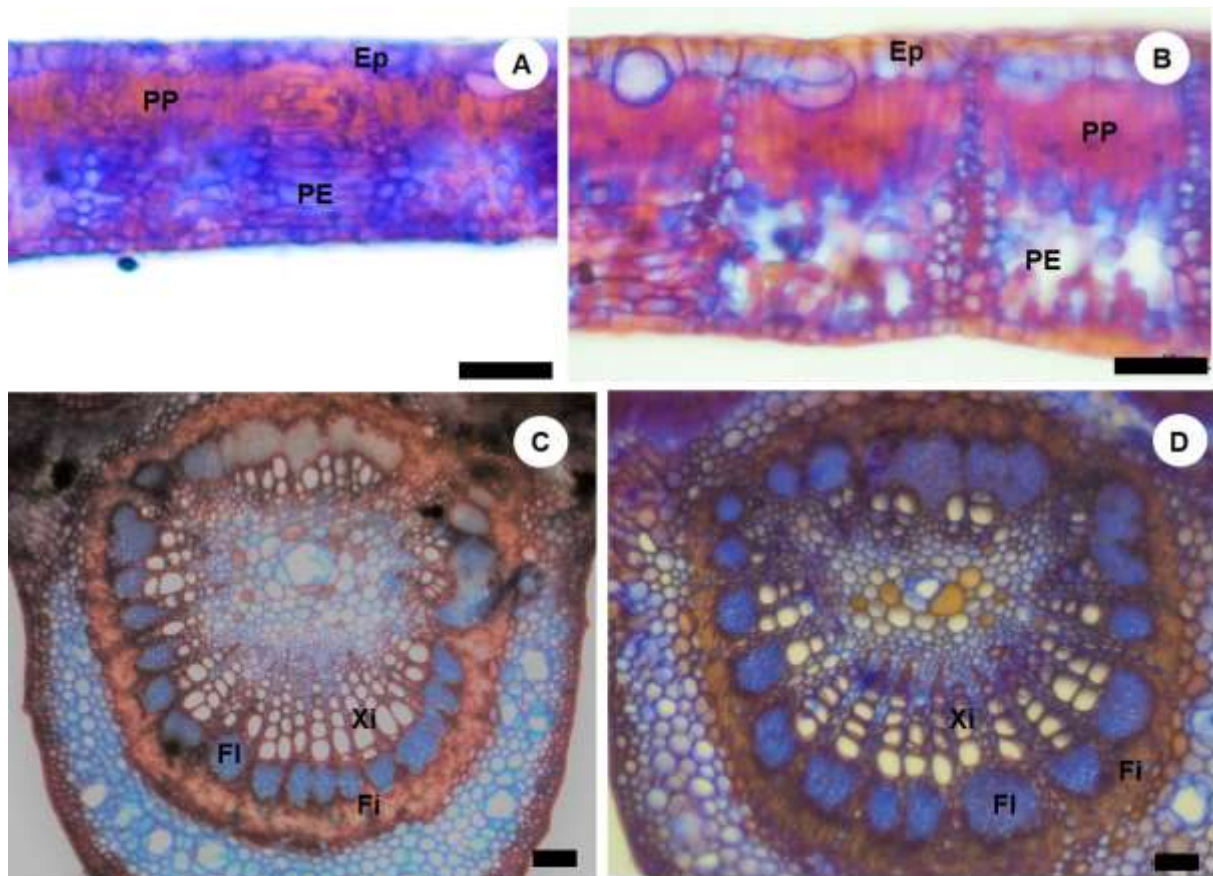


Figura 3. Secções transversais do limbo de plantas de cacauero em área aberta e consorciada. (A e C) Área consorciada, com menor exposição ao vento. (B e D) Área aberta, com maior exposição ao vento. As barras em A e B correspondem a 50 μm e, em C e D, a 25 μm . (Ep) epiderme (Fi) fibras (FI) floema (PE) parênquima esponjoso (PP) parênquima paliçádico (Xi) xilema.

Os maiores valores de fotossíntese (16%), condutância estomática (37%) e transpiração (27%) assim como a menor eficiência intrínseca do uso da água (20%) foram observados nas plantas da área aberta. Não houve diferença significativa para o carbono interno entre as plantas dos dois tratamentos. O déficit de pressão de vapor foi menor (21%) nas plantas da área aberta (Tabela 2).

Tabela 2 – Parâmetros de trocas gasosas de folhas de cacaueteiro em área aberta e consorciada com bananeiras.

Variáveis	Área consorciada	Área aberta
Fotossíntese ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	7,7	8,9*
Condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	0,08	0,11*
Carbono interno ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$)	257	252
Transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	2,5	3,2*
Eficiência intrínseca do uso da água ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$)	95,8	79,8*
Déficit de pressão de vapor (KPa)	2,78	2,29*

O asterisco indica diferença significativa entre as médias dos tratamentos ($P \leq 0,05$, Teste T).

As plantas da área aberta exibiram os maiores teores de lignina (20%) e de hemicelulose (30%) e menores teores de celulose (20%) (Tabela 3).

Tabela 3 – Teores de lignina e de carboidratos estruturais em folhas de cacaueteiro em área aberta e consorciada com bananeiras.

Variáveis	Área consorciada	Área aberta
Lignina ($\text{mg g}^{-1} \text{ MS}$)	40	49*
Celulose (mg)	10,50	8,75*
Hemicelulose ($\text{mg g}^{-1} \text{ MS}$)	0,14	0,18*

O asterisco indica diferença significativa entre as médias dos tratamentos ($P \leq 0,05$, Teste T).

4 DISCUSSÃO

As alterações observadas na morfologia foliar das plantas da área aberta foram resultantes do movimento repetitivo de esfregadura das folhas causado pelo vento, o qual é ainda mais expressivo em folhas largas (Vogel, 2009), como as do cacauero, resultando nas dilacerações, necroses e abscisão observadas. Resultados semelhantes foram encontrados por Alvim et al. (1978), Leite e Alvim (1980), Gomes e Kozlowski (1989) e Reis et al., (2018) ao submeterem genótipos de cacauero ao vento.

As injúrias observadas nas folhas podem também ser atribuídas à ruptura de tecidos do pulvino, apesar de não ter sido analisado no presente trabalho. Quando existe elevada transpiração, como a apresentada pelas plantas mais expostas ao vento, ocorre desidratação das folhas acarretando na quebra do pulvino, sendo que em cacauero, essa ruptura é resultante da combinação do vento com a luminosidade (Onoda e Anten, 2011).

A diferença entre a altura das plantas nos dois tratamentos, observada logo após o primeiro mês de plantio, indica que o vento afeta o desenvolvimento dessas plantas no campo num período inicial. Tal redução no crescimento a tornaria mais compacta e menos flexível, podendo se caracterizar como uma aclimatação ao estresse mecânico provocado pelo vento (Nielsen, 2005).

A maior diferença observada na altura e no diâmetro caulinar entre os dois tratamentos no sexto e sétimo mês após o plantio, respectivamente, pode indicar que, num primeiro momento, as plantas da área aberta tiveram seu crescimento mais afetado, mas posteriormente apresentaram-se menos prejudicadas pelo vento, uma vez que, desse período até o 12^o mês, houve uma diferença menos expressiva dessas variáveis entre os dois tratamentos. O vento, quando incidido sobre plantas jovens, afeta seu crescimento inicialmente, porém as tornam mais robustas posteriormente (Melo, 2004).

Apesar do vento exercer uma tensão mecânica sobre o caule, acarretando no aumento do seu crescimento secundário (Puijalon et al., 2008; Anten et al., 2005), no presente estudo, o cacauero não teve alteração do diâmetro caulinar. Um caule mais espessado reduziria o risco de quebra da planta em ambientes com vento em elevadas velocidades (Vogel, 2003), enfatizando a sensibilidade do cacauero ao

vento, uma vez que foram observadas algumas plantas mortas com a raiz exposta e caules partidos durante o experimento.

A maior espessura encontrada nas folhas das plantas da área aberta enfatiza que esses órgãos são os mais intolerantes em ambientes com maior intensidade de ventos, apresentando maiores alterações quando comparadas aos ramos e a outras partes da planta (Huang et al., 2015). O movimento foliar repetitivo leva à exposição dos tecidos internos por dilaceração, o que estimula a atividade mitótica bem como o depósito de lignina na parede celular (Barbehenn et al., 2015), podendo explicar os maiores valores apresentados pelos parênquimas clorofiliano e esponjoso, por ambas as faces da epiderme e pela nervura foliar.

As modificações anatômicas observadas nas plantas da área aberta, tais como aumento da nervura e da densidade estomática, podem estar relacionadas com o balanço hídrico nas folhas, demonstrando-se como vantajosas por representar algum valor de aclimatação em relação à perda de água. A alta densidade estomática obtida pode refletir em um mecanismo que permita minimizar os efeitos da transpiração elevada (Larcher, 2006).

Sabe-se que os estômatos podem funcionar como sensores de umidade, a qual pode interferir no seu grau de abertura, e que o vento reduz a umidade presente na superfície foliar (Taiz e Zeiger, 2013; Wada et al., 2014). Um maior número de estômatos pode estar acompanhado de menor abertura dos poros, não sendo necessário que se fechem totalmente e, por consequência, não prejudiquem a condutância nem a fotossíntese. Ao trabalhar com plantas de cacauete submetidas a dois níveis de umidade, Gomes et al. (1987) observaram que os estômatos eram mais abertos no grupo de plantas expostas à maior umidade e que houve fechamento estomático quando a umidade foi reduzida.

A maior fotossíntese das plantas da área aberta pode estar relacionada à redução do tamanho da folha devido às dilacerações observadas. A perda de parte da folha geralmente leva ao aumento da performance fisiológica no tecido restante possivelmente devido ao maior suprimento de água e nutrientes (Cleugh et al.; 1998). Além disso, a maior fotossíntese dessas plantas pode ser resultante da maior espessura foliar obtida, como relatado por Grace (1988) e Cleugh et al. (1998), e também às elevadas taxas de transpiração e condutância estomática, o que mais uma vez indica que os estômatos se mantiveram abertos.

Embora vários trabalhos com vento relatem redução da transpiração e da fotossíntese (Dixon e Grace, 1984; Cordero, 1999; Schymanski e Or, 2015 e Huang et al., 2016), quando incidido sobre as plantas, o vento promove aumento da transpiração uma vez que, por levar ar mais seco em contato com as células epidérmicas, remove as camadas de ar úmido que tendem a se acumular sobre a superfície foliar, aumentando o gradiente de pressão de vapor (Taiz e Zeiger, 2013). Ainda, o fato da área aberta receber luz durante um período maior, quando comparada à área consorciada, também resulta em alta assimilação de carbono.

Apesar das plantas estarem supridas com água disponível no solo, do registro de elevadas velocidades do vento na área aberta e da transpiração elevada, o déficit de pressão de vapor (DPV) não foi maior nesse grupo de plantas. Por outro lado, o menor DPV pode ter sido primordial para a manutenção da abertura estomática (Streck, 2003), permitindo os maiores valores de condutância e fotossíntese. A modulação da condutância estomática pelo DPV é importante para evitar perda excessiva de água pelas plantas em condições de alta demanda evaporativa atmosférica, como é o caso de ambientes abertos onde se tem ocorrência de ventos com altas velocidades (Gomes et al., 1987; Mielke, 1997). Houve redução das trocas gasosas em plantas em função do aumento do DPV como relatado por Catovsky et al. (2002) e Ngugi et al. (2004).

Para as plantas da áreas aberta, mais exposta ao vento, maiores teores de lignina e hemiceluloses se caracterizam como vantagem, pois essas duas macromoléculas estão altamente organizadas na parede celular, agregando-se à celulose de forma a promover consistência à parede celular vegetal, o que resulta em maior elasticidade e resistência (Tsoumis, 1991) e confere maior força mecânica (Read e Strokes, 2006). O maior depósito de lignina na parede celular de plantas que crescem em ambientes sujeitos ao vento é explicado como um estímulo mecânico (Grace, 1988) uma vez que esse polímero objetiva melhorar a morfogênese e reduzir dilacerações (Barbehenn et al., 2015).

5 CONCLUSÃO

O cacauzeiro cultivado na ausência de quebra-vento apresenta um elevado custo energético de reparo e manutenção. As plantas exibiram elevada perda foliar, danos mecânicos nas folhas, sendo mais espessas e com maior teor de lignina e hemicelulose. A maior fotossíntese obtida nessa condição não promoveu o crescimento das plantas, sugerindo ter sido utilizada na tentativa de suprir essa alta demanda energética anteriormente relatada.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- ALVIM, P.T. Cocoa research in Brazil. In: SIMMONS, J. (Ed.). **Cocoa production: economic and botanical perspectives**. Nova York: Praeger, 1976. p. 272-298.
- ALVIM, P.T. Cacao. In: ALVIM, P. T.; KOZLOWSKI, T. T. (Eds.). **Ecophysiology of tropical crops**. Nova York: Academic Press, 1977. p. 279-313.
- ALVIM, P.T.; ALVIM, R e LEITE, R.M. Mechanical injury of wind to recently transplanted cacao: seedlings as related to the shade problems. **Revista Theobroma**, v. 8, n. 4, p. 117-124, 1978.
- ANTEN, N.P.R.; CASADO-GARCIA, R.; NAGASHIMA, H. Effects of mechanical stress and plant density on mechanical characteristics, growth and lifetime reproduction of tobacco plants. **American Naturalist**, v. 166, p. 650–660, 2005.
- ASTEN, P. J. A. VAN et al. Agronomic and economic benefits of coffee-banana intercropping in Uganda's smallholder farming systems. **Agricultural Systems**, v. 104, n. 4, p. 326-334, 2011.
- BARBEHENN, R. V.; HAUGBERG, N.; KOCHMANSKI, J. e MENACHEM, B. Effects of leaf maturity and wind stress on the nutrition of the generalist caterpillar *Lymantria dispar* feeding on poplar. **Physiological Entomology**, v. 40, p. 212-222, 2015.
- BEARDEN, M.M.; PEARSON, D. A.; REIN, D.; CHEVAUX, K.A.; CARPENTER, D.R.; KEEN, C.L.; SCHMITZ, H. Potential Cardiovascular Health Benefits of Procyanidins Present in Chocolate and Cocoa. In: PARLIAMENT, T.H.; HO, C.T.; SCHIEBERLE, P. (Ed.). **Caffeinated beverages – Health benefits, physiological effects and chemistry**. Washington, DC: ACS, cap. 19, p. 177-186. 2000.
- BRENDEL, O.; LOSETTA, P.P.M.G. e STEWART, D. A rapid and simples method to isolate pure alpha cellulose. **Phytochemistry Annal**, v. 17, p. 7-10, 2000.
- CATOVSKY, S.; HOLBROOK, N. M.; BAZZAZ, F. A. Coupling whole-tree transpiration and canopy photosynthesis in coniferous and broad-leaved tree species. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 32, p. 295-309, 2002.
- CEPLAC. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. Disponível em: Http://www.ceplac.gov.br/radar/radar_cacau.html. Acesso em 15 de outubro de 2015.
- CLEUGH, H.A.; MILLER, J.M. e BÖHM, M. Direct mechanical effects of wind on crops. **Agroforestry Systems**, v. 41, p. 85-112, 1998.

CORDERO, R.A. Ecophysiology of *Cecropia schreberiana* saplings in two wind regimes in an elfin cloud forest: growth, gas exchange, architecture and stem biomechanics. **Tree Physiology**, v. 19, p. 153-163, 1999.

COUTAND, C. Mechanosensing and thigmomorphogenesis, a physiological and biomechanical point of view. **Plant Science**, v. 79, n. 3, p. 168-182, 2010.

DIXON, M. e GRACE, J. The effect of wind on the transpiration of young trees. **Annals of Botany**, v. 53, p. 811-819, 1984.

DOS SANTOS, W.D., FERRARESE, M.L.L., NAKAMURA, C. V., MOURÃO, K.S.M., MANGOLIN, C.A., FERRARESE-FILHO, O. Soybean (*Glycine max*) Root Lignification Induced by Ferulic Acid. The Possible Mode of Action. **Journal of Chemical Ecology**, n. 34, p. 1230–1241, 2008.

GOMES, A.R.S. e KOZLOWSKI, T.T. e REICH, P.B. S. Some physiological responses of *Theobroma cacao* var. Catongo seedlings to air humidity. **New Phytologist**, n. 107, p. 591-602, 1987.

GOMES, A.R.S. e KOZLOWSKI, T.T. Responses of seedling of two varieties of *Theobroma cacao* to wind. **Tropical Agriculture**, v. 66, n. 2, p. 137-141, 1989.

GRACE, J. Plant response to wind. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 22/23, p. 71-88, 1998.

HOUSTON, K.; TUCKER, M.R.; CHOWDHURY, J.; SHIRLEY, N.; LITTLE, A. The plant cell wall: a complex and dynamic structure as revealed by the responses of genes under stress conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 7, p. 984, 2016.

HUANG, C.W.; CHU, C.R.; HSIEH, C.I.; PALMROTH, S.; KATUL, G.G. Wind-induced leaf transpiration. **Advances in Water Resources**, v. 88, p. 240-255, 2015.

HUANG, P.; WAN, X. e LIEFFERS, V.J. Daytime and nighttime wind differentially affects hydraulic properties and thigmomorphogenic response of poplar saplings. **Physiologia Plantarum**, v. 157, p. 85-94, 2016.

Johansen, D. **Plant Microtechnique**. New York, 1940.

KRAUS, J.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RiMa, 2006, 550 p.

LEITE, R.M. de., ALVIM, R. e ALVIM, P. de, T. Ação do vento e da radiação solar na ruptura do pulvino foliar do cacauzeiro. **Revista Theobroma**, v. 10, n. 4, p. 235-251, 1980.

MELO, V.M. **Variação nas produtividades da madeira de clones de *Eucalyptus* cultivados em diferentes topografias e sujeitas a tempestades**. 2004. 115f.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

MIELKE, M.S. **Regulação fisiológica e ambiental das trocas gasosas num plantio clonal de híbridos de *Eucalyptus grandis* Hill ex-Maiden**. Viçosa: UFV, 1997. 92f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

NGUGI, M. R.; HUNT, D. D.; DOLEY, D.; RYAN, P. e DART, P. Selection of species and provenances for low-rainfall áreas: physiological responses of *Eucalyptus cloeziana* and *Eucalyptus argophloia* to a seasonal conditions in subtropical Queensland. **Forest Ecology and Management**, v. 193, p. 141-156, 2004.

NIELSEN, C.N. Forest management for improved wind stability. In: **Adaptive physiology and tree management**. Samfundslitteratur Life Sciences, Thorvaldsensvej Denmark, 2005.

ONODA, Y e ANTEN, N.P.R. Challenges to understand plant responses to wind. **Plant Signaling & Behavior**, n. 6, v. 7, p. 1057-1069, 2011.

PEZZOPANE, J.R.M.; PEDRO JÚNIOR, M.J. e GALLO, P.B. Radiação solar e saldo de radiação em cultivo de café a pleno sol e consorciado com banana 'Prata Anã. **Bragantia**, v. 64, n. 3, p. 487- 499, 2005.

PUIJALON, S.; BOUMA, T.J.; DOUADY, C.J.; GROENENDAEL, J.V.; NIELS, P.R.; ANTEN, E.M. Plant resistance to mechanical stress: evidence of an avoidance tolerance trade-off. **New Phytologist**, v. 191, p. 1141-1149, 2011.

PUIJALON S.; LE'NA, J.P.; RIVIE`RE, N.; CHAMPAGNE, J.Y.; ROSTAN, J.C.; BORNETTE, G. Phenotypic plasticity in response to mechanical stress: hydrodynamic performance and fitness of four aquatic plant species. **New Phytologist**, v. 177, p. 907–917, 2008.

READ, J.; STOKES, A. Plant biomechanics in an ecological context. **American Journal of Botany**, v. 93, p. 1546–1565, 2006.

REIS, G. S. M.; ALMEIDA de, A. F.; MANGABEIRA, P. A. O.; SANTOS do, I. C.; PIROVANI, C. P. e AHNERT, D. Mechanical stress caused by wind on leaves of *Theobroma cacao*: Photosynthetic, molecular, antioxidative and ultrastructural responses. **Plos One**, v. 13, n. 6, 2018.

RESENDE, S.A.A.; RESENDE JÚNIOR, J.C. Interferência dos ventos o cultivo de plantas: efeitos prejudiciais e práticas preventivas. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v. 7, n. 12, p. 1-6, 2011.

SCHÄDEL, C.; BLÖCHI, A.; RICHTER, A. e HOCH, G. Quantification and monosaccharide composition of hemiceluloses from diferente plant functional types. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 1-8, 2010.

SCHYMANSKI, S.J. e OR, D. Wind effects on leaf transpiration challenge the concept of “potential evaporation”. **Proceedings of the International Association of Hydrological Sciences**, v. 371, p. 99-107, 2015.

STRECK, N.A. Stomatal response to water vapor pressure deficit: an unsolved issue. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 9, n. 4, p. 317-322, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TSOUMIS, G. **Science and Technology of Wood: structure, properties, utilizations**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 494p.

VOGEL, S. **Comparative biomechanics: life's physical world**. Princeton, NJ, USA: Princeton University Press, 2003.

VOGEL, S. Leaves in the lowest and highest winds: temperature, force and shape. **New Phytologist**, v. 183, n. 13, 2009.

VOLPE, C.A. e SCHÖFFEL, E.R. Quebra-vento. In: RUGGIERO, C. **Bananicultura**, Jaboticabal: FUNEP, 2001. p.196-211.

WADA, H.; MASUMOTO-KUBO, C.; GHOLIPOUR, Y.; NONAMI, H. e TANAKA, F. Rice chalky ring formation caused by temporal reduction in starch biosynthesis during osmotic adjustment under foehn-induced dry wind. **Plos One**, v. 9, n. 10, 2014.

WHITEHEAD, F. H.; LUTI, R. Experimental studies of the effect of wind on plant growth and anatomy I *Zea mays*. **New Phytologist**, p. 56-58, 1961.

CAPÍTULO 2

Adubação silicatada em *Theobroma cacao* L. submetido ao vento

Resumo

As plantas reagem de maneira distinta ao vento, podendo se caracterizar como sensíveis quando apresentam seu crescimento e produtividade afetados diante da exposição a essa variável ambiental. Dentre os efeitos causados pelo vento nessas plantas, destaca-se a redução da altura, área foliar e da fotossíntese e a maior transpiração apresentadas por elas. O uso do Si na agricultura tem demonstrado efeitos positivos em plantas sujeitas a pressões ambientais devido a sua deposição em tecidos e órgãos, que, ao formar uma barreira física, aumenta a resistência e rigidez do tecido. O cacaueteiro é uma espécie com ocorrência em florestas quentes e úmidas, apresentando grande importância econômica devido ao uso de suas sementes na fabricação do chocolate. No município de Linhares, o cultivo do cacaueteiro é realizado tanto em consórcio com outras culturas como em áreas totalmente abertas, sem nenhuma proteção contra o vento. As informações a respeito do efeito do vento no cacaueteiro são escassas, sendo limitadas a sua baixa tolerância ao vento e ao surgimento de queimas e abscisão foliar. Assim, hipotetizou-se que o Si poderia potencializar os mecanismos de tolerância do cacaueteiro ao vento. Para tanto, o objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos do silício na promoção de aclimatação em mudas de *T. cacao* sujeitas ao vento por meio de análises morfoanatômicas, fisiológicas, bioquímicas e dos teores de carboidratos estruturais e de lignina. Mudas do genótipo PS-1319 de *T. cacao* foram cultivadas em viveiro e adubadas com silício com duas formas de aplicação, na folha (2 mM) e no solo (1 mM). Posteriormente, as mudas foram submetidas a uma fonte de vento com velocidade média de 2,25 m/s, das 11h as 18h, durante 28 dias. Ao final do experimento, foram realizadas análise de crescimento e de anatomia foliar, o teor de carboidratos estruturais e lignina foliares, medidas de trocas gasosas e análises bioquímicas. O cacaueteiro respondeu positivamente à adubação silicatada ao apresentar maior robustez, maior teor de lignina e carboidratos estruturais, maior

área foliar, densidade estomática e espessura da folha, melhoria da eficiência intrínseca do uso da água e menor transpiração. Houve redução das atividades enzimáticas caracterizado uma economia energética. Em conclusão, a adubação com silício via foliar melhorou os mecanismos de tolerância do cacauero ao vento, incrementando as características anatômicas, fisiológicas e bioquímicas, de modo a aumentar a robustez dessas plantas diante desse estresse abiótico.

Palavras-chave: cacauero, estresse abiótico, lignina, morfoanatomia, robustez.

Abstract

The plants react differently to the wind and can be characterized as sensitive when they present their growth and productivity affected by the exposure to this environmental variable. Among the effects caused by the wind in these plants, the reduction of height, foliar area and photosynthesis and the greater sweating presented by them are outstanding. The use of Si in agriculture has demonstrated positive effects on plants subjected to environmental pressures due to their deposition on tissues and organs, which, by forming a physical barrier, increases the strength and stiffness of the tissue. When deposited on the leaf, the Si promotes less perspiration, leading to water saving by the plant, besides increasing the photosynthetic rates by making the leaves stand erect, leading to an improvement in the interception of light. The Si still reflects in activation of enzymes related to defense mechanisms, and may be provided prior to exposure of the plant to some stress. Cacao is a species with occurrence in hot and humid forests, presenting great economic importance due to the use of its seeds in the manufacture of chocolate. In the municipality of Linhares, the cultivation of cacao is carried out both in consortium with other crops and in totally open areas, without any protection against the wind. The information about the effect of the wind on the cacao tree is scarce, being limited its low tolerance to the wind and the appearance of burnings and foliar abscission. In the same way, there are still no studies that use products with the objective of promoting greater tolerance of these plants to the wind. Thus, it was hypothesized that Si could potentiate the mechanism of tolerance of cacao in the wind. The objective of this work was to evaluate the effects of silicon on the promotion of acclimatization in *T. cacao* plants subjected to the wind through morphological, physiological, biochemical and structural carbohydrate and lignin contents. Seedlings of the genotype PS-1319 from *T. cacao* were cultivated in nursery and fertilized with silicon through two forms of application, in the leaf (2 mM) and in the soil (1 mM). Later, the seedlings were submitted to a wind source with an average velocity of 2.25 m / s, from 11 am to 6 pm, for 28 days. At the end of the experiment, growth and foliar anatomy analyzes, leaf carbohydrate and leaf lignin content, gas exchange measurements and biochemical analyzes were performed. The cacao tree responded positively to the silicate fertilization due to its greater robustness, higher lignin content and structural carbohydrates, greater leaf area, stomatal density and

leaf thickness, improvement of the intrinsic efficiency of water use and lower transpiration. There was reduction of enzymatic activities characterized by an energy economy. In conclusion, foliar silicon fertilization improved the mechanisms of tolerance of cacao to the wind, increasing the anatomical, physiological and biochemical characteristics, in order to increase the robustness of these plants in face of this abiotic stress.

Key words: cacao, abiotic stress, lignin, morphoanatomy, robustness.

1 INTRODUÇÃO

O cacauzeiro é uma planta originária da América do Sul com ocorrência em florestas quentes e úmidas que apresenta grande importância econômica devido ao seu uso para a produção do chocolate, produtos farmacêuticos e cosméticos (Alverson et al., 1999; Almeida e Valle, 2007). O cultivo do cacauzeiro no município de Linhares, ES, ocorre, em sua maioria, consorciado com outras culturas ou então sem nenhum tipo de barreira protetora contra o vento, sendo desenvolvido em áreas totalmente abertas, sem sombreamento provisório ou definitivo (Alvim, 1976).

Apesar da insistência em se adotar um método sem sombreamento definitivo, as regiões produtoras de cacau em Linhares, Espírito Santo, enfrentam sérios problemas com relação as elevadas intensidades do vento, uma vez que as plantas cultivadas nessas áreas apresentam alta perda foliar e diversos danos mecânicos nas folhas, com elevado custo energético (Fantinato, dados não publicados). Além disso, os manuais de cultivo do cacauzeiro trazem que a ocorrência dos ventos apresenta impacto negativo sobre as plantas, tanto para a formação, quanto manutenção das lavouras, afetando principalmente os indivíduos jovens (Sena Gomes e Kozlowski, 1989; Dias, 2001).

Devido à importância econômica do cacauzeiro e à forma como vem sendo cultivado no estado, faz-se necessária a utilização de tecnologias de qualidade e de baixo custo visando atenuar o estresse causado pelo vento nesse sistema de cultivo, como a adubação silicatada. O uso do silício nas plantas tem demonstrado efeitos positivos mediante a diferentes tipos de pressões ambientais vivenciadas por elas, sejam causadas por fatores bióticos ou abióticos (Detmann et al., 2013). Esses resultados benéficos são atribuídos, em grande parte, a deposição do silício em diferentes tecidos e órgãos como raízes, folhas, caules e frutos, pela formação de uma barreira física, aumentando a resistência e rigidez do tecido (Ma e Yamaji, 2015).

A deposição do silício nas folhas promove redução da transpiração cuticular e estomática, acarretando em economia de água pelas plantas (Ma e Yamaji, 2006), modifica sua arquitetura tornando as folhas mais eretas o que pode ocasionar na melhoria da interceptação da luz para a fotossíntese (Hossain et al., 2007; Liang et al., 2007). O silício é o único elemento que confere resistência a diversos estresses causados em plantas (Savant et. al., 1999). Esse elemento

proporciona a ativação de enzimas relacionadas com mecanismos de defesa da planta (Kauss et. al., 2003; Rodrigues et. al., 2004) como a catalase, ascorbato peroxidase, guaiacol peroxidase e superóxido dismutase (Moldes et. al., 2006).

Sendo assim, hipotetizou-se que a adubação silicatada poderia potencializar os mecanismos de tolerância do cacauero aos efeitos do vento. Para tanto, o objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos do silício e sua melhor forma de aplicação na promoção de aclimação em mudas do genótipo PS-1319 de *T. cacao* sujeitas ao vento por meio de análises morfoanatômicas, fisiológicas, bioquímicas e dos teores de carboidratos estruturais e de lignina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi composto por quatro tratamentos: plantas sem vento e sem adubação silicatada, caracterizando o controle; com vento e sem adubação silicatada; com vento e com adubação com silício na folha; e com vento e adubadas com silício no solo. Cada tratamento foi composto por 12 plantas.

Após 60 dias, as mudas foram submetidas a aplicações quinzenais de silício durante 2 meses, até a instalação dos tratamentos com vento. A fonte de silício utilizada foi o silicato de cálcio na concentração de 1 mM no solo e de 2 mM na folha. Aos 4 meses de idade, metade das mudas foram submetidas aos tratamentos com vento, o qual foi fornecido por ventiladores (Mondial 40 cm modelo Classic) com velocidade média de 2,25 m/s, das 11h às 18h, diariamente durante 28 dias (Figura 1). As velocidades do vento foram determinadas com auxílio de anemômetro Instrutherm, modelo AD-250.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância com as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas utilizando-se o software InfoStat (Versão 2011, Grupo InfoStat, FCA, Universidade Nacional de Córdoba, Argentina).



Figura 1 – Visão geral do experimento com mudas de cacauete adubadas com Si e expostas ao vento. À frente, grupo de plantas submetidas aos ventiladores, e ao fundo, grupo de plantas sem exposição ao vento (controle).

2.2 Área experimental e material botânico

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

Foram utilizadas mudas seminais do genótipo PS-1319 de *T. cacao* L. cultivadas em vasos com capacidade para 3,8 L com solo composto por terra e esterco, com classificação textural franco argilosa (Laboratório de Análise Agronômica e Ambiental Fullin).

2.3 Determinação do silício foliar

Para a determinação do teor foliar de Si 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 H₂O₂ 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 0,5 mL da matéria digerida foi retirada e colocada em copos plásticos de 50 mL. Em seguida acrescentaram-se 4,5 mL de água ultrapura, 0,5 mL de HCl (1:1) e 0,5 mL de molibdato de amônio, seguido de uma leve agitação. O Si presente no material transforma-se em H₄SiO₄ 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 0,5 mL de ácido oxálico (75 g/L) e após 5 minutos, foram acrescentados 2,5 mL de ácido ascórbico (3 g/L), procedendo-se novamente uma leve agitação. Após 1 hora foi feita a leitura em espectrofotômetro (modelo ThermoScientific®, Genesys 10S, EUA) no comprimento de onda de 660 nm. A concentração de Si foi calculada por meio de curva padrão (concentrações de 0 a 8 mg L⁻¹ de Si) construída através de solução padrão de 1 g L⁻¹ de Si (Fixanal, Sigma-Aldrich), e os resultados expressos em g de Si por Kg de massa seca foliar (g Kg⁻¹ MSF).

2.4 Determinação do silício do solo

A concentração de Si solúvel no substrato foi determinada pelo método do azul de molibdênio, conforme Korndörfer et al. (2004) com modificações. Os substratos foram secos em estufa a 60 °C até atingirem massa constante. Amostras de 10 g do substrato seco e peneirado em malha de 2 mm foram colocadas em copos plásticos e reagiram com 100 mL de ácido acético 0,5 M por 1 hora, em agitação constante.

Após a decantação do material, realizou-se a filtração da suspensão que permaneceu em repouso durante 12 horas. Uma alíquota de 100 µL do filtrado foi misturada com 1 mL de solução sulfomolibdica (75 g L⁻¹). Após 10 minutos,

adicionou-se 2 mL de ácido oxálico (75 g L⁻¹) e após 5 minutos, acrescentou-se 10 mL de ácido ascórbico (3 g L⁻¹).

Após 1 hora, a solução de coloração azul foi lida em espectrofotômetro (ThermoScientific®, Genesys 10S) no comprimento de onda de 660 nm. A concentração de Si foi calculada por meio de curva padrão (concentrações de 0 a 10 mg L⁻¹ de Si) construída utilizando-se uma solução padrão de 1 g L⁻¹ de Si (Fixanal, Sigma-Aldrich), e os resultados expressos em mg de Si por Kg do substrato (mg Kg⁻¹ substrato).

2.5 Análise de crescimento

Ao final do experimento foram realizadas medidas de altura (cm) e comprimento de raiz (cm) com auxílio de uma trena, diâmetro do caule (mm) utilizando-se um paquímetro digital, número de folhas e área foliar (cm²). A área foliar total (AFT) foi determinada em um medidor de área (LI-COR Modelo 3100, Lincoln, Nebraska, USA). Os órgãos vegetais foram secos em estufa a 60 °C, até atingirem massa constante e posteriormente pesados para a determinação de massa seca da folha (MSF), do caule (MSC) e da raiz (MSR), com os valores obtidos em gramas. Foram utilizados 8 indivíduos por tratamento.

A partir dos dados obtidos foram determinados, conforme Hunt (1982), os parâmetros: área foliar específica (AFE = área foliar total/massa seca foliar total) (cm² g⁻¹), razão raiz/parte aérea (R:PA) (g g⁻¹) e o quociente de robustez (QR) (comprimento do caule/diâmetro caulinar) (cm mm⁻¹).

2.6 Análise anatômica foliar

Foram coletadas duas folhas por indivíduo, sendo utilizados cinco indivíduos por tratamento. A anatomia foi realizada em amostras do terço médio de folhas do segundo nó, previamente fixadas em FAA 70 (formaldeído, ácido acético e etanol 70%) por 48 horas (Johansen, 1940) e, posteriormente, conservadas em etanol 70%. Foram feitas secções transversais com auxílio de um micrótomo de mesa, as quais foram coradas utilizando-se Azul de Astra e Safranina 1% (Kraus e Arduin, 1997).

A análise anatômica quantitativa foi realizada por meio de medições da espessura da nervura foliar (NF), da espessura total do limbo foliar (LF), da

epiderme adaxial (Ead) e abaxial (Eab), e dos parênquimas paliçádico (PP) e esponjoso (PE) os valores obtidos foram expressos em μm . A densidade estomática (DE) (n^0/mm^2) da face abaxial das folhas foi determinada utilizando adesivo instantâneo Tekbond® pela técnica de impressão epidérmica em lâmina de vidro.

As fotomicrografias foram obtidas com câmera fotográfica digital (Nikon digital DS-Ri1, unidade digital DS-U3, Nikon Tec. Corporation, Tokyo, Japan) acoplada ao microscópio óptico (Nikon Eclipse 50i, Nikon Tec. Corporation, Tokyo, Japan) e a um microcomputador com software de captura de imagem (Nikon NIS-Elements, Nikon Tec. Corporation, Tokyo, Japan). As análises quantitativas das espessuras dos tecidos e da densidade estomática, foram realizadas com auxílio do software ImagJ1 (US National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA).

2.7 Análise de trocas gasosas

As medidas de trocas gasosas foram realizadas no período da manhã, sendo utilizadas duas folhas de cada um dos 12 indivíduos por tratamento. Para as medidas, folhas totalmente expandidas a partir do segundo nó foram submetidas a um analisador de gás infravermelho (LI-6400XT LI-COR, Lincoln, USA) acoplado com fonte de luz vermelho/azul (LI-6400-02B LED). Foram obtidos os dados de assimilação líquida de CO_2 (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (gs) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração intercelular de CO_2 (C_i) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$), taxa de transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e déficit de pressão de vapor na folha (DPV) (KPa). A eficiência intrínseca do uso da água foi calculada através da razão A/gs ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$).

2.8 Determinação das proteínas totais e das atividades enzimáticas

2.8.1 Obtenção do extrato aquoso

No final do experimento, as mesmas folhas utilizadas para a análise de trocas gasosas foram utilizadas para a extração de proteínas e enzimas. Foi homogeneizado 0,4 g de tecido foliar em tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8), EDTA- Na_2 0,1 mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1%(p/v), utilizando almofariz e pistilo gelados. O homogeneizado foi centrifugado a 12000 x g durante 15 min a

4°C (Parida et. al., 2004). O sobrenadante foi utilizado para a quantificação de proteínas totais e ensaios das atividades das enzimas polifenoloxidase, superóxido dismutase, catalase, peroxidase do ascorbato e peroxidase do guaiacol.

2.8.2 Proteínas totais

O conteúdo de proteínas totais foi quantificado de acordo com Bradford (1976). Para tanto, 100 µL de sobrenadante do extrato 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.

2.8.3 Dismutase do superóxido (SOD; EC 1.15.1.1)

A atividade da SOD foi baseada no método descrito por (Giannopolitis e Reis, 1977). O meio de reação final de 3 mL continha tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 7,5), metionina 13 mM, riboflavina 0,002 mM, EDTANa₂ 0,1 mM, azul nitro tetrazólio (NBT) 0,0075 mM e 50 µL do extrato enzimático. A reação foi iniciada em uma câmara de fotorredução equipada com uma lâmpada fluorescente branca (25 W) por 10 min a 25 °C. Uma unidade da atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para resultar numa inibição de 50% da taxa de redução de NBT medida a 560 nm, sendo expressa por g de massa seca (unidade SOD g⁻¹ MS).

2.8.4 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 µL de extrato e 200 µL de tampão fosfato de sódio (100 mM, pH 6,8) com guaiacol 20 mM e 100 µL de peróxido de hidrogênio 20 mM. O aumento da absorbância devido à oxidação do guaiacol foi registrado a 470 nm depois de um minuto 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 H_2O_2 com valor $26,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg ptn}$).

2.8.5 Peroxidase do ascorbato (APX; EC 1.11.1.11)

Determinou-se a atividade de APX baseado no método descrito por Nakano e Asada (1981). Alíquota de 100 μL do extrato enzimático foram misturadas a 2,9 mL de meio de reação constituído de tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 7,0), EDTA Na_2 0,1 mM, ácido ascórbico 0,5 mM. A reação foi iniciada com a adição de H_2O_2 0,2 mM e o decaimento da absorbância a 290 nm foi monitorado durante 3 min a 25 °C. O cálculo da atividade de APX foi feito com base no coeficiente de extinção molar de $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e expressa em $\mu\text{mol de ascorbato min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MS}$.

2.8.6 Catalase (CAT; EC 1.11.1.6)

A atividade da CAT foi determinada pela adição de 100 μL do extrato enzimático a 2,9 mL de meio de reação constituído de tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 7,0) e H_2O_2 10 mM (Aebi, 1984). O decréscimo na absorbância medido a 240 nm foi monitorado durante 3 min a 25 °C. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $36 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ e expressa em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MS}$.

2.8.7 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 de extrato, 1 mL de catecol 20 mM e 1 mL de tampão fosfato de sódio 100 mM pH 6,8. Após 2 minutos 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).

2.9 Determinação do teor de lignina

A de determinação de lignina foi realizada de acordo com Dos Santos et al. (2008). Para tanto, foram utilizadas amostras de folhas secas trituradas em moinho de bola para a determinação de lignina solúvel. As amostras foram colocadas em tubos falcon, os quais receberam tampão fosfato de sódio e potássio 50 mM, pH 7, sendo posteriormente centrifugados por 5 min. O sobrenadante foi descartado e iniciou-se um processo de lavagem sequencial, com centrifugação e descarte do sobrenadante, com tampão fosfato 50 mM em pH 7, triton X-100 1% em tampão fosfato com pH 7, NaCl 1 M em tampão fosfato pH 7, água deionizada e acetona 100%. O precipitado foi seco em estufa a 60 °C por 24 horas e deste, 50 mg foram retirados e homogeneizados com ácido tioglicólico e HCl 2 M, sendo posteriormente deixados em banho maria a 95 °C por 60 minutos e em seguida centrifugados. Após o descarte do sobrenadante, o precipitado foi lavado com água deionizada e centrifugado. O precipitado recebeu NaOH 0,5 M e foi deixado em mesa agitadora por 18 horas, sendo posteriormente centrifugado.

O sobrenadante foi descartado e o precipitado homogeneizado com NaOH 0,5 M, sendo centrifugado e acidificado com HCl P.A. e mantidos por 12 horas em geladeira a 4 °C para precipitação da lignina ligada ao ácido tioglicólico. Após centrifugação e descarte do sobrenadante, lavou-se o precipitado com água deionizada e novamente esse foi submetido a centrifugação, sendo mantido em estufa a 60 °C por 24 horas. O precipitado foi ressuspensão em NaOH 0,5 M e utilizou-se uma solução de lignina SIGMA como padrão. A absorbância dessa solução foi determinada em espectrofotômetro a 280nm e os valores calculados com base na curva de lignina solúvel (0-100 µg mL⁻¹) e expressos em µg de lignina solúvel por miligrama de massa seca.

2.10 Determinação do teor de celulose

A determinação de celulose foi realizada conforme metodologia de Brendel et al. (2000). Amostras de folhas secas trituradas em moinho de bola foram misturadas com ácido acético 80% e ácido nítrico 69% em tubos de vidro rosqueados. Os vidros foram deixados em banho maria a 100°C por 1 hora e, após esfriar, as amostras foram transferidas para tubos falcon de 15 mL. Foi então adicionado etanol 99% e os tubos foram agitados em vortex, sendo posteriormente centrifugados. O sobrenadante foi descartado do tubo e adicionou-se novamente etanol 99%, sendo

centrifugado com posterior descarte do sobrenadante e adição de água deionizada. Novamente centrifugaram-se os tubos com posterior descarte do sobrenadante.

Os tubos tiveram adição de NaOH 17% e foram deixados em temperatura ambiente por 10 minutos, sendo então centrifugados e tendo seus sobrenadantes descartados. Posteriormente, foi adicionada água deionizada e mais uma vez os tubos sofreram centrifugação e descarte do sobrenadante. Então, os tubos receberam água deionizada juntamente com ácido acético 80% e, após terem sido agitados em vortex, receberam mais água deionizada sendo então centrifugados com posterior descarte do sobrenadante. Foi realizada uma última lavagem do material com água deionizada por 5 vezes, seguida de centrifugação e descarte do sobrenadante a cada lavagem. O material então foi seco em estufa e pesado após atingir massa constante.

2.11 Determinação do teor de hemicelulose

A hemicelulose foi realizada seguindo o método proposto por Schädel et al. (2010). As amostras de folhas, após secas e trituradas em moinho de bola, foram acondicionadas em micro tubos contendo etanol 80% e levadas em banho maria a 80°C por 20 minutos, sendo posteriormente centrifugados a 10 °C por 5 minutos, tendo os sobrenadantes descartados. A etapa de adição do etanol até a centrifugação foi repetida 3 vezes.

O precipitado obtido na última centrifugação foi seco em estufa 50°C por 24h, com posterior acréscimo de DMSO 90% e mantido em placa agitadora por 24 horas para a extração do amido. O material então foi centrifugado por 5 minutos a 10°C, tendo seu sobrenadante descartado e teve adição de água deionizada, sofrendo mais uma centrifugação e descarte do sobrenadante. Essa lavagem com água deionizada foi repetida 3 vezes com o precipitado final sendo seco em estufa a 50°C por 24 horas.

Foi adicionado detergente neutro ao material seco para se extrair resíduos solúveis e pectinas, e sulfito de sódio (mg/mL) para a extração de proteínas. Posteriormente os tubos foram levados para banho maria a 100°C por 60 minutos com agitação, sendo centrifugados por 5 minutos a 10°C e descartados os sobrenadantes. O precipitado foi lavado duas vezes com água deionizada quente,

acetona 100% e água deionizada. Após centrifugação e descarte do sobrenadante, o material foi seco em estufa a 50°C por 24 horas e posteriormente pesado.

Os tubos contendo as amostras receberam detergente ácido e foram levados em banho maria a 100°C por 60 minutos com agitação. Após sofrerem centrifugação e terem os sobrenadantes descartados, os tubos, contendo os precipitados, foram lavados com água deionizada, centrifugados e tiveram os sobrenadantes descartados. O precipitado de cada tubo foi seco em estufa a 50°C por 24 horas e pesados. A celulose de cada amostra foi obtida pela diferença gravimétrica entre a fração total de parede celular e a fração de celulose e lignina.

3.0 RESULTADOS

O teor de Si foliar foi maior nas plantas do tratamento com vento e aplicação de Si via foliar, não havendo diferença entre as plantas controle e as do tratamento com vento e sem adubação. As plantas com vento e sem adubação apresentaram 5% a mais no teor de silício no substrato em relação às plantas controle. O maior resultado para essa variável foi encontrado nas plantas com vento e adubação via solo (Tabela 1).

Tabela 1 – Efeitos do vento e da aplicação de Si via foliar e via solo sobre o acúmulo de silício nas folhas e no solo dos tratamentos de *T. cacao*.

Variáveis	Controle	Vento	Vento + Si foliar	Vento + Si solo
Si foliar (g Kg ⁻¹ MS)	12,2 b	10,2 b	16,5 a	12,1 b
Si no substrato (mg Kg ⁻¹)	377 c	396 b	401 b	526 a

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

As plantas com vento e sem adubação apresentaram altura menor (4%) em relação às plantas controle. A menor altura foi obtida quando as plantas com vento eram adubadas com Si, independente da forma de aplicação. O diâmetro caulinar não mostrou diferença entre as plantas com vento sem adubação e as controle. O maior valor para essa variável foi obtido nas plantas com vento e adubadas com Si

nas folhas. O quociente de robustez foi 32% menor nas plantas com vento e sem adubação em relação ao controle. As plantas com vento e adubadas via foliar apresentaram o menor valor para esse parâmetro (Tabela 2).

As plantas com vento e sem adubação com Si exibiram maior número de folhas (21%) em relação às plantas sem silício. O menor número de folhas foi apresentado pelo tratamento com vento e Si aplicado via foliar. A menor área foliar total foi obtida nas plantas com vento sem adubação, sendo 13% menor do que a das plantas controle, enquanto o maior valor foi obtido nas plantas adubadas com silício nas folhas, sendo que, nesse tratamento, também foi obtida a maior área foliar específica (Tabela 2).

A raiz de plantas com vento e sem Si foi maior (17%) quando comparada ao controle. Comparando o tratamento das plantas com vento e sem adubação com o controle, houve menor (32%) valor de massa seca foliar, sendo maior quando as plantas com vento eram adubadas com Si. Não houve diferença para os valores de massa seca caulinar. A massa seca da raiz foi maior (53%) nas plantas com vento e sem adubação em relação às controle e quando as plantas eram adubadas no solo e com vento. A massa seca total foi maior nas plantas com vento e adubadas no solo e menor quando adubadas via foliar. Houve maior (75%) razão raiz/parte aérea das plantas com vento e sem adubação quando comparadas às plantas controle (Tabela 2).

Tabela 2 – Efeitos do vento e da aplicação de Si via foliar e via solo sobre análise de crescimento de *T. cacao*.

Variáveis	Controle	Vento	Vento + Si foliar	Vento + Si solo
Altura (cm)	42,2 a	40,5 b	39,1 c	38,9 c
Diâmetro caulinar (mm)	11,5 b	11,1 b	23,0 a	11,3 b
Quociente de robustez (cm mm ⁻¹)	3,90 a	3,54 b	1,71 c	3,46 b
Número de folhas	20,8 c	25,4 a	11,2 d	23,6 b
Área foliar total (cm ²)	1607 b	1422 c	1965 a	1664 b
Área foliar específica (cm ² g ⁻¹)	168 b	200 b	250 a	176 b
Raiz (cm)	17,4 b	20,4 a	19,6 ab	19,2 ab
Massa seca foliar (g)	9,63 a	7,29 b	7,99 b	9,55 a
Massa seca caulinar (g)	3,63 a	4,67 a	4,29 a	4,67 a
Massa seca da raiz (g)	1,62 b	2,48 a	1,58 b	2,62 a
Massa seca total (g)	14,8 ab	14,4 ab	13,8 b	16,8 a
Raiz/parte aérea (g g ⁻¹)	0,12 c	0,21 a	0,13 bc	0,18 ab

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

A nervura foliar, espessura da epiderme adaxial e do parênquima paliçádico das plantas controle não diferiram das plantas com vento. A maior nervura foliar foi observada nas plantas com vento adubadas via solo enquanto a menor foi obtida nas plantas com vento e sem adubação (Figura 2).

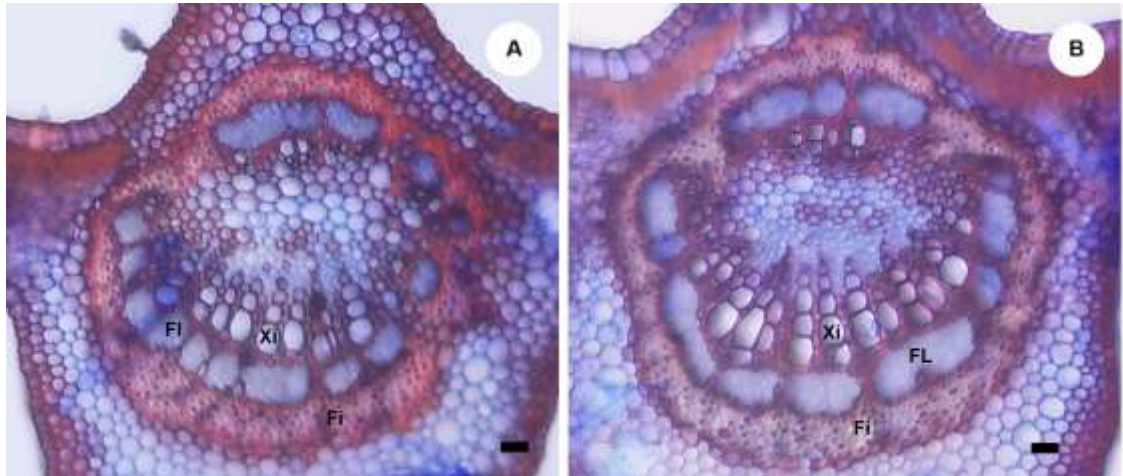


Figura 2 - Secções transversais do limbo de plantas de cacauero adubadas com Si e expostas ao vento. (A) Com vento (B) Com vento e Si no solo. As barras correspondem a 25µm. (Fi) fibras (FI) floema (Xi) xilema.

Já a espessura da epiderme adaxial foi maior nas plantas com vento e com adubação nas folhas, enquanto seu menor valor foi obtido quando as plantas eram adubadas no solo. As plantas com vento e adubadas nas folhas apresentaram o maior valor para espessura do parênquima paliçádico, sendo o menor valor apresentado pelas plantas sem vento. A densidade estomática foi 21% menor nas plantas com vento e sem adubação com Si em relação às plantas controle. As plantas com adubação silicatada nas folhas apresentaram a maior densidade de estômatos. Não foi observada diferença significativa para as demais variáveis anatômicas (Tabela 3).

Tabela 3 – Efeitos do vento e da aplicação de Si via foliar e via solo sobre as características anatômicas foliares de *T. cacao*.

Variáveis	Controle	Vento	Vento + Si foliar	Vento + Si solo
Nervura foliar (μm)	411 ab	380 b	428 ab	432 a
Limbo foliar (μm)	110 a	117 a	122 a	111 a
Epiderme adaxial (μm)	21,2 ab	19,5 ab	21,9 a	18,0 b
Epiderme abaxial (μm)	11,0 a	11,2 a	10,8 a	10,9 a
Parênquima paliçádico (μm)	32,9 b	33,8 ab	42,5 a	36,3 ab
Parênquima esponjoso (μm)	43,8 a	49,2 a	46,0 a	47,3 a
Densidade estomática ($\text{n}^\circ \text{mm}^{-2}$)	321 b	265 c	422 a	262 c

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

A fotossíntese foi maior nas plantas com vento e sem adubação, sendo menor nas plantas com vento adubadas com Si via solo. A condutância estomática foi 79% maior nas plantas com vento e sem adubação em relação às plantas controle. Plantas com vento e sem Si apresentaram aumento de 28% na concentração interna de carbono em comparação com as plantas controle enquanto o maior valor foi obtido nas plantas com vento e adubadas na folha. A transpiração nas plantas com vento e sem adubação foi 228% maior do que nas plantas controle. Para a eficiência intrínseca do uso da água, houve aumento de 66% nas plantas sem adubação e com vento em relação às plantas controle. Por sua vez, o déficit de pressão de vapor foi maior nas plantas com vento, independente da aplicação de Si, sendo 32% maior nas plantas com vento e sem adubação quando comparadas com as plantas controle (Tabela 4).

Tabela 4 – Efeitos do vento e da aplicação de Si via foliar e via solo sobre as trocas gasosas de *T. cacao*.

Variáveis	Controle	Vento	Vento + Si foliar	Vento + Si solo
Fotossíntese ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	4,88 a	4,58 ab	4,58 ab	4,37 b
Condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	0,038 d	0,068 a	0,048 c	0,058 b
Concentração interna de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$)	187 c	237 b	255 a	239 b
Transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	0,82 c	2,67 a	1,35 b	1,38 b
Eficiência intrínseca do uso da água ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$)	125 a	75 c	82 b	78 bc
Déficit de pressão de vapor (KPa)	1,94 b	2,56 a	2,52 a	2,62 a

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

A atividade da SOD foi maior (27%) nas plantas com vento e sem adubação quando comparadas às plantas controle, enquanto os menores valores foram observados nas plantas com vento e adubadas com Si. A POD teve sua atividade reduzida nas plantas com vento e sem adubação (33%) em relação às plantas controle. O maior valor para a atividade dessa enzima foi encontrado no tratamento das plantas com vento e Si via foliar. Plantas com vento e sem adubação tiveram maiores valores da atividade da APX (207%) em relação às controle. A maior atividade para a CAT foi observada quando as plantas eram adubadas com Si nas folhas. Já a PPO apresentou maior atividade nas plantas com vento e menor nas plantas com vento e adubadas com Si via foliar (Tabela 5).

Tabela 5 – Efeitos do vento e da aplicação de Si via foliar e via solo sobre a atividade enzimática em folhas de *T. cacao*.

Variáveis	Controle	Vento	Vento + Si foliar	Vento + Si solo
Dismutase do uperoxido (u SOD mg ⁻¹ ptn)	35,3 b	44,8 a	21,3 c	24,0 c
Peroxidase do guaiacol (mmol purp. min ⁻¹ mg ⁻¹ ptn)	0,32 b	0,24 c	0,58 a	0,27 c
Peroxidase do ascorbato (µmol asc. min ⁻¹ mg ⁻¹ ptn)	2,75 b	8,46 a	2,51 b	1,89 b
Catalase (µmol H ₂ O ₂ min ⁻¹ mg ⁻¹ ptn)	24,0 b	23,9 b	27,9 a	23,7 b
Polifenoloxidase (UA min ⁻¹ mg ⁻¹ ptn)	2,18 ab	2,21 a	1,87 b	1,94 ab

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Plantas com vento, adubadas ou não com Si, apresentaram os maiores teores de lignina, sendo que as plantas sem adubação foram 32% mais lignificadas em relação às plantas controle. O teor de celulose foi maior (15%) nas plantas com vento e sem adubação com Si do que nas plantas controle. As plantas com vento quando adubadas via foliar apresentaram o maior valor para a concentração de celulose. As plantas expostas ao vento, sem adubação, tiveram mais concentração (39%) de celulose nas folhas do que plantas controle, sendo que os maiores valores para essa variável foram obtidos em plantas com vento e adubadas via solo (Tabela 6).

Tabela 6 – Efeitos do vento e da aplicação de Si via foliar e via solo sobre os teores de lignina e carboidratos estruturais em folhas de *T. cacao*.

Variáveis	Controle	Vento	Vento + Si foliar	Vento + Si solo
Lignina (mg g ⁻¹ MS)	7,7 b	10,1 a	10,9 a	10,6 a
Celulose (g g ⁻¹ MS)	13,7 b	11,9 c	16,5 a	10,5 c
Hemicelulose (mg g ⁻¹ MS)	12,7 d	17,6 b	16,2 c	20,2 a

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

6 DISCUSSÃO

A maior concentração de Si foliar obtida nas plantas de cacaueteiro adubadas corroboram com dados obtidos por outros autores (Pinto et al., 2014; Fantinato, 2014; Zanetti, 2017), demonstrando que o cacaueteiro responde à adubação com Si. Em relação à concentração de Si presente no substrato, com a maior transpiração observada nas plantas com vento, era esperado que houvesse o transporte desse elemento até folhas, onde seria acumulado, diferente do obtido no presente trabalho. O maior resultado obtido no substrato das plantas adubadas no solo era esperado devido à incorporação do Si juntamente com a adubação de base (Pilon, 2011), elevando seu nível nesse tratamento.

A redução da altura proporcionada pelo vento nas plantas também é relatada por Whitehead e Luti (1961), sendo considerada por esses autores como uma mudança com valor adaptativo relacionado ao balanço hídrico das folhas. Além disso, plantas menores se tornam mais compactas e menos flexíveis, suportando melhor o estresse mecânico provocado pelo vento (Puijalon et al., 2005). A adubação silicatada é relatada como benéfica ao promover o crescimento das plantas (Ma e Yamaji, 2008). Entretanto, a menor altura proporcionada pelo Si quando fornecido ao cacaueteiro exposto ao vento, indica que esse elemento redirecionou seu metabolismo primário, afetando a alocação de biomassa entre caule, folha e raiz, contribuindo para a robustez dessas plantas (Guerriero et al., 2016).

Embora o vento leve ao desenvolvimento do diâmetro caulinar (Nielsen, 2005), no presente trabalho, somente foi observado aumento quando as plantas eram expostas ao vento e adubadas com Si nas folhas. Ao proporcionar menor altura e incrementar o diâmetro caulinar, o Si, quando fornecido via foliar, proporcionou redução do quociente de robustez nas plantas com vento, sugerindo que esse elemento aumenta a tolerância dessas plantas a esse estresse. Segundo Jackson et al. (2000), menores valores do quociente de robustez indicam maior capacidade de sobrevivência das plantas em campo. Lewin e Reimann (1969) relatam que o acúmulo de silício nas plantas contribui para a robustez do caule principalmente quando as condições ambientais são desfavoráveis para o crescimento do vegetal, como caracterizado pelo vento.

Apesar de ter sido observado maior número de folhas nas plantas com vento e sem adição de silício, essas folhas exibiram tamanho reduzido devido à menor área foliar total e espessura do limbo foliar, caracterizando um mecanismo de aclimação dessas plantas de modo a evitar a perda excessiva de água no ambiente em que se encontram (Whitehead, 1962). Alvim (1977) também relatou menor área foliar em cacauzeiros expostos ao vento. Da mesma forma, embora o silício tenha levado ao menor número de folhas nas plantas adubadas via foliar, esse elemento proporcionou aumento da área foliar total.

A maior razão raiz/parte aérea obtida nas plantas sujeitas ao vento é também relatada por outros autores (Whitehead e Luti, 1961; Lawton 1982). Esse mesmo comportamento foi observado quando houve aplicação de Si no solo, corroborando com o obtido por Jones e Handreck (1965). As plantas tendem a alocar assimilados para a raiz como uma resposta de aumento da estabilidade bem como de resistência ao vento (Nicoll et al., 1995). Por sua vez, o Si estimula a extensão da parede celular na zona de crescimento da raiz, levando a seu desenvolvimento, ao mesmo tempo em que diminui na zona basal do estelo, formando uma barreira mecânica nessa região (Hattori et al. 2003).

A menor nervura foliar obtida nas plantas com vento, assim como seu maior tamanho proporcionado pelo Si no presente estudo, diferem dos resultados encontrados em outras espécies por Whitehead e Luti (1961) em plantas sujeitas ao vento, e Costa et al. (2018), em plantas adubadas com Si. Ma e Yamaji (2008) relatam que os efeitos benéficos do Si na promoção de crescimento do vegetal são mais comumente encontrados quando as plantas estão em condições de estresse, justificando o maior desenvolvimento da nervura somente quando o cacauzeiro estava sujeito ao vento e adubado com Si no solo.

Dessa mesma forma, o acúmulo de Si nas plantas adubadas via foliar pode ter estimulado o maior desenvolvimento da epiderme adaxial nessas plantas. O depósito de silício na planta ocorre majoritariamente nas folhas (Fox et al., 1969) e, por ser acumulado principalmente nas células epidérmicas, responde melhorando as taxas fotossintéticas, pois facilita a transmissão da luz para o parênquima clorofiliano (Kaufman et al., 1979). Apesar de não ter sido observado aumento da fotossíntese nesse tratamento, o Si levou ao incremento do parênquima paliçádico quando aplicado nas folhas.

Esperava-se que plantas sujeitas ao vento, e sem adubação com Si, exibissem menores valores de trocas gasosas, visto que o cacaueteiro é uma espécie sensível à baixa umidade relativa do ar, e que o vento é um dos fatores responsáveis por essa diminuição (Gomes et al., 1987). A umidade do ar afeta o déficit de pressão de vapor (DPV), que, por sua vez, altera a condutância estomática (Wada et al., 2014). Os maiores valores dessas variáveis obtidos podem ter resultado na maior transpiração nessas plantas, como também observado por Cunningham (2006).

A transpiração, ao ser ajustada por mudanças na condutância estomática, é regulada a níveis compatíveis com o suprimento de água (Franco e Lütte, 2002). Mesmo com o elevado DPV, a aplicação de Si levou às menores taxas de transpiração nas plantas com vento, reforçando esse elemento como otimizador das trocas gasosas quando as plantas se encontram sob algum estresse ambiental (Gao et al., 2006; Ma e Yamaji, 2006).

A menor eficiência intrínseca do uso da água observada nas plantas submetidas ao vento pode ter sido provocada pela maior condutância estomática sem alteração fotossintética provocada pelo vento. Quanto maior for a eficiência do uso da água em uma planta, maior será sua habilidade em converter a água durante a fotossíntese (Schymanski e Or, 2015). Reis et al. (2018) ao estudarem plantas do genótipo CCN51 de cacaueteiro também encontraram resultado semelhante, assim como outros autores ao trabalharem com outras plantas submetidas ao vento (Huang et al., 2016; Schymanski e Or, 2015).

A menor densidade estomática nas plantas com vento também pode ter levado à menor eficiência intrínseca do uso da água, ao passo que, quando adubadas via foliar, as plantas exibiram menor número de estômatos e menor eficiência. Sabe-se que fatores ambientais podem regular o desenvolvimento estomático (Nadeau e Sack, 2002), tornando-os disfuncionais ou os mantendo fechados devido à perda de água foliar e à própria destruição da folha (Cordero, 1999). Quando presentes em maior quantidade nas folhas, os estômatos levam à diminuição da transpiração, bem como da condutância estomática (Brodribb e Holbrook, 2003), indicando que provavelmente mantinham sua abertura reduzida.

Apesar da maior atividade da SOD em plantas expostas ao vento e sem adubação com Si, era esperado que a atividade da CAT acompanhasse esse resultado. A SOD, considerada a primeira linha de barreira desse tipo de defesa,

libera como produto da dismutação o peróxido de hidrogênio, cuja conversão ocorre principalmente por ação da CAT (Gill e Tuteja, 2010). Por outro lado, a maior atividade da APX reforça a existência de um balanço entre essas três enzimas e que um mecanismo de defesa enzimático eficiente foi ativado em resposta ao vento, atuando no ajuste mais fino durante a eliminação de espécies reativas de oxigênio e nos processos de sinalização (Mittler, 2002). Uma das formas de minimizar os efeitos oxidativos causados por estresses se dá por um sistema de defesa enzimático, sendo que o balanço entre as atividades da SOD, APX e CAT é crucial na supressão dos níveis tóxicos causados pelas EROS (Apel e Hirt, 2004; Dinakar, 2012).

A menor atividade da SOD e da PPO nas plantas adubadas com Si sugere que esse elemento atuou de forma regulada com o vento, levando à redução dos gastos energéticos para a manutenção dessas enzimas. Zanetti et al. (2016) também observaram maior atividade da SOD somente quando o cacauzeiro era submetido à UV-B, sem diferença quando adubado com Si. À medida que o Si levou à maior atividade da CAT quando aplicado na folha, esse elemento demonstrou que o cacauzeiro possui resposta positiva à sua aplicação na ativação dessa enzima. Assim, o Si garante a manutenção do equilíbrio oxidativo nas células, de modo a evitar danos às membranas em decorrência da exposição ao estresse causado pelo vento.

Apesar de ser observado na literatura o estímulo da atividade de peroxidases e polifenoloxidasas pelo Si, sendo considerado como um efeito de alívio em plantas submetidas a estresses abióticos (Ye et al., 2013; Zanetti et al., 2016), no trabalho houve aumento apenas da atividade da POD e quando o Si era aplicado na folha. A atividade de peroxidases nas plantas ocorre em resposta a estímulos bióticos e abióticos, de modo que essas enzimas regulem o processo de lignificação. Dessa forma, o aumento nos teores de lignina tem sido correlacionado a níveis elevados de peroxidases (Lüderitz, e Grisebach, 1981; Moura et al., 2010).

A maior atividade de peroxidases nas plantas com vento, sem adubação com Si, e com vento e Si aplicado via foliar, acarretou no maior teor de lignina obtido nessas plantas. Já no grupo com vento e adubação via solo, a baixa atividade, tanto da APX quanto da POD, indica que nessas plantas a síntese de lignina ocorreu por uma outra via. O aumento de celulose e lignina nas folhas em resposta ao vento já vem sendo relatado (Yang et al., 2017), sendo relacionado com o suporte à

morfogênese e redução da dilaceração foliar (Barbehenn et al., 2015). No presente estudo, além da lignificação proporcionada pelo vento, a rigidez, bem como elasticidade dos tecidos foliares das plantas adubadas com Si, foi reforçada pelo aumento do teor de celulose e hemicelulose.

5 CONCLUSÃO

A adubação com silício via foliar promoveu melhoria nos mecanismos de tolerância do cacaueteiro ao vento através do incremento das características anatômicas e dos processos bioquímicos e fisiológicos de modo a aumentar a robustez dessas plantas diante desse estresse abiótico.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. In: **Methods in Enzymology**. 1984. p. 121-126.
- 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.
- 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.
- ALVIM, P.T. Cocoa research in Brazil. In: SIMMONS, J. (Ed.). **Cocoa production: economic and botanical perspectives**. Nova York: Praeger, 1976. p. 272-298.
- ALVIM, Paulo Tarso. Cacao. In: ALVIM, P. T.; KOZLOWSKI, T. T. (Eds.). **Ecophysiology of tropical crops**. Nova York: Academic Press, 1977. p. 279-313.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.
- BARBEHENN, R. V.; HAUGBERG, N.; KOCHMANSKI, J. e MENACHEM, B. Effects of leaf maturity and wind stress on the nutrition of the generalist caterpillar *Lymantria dispar* feeding on poplar. **Physiological Entomology**, v. 40, p. 212-222, 2015.
- 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.
- BRENDEL, O.; LOSETTA, P.P.M.G.; STEWART, D. A rapid and simples method to isolate purê alpha cellulose. **Phytochemistry Annal**, v. 17, p. 7-10, 2000.
- BRODRIBB, T. J.; HOLBROOK, N. M. Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. **Plant Physiology**, v. 132, n. 4, p. 2166-2173, 2003.
- CAKMAK, I. STRBOE, D. e MARSCHNER, H. Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germinating wheat seeds. **Journal of Experiment Botany**, v. 44, p. 127-132, 1993.
- CAÑAL, M.J.; TAMÉS, R.S. e FERNÁNDEZ, B. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in *Cyperus esculentus* leaves following glyphosate applications. **Plant Physiology**, v. 74, p. 125-130, 1988.
- CORDERO, R.A. Ecophysiology of *Cecropia schreberiana* saplings in two wind regimes in an elfin cloud forest: growth, gas exchange, architecture and stem biomechanics. **Tree Physiology**, v. 19, p. 153-163, 1999.
- COSTA, B.N.S.C.; COSTA, I.J.S.; DIAS, G.M.G.; ASSIS, F.A., de; PIO, L.A.S.; SOARES, J.D.R.; PASQUAL, M. Morpho-anatomical and physiological alterations of

passion fruit fertilized with silicon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 2, p. 163-171, 2018.

CUNNINGHAM, S.C. Effects of vapour pressure deficit on growth of temperate and tropical evergreen rainforest of Australia. **Acta Oecologica**, v.30, p.399-406, 2006.

DETMANN, K.; ARAÚJO, W.; MARTINS, S.; FERNIE, A.R.; DA MATTA, F. Metabolic alterations triggered by silicon nutrition: Is there a signaling role for silicon? **Plant Signaling & Behavior**, v. 8, p. 71-74. 2013.

DIAS, L.A. **Melhoramento genético do cacaueteiro**. Viçosa: Funape, 2001. 578 p.

DINAKAR, C.; DJILIANOV, D.; BARTELS, D. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. **Plant Science**, v. 182, p. 29-41, 2012.

DOS SANTOS, W.D., FERRARESE, M.L.L., NAKAMURA, C. V., MOURÃO, K.S.M., MANGOLIN, C.A., FERRARESE-FILHO, O. Soybean (*Glycine max*) Root Lignification Induced by Ferulic Acid. The Possible Mode of Action. **Journal of Chemical Ecology**, n. 34, p. 1230–1241, 2008.

FANTINATO, D.E. Efeitos da adubação foliar com silício na resistência do cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) à vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora). Vitória: UFES, 2017. 106f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2014.

FOX, R. L.; SILVA, J. A. e PLUCKNETT, D. L. Soluble and total silicon in sugar cane. **Plant and Soil**, v. 30, p. 81-92, 1969.

GAO, X.; ZOU, C.; WANG, L.; ZHANG, F. Silicon decreases transpiration rate and conductance from stomata of maize plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 29, p. 1637-1647, 2006.

GIANNOPOLITIS, C.N., REIS, S.K., 1977. Superoxide Dismutases: II. Purification and 57 Quantitative Relationship with Water-soluble Protein in Seedlings. **Plant Physiology**, v. 59, p. 315-318.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GOMES, A.R.S. e KOZLOWSKI, T.T. e REICH, P.B. S. Some physiological responses of *Theobroma cacao* var. Catongo seedlings to air humidity. **New Phytologist**, n. 107, p. 591-602, 1987.

GUERRIERO, G., HAUSMAN, J.-F., LEGAY, S. Silicon and the Plant Extracellular Matrix. *Front. Plant Science*, v. 7, p. 1–9, 2016.

HATTORI, T.; INANAGA, S.; TANIMOTO, E.; LUX, A.; LUXOVÁ, M.; SUGIMITO, Y. Silicon-induced changes in viscoelastic properties of sorghum root cell walls. *Plant Cell Physiology*, v. 44, n. 7, p. 743-749, 2003.

HOSSAIN, M.T.; SOGA, K.; WAKABAYASHI, K.; KAMISAKA, S.; FUJII, S.; YAMAMOTO, R.; HOSON, T. Modification of chemical properties of cell walls by silicon and its role in regulation of the cell wall extensibility in oat leaves. *Journal of Plant Physiology*, n. 164, p. 385–393. 2007.

HUANG, P.; WAN, X. e LIEFFERS, V.J. Daytime and nighttime wind differentially affects hydraulic properties and thigmomorphogenic response of poplar saplings. *Physiologia Plantarum*, v. 157, p. 85-94, 2016.

JACKSON, M.J.; LINE, M.A.; WILSON, S.; HETHERINGTON, S.J. Application of composted pulp and paper mill sludge to a young pine plantation. *Journal Environment*, v. 29, n. 2, p. 407-414, 2000.

Johansen, D. **Plant Microtechnique**. New York, 1940.

JONES, L. H. P. e HANDRECK, K. A. Studies of silica in the oats plants: III – Uptake of silica from soil by plant. *Plant and Soil*, v. 23, p. 79-96, 1965.

KAUFMAN, P. B.; TAKEOKA, Y.; CARLSON, T. J.; BIGELOW, W. C.; JONES, J. D.; MOORE, P. H. e GHOSHEH, N. S. Studies on silica deposition in sugarcane using scanning electron microscopy, energy-dispersive Xray analysis, neutron activation analysis and light microscopy. *Phytomorphology*, v. 29, p. 185 – 193, 1979.

KRAUS, J.; ARDUIN, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR. 198p.

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.

KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.S.; NOLLA, A. **Análise de silício**: solo, planta e fertilizante. Uberlândia GPSi-ICIAG-UFU (Boletim técnico, 2) 34. 2004.

LEWIN, J. e REIMAN, B. E. F. Silicon and plant growth. *Annual Review of Plant Physiology*, v. 20, p. 283-304, 1969.

LIANG, Y.; SUN, W.; ZHU, Y.G.; CHRISTIE, P. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: A review. *Environmental Pollution*, v. 147, p. 422–428. 2007.

LÜDERITZ, T.; GRISEBACH, H. Enzymic Synthesis of Lignin Precursors Comaprision of Cinnamoyl-CoA Reductase and Cinnamyl Alcohol: NADP⁺

Dehydrogenase from Spruce (*Picea abies* L.) and Soybean (*Glicine max* L.). **European Journal of Biochemistry**, v. 119, p. 115-124, 1981.

MA, J.F.; YAMAJI, N. A cooperative system of silicon transport in plants. **Trends in Plant Science**, n. 20, p. 435–442, 2015.

MA, J.F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends in Plant Science**, v. 11, p. 392–397. 2006.

MA, J.F.; YAMAJI, N. Functions and transport of silicon in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 65, p. 3049-3057, 2008.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 405-410, 2002.

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.

MOURA, J.C.M.S., BONINE, C.A.V., de OLIVEIRA F. V. J., DORNELAS, M.C., MAZZAFERA, P. Abiotic and Biotic Stresses and Changes in the Lignin Content and Composition in Plants. **Journal Integrative Plant Biology**, v. 52, p. 360–376, 2010.

NADEAU, J.A.; SACK, F.D. Stomatal development in Arabidopsis. **The Arabidopsis Book**, v.1, p.1-26, 2002.

NAKANO, Y., ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, p. 867–880, 1981.

NICOLL, B.C., E.P. EASTON, A.D. MILNER, C. WALKER e M.P. COUTTS. **Wind stability factors in tree selection**: distribution of biomass within root systems of Sitka spruce clones. In *Wind and Trees*. (Eds.) M.P. Coutts and J. Grace. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., pp 276--292. 1995.

NIELSEN, C.N. Forest management for improved wind stability. In: **Adaptive physiology and tree management**. Samfunds litteratur Life Sciences, Thorvaldsensvej Denmark, 2005.

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.

PILON, C. **Aplicação de silício solúvel via solo e foliar na cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) sob deficiência hídrica**. Botucatu: UNESP, 2011. 74f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2011.

PINTO, D.G.; AGUILAR, M.A.G; SOUZA, C.A.S.; SILVA, D.M.; SIQUEIRA, P.R. e CAO, J.R. Fotossíntese, crescimento e incidência de insetos-praga em genótipos de cacau pulverizados com silício. **Bioscience Journa**, v. 30, n. 3, p. 715-724, 2014.

REIS, G. S. M.; ALMEIDA de, A. F.; MANGABEIRA, P. A. O.; SANTOS do, I. C.; PIROVANI, C. P. e AHNERT, D. Mechanical stress caused by wind on leaves of *Theobroma cacao*: Photosynthetic, molecular, antioxidative and ultrastructural responses. **Plos One**, v. 13, n. 6, 2018.

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.

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.

SCHÄDEL, C.; BLÖCHI, A.; RICHTER, A.; HOCH, G. Quantification and monosaccharide composition of hemiceluloses from diferente plant functional types. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 1-8, 2010.

SCHYMANSKI, S.J. e OR, D. Wind effects on leaf transpiration challenge the concept of “potential evaporation”. **Proceedings of the International Association of Hydrological Sciences**, v. 371, p. 99-107, 2015.

SENA GOMES, A.R.S.; KOLOWSKI, T.T. Response of seedlings of two varieties of *Theobroma cacao* to wind. **Tropical Agriculture**, n. 66, p.137-141, 1989.

WADA, H.; MASUMOTO-KUBO, C.; GHOLIPOUR, Y.; NONAMI, H. e TANAKA, F. Rice chalky ring formation caused by temporal reduction in starch biosynthesis during osmotic adjustment under foehn-induced dry wind. **Plos One**, v. 9, n. 10, 2014.

WHITEHEAD, F. H. Wind as a factor in plant growth. In: HUDSON, J. P (Org.). **Control of the plant environment**. London: Butterworth Scientific Publications. 1962. p. 84-95.

WHITEHEAD, F. H.; LUTI, R. Experimental studies of the effect of wind on plant growth and anatomy I *Zea mays*. **New Phytologist**, p. 56-58, 1961.

YANG, X.; ZHANG, P.; WU, Q.; YAN, H.; YU, M.; WANG, G. e WU, T. Effects of Simulated Wind Load on Leaf Photosynthesis and Carbohydrate Allocation in Eight *Quercus* Species. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 11, p. 652-657, 2017.

YE, M., SONG, Y., LONG, J., WANG, R., BAERSON, S.R., PAN, Z., ZHU-SALZMAN, K., XIE, J., CAI, K., LUO, S., ZENG, R., 2013. Priming of jasmonate-mediated antiherbivore defense responses in rice by silicon. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 10, p. 1-9, 2013.

ZANETTI, L.V. **Radiação UV-B e adubação silicatada sobre a morfologia, fisiologia e bioquímica de *Theobroma cacao* L. (Malvaceae)**. Vitória: UFES, 2017. 106f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2017.

ZANETTI, L.V., ROZINDO, C., MILANEZ, D., GAMA, V.N., AGUILAR, M.A.G., SOUZA, C.A.S., CAMPOSTRINI, E., FERRAZ, T.M., FIGUEIREDO, F.A.M.M. de A. Leaf application of silicon in young cacao plants subjected to water deficit. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. 215–223, 2016.