



**REJANE MENDES DOS ANJOS**

**NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE DA VASSOURA DE  
BRUXA DO CACAUEIRO**

**LAVRAS - MG  
2020**

**REJANE MENDES DOS ANJOS**

**NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE DA VASSOURA DE BRUXA DO  
CACAUEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós - Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Paulo Estevão de Souza  
Orientador

Prof(a). Dr(a). Edna Dora Newman Luz  
Co - orientadora

**LAVRAS - MG  
2020**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Anjos, Rejane Mendes dos.  
Nanopartículas no Controle da Vassoura de Bruxa do  
Cacaueiro / Rejane Mendes dos Anjos. - 2020.  
104 p. : il.

Orientador(a): Paulo Estevão de Souza.  
Coorientador(a): Edna Dora Newnan Luz.  
Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2020.  
Bibliografia.

1. Nanopartículas de ZnO, Ag, CuO, B, Si e MnO<sub>2</sub>. 2. Indução  
de Resistência. 3. Controle de *Moniliophthora perniciosa*. I. Souza,  
Paulo Estevão de. II. Luz, Edna Dora Newnan. III. Título.

**REJANE MENDES DOS ANJOS**

**NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE DA VASSOURA DE BRUXA  
DO CACAUEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

Apresentada em 10 de Março de 2020.

Dr. Paulo Cesar Lima Marrocos                      CEPEC/CEPLAC

Dr. Eduardo Alves                                      DFP/UFLA

Prof. Dr. Paulo Estevão de Souza  
Orientador

Prof (a). Dr(a). Edna Dora Newman Luz  
Co - orientadora

**LAVRAS – MG  
2020**

*À Deus, por todas as bênçãos*

*Ofereço*

*A minha mãe Raimunda e a meu pai Antônio (in memoriam)*  
*À meus irmãos em especial Rogério pela presença na caminhada*  
*À minha irmã Ana Karine e seu esposo Antônio*  
*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Soberano e Eterno Deus pelo seu cuidado Sempiterno.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPQ pela concessão da bolsa de estudos.

A Comissão Executiva da Lavoura Cacaueira e ao Centro de Pesquisa do Cacau - CEPLAC/CEPEC, em Ilhéus no Sul da Bahia, pela oportunidade e apoio no desenvolvimento do projeto.

Ao Connecticut Agricultural Experiment Station - CAES e ao Dr<sup>o</sup> Wade Elmer pela concessão das nanopartículas utilizadas no presente estudo.

Ao Diretor da Biofábrica de Cacau, o Sr<sup>o</sup> Lans Almeida pela colaboração e apoio na doação do substrato Carolina.

Aos meus orientadores: Dr. Paulo Estevão de Sousa, Dr<sup>a</sup>. Edna Dora Newnam Luz e Dr. Edson Ampélio Pozza.

Aos Professores (as) Dra. Adélia Aziz Alexandre Pozza, Paulo Cesar Lima Marrocos, Sergio Oliveira pela imensa ajuda, paciência e amizade durante o período de desenvolvimento do projeto.

Aos Professores George Andrade Sodré, Marcelo Sharamm Mielke e Eduardo Gross pela apoio na concessão de materias e orientação durante a execução do projeto.

Aos técnicos Silvio Antônio Calazans de Freitas da UFLA e Edmundo do CEPEC pelo apoio na preparação de materiais, montagem de experimentos.

A secretária Programa de Fitopatologia Ariane Alvarenga pela amizade e apoio durante a caminhada.

A todos os funcionários do Departamento de Fitopatologia e do CEPEC pelo apoio e a agradável convivência.

Aos professores do programa de pós-graduação do Departamento de Fitopatologia pelos ensinamentos.

Aos amigos e colegas do Programa de Fitopatologia nas pessoas da Maysa, Jenniffer, Peterson, Ieda, Jessica, Felipe, Edinilson, Nayane, Julia, Marthony e Paulo. As minhas colegas do CEPEC/CEPLAC nas pessoas da Larissa, Aline, Gisele e Elisangela.

Aos meus amigos que encontrei na caminhada pela vida e que sempre estive do meu lado vibrando em cada conquista alcançada, Carmelita, Barbara Eunice, Thiago, Ednaldo, Renildo, Amanda, Sebastião, Thaianá, Josivaldo, Elenildo e Kaíque.

A minha mãe Raimunda Mendes dos Anjos que estive sempre do meu lado com seu cuidado incomparavel em todos os momentos da minha vida.

A toda minha família que sempre estive comigo apoiando direta e indiretamente em especial meu irmãos Rogério Mendes dos Anjos, Ana Karine M. dos Anjos, Aires A. M. dos Anjos e os meus sobrinhos Harley A. S dos Anjos, Harleiane S. dos Anjos e Johabson S. dos Anjos.

A todos que de certa forma participaram dessa minha jornada minha ETERNA GRATIDÃO.

## RESUMO

Nanopartículas tem sido eficientes no controle de fitopatógenos *in vitro*, porém poucos estudos tem sido desenvolvidos *in vivo*. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos das nanopartículas de ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, B, Si e Ag na inibição das diferentes fases da vassoura de bruxa do cacauzeiro (*M. pernicioso*) *in vitro* e *in vivo*. O experimento foi conduzido no CEPEC/CEPLAC em Ilhéus na Bahia. No experimento da inibição da germinação de basidiosporos o delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 6x6, 6 NPs ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, B, Si e Ag, 6 doses 0, 25, 50, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> e 16 repetições. As NPs foram diluídas em meio de cultura agar e adicionado uma suspensão de 2x10<sup>5</sup> basidiosporos, as leituras foram feitas após 6 horas. No experimento de inibição de crescimento micelial o delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x6, 4 NPs ZnO, CuO, B e Ag e 6 doses 0, 25, 50, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> e 5 repetições. As NPs foram diluídas em meio de cultura BDA e adicionado um disco de micélio no centro das placas. As leituras foram feitas a cada 3 dias até aos 12º dia. No experimento de inibição de basidiocarpo o delineamento foi em bloco casualizado em esquema fatorial 5x4 sendo, 5 NPs ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, Si e Ag e 4 doses 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> e 3 repetições. As vassouras secas foram mergulhadas nas soluções NPs por 1 hora logo após foram levadas ao vassoureiro. Foram feitas 3 leituras uma por semana. No experimento em mudas o delineamento foi em bloco casualizado em esquema fatorial 2x4, sendo 2 NPs Si e Ag e 4 doses 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> e 4 repetições. Aos 23 dias do plantio foi aplicado via foliar 10 mL das soluções de NPs e 10 dias após foi depositado no meristema apical 30 µL de 2x10<sup>5</sup> basidiósporos viáveis. Foram feitas leituras de incidência, severidade, clorofila, altura e diâmetro. No teste da germinação de basidiosporos a dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> foi mais eficiente em relação as demais, diminuindo a germinação em 0,18% (ZnO), 0% (Ag), 0,05% (CuO), 0% (Si), 1,0% (MnO<sub>2</sub>) e 37,73% (B). No teste de inibição de crescimento micelial a dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> NPs de ZnO, Ag e CuO, foram mais fitotóxicos a *M. pernicioso* em relação as demais, inibindo 69,0, 89,0, e 82,2% respectivamente. No experimento de inibição de basidiocarpo a dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> NPs inibiram acima de 92%. A AACPDI os valores médios foram 38, 32, 24 e 0 e 34, 27, 19 e 7 nas doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NPs Si e Ag respectivamente. A AACPDS os valores médios foram 81, 118, 108 e 0 cm<sup>2</sup> e 61, 102, 97 e 23 cm<sup>2</sup> nas doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NPs Si e Ag respectivamente. NP Si apresentou efeitos fitotóxicos a *M. pernicioso* *in vitro* e *in vivo*, inibindo na AACPD 100% da severidade na dose 400 mg/L<sup>-1</sup>.

**Palavras-Chave:** Micronutrientes. Nanotecnologia. Controle de Doenças de Plantas.

## ABSTRACT

Nanoparticles (NPs) have been effective in controlling phytopathogens *in vitro*, but few studies have been developed *in vivo*. The objective of this work was to evaluate the effects of ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, B, Si and Ag NPs on the inhibition of different phases of cacao witches broom (*M. pernicioso*) *in vitro* and *in vivo*. The experiment was conducted at CEPEC/CEPLAC in Ilhéus, southern Bahia. In the experiment of basidiospore germination inhibition, design was completely randomized in a 6x6 factorial scheme, with 6 NPs ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, B, Si and Ag, 6 doses 0, 25, 50, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> and 16 repetitions. The NPs were diluted in agar culture medium and a 2x10<sup>5</sup> basidiospore suspension added, readings were taken after 6 hours. In the experiment mycelial growth inhibition the design was completely randomized in a 4x6 factorial scheme, with 4 NPs ZnO, CuO, B and Ag and 6 doses 0, 25, 50, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> and 5 replications. NPs were diluted in BDA culture medium and a mycelium disc added to the center of the plates. Readings were taken every 3 days until 12 day. In the experiment basidiocarp inhibition the design was in randomized block in 5x4 factorial scheme, with 5 NPs ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, Si and Ag and 4 doses 0, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> and 3 replications. The dried brooms were soaked in NPs solutions for 1 hour shortly after they were taken to the broom. There were 3 readings 1 per week. In the experiment in seedling the design was a randomized block in a 2x4 factorial scheme, with 2 NPs Si and Ag and 4 doses 0, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> and 4 replications. At 23 days after planting, 10 mL of NPs solutions were applied via leaf and 10 days after, 30 µL of 2x10<sup>5</sup> basidiospore viable was deposited on the apical meristem. Were taken readings of incidence, severity, chlorophyll, height and diameter. In the basidiospore of germination test the 200 mg/L<sup>-1</sup> dose was more efficient than the others, reducing germination in 0,18% (ZnO), 0% (Ag), 0,05% (CuO), 0% (Si), 1,0%. (MnO<sub>2</sub>) and 37,73% (B). In the mycelial growth inhibition test the 400 mg/L<sup>-1</sup> NPs of ZnO, Ag and CuO were more phytotoxic to *M. pernicioso* than the others, inhibiting 69,0, 89,0, and 82,2% respectively. In the experiment basidiocarp inhibition the dose of 400 mg/L<sup>-1</sup> NPs inhibited above 92%. The AACPD mean values were 38, 32, 24 and 0 and 34, 27, 19 and 7 at the doses of 0, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Si and Ag respectively. The AACPDS mean values were 81, 118, 108 and 0 cm<sup>2</sup> and 61, 102, 97 and 23 cm<sup>2</sup> at the doses of 0, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Si and Ag respectively. NP Si presented phytotoxic effects to *M. pernicioso* *in vitro* and *in vivo*, inhibiting in AACPD 100% of the severity in the 400 mg L<sup>-1</sup> dose.

**Key words:** Micronutrients. Nanotechnolog. Plant Disease Control.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL .....	11
2 REFERENCIALTEÓRICO .....	13
2.1 Descrição do Cacaueiro.....	13
2.2 Vassoura de Bruxa.....	13
2.3 Nutrição Mineral de Plantas.....	14
2.4 Nanopartículas.....	17
3 REFERÊNCIAS.....	20
CAPÍTULO I - Nanopartículas de Boro, Zinco, Prata, Silício, Cobre e Mangânes no Controle de <i>M. pernicioso</i> do Cacaueiro.....	24
RESUMO.....	24
ABSTRACT.....	25
1 INTRODUÇÃO.....	26
2 MATERIALE MÉTODOS.....	28
2.1 Área de estudo e tratamentos.....	28
2.2 Experimento <i>in vitro</i> - Inibição da Germinação de basidiosporos.....	29
2.3 Inibição de crescimento micelial.....	29
2.4 Inibição da formamação de basidioma.....	29
2.5 Avaliações.....	30
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	32
3.1 Inibição da Germianção de basidiosporos.....	32
3.2 Inibição de crescimento micelial .....	34
3.3 Inibição da formação de basidioma .....	37
4 CONCLUSÕES.....	42
CAPÍTULO II - Nanopartículas de Silício e Prata no Controle da Vassoura de Bruxa em Genótipos Catongo.....	43
RESUMO.....	43
ABSTRACT.....	44
1INTRODUÇÃO.....	45
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	47
2.1 Produção de mudas .....	47
2.2 Experimento em casa de vegetação .....	47
2.3 Inoculação com o fungo <i>M. pernicioso</i> .....	48
2.4 Avaliações.....	48

2.4.1 Incidência e severidade.....	48
2.4.2 Variáveis morfológicas.....	49
2.4.3 Variáveis matéria seca.....	50
2.4.4 Análise Estatísticas.....	50
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
3.1 Incidência e severidade no tempo da vassoura de bruxa do cacauero no tempo...51	
3.2 AACPD para incidência e severidade.....	54
3.3 Clorofila.....	56
3.4 Análise morfológicas.....	57
3.5 Análise da massa seca.....	62
3.6 Correlações.....	62
4 CONCLUSÕES.....	77
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
6 APÊNDICE.....	86

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o 5º maior produtor de cacau (*Theobroma cacao*) ficando atrás da Costa do Marfim, Gana, Nigéria e Camarões. O Pará e a Bahia são responsáveis por 95% da produção nacional, sendo que 90% do cacau produzido pelo Brasil é exportado (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO -CONAB, 2017).

O cacau é consumido mundialmente, sendo os países que mais consomem chocolate, principal produto do cacau, Suíça, Alemanha, Irlanda, Reino Unido, Noruega, Suécia, Austrália, Holanda, Estados Unidos e França (MERCADO DO CACAU, 2018; COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA - CEPLAC, 2018).

No ano 2017, devido as condições climáticas desfavoráveis, a Bahia produziu 83,7 mil toneladas, ficando pela primeira vez atrás do Pará com produção de 115,2 mil toneladas. Em 2018, foram estimadas 143,1 mil toneladas para a Bahia, incremento de 70,6% (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2018). Embora a estimativa de safra seja animadora (CONAB, 2017) a cacauicultura vêm enfrentando crises econômicas desde o aparecimento da doença vassoura de bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillipis-Mora (sin.: *Crinipellis perniciosa*). No ano de 1990, essa doença reduziu 60% da produção gerando grande impacto social (AGRIOS, 1997).

Diversas alternativas tem sido recomendadas para controlar a vassoura de bruxa no cacaueiro, como utilização de fungicidas protetores à base de óxido cuproso e de um fungicida sistêmico do grupo dos triazóis, tebuconazole. Além da remoção dos tecidos infectados, plantio de genótipos resistentes e o uso do agente de biocontrole *Trichoderma stromaticum* (OLIVEIRA, 2016).

Os fungicidas químicos podem provocar impactos ambientais mensuráveis, principalmente quando considera-se o sistema de produção utilizado na região, conhecido como cacau cabruca (cacau plantado em baixo de espécies florestais). O biocontrole sempre enfrenta resistência por parte da maioria dos produtores devido ao modo de ação lento dos produtos (MORANDI et al., 2009).

Muitos pesquisadores têm buscado outra alternativa para controlar a doença. A nutrição com macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), cálcio (Ca) e potássio (K) e os micronutrientes: cobre (Cu), boro (B), zinco (Zn), manganês (Mn) e ferro (Fe) aplicada de maneira correta e equilibrada pode contribuir para reduzir a severidade das doenças e diminuir o número de pulverizações com fungicidas (LIMA et al., 2010; POZZA; POZZA, 2012).

Nanopartículas (NPs) podem aumentar a produção agrícola promovendo a saúde das plantas (ELMER; WHITE, 2016). Íons de prata tem múltiplos modo de ação inibitória contra patógenos (CLEMENT; JARRETT, 1994), podendo ser usados no controle de vários fitopatógenos (PARK et al., 2006).

NPs melhora a fotossíntese, a atividade de enzima e aumenta a fixação de nitrogênio do ar (YANG et al., 2006; GHAFARIYAN, 2013; PRADHAN, 2013; MAHAJAN; DHOKEN et al., 2013), fortalecendo o sistema de defesa das plantas por meio das atividades de enzimas, polifenol oxidase e fenol total (RODRIGUES et al., 2003, DHOKEN et al., 2013).

Sendo assim o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos das nanopartículas de ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, B, Si e Ag na inibição do crescimento micelial, da germinação de basidiósporos e da formação de basidiomas de *M. perniciosa* em vassouras secas e no controle da vassoura de bruxa em mudas de cacaueteiro.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Descrição do Cacaueiro

O cacueiro pertence a Divisão *Magnoliophyta*; Classe *Magnoliopsida*; Ordem *Malvales*; Família *Malvaceae*, sub-família *Sterculiaceae*, ao gênero *Theobroma cacao* L. Nome popular cacau, cacaueiro e/ou árvore-da-vida, a propagação é natural por sementes, estaquia e enxertia e pode atingir 6 (seis) metros de altura com ramificação (LORENZIET et al., 2006; SINDONI, 2006; SODRE et al., 2016).

Segundo os botânicos os grupos de cacau Criollo e o Forasteiro deram origem as demais variedade de cacau. O grupo Forasteiro é conhecido como legítimo cacau brasileiro, já o Catongo originou-se por mutação genética do grupo comum cultivado na Bahia e caracterizado por possuir sementes brancas (CEPLAC, 2018).

O grupo Trinitário é proveniente do cruzamento entre os grupos Criollo e Forasteiro. A variedade CCN 51 é um híbrido proveniente do cruzamento IMC 67 x ICS 95, cujo o F1 cruzou com material regional do Equador - Canelo (SODRÉ et al., 2016).

O cultivo do cacaueiro começou no Brasil em 1679. No século XVIII foi introduzido na Bahia e no século XIX foi levado para África (CEPLAC, 2018). Nesta época o cacaueiro adaptou-se ao clima da Bahia, elevando a região a maior produtora de cacau do Brasil com 84,5% da produção nacional e a segunda do mundo (SILVA et al., 2003).

A vassoura de bruxa foi detectada pela primeira vez na Bahia em 1989 (PEREIRA et al., 1989). A doença espalhou-se por todas as regiões produtoras do estado, gerando perdas de 60% da produção no ano de 1990 (AGRIOS, 1997; SILVA et al., 2003).

### 2.2 Vassoura de Bruxa

A vassoura de bruxa é atualmente a doença mais importante do cacaueiro, podendo gerar perdas de 90% da produção em condições favoráveis (OLIVEIRA, 2016).

O fungo *Moniliophthora perniciosa* (sin.: *Crinipellis perniciosa*) é hemibiotrófico com as fases: parasítica ou biotrófica, com micélio monocariótica e crescimento intercelular e a fase saprofítica ou necrotrófica, com grampos de conexão no micélio dicariótico e crescimento inter e intracelular (DALLA PRIA; CAMARGO, 1997).

*Moniliophthora perniciosa* pertence a classe dos Basidiomicetos. No cacaueiro o fungo provoca intumescimento dos brotos vegetativos, redução do tamanho dos internódios, deformação da folha e perda da dominância apical (SILVA et al., 2003) além de

superbrotamento de lançamentos foliares, com aumento de gemas laterais e engrossamentos de tecidos (principalmente meristemáticos) formando a vassoura. A vassoura verde seca e os frutos infectados mumificam. Com alternância de dias quentes e chuvosos o fungo produz basidiocarpos (4 a 8 semanas após a seca das vassouras), liberando os basidiosporos que infectarão os cacauzeiros (OLIVEIRA, 2016).

Os basidiosporos são dispersos por corrente de ar durante a noite sob alta umidade relativa e baixa temperatura, quando estão sobre a superfície dos tecidos meristemáticos em desenvolvimentos, os esporos germinam e penetram pelos estômatos (EVANS; BASTOS 1979; BASTOS, 1990).

O fungo possui ampla gama de hospedeiros principalmente entre as famílias Malvaceae e Solanaceae. Na família Malvaceae, destacam-se a ocorrência do patógeno nas espécies: *Theobroma cacao* (cacau), *T. grandiflorum* (Wild. Ex. Spreng) Shum (cupuaçu), *T. bicolor* Hymb & Bompl. (cacau do Perú), *T. microcarpum* (cacau jacaré), *T. subincanum* (cupuí), *T. obovatum* (cacau cabeça de urubu), *T. speciosum* Wild. (cacau) e as espécies de *Herania albiflora*, *H. nitida* (Poepp). Shultes e *H. purpureae* (OLIVEIRA, 2016).

Na família Solanaceae, destacam-se as espécies: *Capsicum annum* L. (pimentão), *C. frutescens* (pimenta do reino) e do gênero *Solanum*, *S. paniculatum* L. (jurubeba), *S. gilo* Raddi (jiló), *S. stipulaceum* Wild ex. Roem & Shult. (falsa caiçara), *S. melongera* L. (beringela), *S. lycocarpum* (lobeira), *S. cernnum* (braço de preguiça), *S. mauritianum*, *S. rugosum* (Juçara) (OLIVEIRA 2016).

### 2.3 Nutrição Mineral de Plantas

Os nutrientes essenciais são requeridos pelas plantas superiores para o seu crescimento e processos metabólicos. Os macronutrientes requeridos em grandes quantidades são: nitrogênio (N), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P) e enxofre (S) e os micronutrientes requeridos em pequenas quantidades são: boro (B), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), cobre (Cu), molibdênio (Mo) e níquel (Ni). Embora sejam requeridos em baixas concentrações os micronutrientes têm importância igual à dos macronutrientes para o desenvolvimento das culturas (HUBER; THOMPSON, 2007).

A presença de nutrientes minerais em menor quantidade na planta dá origem a células epidérmicas e cutículas mais finas, parede celular com menor espessura, suberização e lignificação. E também o acúmulo de compostos orgânicos de baixo peso molecular (glicose, sacarose e aminoácidos), resultando na maior atividade de enzimas decompositoras como

amilase, celulase e protease, comuns na deficiência de potássio, expondo o hospedeiro a infecção pelo patógeno (PERRENOUD, 1990; MARSCHNER, 2012).

A nutrição mineral é importante no manejo das doenças, estando envolvida em todos os mecanismos de defesa do vegetal, como componentes estruturais e/ou ativadores e inibidores ou reguladores do metabolismo. Estes mecanismos de defesa estão relacionados as alterações metabólicas, funcionam como ativadores, cofatores e reguladores enzimáticos, afetam a permeabilidade de membranas, estão envolvidos no controle osmótico, transporte de elétrons, sistema tampão do protoplasma, participam da fotossíntese e respiração. Assim, conhecer a fonte e a função desses elementos nas plantas é importante para a avaliação da resistência aos patógenos (MARSCHNER, 1995; STANGARLIN et al., 2011; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Plantas bem nutridas produzem substâncias fenólicas e flavonóides que aumentam a resistência contra a ação de fitopatógenos (MARSCHNER, 2012).

Os micronutrientes têm grande relevância no mecanismo de defesa da planta principalmente com sua participação em diversos eventos das rotas metabólicas da síntese de fenóis e lignina (GRAHAM; WEBB, 1991).

O micronutriente mangânes é um ion divalente  $Mn^{2+}$  que participa de numerosos processos redox, atua como cofator enzimático de pelo menos 36 enzimas, inicia a função de fixação de  $CO_2$  em plantas  $C_4$ , é ativador de várias enzimas catalizadas pela biossíntese de compostos aromáticos, além de participar da biossíntese de muitos compostos aromáticos adicionais como lignina, alcalóides, flavonóides e pigmentos relacionados (MARSCHNER, 1995, p. 281; BURNELL, 1988 apud RICE, 2007; HERRMANN; WEAVER, 1999 apud RICE, 2007, p. 22).

Existem vários mecanismos de controle de doenças de plantas com Mn, entretando apenas poucos tem sido estudados. O efeito do Mn nos carboidratos e metabolismo secundário permite este atuar diretamente e indiretamente no controle da doença. O efeito direto no patógeno inclui inibição do crescimento, esporulação, replicação, produção de enzimas e toxinas (HUBER; THOMPSON, 2007).

Mudas de cacau híbrido Teobahia cultivadas em solução nutritiva com 0, 2,5 e 20  $\mu M$  de Mn quando inoculadas artificialmente reduziram a incidência da vassoura de bruxa (AGUILAR, 1999), o mesmo autor afirma que a dose de 2,5  $\mu M$  apresentou menor índice da doença.

O micronutriente zinco atua como um componente metálico de enzimas e/ou

funcional, estrutural ou regulatório ou como um cofator regulatório de grande número de enzimas (MARSCHNER, 1996, p. 300). A deficiência de zinco prejudica a produção da superoxidase, que está envolvida em uma série de rotas de defesa das plantas contra fitopatógenos fúngicos e bacterianos (ADAM et al., 1995 apud DUFFY, 2007, p. 158).

O zinco é um dos minerais mais tóxicos as bactérias. Os compostos de Zn inibem o crescimento e a infectividade de *Xanthomonas campestris*. O zinco provoca efeitos diretos no crescimento de fungos e no metabolismo secundário e efeitos indiretos na suscetibilidade do hospedeiro (SAWAI; YOSHIKAWA, 2004 apud DATNNOFF; RODRIGUES; SEEBOLD, 2007. p. 161).

Em um método de avaliação do efeito do Zn no crescimento dos fungos, desenvolvido por Sawai e Yoshikawa (2004), os autores observaram que o Zn aumentou o acúmulo de ácido nucléicos e consumiu nitrogênio nos fungos fitopatogênicos (PURGLIESE; WHITE, 1973 apud DUFFY, 2007; ISMAIL et al., 1991 apud DUFFY, 2007, p. 161).

O Cu é um regulador e/ou um cofator essencial de vários sistemas enzimáticos, participando da defesa das plantas contra infecções, produção de compostos antimicrobianos e resistência geral a doenças. O cloreto de cobre induz a atividade da chalcone sintase, uma enzima chave, envolvida na biossíntese de diversos flavonóides ligados a resistência de doenças de plantas (HARKER et al., 1990, apud HUBET, 2007, p. 184).

O reconhecimento da ação biocida do Cu nos microrganismos tornou-se papel essencial nos processos fisiológicos das plantas influenciando a resistência ou suscetibilidade a doenças (GRAHAM; WEBB 1999, apud HUBER, 2007, p. 180).

O  $\text{CuSO}_4$  mata as células de *Erwinia amylovora* depois de longo período de incubação e muitos aminoácidos comuns, como a asparagina, reduzem a toxicidade para *E. amylovora*. Isso demonstra que promover a resistência das plantas é um mecanismo mais importante do que a toxicidade direta (GEIDER, 1999 apud HUBER, 2007, p. 183).

Estudos tem estabelecido o boro como importante na função estrutural da parede celular, o que classifica-o como um elemento essencial na interação planta-patógeno. O boro pode afetar o transporte de carboidratos por meio dos vasos do floema, atuando assim em uma função inespecífica na regulação do fornecimento de carbono para os tecidos vegetais e para o patógeno (STANGOULIS; GRAHAM, 2007, p. 207).

O boro é capaz de formar complexos de boro-carboidratos quando os carboidratos têm grupos hidroxila-cis. Por sua vez, isso afeta o fluxo de substrato entre a glicólise e a via da pentose fosfato, resultando na regulação de fenóis e lignificação, quinonas e produção de

radicais livres, com efeitos amplos nos mecanismos de defesa estrutural e metabólica (STANGOULIS; GRAHAM, 2007, p. 207).

A deficiência de boro pode levar a um menor transporte de fotossintato para as partes aéreas (ápices) e nos patógenos ocorrem acúmulo de calose nos tubos crivados. Isso também leva ao aumento dos níveis de ácido indolacético (IAA) ligados aos tecidos, porque IAA oxidases é inibida como resultado do aumento da acumulação de fenol (VENTER; CURRIER, 1977 apud STANGOULIS; GRAHAM 2007, p. 208).

Segundo elemento mais abundante na crosta terrestre, o Si se encontra principalmente na forma de ácido monossilício nas soluções do solo. O silício pode estimular o crescimento e a produção das plantas indiretamente de várias formas (MARSCHNER, 2012).

A fonte e a taxa de absorção de Si pode afetar fortemente o controle das doenças das plantas. A aplicação (via solo e foliar) e a deposição de silício na camada da epiderme das folhas é particularmente eficaz no aumento da resistência mecânica dos tecidos das plantas contra ataques de fungos e insetos (DATNOFF; RODRIGUES; SEEBOLD, 2007).

O Si é depositado na forma de sílica gel nas paredes celulares e nos espaços intracelulares das raízes e nas células das folhas. A deposição de Si na parede celular das células epidérmicas ocorre quando a concentração de ácido monossilício excede  $2 \text{ mol m}^{-3}$  (OSUNA-CANAZALES et al., 1991 apud DATNOFF, RODRIGUES; SEEBOLD, 2007).

## **2.4 Nanopartículas**

O termo nanopartícula (NP) usado atualmente pela ciência é derivado da palavra grega "nano" que significa pequeno. É uma partícula que independentemente da sua constituição, forma, tipos de interações e aplicações, apresenta tamanho nanométrico (um bilionésimo de um metro,  $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ) (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA, 2009).

O tamanho e as características específicas das nanopartículas, tem melhores resultados em sistemas biológicos quando comparado com compostos iônicos. A utilização das nanopartículas na agricultura é interessante pela capacidade de melhorar a produção, garantir o armazenamento e a segurança alimentar por meio do uso de nanofertilizantes, nanopesticidas e nanossensores (KAH; HOFMAN, 2014).

Estudo recente demonstrou os benefícios do uso de nanopartículas em promover proteção contra doenças em plantas. Vários métodos foram utilizados para demonstrar a função das nanopartículas de Ag, Cu, Si, Ti, e Zn, no sistema de defesa da planta (ELMER; WHITE, 2016).

Em experimento *in vitro* Kim et al. (2012) estudaram o efeito antifúngicos das nanopartículas de prata WA-CV-WA13B, WA-AT-WB13R, WA-PR-WB13R (NPs Ag) nas concentrações de 10, 25, 50 e 100 ppm, em fungos patogênicos: *Alternaria alternata*, *A. brassicicola*, *A. solani*, *Botrytis cinerea*, *Clasdoporium cucumerinum*, *Corynespora cassicola*, *Cylindrocarpon destructans*, *Didmella bryonine*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Fusarium* sp., *Glomerella cingulata*, *Monosporascus cannonballus*, *Pythium aphanidermatum*, *P. spinosum*, *Stemphylium lycopersici*, provenientes de diferentes plantas, observaram que a dose que mais inibiu o crescimento micelial dos patógenos foi de 100 ppm.

Ainda *in vitro* Jo et al. (2009) trabalhando com nanopartículas de Ag no controle dos fungos *Bipolares sorokiniana* e *Magnaporthe grisea*, observaram que os efeitos foram significativos sobre os patógenos, inibindo 50% do crescimento micelial na dose de 50 ppm.

Nanopartícula de sílica-prata (Si-Ag) foi produzida e testada *in vitro* por Park et al. (2006) em diferentes doses para avaliação da inibição do crescimento dos fitopatógenos: *Pythium ultimum*, *M. grisea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *B. cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Bacillus subtilis*, *Azotobacter chroococcum*, *Rhizobium tropici*, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. A nanopartícula de Si-Ag na dose de 10 ppm inibiu 100% o crescimento micelial dos fungos e a dose de 100 ppm inibiu 100% o crescimento bacteriano.

As NPs de TiO<sub>2</sub>, MgO, e ZnO nas concentrações de 25, 50 e 100 ppm inibiram o crescimento micelial dos fungos *F. oxysporum* f. sp. *betae*, *Sclerotium rolfsii* e *R. solani*. A NP de TiO<sub>2</sub> na dose 100 ppm inibiu o crescimento micelial em 78,8% e 100% respectivamente de *R. solani* e *S. rolfsii*, já a NP MgO inibiu 69,13% do *F. oxysporum* na mesma dose (EL-ERGAW et al., 2017).

Em casa de vegetação, a aplicação via foliar em tomateiro das nanopartículas AlO, CuO, FeO, MnO, NiO, e ZnO em solos infestados com *Fusarium*, as NP de CuO, MnO e ZnO reduziram a área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) em 31%, 28% e 28% respectivamente, quando comparados com os controles não tratados. Em plantas infectadas por *Verticilium* sp. tratadas com CuO ocorreu aumento de 64% no peso fresco, redução de 69% na AACPD e teve um aumento de 32% de Cu nas raízes (ELMER; WHITE, 2016).

Graham et al. (2016) utilizou nanopartículas de CuO e ZnO e CuO em plantas infectadas por melanose (*Diaporthe* sp.) e verrugose do citrus (*Elsinoe fawcetti*), eles observaram que a incidência da doença nos frutos reduziram de 15 e 12 % nas testemunhas

para 2,4 e 1,0 % (CuO) e 2,2 e 1,0 % (ZnO e CuO) respectivamente, não ocorrendo fitotoxidez nas plantas.

Em Curcubitáceae Lamsal et al. (2011) avaliaram o efeito da nanopartícula de Ag no controle do oídio em campo. A aplicação na dose de 100 ppm apresentou maior taxa de inibição antes e depois do surto da doença em cultivares de pepino e abóbora. Além disso, essa dose mostrou máxima inibição para o crescimento de hifas fungicas e de conídios.

O uso da nanotecnologia é inovador, com resultados promissores, por isso muitos estudos estão sendo desenvolvidos, principalmente na agricultura de precisão para aumentar a produção de alimentos de qualidade, utilizando a quantidade mínima de defensivos agrícolas.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR, M. A. G. **Influência do Manganês Sobre Aspectos Bioquímicos e Fisiológicos da Tolerância de Cacau (*Theobroma Cacao L.*) à Vassoura-de-Bruxa (*Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer)**. 1999. 113 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 1999.
- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. San Diego: Elsevier Academic Press, 1997, p. 635.
- BASTOS, C. N. Epifitologia, hospedeiros e controle da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer). **Boletim Técnico**, Ilhéus, v. 168, p. 21, 1990.
- CLEMENT, J. L.; JARRETT, P. S. Antibacterial silver. Washington: **Met Based Drugs**, v.1, p.467-82, 1994.
- COMISSÃO EXECUTIVA DA LAVAOURA CACAUEIRA. **Historia e Evolução do Cacau**. Ilhéus, 2018. Disponível em < [http://www.ceplac.gov.br/radar/radar\\_cacau.htm](http://www.ceplac.gov.br/radar/radar_cacau.htm). Cacau Historia e Evolução/> Acessado em 05 set. 2018.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Análise Mensal**. Cacau (amêndoa). Brasília, 2017. Disponível em < [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Cacau-Analise Mensal - setembro-2017 />](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Cacau-Analise%20Mensal%20-%20setembro-2017) Acesso em: 09 set. 2018.
- DALLA PRIA, M.; CAMARGO, L. E. A. Doenças do cacauzeiro. In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN FILHO, H.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. ed. **Agrônômica Ceres**, São Paulo, 1997. p. 174-175.
- DATNOFF, L. E.; RODRIGUES, F. A.; SEEBOLD, K. W. Silicon and plant disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. **Mineral nutrition and plant disease**. ed. APS PRES: Minnesota, 2007. p. 233-242.
- DHOKEN, S. K.; MAHAJAN, P.; KAMBLE, R.; KHANNA, A. Effect of nanoparticles suspension on the growth of mung (*Vigna radiata*) seedlings by foliar spray method. **Nanotechnology Development**. v. 3, p. 1-5, 2013. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/273349245 Effect of nanoparticles suspension on the growth of mung Vigna radiata seedlings by foliar spray method](https://www.researchgate.net/publication/273349245_Effect_of_nanoparticles_suspension_on_the_growth_of_mung_Vigna_radiata_seedlings_by_foliar_spray_method)>. Acessado em: 12 de dez. 2019.
- DUFFY, B. Zinc and plant disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. **Mineral nutrition and plant disease**. ed. APS PRES: Minnesota, 2007. p. 155–172.
- ELMER, W. H.; WHITE, J. C. The use of metallic oxide nanoparticles to enhance growth of tomatoes and eggplants in disease infested soil or soilless medium. Royal Society of Chemistry. **Environmental Science: Nano**, New Haven, v. 3, p. 1072-1079, 2016.
- EL-ARGAWY, E.; RAHHAL, M. M. H.; EL-KORANY, E. M. Efficacy of some nanoparticles to control damping-off and root rot sugar beet in El-Behiera governorate. **Plant Pathol.**, Asian, v. 11, p. 35-47, 2017.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. The Potential Risks Arising from Nanoscience

and Nanotechnologies on Food and Feed Safety. **The EFSA Journal**. European, v. 958, p. 1-39, Fev. 2009.

EVANS, H. C.; BASTOS, C. N. Uma reavaliação do ciclo de vida da vassourade-bruxa (*Crinipellis pernicioso*) do cacauero. **Fitopatologia Brasileira**, v. 4, p. 104, 1979.

GRAHAM, J. H.; JOHNSON, E. G. MYERS, M. E.; YOUNG, M.; RAJASEKARAN, P. DAS. S.; SANTRA, S. Potential of Nano-formulated zinc oxide for control of citrus canker on grapefruit trees. **Plant disease**, v. 100, p. 2442-2447, 2016.

GHAFAARIYAN, M. H.; MALAKOUTI, M. J.; DADPOUR, M. R.; STROEVE, P.; MAHMOUDI, M. Effects of magnetite nanoparticles on soybean chlorophyll. **Environ. Sci. Technol.**, v. 47, p. 10645-10652, 2013. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es402249b#>>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

GRAHAM, D. R.; WEBB, M. J. Micronutrients and disease resistance and tolerance in plants. In: Mortvedt, J. J.; COX, F. R. SHUMAN, L. M.; WELCH, R. M. Ed. **Micronutrients in Agriculture**. Wisconsin, p. 329-370, 1991.

HUBER, D. M.; Copper and plant disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. **Mineral nutrition and plant disease**: APS PRESS, Minnesota, 2007. p. 177-189.

HUBER, M. D.; THOMPSON, I. A. Nitrogen and plant disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. **Mineral nutrition and plant disease**: APS PRESS, Minnesota, 2007. p. 09-50.

INSTITUTO BRASILEIRO GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Previsão da safra inferior a 2017**. Rio de Janeiro. 2018. Disponível em < <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br>> acesso em: 09 set. 2018.

JO, Y. K.; KIM, B. H.; JUNG, G. Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. **Plant Disease**, v. 93, p. 1037-1043, 2009. Disponível em:< <https://www.researchgate.net/publication/239829093> Antifungal Activity of Silver Ions and Nanoparticles on Phytopathogenic Fungi>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

KAH, M.; HOFMANN, T. Nanopesticide research: Current trends and future priorities, **Environ Int.**, v.63, p. 224–235, 2014.

KIM, S. W.; JUNG, J. H.; LAMSAL, K.; KIM, Y. S.; MIN, J. S.; LEE, Y. S. Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. **Mycobiology**, Korean, v. 40, p. 53-58, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3385153/>>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

LAMSAL, K.; KIM, S. W.; JUNG, J. H.; KIM, Y. S.; KIM, K. S.; LEE, Y. S. (2011) Inhibition effects of silver nanoparticles against powdery mildews on cucumber and pumpkin. **Mycobiology**, v.39, p. 26-32, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3385079/>>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

LIMA, L. M.; POZZA, E. A.; TORRES, H. N.; POZZA, A. A.; SALGADO M.; PFENNING,

L. H. Relação nitrogênio/potássio com a mancha de Phoma e nutrição de mudas de cafeeiro em solução nutritiva. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, p. 223-228, 2010.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura)**. ed. Instituto Plantarum: São Paulo, 2006. p. 627.

MAHAJAN, P.; DROKE, S. K.; KHANNA, A. S. Effect of nano ZnO particle suspension on growth of mung (*Vigna radiata*) and growth (*Cicer arietinum*) seedling using plant agar method. **Journal of Nanotechnology**, Hindawi, v. 7, p. 2-7, 2011. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jnt/2011/696535/>>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. Academic Press: New York, 2012, p. 651.

MARSCHNER, H. Relationship between mineral nutrition and plant disease and pests. In: MARSCHNER H (Ed.) **Mineral nutrition of higher plants**. Academic Press. London, p. 369-390, 1996.

MERCADO DO CACAU. **Informações, chocolate e cacau**. Disponível em <<http://mercadodocacau.com/artigo/10-paises-que-mais-consomem-chocolate-no-mundo-julho-2017/>> Acesso em : 09 de set. 2018.

MORANDI, M. B.; PAULA JUNIOR, T. J.; BETTIOL, W.; TEXEIRA, H. Controle biológico de fungos fitopatogênicos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, p. 73-82, 2009.

OLIVEIRA, M. L. DE. Doenças do cacauzeiro. In: SODRÉ, G. A. **Cultivo do cacauzeiro no Estado da Bahia**. ed. MAPA/CEPLAC/CEPEC: Ilhéus, 2016. p. 67-104.

PARK, H. P.; KIM, S. H.; KIM, H. J.; CHOI, H. S. A New Composition of Nanosized Silica-Silver for Control of Various Plant Diseases. **Plant Pathol**, Korean, v. 22, p. 295-302, 2006. Disponível em: <<http://www.koreascience.or.kr/article/JAKO200634718413690.page>>. Acessado em: 09 de nov. 2019.

PRADHAN, S.; PATRA, P.; DAS, S.; CHANDRA, S.; MITRA, S.; DEY, K. K.; AKBAR, S.; PALIT, P.; GOSWAMI, A. Photochemical modulation of biosafe manganese nanoparticles on *Vigna radiata*: a detailed molecular biochemical, and biophysical study. **Environ. Sci. Technol.**, v. 47, p. 13122-13131, 2013. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es402659t>>. Acessado em: 11 de dez. 2019.

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

PERRENOUD, S. Potassium and plant health. 2.ed. **Berna: International Potash Institute**, 1990.

POZZA, E. A, POZZA, A. A. A. A nutrição mineral no manejo de doenças de plantas. In: **Grupo de estudos avançados em fitopatologia**. ed. Nutrição no manejo de doenças de

plantas: Viçosa, 2012. p.177-212.

RICE, R. W. The physiological role of minerals in the plant. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. **Mineral nutrition and plant disease**. ed. Minnesota, 2007, p. 9-35.

RODRIGUES, F. A.; VALE, F. X. R.; KORNDORFER, G. H.; PRABHU, A. S.; DATNOFF, L. E.; OLIVEIRA, A. M. A.; ZAMBOLIM, L. Influence of silicon on sheath blight of rice in Brazil. **Crop Protect**. v. 22, p. 23-29, 2003.

STANGOULIS, J. C. R.; GRAHAM, R. D. Boron and plant Disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. **Mineral nutrition and plant disease**. ed. Minnesota, 2007, p. 207-212.

SAWAI, J.; YOSHIKAWA, T. Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. **J. Applied Microbiology**. v. 96, p. 803-809, 2004. Disponível em:

<<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2672.2004.02234.x>>.

Acessado em: 12 de dez. 2019.

SINDONI, N. R. **Beneficio del cacao (*Theobroma cacao* L.)**. Venezuela: Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, 2006. p. 32.

SILVA, S. D. V. M.; LUZ, E. D. M. N.; ALMEIDA, O. C.; GRAMACHO, K. P.; BEZERRA, J. L. Redescrição da sintomatologia causada por *Crinipellis pernicioso* em cacauero. **Revista Agrotrópica**. Ilhéus, v. 14, p. 2-22, 2003.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; ASSI, L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Control of plant diseases using extracts from medicinal plants and fungi. In: MÉNDEZ-VILAS, A. Ed. STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; ASSI, L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. **Control of plant diseases using extracts from medicinal plants and fungi**. Ed. Badajoz, 2011, p. 1033-1042. Disponível em:<<https://www.scribd.com/document/270886583/Control-of-plant-diseases-using-extracts-from-medicinal-plants-and-fungi-pdf>>. Acessado em: 10 de dez 2019.

SODRÉ, G. A.; MAGNO, A. E. S.; MONTEIRO, W. R. Plantio e Clonagem do Cacauero. In: SODRÉ, G. A. **Cultivo do cacauero no Estado de Bahia**. Ed. Ilhéus: MAPA/CEPLAC/CEPEC, 2016. p. 67-104.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 918 p.

YANG, F.; HONG, F.; YOU, W.; LIU, C.; GAO, F.; WU, C.; YANG, P. Influence of nano-anatase TiO<sub>2</sub> on the nitrogen metabolism of growing spinach. **Biol Trace Elem. Res.**, v. 110, p. 179-190, 2006.

## CAPÍTULO I

### NANOPARTÍCULAS DE BORO, ZINCO, PRATA, SILÍCIO, COBRE E MANGÂNES NO CONTROLE DE *M. pernicioso* DO CACAUEIRO

#### RESUMO

Nanopartículas (NPs) tem efeitos fungitóxicos a patógenos de plantas, inibindo o crescimento, a esporulação e a germinação de conídios. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes doses das nanopartículas de ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, B, Si e Ag na inibição da germinação dos basidiosporos, crescimento micelial de *Moniliophthora pernicioso* e formação de basidiomas sobre vassouras secas do cacauero. Os experimentos foram conduzidos na divisão de Fipotatologia do CEPEC/CEPLAC em Ilhéus, Bahia. No experimento de inibição da germinação dos basidiosporos o delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 6x6 sendo, 6 NPs ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, B, Si e Ag, 6 doses 0, 25, 50, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> e 16 repetições. As nanopartículas foram diluídas em meio de cultura agar. Após a solidificação do meio foi adicionada a suspensão na concentração de 2x10<sup>5</sup> basidiosporos viáveis, após 6 horas, foram feitas as leituras dos basidiosporos germinados e não germinados. No experimento de inibição do crescimento micelial o delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x6, sendo 4 NPs ZnO, CuO, B e Ag, 6 doses 0, 25, 50, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> e 5 repetições. As nanopartículas foram diluídas em meio de cultura BDA e adicionado um disco de micélio de um 1 cm no centro das placas. As leituras foram feitas de 3 em 3 dias até o 12º dia. O experimento da inibição de formação de basidiomas em vassouras secas do cacauero, foi realizada em delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 5x4 sendo, 5 NPs ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, Si e Ag, 4 doses 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> e 3 repetições cada tratamento, composta por 30 vassouras secas. As vassouras secas foram mergulhadas nas soluções por 1 hora. E em seguida foram levadas ao vassoureiro ficando sem molhar por uma semana. E em seguida expostas à variação ambiental. Foram feitas 3 leituras de lançamento de basidiocarpo, uma a cada semana. No teste de germinação de basidiosporos, a dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> foi a mais eficiente, reduzindo a germinação para: 0,18% (ZnO), 0% (Ag), 0,05% (CuO), 0% (Si), 1,0% (MnO<sub>2</sub>) e 37,73% (B). Para inibição do crescimento micelial a dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> das NPs de ZnO, Ag e CuO, foram mais fungitóxicas a *M. pernicioso*, inibindo 69,0; 89,0 e 82,2% respectivamente. No experimento de inibição da formação de basidiomas, em todos os tratamentos a dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> inibiu acima de 92%. Nanopartículas de Ag apresentou efeito fungitóxico à *M. pernicioso*, inibindo 100% da germinação de basidiosporos e da formação de basidioma na dose de 200 mg/L<sup>-1</sup>, respectivamente.

**Palavras-Chave:** *Theobroma cacao*. Vassoura de bruxa. Basidioma. Basidiosporos. Crescimento micelial.

## ABSTRACT

Nanoparticles have fungitoxic effects on plant pathogens, inhibiting the growth, sporulation and germination of conidium. The objective of this work was to evaluate the effects of different doses of ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, B, Si and Ag nanoparticles on the inhibition of basidiospore germination, mycelial growth of *Moniliophthora perniciosa* and basidioma formation on dry cocoa brooms. The experiment was conducted at the Phytopathology division of the CEPEC/CEPLAC in Ilhéus, Bahia. In the basidiospores germination inhibition experiment, the design was completely randomized in a 6x6 factorial scheme, with 6 NPs ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, B, Si and Ag, 6 doses 0, 25, 50, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> and 16 repetitions. The nanoparticles were diluted in agar culture medium. After solidification of the medium, the suspension was added at a concentration of 2x10<sup>5</sup> viable basidiospores, after 6 hours, the germinated and non-germinated basidiospores were read. In the mycelial growth inhibition experiment, the design was completely randomized in a 4x6 factorial scheme, with 4 NPs ZnO, CuO, B and Ag, 6 doses 0, 25, 50, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> and 5 replications. The nanoparticles were diluted in BDA culture medium and a 1 cm mycelium disc was added to the center of the plates, readings were taken every 3 days until the 12th days. The experiment of inhibition of basidioma formation in dry cocoa brooms was carried out in a randomized block in a 5x4 factorial scheme, with 5 NPs ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, Si and Ag, 4 doses 0, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> and 3 repetitions, each treatment compound of 30 dry brooms. The dried brooms were immersed in the solutions for 1 hour, then taken to the broom in the field, without being wet for a week, and so exposed the environmental variation. Three readings of the basidiocarp release were made, one per week. In the basidiospore germination test, the 200 mg/L<sup>-1</sup> dose was more efficient than the others treatments, inhibiting germination to: 0,18% (ZnO), 0% (Ag), 0,05% (CuO), 0% (Si), 1,0% (MnO<sub>2</sub>) and 37,73% (B). To inhibition mycelial growth, the dose of 400 mg/L<sup>-1</sup> ZnO, Ag and CuO NPs were more fungitoxic to *M. perniciosa* in relation to the others treatments, inhibiting 69,0; 89,0; and 82,2%, respectively. In the basidioma formation inhibition experiment, the dose of 400 mg/L<sup>-1</sup> inhibited above 92%. Ag NP showed fungitoxic effect to *M. perniciosa*, inhibiting 100% of basidiospore germination and basidioma formation in the dose of 200 mg/L<sup>-1</sup>, respectively.

**Keywords:** *Theobroma cacao*. Witch's broom. Basidioma. Basidiospores. Mycelial growth.

## 1 INTRODUÇÃO

*Moniliophthora perniciosa* é um fungo hemibiotrófico com fase parasítica e saprofítica pertencente a Classe dos Basidiomycetos (GRIFFITH et al., 1994). Na fase parasítica os basidiosporos infectam os tecidos meristemáticos do cacauzeiro (FRIAS et al., 1991) levando a perda da produção. A fase saprofítica dar-se por meio das necroses dos tecidos atacados, assim, em condições ambientais propícias surgem os basidiocarpos ou basidiomas que produzem e liberam os basidiosporos, esses, sendo levados pelo vento voltam infestar o cacauzeiro (OLIVEIRA, 2016).

Nanopartículas (NPs) de metais tem efeitos tóxicos a patógenos de plantas como fungos e bactérias (MEHTA; AWARD, 2011). Íons de prata afetam a capacidade de replicação do DNA dos microrganismos (FENG et al., 2000), resultando na inativação de proteínas da subunidade ribossômica e também de enzimas celulares essenciais para produção de ATP (YAMANAKA; HARA; KUDO, 2005)

Nanopartículas de Ag podem romper a estrutura da membrana celular e inibir o crescimento de patógenos, *Magnaporthe grisea* e *Bipolaris sorokiniana* Jo et al. (2009). O efeito antifúngico da NP de Ag também foi observado no controle de *Sclerotinia homoeocarpa* por Li et al. (2017).

Em ensaio *in vitro* o crescimento de *Fusarium graminearum* foi inibido na dose de 500  $\mu\text{m/L}^{-1}$  NP ZnO (DIMPKA et al., 2013) e doses maiores ou igual a 25  $\mu\text{m/L}^{-1}$  inibiram o crescimento de *Botrytis cinerea* e a germinação de conídios de *Penicillium expansum* (HE et al., 2011).

A utilização de 500 e 700  $\text{mg/L}^{-1}$  de boro reduziu *in vitro* o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (SANJEEV; ESWARAN, 2008). Na planta, o elemento boro fortalece a estrutura da parede celular (carboidrato-borato), regula o transporte de carboidratos, o metabolismo das proteínas na parede celular, a permeabilidade, estabilidade e função da membrana celular e, age ainda como mediador no metabolismo dos fenóis e da lignina (BROWN et al., 2008).

O cobre (Cu) fixado é altamente complexo e se torna disponível, acumulando à níveis tóxicos para germinação de esporos de fungos e células bacterianas (HUBBER, 2007). A nanopartícula de Cu apresentou atividade antifúngica contra *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata*, *A. alternata*, *Phoma destructiva* (KANHED et al., 2014).

O silicato de potássio teve efeito inibitório no crescimento micelial de vários fitopatógenos como: *Phytophthora cinnamomi*, *P. capsici*, *Sclerotinia sclerotiorum*,

*Sclerotium rolfii*, *Drechslera* spp, *Alternaria solani*, *Colletotrichum coccodes*, *Curvularia lunata* e *Stemphylium herbarum*. No entanto, Kaiser et al. (2005) também observaram que alguns fungos, como *Fusarium* spp. e *Verticillium* spp. têm seu crescimento acentuado nas doses de 5 e 10 ml de silício.

Íons de mangânes inibiram a esporulação e o crescimento micelial de *Fusarium culmorum* e *F. avenaceum* (PRZEŹDZIECKI et al., 1991). O mesmo foi observado para os fungos *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* e *Sclerotinia sclerotiorum* (SAPIEHA-WASZKIEWICZ, 2000).

Sendo assim o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes doses das nanopartículas de ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub>, B, Si e Ag na inibição da germinação dos basidiosporos e do crescimento micelial de *Moniliophthora perniciosa in vitro* e da formação de basidiomas do patógeno em vassoura secas de cacaueteiro.

## 2.0 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Área de Estudo e Tratamentos

O experimento foi conduzido no laboratório e casa de vegetação da Seção de Fitopatologia e áreas de cultivo do cacau do Centro de Pesquisa do Cacau - CEPEC/CEPLAC, localizado em Ilhéus no Sul da Bahia.

Em laboratório os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado para os testes de inibição da germinação de basidiosporos e crescimento micelial de *M. pernicioso*. Em campo e/ou casa de vegetação o experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial para testar inibição da formação de basidiocarpos em vassouras secas e controle da vassoura de bruxa em mudas de cacau.

As nanopartículas utilizadas nos experimentos foram os óxidos metálicos de CuO (40 nm), MnO<sub>2</sub> (50 nm) e de ZnO (35 - 45 nm) e os metalóides de Ag (20 nm), Si (-) e B (1- 2 µm), com 99,0; 98,0; 99,0; 99,99 e 92% de pureza respectivamente.

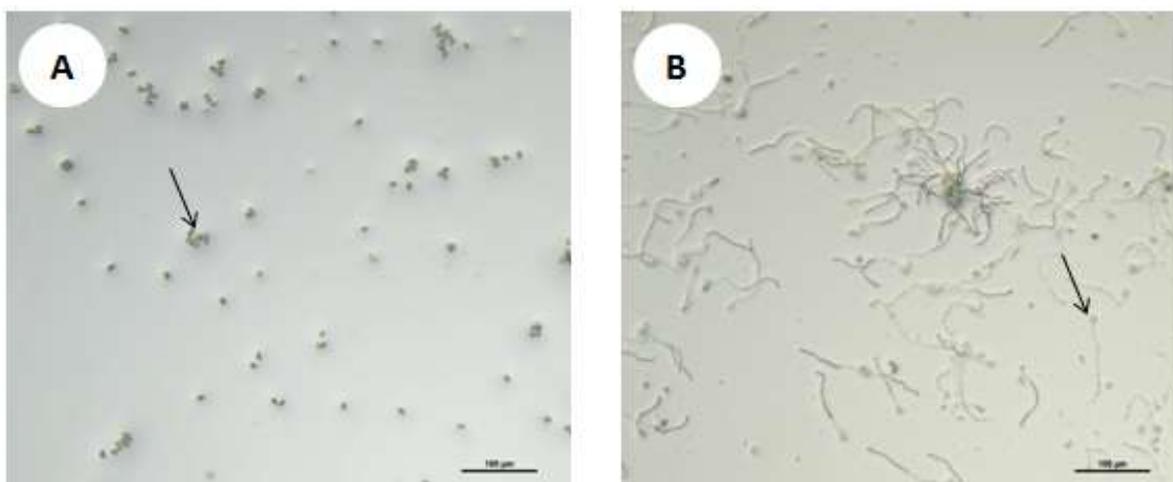
Os metalóides e os equivalentes de sais de sulfato foram obtidos do Connecticut Agricultural Experiment Station - CAES localizado em New Haven, USA. Foram preparadas soluções estoques das respectivas NPs citadas acima, sendo utilizados 2g de NP em 1L de água destilada autoclavada, as soluções de NPs foram agitadas durante 30 minutos para posterior utilização.

### 2.2 Experimento *In vitro* - Inibição da Germinação de Basidiosporos

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 6x6, sendo 6 nanopartículas (ZnO, Ag, CuO, MnO<sub>2</sub>, Si e B), versus 6 doses: 0,0, 25, 50, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup>, sendo utilizada 4 placa, cada placa dividida em quatro partes e cada tratamento composto de 16 repetições.

O inóculo foi obtido do Setor de Fitopatologia/CEPEC/CEPLAC. As doses dos tratamentos foram obtidas a partir das soluções estoque, sendo, feitas diluições seriadas em meio de cultura agar agar e vertido em placas de Petri de 6 cm de diâmetro. Após a solidificação do meio foi adicionado à placa 7 (sete) gotas da suspensão de basidiosporos viáveis calibrada na concentração de 2x10<sup>5</sup> e após 6 horas adicionou-se 3 gotas de FAA, contabilizando-se em seguida os basidiosporos germinados e não germinados (Figura 1).

Figura 1 - Inibição de basidiosporos em meio de cultura agar, em A - basidiosporos não germinados e B - basidiosporos germinados.



Fonte: Próprio autor (2020).

### 2.3 Inibição de Crescimento Micelial

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4x5 sendo, 4 nanopartículas (ZnO, Ag, CuO e B), seis doses: 0, 25, 50, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> e cinco parcelas e/ou repetições, cada placa representando uma unidade experimental e ou repetição. O isolado de *M. pernicioso* foi obtido da Coleção Brasileira de *Moniliophthora pernicioso* do Setor de Fitopatologia do CEPEC/CEPLAC em Ilhéus no Sul da Bahia.

As doses dos tratamentos foram obtidos da solução estoque e a partir desta foram feitas diluições seriadas em meio de cultura BDA (Batata Dextrose Agar) e vertido 20 mL dos respectivos tratamentos em placa de Petri de 9 cm de tamanho, após endurecimento do meio foi adicionado um disco de micélio de 1 cm no centro da placa. As placas foram deixadas em temperatura ambiente (média do dia de 25 °C). As leituras do crescimento micelial foram feitos de 3 em 3 dias até completar os 12 dias de experimento.

### 2.4 Inibição da Formação de Basidioma

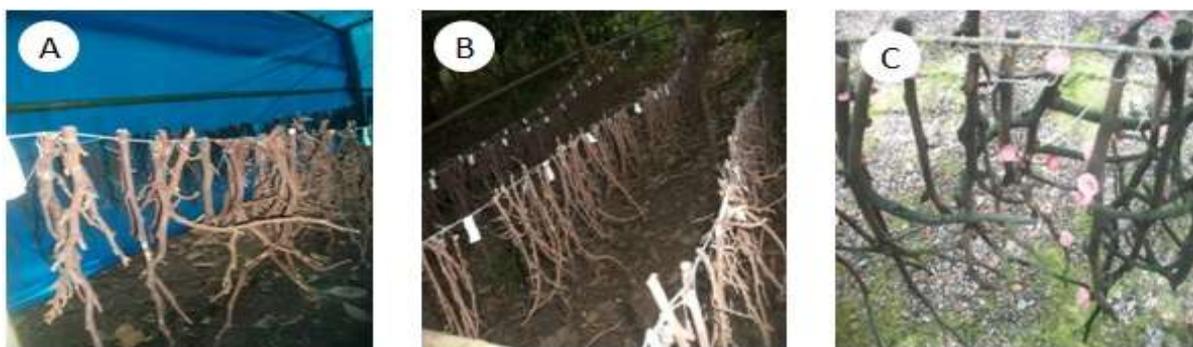
O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizado (DBC) em esquema fatorial 5x4 composto por 5 nanopartículas: ZnO, MnO<sub>2</sub>, CuO, Si e Ag, 4 doses (0,0; 100; 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup>) e três parcelas, cada parcelas e/ou repetição continha 10 vassouras secas (unidade experimental).

As concentrações das NPs foram obtidos a partir da solução estoque e as vassouras secas foram retiradas de plantas clones do Banco de Germoplasma do CEPEC. Para cada

tratamento 30 vassouras secas foram colocadas em um recipiente contendo as soluções de cada uma das doses das respectivas NPs durante uma hora. Após esse período as vassouras secas foram levadas ao campo ficando sem contato com a água por um período de 7 dias. Depois desse período as vassouras ficaram expostas às variações do ambiente. Quando não havia chuva, foram feitas regas periodicamente por 10 minutos a cada hora, durante 6 horas diárias. Foram feitas três avaliações, uma cada sete dias, contando o número de basidiomas formados.

Na segunda semana de avaliação foram coletadas basidiocarpos dos respectivos tratamentos e colocados para germinar.

Figura 2 - Inibição da formação de basidioma em vassouras secas de cacaueteiro tratadas com NPs de Ag, ZnO, CuO, MnO<sub>2</sub> e Si.



Legenda: A - tratamentos no início do experimento; B - tratamentos sem basidioma; C - tratamentos com basidiomas.

Fonte: Próprio autor (2020).

## 2.5 Avaliações

Os dados coletados do experimentos de inibição da germinação de basidiosporos foram transformados em porcentagem de basidiosporos germinados e não germinados.

Os dados de inibição coletados do experimento de crescimento micelial foram analisados, calculando o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), conforme a fórmula descrita por Oliveira (1991):

$$IVCM = \frac{\Sigma (D - D_a)}{N} \text{ Sendo:}$$

IVCM= índice de velocidade de crescimento micelial;

D= diâmetro médio atual da colônia;

Da= diâmetro médio da colônia do dia anterior.

N= número de dias após a inoculação.

Foram calculados os percentuais de inibição do crescimento micelial em função do IVCM, utilizando a fórmula de Abbot (1925):

$$\% \text{ Inibição} = 100 - (\text{IVCM médio} \times 100) / \text{IVCM test}$$

Sendo:

IVCM médio = índice de velocidade de crescimento micelial médio;

IVCM test = índice de velocidade de crescimento micelial da testemunha.

O dados coletados da inibição da formação de basidiomas a análise foi realizada com as médias acumuladas durante os períodos de avaliação 7, 14 e 21 dias (Figura 2). Todos os dados foram submetidos ao teste de Shapiro - Wilk para avaliar a distribuição normal dos resíduos e ao teste de Bartlett para verificar a homogeneidade das variâncias. Os dados da inibição da germinação de basidiosporos que não atenderam a distribuição normais e nem a homogêneidade foram transformados utilizando a expressão logarítma (log), em seguida as variáveis quantitativas significativas no teste F foram submetidos ao ajuste de modelos de regressão. Todas as análises foram feitas utilizando o software R (TIM R 2.4.6) e Microsoft Excel.

### 3.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 Inibição da Germinação de Basidiosporos

No teste para avaliação da inibição da germinação dos basidiosporos do fungo *M. pernicioso* as nanopartículas de ZnO, Ag, CuO, Si, MnO<sub>2</sub> e B apresentaram na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> efeito inibitório, diminuindo a germinação para 0,5; 0,5; 0,6; 11,0; 1,21 e 44,7% respectivamente em relação a testemunha. A dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> foi mais eficiente em relação as demais doses, diminuindo a germinação para 0,18% (ZnO), 0,0% (Ag), 0,05% (CuO), 0,0% (Si), 1,0% (MnO<sub>2</sub>) e 37,73% (B) (Figura 3).

Na dose 400 mg/L<sup>-1</sup> ocorreu uma ligeira diminuição da toxicidade das NPs a *M. pernicioso* com aumento da germinação em 0,6; 0,8; 19,0; 1,02 e 40% para Zn, Cu, Si, Mn e B respectivamente, isto pode estar relacionado a diluição das nanopartículas no meio de cultura ágar agar, com o aumento da dose das NPs na solução, ocorre o processo de aglutinação e precipitação, impedindo a absorção pelo fungo (Figura 3).

A toxicidade dos metais para esporos e crescimento de micélio dos fungos pode ter efeito diferente, devido o tipo de meio de cultura utilizado no experimento (ROZYCKI, 1992). Em meio ágar, íons de metais pesados se aglutinam e desativam (GADD, 1983, JONES; HUTCHINSON, 1988).

A eficiência das NPs, especialmente de Ag depende do tamanho e forma das partículas, diminuindo a eficiência com o aumento do tamanho (PAL; TAK; SONG, 2007; PANCEK ALES et al., 2006). A nanopartícula de Ag bem diluída e equilibrada em soluções pode atuar como um bom fungicida devido a adesão na parede celular do fungo (KIM et al., 2009).

Alguns estudos tem mostrado que a Ag possui atividade antifúngica maior do que outros metais, isso acontece porque os íons de Ag provocam a inativação do grupo tiol da parede celular, ocasionando o rompimento da membrana, metabolismo energético e cadeia transportadora de elétrons (DUHAN et al., 2017; JO et al., 2009).

Íons de NP Ag inibiram a germinação de conídios de *B. sorokiniana* e *M. grisea*, a sensibilidade para os fungos em estudos foi diferente, conídios de *B. sorokiniana*, com comprimento médio superior a 60 µm e cor mais escura, apresentaram maior tolerância a prata quando comparados com os conídios de *M. grisea* com 17 a 28 µm de comprimento (JO et al., 2009).

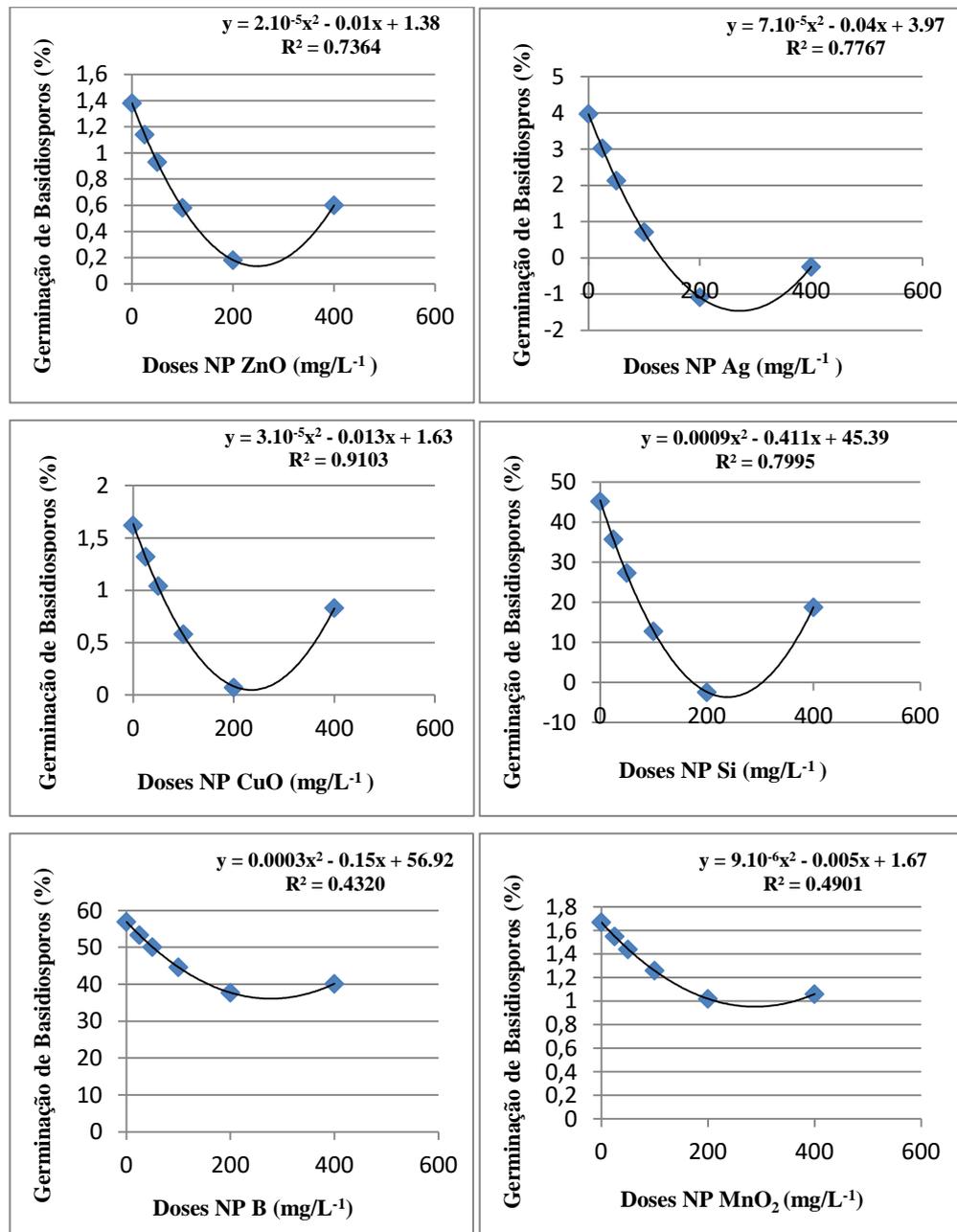
Nanopartículas de ZnO inibiu a germinação de conídio de *Fusarium oxysporum* e *Sclerotium rolfsii* em 54,81% e 49,29% respectivamente (EL-ARGAWY et al., 2017).

O Mn em contato direto com os basidiosporos e/ou o micélio inibe a germinação e/ou o crescimento do patógeno, replicação e produção de enzimas e tóxicas (THOMPSON; HUBER, 2007).

Nanopartículas podem causar toxicidade por meio da dissolução e liberação de íons tóxicos (WANG et al., 2012; YANG et al., 2015; ASLI; NEUMANN, 2009) como  $\text{Cu}^{2+}$  e causar danos mecânicos e/ou obstruções da membrana a depender do tamanho e da forma (WANG et al., 2012; YANG et al., 2015).

Silicato de potássio na dose de 5 e 80 ml/L inibiu 100% do crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Phytophthora cinnamomi*. Os patógenos *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Alternaria solani*, *Curvularia lunata* e *Stemphylium herbarum* tiveram crescimento parcialmente inibido nas doses 5, 10 e 20 ml/L de silício. Os mesmos autores afirmam que o silício elevou o pH do ágar de 5,6 para 10,3 e 11,7 nas concentrações de 5 e 80 ml/L respectivamente. Quando testado o efeito de pH 10,3 e 11,7 na ausência de silício, *Phytophthora cinnamomi* teve seu crescimento parcialmente inibido (12,6%) a pH 10,3. Assim, pode-se concluir que o silício teve um efeito inibitório sobre o crescimento de fungos *in vitro* (KAISER et al., 2005).

Figura 3 - Porcentagem de inibição da germinação de basidiosporos com NPs ZnO, Ag, CuO, Si, B e MnO<sub>2</sub>.



Fonte: Próprio autor (2020).

### 3.2 Inibição de Crescimento Micelial

Os dados de IVC (Índice de Velocidade de Crescimento Micelial) não são apresentados neste estudo porque as análises estatísticas dos dados foram heterocedasticidade irregular. No teste de inibição de crescimento micelial as NPs de ZnO e Ag na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> inibiram 69,0 e 89,0% respectivamente, a medida que aumentava a dose das NPs no meio de cultura, diminuía o crescimento do fungo (até um certo limite), já a NP B induziu o

crescimento micelial do fungo, quanto maior a dose maior foi o crescimento do micélio (Figura 4 e 6).

A análise de variância dos dados da inibição de crescimento micelial para NP de CuO foi significativo entre dose x tempo. Os efeitos fungitóxicos da NP de CuO na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> no período de 12º dia foi em média 82,2% (Figura 5 e 6).

A prata possui atividade antimicrobiana tanto nas formas iônicas quanto de nanopartículas, o efeito antimicrobiano da Ag, especialmente em células unicelulares é devido a inativação das enzimas dos microrganismos (JO et al., 2009; KIM et al., 1998).

A prata altera processos metabólicos dos fungos *in vitro* como a estrutura e funções das membranas celulares, inibe a expressão de enzimas e proteínas associadas à produção de ATP, DNA, perde também a capacidade de replicar, embora seus mecanismos antimicrobianos específicos ainda não sejam completamente compreendido (FENG et al., 2000; YAMANARA; HARA; KUDO, 2005; KIM et al., 2012).

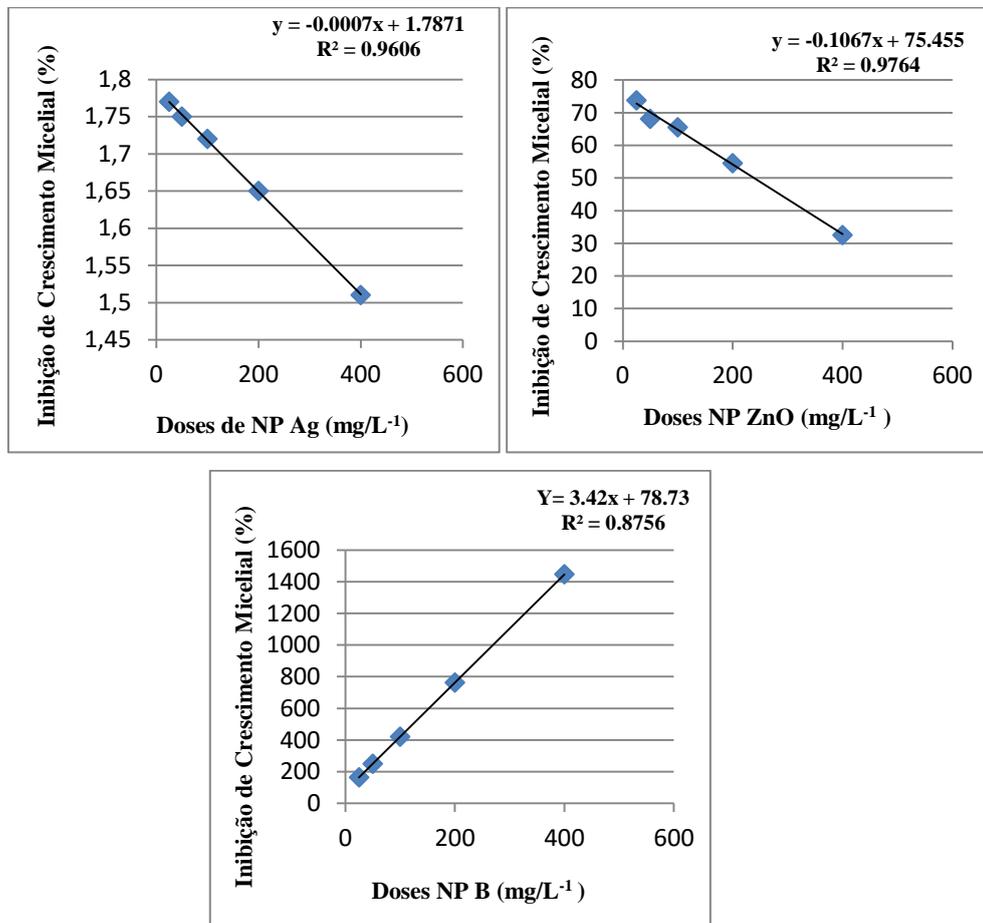
Nanopartícula de ZnO tem efeitos antimicrobianos mais promissores quando comparados com grandes partículas de zinco, uma vez que o tamanho menor que 100 nm e a alta relação superfície-volume permite uma melhor interação com células dos microrganismos (XIE et al., 2011).

A nanopartícula de ZnO têm a capacidade de induzir a geração de espécies reativas de oxigênio, o que pode levar à morte quando a capacidade antioxidante da célula é excedida (RITER et al., 2007; XIA et al., 2006). Nanopartículas de ZnO e CuO mostraram efeitos tóxicos aos fitopatógenos em vários estudos *in vitro*, por possuírem propriedades antimicrobianas (DINESH et al., 2012; DADI et al., 2019).

Estudos realizados com Pb, Zn, Cu e Cd, evidenciaram que o Zn<sup>2+</sup> teve efeito mais tóxico para o crescimento micelial do que para a germinação de esporos de *Cylindrocarpon destructans*, em alguns casos (por exemplo o Pb), concentrações mais baixas de metais tiveram maior efeito inibidor em meio líquido do que em ágar (ROZYCKI, 1992).

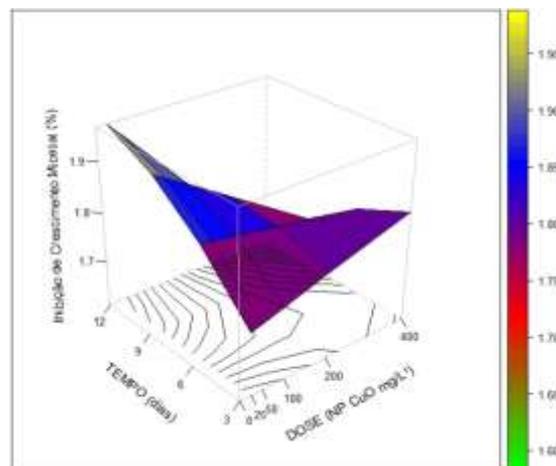
Nanopartícula de boro não mostrou efeito tóxico ao crescimento de *M. perniciosa* como os demais tratamentos em estudos (ZnO, Ag e Cu), Stangoulis e Graham (2007) afirmam que fungos fitopatogênicos não requerem boro para o funcionamento do seu metabolismo, mas quando em grande quantidade o mesmo pode ser tóxico ao patógeno. Porém neste estudo a NP B induziu crescimento micelial do patógeno.

Figura 4 - Porcentagem de inibição de crescimento micelial de *M. perniciosa* de diferentes doses das NPs ZnO, Ag e B.



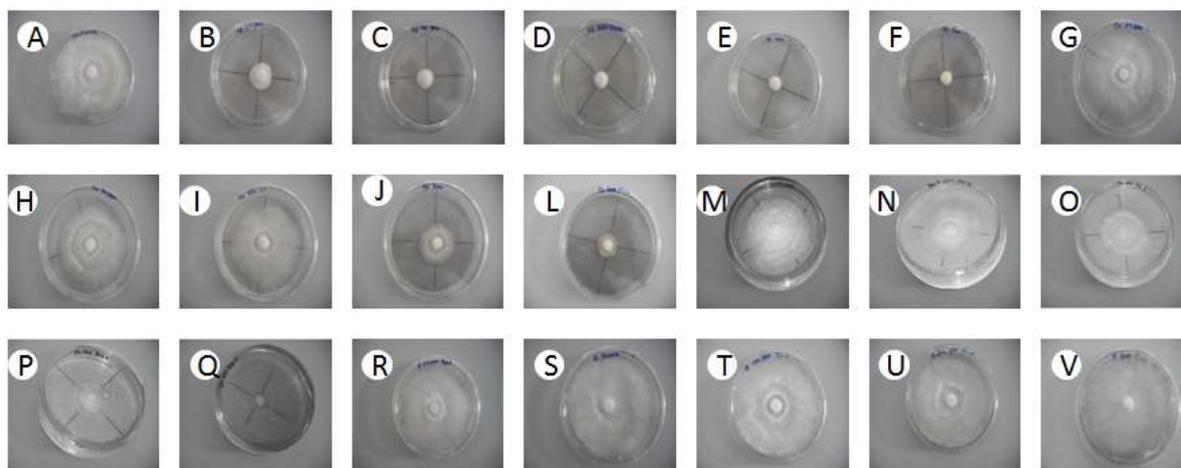
Fonte: Próprio autor (2020).

Figura 5 - Porcentagem de inibição de crescimento micelial de *M. perniciosa* de diferentes doses das NP de CuO.



Fonte: Próprio autor (2020).

Figura 6 - Inibição de crescimento micelial em meio de cultura BDA com NPs de Ag, ZnO, CuO e B.



Legenda: A - Testemunha, B - Ag 25 mg/L<sup>-1</sup>, C - Ag 50 mg/L<sup>-1</sup>, D - Ag 100 mg/L<sup>-1</sup>, E - Ag 200 mg/L<sup>-1</sup>, F - Ag 400 mg/L<sup>-1</sup>, G - CuO 25 mg/L<sup>-1</sup>, H - CuO 50 mg/L<sup>-1</sup>, I - CuO 100 mg/L<sup>-1</sup>, J - CuO 200 mg/L<sup>-1</sup>, L - CuO 400 mg/L<sup>-1</sup>, M - ZnO 25 mg/L<sup>-1</sup>, N - ZnO 50 mg/L<sup>-1</sup>, O - ZnO 100 mg/L<sup>-1</sup>, P - ZnO 200 mg/L<sup>-1</sup>, Q - ZnO 400 mg/L<sup>-1</sup>, R - B 25 mg/L<sup>-1</sup>, S - B 50 mg/L<sup>-1</sup>, T - B 100 mg/L<sup>-1</sup>, U - B 200 mg/L<sup>-1</sup>, V - B 400 mg/L<sup>-1</sup>.

Fonte: Próprio autor (2020).

### 3.3 Inibição da Formação de Basidiomas

Os dados de inibição da formação de basidiomas submetidos a análise de variância apresentaram interação significativa entre dose x tempo para todos os tratamentos em estudos, exceto para Ag que teve efeito significativo para dose e tempo (Figura 7, 8, 9, 10 e 11). Neste experimento os efeitos tóxicos das NPs ao 7 dia na formação dos basidiomas foram em média 0,5; 1,7; 1,7 (número médio acumulados de basidiocarpo) na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> de Si, MnO<sub>2</sub> e ZnO respectivamente (Figura 7, 9 e 10), a formação de basidioma para o referido tempo submetidos aos tratamentos com NPs de Ag e CuO na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> foram 1,4 e 3,0 (número médio acumulados de basidiocarpo) respectivamente (Figura 8 e 11).

O efeito fungitóxicos das NPs de Si, Mn, Cu, Zn e Ag na formação dos basidiomas aos 21 dias na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> foram em média 0,5; 0,33; 0,6; 0,3 e 0 (número médio acumulados de basidiocarpo). A dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> foi a que menos inibiu a formação dos basidiomas no presente estudo (Figura 7, 8, 9, 10 e 11).

A dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> das NPs de Si, CuO, ZnO e MnO<sub>2</sub> inibiram a formação de basidioma (Figura 7, 8, 9 e 10), o número médio acumulado dos basidiomas formados aos 21 dias para a referida dose foram 1,5; 2,5; 0,5 e 0,2 (número médio acumulado de basidiocarpo) respectivamente.

No tratamento com NP de Ag o número médio de basidiocarpos (basidioma) foram menores conforme o aumento das doses e aumentou ao longo do período de avaliação (Figura

11).

Nos tratamentos com NPs Si, ZnO, CuO e MnO<sub>2</sub> a dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> teve maior efeito tóxico ao fungo *M. pernicioso* inibindo a formação de basidiocarpo em aproximadamente 93%. A nanopartícula de Ag na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> inibiu 100% da formação de basidioma (Figura 11). O número médio do lançamento de basidiocarpo (basidioma) aumentou ao longo do tempo para todas as doses das NPs em estudo, exceto para Ag na dose 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> que inibiu 100% da formação de basidioma, sendo a dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> mais economicamente viável em relação custo benefício (Figura 7, 8, 9, 10 e 11).

As NPs possuem tamanho nanométrico e são mais adsorvidas na solução, apresentando efeitos tóxicos elevados aos fitopatógenos.

A solubilidade das partículas é dependente das propriedades do solvente e é influenciado pelo pH, pela força iônica, constituição e concentração das moléculas solventes (BOMR et al., 2006).

As NPs pode ter mecanismo de ação diferente como: íons tóxicos que podem se ligar a proteínas com enxofre na sua estrutura; isso leva ao seu acúmulo impedindo que as proteínas atuem corretamente na membrana, afetando a permeabilidade celular (LEMIRE et al., 2013; ALGHUTHAYMI et al., 2015). Íons do tipo genotóxicos podem ocasionar à morte celular por meio da destruição do DNA. O contato com nC60 provoca interrupção de transporte de elétrons, oxidação de proteínas e colapso do potencial de membrana (JO et al., 2009; ALGHUTHAYMI et al., 2015; DUHAN et al., 2017).

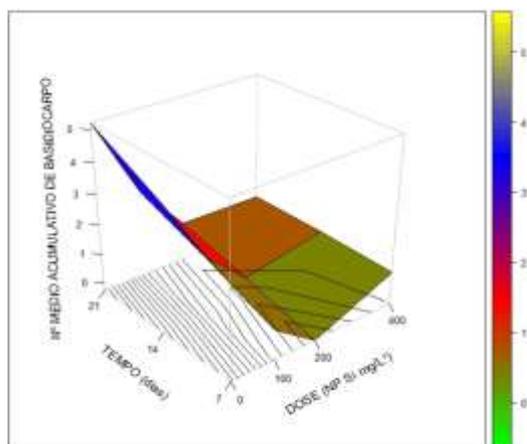
A formação de espécies reativas de oxigênio e diferentes catalizadores de metais (oxirredução) pode ocasionar dano celular como às proteínas, membranas ou DNA. Os mecanismos de absorção de nutrientes podem não funcionar, isso porque mais de um mecanismo (separados) pode ocorrer simultaneamente. As nanopartículas tem múltiplos alvos de ação, aumentando a eficiência no controle de diversos tipos de fitopatógenos (JO et al., 2009; ALGHUTHAYMI et al., 2015; ZENG et al., 2017; DUHAN et al., 2017).

Nanopartículas de Ag teve efeito tóxicos a diversos fitopatógenos como *Alternaria alternata*, *A. solani*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cucumerium*, *Corynespora cassicola*, *Fusarium oxysporium* e *F. solani*, na maioria dos casos, a inibição aumentou à medida que a concentração de NPs de Ag aumentaram. Isto pode estar relacionado a alta densidade na qual a solução foi capaz de saturar e aderir a hifa fúngica e desativar os fitopatógenos (KIM et al., 2012).

Estudos sobre o mecanismo da ação inibitória de íons de prata nos microrganismos mostraram que, após o tratamento com Ag<sup>+</sup>, o DNA perde sua capacidade de se replicar

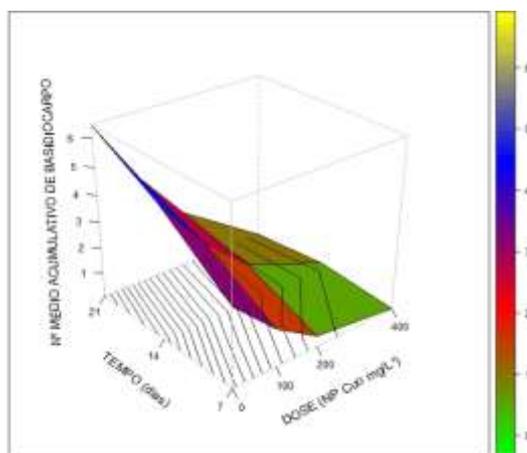
(FENG et al., 2000). Também foi levantada a hipótese de que  $\text{Ag}^+$  afeta principalmente a função da membrana ligada as enzimas, como as da cadeia respiratória (BRAGG; RAINNIE, 1974).

Figura 7 - Número médio acumulado da formação de basidioma de *M. pernicioso* em diferentes doses das NP de Si, durante os períodos de avaliações (7, 14 e 21 dias).



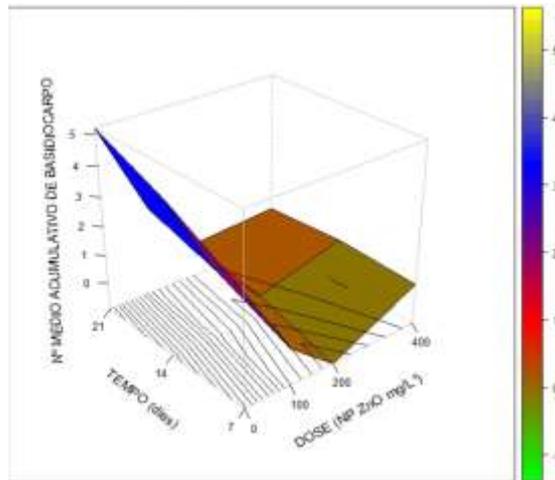
Fonte: Próprio autor (2020).

Figura 8 - Número médio acumulado da formação de basidioma de *M. pernicioso* em diferentes doses das NP de CuO, durante os períodos de avaliações (7, 14 e 21 dias).



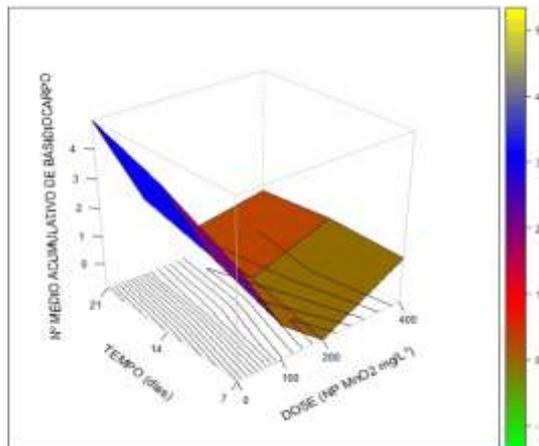
Fonte: Próprio autor (2020).

Figura 9 - Número médio acumulado da formação de basidioma de *M. perniciosus* em diferentes doses das NP de ZnO, durante os períodos de avaliações (7, 14 e 21 dias).



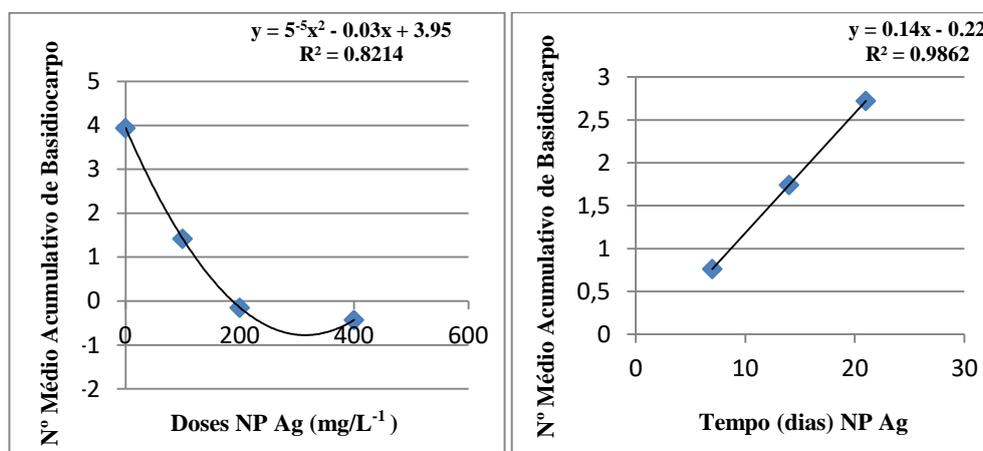
Fonte: Próprio autor (2020).

Figura 10 - Número médio acumulado da formação de basidioma de *M. perniciosus* em diferentes doses das NP de MnO<sub>2</sub>, durante os períodos de avaliações (7, 14 e 21 dias).



Fonte: Próprio autor (2020).

Figura 11- Número médio acumulado da formação de basidioma de *M. pernicioso* em diferentes doses das NP de Ag, durante os períodos de avaliações (7, 14 e 21 dias).



Fonte: Próprio autor (2020).

A importância de encontrar uma alternativa para controlar uma das fases do ciclo de vida de *M. pernicioso* está diretamente relacionada ao sucesso da produtividade do cacaueteiro. *Moniliophthora pernicioso* tem dois tipos de micélio que diferenciam as fases biotróficas (que tem início com a germinação e penetração dos basidiosporos na superfície das plantas) e necrotrófica (com a morte dos tecidos infectados) (GRIFFITH et al., 1994). Após a infecção dos tecidos meristemáticos há um período de incubação até o aparecimento dos sintomas que são, na copa da planta, a formação de vassouras vegetativas ou de almofada floral. Quando estas vassouras secam e o tecido necrosa, após um período de dormência, tem início a formação dos basidiomas (PURDY; SCHMIDT, 1996).

*Moniliophthora pernicioso* cresce em meio com pH alto e baixo Leal et al. (2010) trabalhando com genes de patogenicidade de *M. pernicioso* observaram que o fungo obteve crescimento micelial máximo sob as doses mais alta de N (alterando o pH do meio), independente da fonte e, principalmente, no escuro. Isso é importante pois reafirma o que foi relatado por outros pesquisadores sobre a eficiência das NPs em ação direta na inibição do crescimento, esporulação e geminação de fitopatógenos.

#### 4 CONCLUSÕES

No teste de inibição da germinação dos basidiosporos as NPs de Si, CuO, ZnO, MnO<sub>2</sub>, B e Ag na dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> foram mais eficiente em relação aos demais tratamentos.

No teste de inibição do crescimento micelial as NPs de Ag, ZnO e CuO na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup>, foi mais fungitóxica à *M. pernicioso* em relação aos demais tratamentos. No tratamento com NP de B a medida que aumentava a dose, aumentava também o crescimento do micelio.

No teste de inibição da formação de basidiomas em vassouras secas a NP de Ag nas doses 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> foi mais fungitóxica à *M. pernicioso* em relação aos demais tratamentos, sendo a dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> economicamente viável. A dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> de NPs de ZnO, Si, MnO<sub>2</sub> e CuO foram mais eficiente em relação aos demais tratamentos diminuindo a formação de basidiomas.

## CAPÍTULO II

### Nanopartículas de Silício e Prata no Controle da Vassoura de Bruxa em Genótipos de Cacao Catongo

#### RESUMO

Nanopartículas de micronutrientes tem grande potencial agrícola, promove o aumento da resistência e da produtividade na planta. Silício e prata aumenta as atividades metabólicas e fisiológicas dispendo ou protegendo as plantas contra ação dos fitopatógenos. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos das NPs Si e Ag no controle da vassoura de bruxa do cacauero (*M. perniciosa*) e sua influência no desenvolvimento das mudas. O experimento foi conduzido no CEPEC/CEPLAC em Ilhéus no Sul da Bahia. O delineamento foi em bloco casualizado em esquema fatorial 2x4, sendo 2 NPs Si e Ag, 4 doses 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> e 4 repetições, cada tratamento continha 40 plantas. As sementes foram pré-germinadas em bandejas com água e após a protusão foram transferidas para sacolas plásticas contendo substrato Carolina e Tropical Florestal na proporção 1:1,33 L mais adubação básica de NPK. Aos 23 dias do transplante nas sacolas foi aplicado via foliar 10 mL da solução de NPs citados acima e 10 dias após aplicação dos tratamentos, foi depositado no meristema apical uma suspensão na concentração de 2x10<sup>5</sup> basidiosporos viáveis. Foram feitas leituras de incidência, severidade, clorofila, altura e diâmetro de 15 em 15 dias até aos 60 dias. A AACPD os valores médios para incidência foram 38, 32, 24 e 0 e 34, 27, 19 e 7 nas doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NPs Si e Ag respectivamente. A AACPD para severidade os valores médios foram 81, 118, 108 e 0 cm<sup>2</sup> e 61, 102, 97 e 23 cm<sup>2</sup> nas doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NPs Si e Ag respectivamente. Os valores da clorofila total foram 40,2; 41,0 41,38 e 40,96 ICF nas doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Si respectivamente, não houve efeito significativo entre as doses para NP de Ag. As médias da variável altura foram 21,4; 22,4; 22,5 e 21,29 cm nas doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Si, não houve efeito significativo entre as doses para NP de Ag. Os valores do diâmetro foram 0,47; 0,45; 0,45; e 0,48 cm nas doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Si respectivamente e nos tratamentos com NP Ag foram 0,39; 0,69; 0,43 e 0,48 cm nos tempos 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente. Não houve efeito significativo para peso seco das folhas, caule e total em ambos tratamentos. Aos 60 dias após inoculação as correlações (p<0.01) severidade e incidência foram r = 0,45\*\*, r = 0,88\*\*, r = 0,75\*\* e r = 1\*\* e r = 1\*\*, r = 0,92\*\*, r = 0,87\*\* e r = 0,86\*\* nas doses 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NPs Si e Ag respectivamente. A correlação entre incidência e clorofilas A e total nas testemunhas foram r = -0,38\* e r = -0,35\* respectivamente, nos demais tratamentos não houve correlação significativas. NP Si apresentou efeitos fungitóxicos à *M. perniciosa* em mudas de cacauero, aumentando o teor de clorofila, altura e diâmetro e inibindo na AACPD 100% da incidência e severidade na dose 400 mg/L<sup>-1</sup>.

Palavras- Chave: *Moniliophthora perniciosa*. NP de Silício. NP de Prata.

## ABSTRACT

Micronutrient NPs have great agricultural potential, promote increasing plant resistance and productivity. Silicon and silver increase metabolic and physiological activities by disposing or protecting plants against phytopathogen action. The objective of this work was to evaluate the effects of NPs Si and Ag on the control of cacao witches broom (*M. pernicioso*) and its influence on seedling development. The experiment was conducted at CEPEC/CEPLAC in Ilhéus, southern Bahia. The design was a randomized block in a 2x4 factorial scheme, with 2 NPs Si and Ag and 4 doses 0, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> and 4 replications, each treatment containing 40 plants. The seeds were pre-germinated in trays with water and after protrusion were transferred to plastic bags containing Carolina and Tropical Forest substrate at a ratio of 1:1,33 plus basic NPK fertilization. At 23 days after transplanting in the bags, 10 mL of the above-mentioned NPs solution was applied via leaf and after 10 days the suspension at the concentration of 2x10<sup>5</sup> viable basidiospores was deposited in the apical meristem. The incidence, severity, chlorophyll, height and diameter readings were taken every 15 days until 60 days. The AACPD mean values for incidence were 38, 32, 24 and 0 and 34, 27, 19 and 7 at the doses of 0, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> NPs Si and Ag respectively. The AACPD for severity mean values were 81, 118, 108 and 0 cm<sup>2</sup> and 61, 102, 97 and 23 cm<sup>2</sup> at the doses of 0, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> NPs Si and Ag respectively. Total chlorophyll values were 40,2; 41; 41,38 and 40,96 ICF at doses of 0, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Si respectively, there was no significant effect between doses for NP Ag. The means of the height variable were 21,4, 22,4, 22,5 and 21,29 cm at the doses of 0, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Si, there was no significant effect between doses for Ag NP. Diameter values were 0,47; 0,45; 0,45 and 0,48 cm at doses of 0, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Si respectively and treatments with NP Ag were 0,39, 0,69, 0,43 and 0,48 cm at times 15, 30, 45 and 60 days respectively. There was no significant effect on leaf, stem and total dry weight in both treatments. At 60 days after inoculation the correlations (p <0.01) severity and incidence were r = 0,45 \*\*, r = 0,88 \*\*, r = 0,75 \*\* and r = 1 \*\* and r= 1\*\*, r = 0,92 \*\*, r = 0,87 \*\* and r = 0,86 \*\* at doses 0, 100, 200 and 400 mg/L<sup>-1</sup> NPs Si and Ag respectively. The correlation between incidence and chlorophylls A and total in the controls were r = -0,38 \* and r = -0,35 \* respectively and in the other treatments there was no significant correlation. NP Si presented greater fungitoxic effects to *M. pernicioso* in cacao seedlings, increased chlorophyll content, height and diameter and inhibiting in AACPD 100% of the incidence and severity at 400 mg/L<sup>-1</sup> dose.

Keywords: *pernicioso Moniliophthorosa*. Silicon NP. Silver NP.

## 1 INTRODUÇÃO

O fungo *M. perniciosa* causador da vassoura de bruxa do cacaueteiro tem gerado grandes prejuízos na produção de amêndoas devido ao seu modo de ação, como alterações dos processos metabólicos e fisiológicos do hospedeiro e infecção e perdas dos frutos (AGUILAR, 1999). Nos últimos anos nanopartículas (NPs) tem chamado atenção pelo grande potencial em melhorar a produção agrícola, minimizando o uso de fungicidas e consequentemente o impacto ambiental.

Os micronutrientes desempenham um importante papel na supressão das doenças de plantas (DATNOFF; RODRIGUES; SEEBOLD, 2007), mas a maioria (Cu, Mn, Zn e Fe) são pouco translocados para as raízes após aplicações foliares (ROMHELD; MARSCHNER, 1991).

As nanopartículas podem entrar nos tecidos das plantas por meio dos tecidos radiculares ou das cutículas, tricomas, estômatos, estigma e hidátodios, inclusive por meio de feridas e junções da raiz (ELCHERT; GOLDBACH, 2008; DIETZ; HERTH, 2011).

No solo as NPs penetram na parede e membrana celular da epiderme, córtex da raiz, por meio de vários eventos para entrar no feixe vascular da planta (xilema). O xilema serve como o veículo mais importante na distribuição e translocação de NPs para folhas. As nanopartículas acumulam nos tecidos superiores da epiderme, córtex, endoderme, câmbio e xilema (RAJPUTA et al., 2018).

O silício é depositado nas paredes das células da epiderme e espaços intracelulares das raízes e das folhas formando uma camada dupla abaixo da cutícula (CURRIE; PERRY, 2007; SCHALLER et al., 2012), melhorando a resistência das plantas ao estresse abiótico, incluindo doenças (EPSTEIN, 1999; BRECHTET et al., 2003) por meio da promoção da atividade fisiológica e metabólicas como produção de composto fenólicos e síntese de fitoalexinas (KANTO et al., 2004; FAUTEUX et al., 2005).

A prata possui atividade antimicrobiana em ambas formas iônicas e de NP. O efeito tóxico da prata aos patógenos, especialmente em células unicelulares são causados por inativação das enzimas (KIM et al., 1998).

As nanopartículas de Fe, Cu, Ag, Si e Zn são absorvidas pelas plantas em maiores quantidades quando comparados com a aplicação de micronutrientes tradicional, devido ao seu tamanho nanométrico (HAWTHORNE et al., 2012; DIMKPA et al., 2013). Vários estudos demonstraram os benefícios das NPs de micronutrientes no controle de doenças de

plantas e, conseqüentemente, no aumento da produção de alimentos de qualidade (JO et al., 2009; ELMER; WHITE, 2016; LI et al., 2017).

Plantas de arroz supridas com Si foram mais resistentes à queima das bainhas (*Rhizoctonia solani*) devido a uma maior lignificação dos tecidos das bainhas e menor concentração de açúcares totais (SCHURT et al., 2013).

Nanopartículas de Ag controlou a severidade da doença em plantas de azevém (*Lolium perenne*) quando aplicado 3 horas antes da inoculação dos esporos de *Bipolaris sorokiniana* e *Magnaporthe grisea* (JO et al., 2009).

A aplicação fracionada de micronutrientes (B, Cu, Fe, Zn e Mo) mais esterco bovino no campo reduziu a incidência da vassoura de bruxa em frutos do cacauero (MORAIS, 1998).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes doses das nanopartículas de Si e Ag no controle da vassoura de bruxa (*M. perniciosa*) e sua influência no desenvolvimento das mudas do cacauero do genótipo Catongo *Teobroma cacao* L. (suscetível).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Produção de Mudas

As mudas foram produzidas de sementes proveniente de frutos do genótipo Catongo de *Teobroma cacao* L., suscetíveis a doença vassoura de bruxa. Os frutos foram coletados na estação experimental ESARM da CEPLAC, em Ilhéus no Sul da Bahia e pré - germinadas em bandejas contendo água. Após as protusões das raízes primárias as plântulas foram transferidas para sacolas plásticas de tamanho 15x25 cm (2 L) contendo substrato Carolina e Tropical Florestal na proporção 1:1,33 L/L, acrescentado da adubação básica: 1 g de uréia, 0,5 g de KCl, 5 g de superfosfato simples e 1 g de calcário dolomítico. Foi retirada uma amostra antes do transplântio e no final do experimento e enviado para análise química de substrato no Laboratório de Análise Agronômica e Ambiental - Fullin no Espírito Santo.

Tabela 1 - Análises químicas do substrato utilizado no início do transplântio das plântulas em sacolas e no final do experimento.

Parâmetros	Unidade	Valores Iniciais	Valores Finais
Unidade 60-65°C	%	65,18	60,70
pH em CaCl <sub>2</sub>	-	5,20	4,96
Matéria Orgânica Total	g/Kg <sup>-1</sup>	524,10	522,80
Matéria Orgânica Compostável	g/Kg <sup>-1</sup>	378,00	378,00
Carbono Orgânico	g/Kg <sup>-1</sup>	210,00	210,00
Relação C/N	-	35/1	38/1
Nitrogênio (N)	g/Kg <sup>-1</sup>	6,00	5,60
Fósforo (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	g/Kg <sup>-1</sup>	8,10	12,30
Potássio (K <sub>2</sub> O)	g/Kg <sup>-1</sup>	4,50	5,30
Cálcio (Ca)	g/Kg <sup>-1</sup>	10,50	17,80
Magnésio (Mg)	g/Kg <sup>-1</sup>	30,60	33,10
Enxofre (S)	g/Kg <sup>-1</sup>	4,50	9,00
Ferro (Fe)	mg/Kg <sup>-1</sup>	0,20	0,20
Zinco (Zn)	mg/Kg <sup>-1</sup>	59,60	41,70
Cobre (Cu)	mg/Kg <sup>-1</sup>	85,00	32,50
Manganês (Mn)	mg/Kg <sup>-1</sup>	224,4	165,00
Boro (B)	mg/Kg <sup>-1</sup>	11,00	10,10
Silício (Si)	mg/Kg <sup>-1</sup>	15,81	13,18

Fonte: Próprio autor (2020).

### 2.2 Experimento em Casa de Vegetação

O experimento foi conduzido em delineamento de bloco casualizado (DBC) em esquema fatorial 2x4, sendo 2 nanopartículas de Ag e Si e 4 doses: 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup>, com 4 repetições, cada tratamento continha 40 plantas.

No início do lançamento dos primeiros pares de folhas cotiledonares foram aplicados uma solução contendo os seguintes micronutrientes: 3g/L de sulfato de zinco; 1,5 g/L de cal; 0,5 g/L de ácido bórico; 3 g/L de oxiclreto de cobre; 3 g/L de sulfato de Mn.

Aos 23 dias do transplântio foram aplicados com atomizadores plásticos via foliar 10 mL por planta das soluções dos tratamentos (Si e Ag) citados acima.

### **2.3 Inoculação com Fungo *M. pernicioso***

O inóculo foi obtido do Setor de Fitopatologia do CEPEC/CEPLAC em Ilhéus no Sul da Bahia. Aos 33 dias do transplântio das plântulas em sacolas, 1/3 das folhas crescidas foram cortadas em sentido transversal com tesoura e as mudas foram levadas para câmara de inoculação com umidade (100%) e temperatura (25°C) controladas por um período de 24 horas antes e depois da inoculação. No final da tarde foram feitas as inoculações nas mudas com a deposição no meristema apical de 30 µL da solução de basidiosporos viáveis na concentração de 2x10<sup>5</sup>. Os basidiosporos apresentaram um índice de germinação acima de 80% antes e depois da inoculação. As plantas inoculadas ficaram na casa de vegetação até o final do experimento, em acordo com a metodologia descrita (FRIA et al., 1995; SILVA et al., 2000).

### **2.4 Avaliações**

#### **2.4.1 Incidência e Severidade**

Após a inoculação com o fungo *M. pernicioso* foram feitas 4 avaliações da incidência e severidade da vassoura de bruxa com intervalos de 15 dias. A incidência (I) foi avaliada pelo número de plantas doentes, empregando a equação:

$$I = (Nm/Nt)$$

Em que:

Nm = média do número de mudas doentes por tratamento,

Nt = número total de mudas avaliadas por tratamentos.

Para a severidade foi utilizado a fórmula do índice da doença de Rodrigues et al.

(2019) com modificações.

$ID = VT + (a * CVT) + VA + (b * NVA) + VCOT + (c * VS)$ , onde:

ID = Índice da doença

VT = Vassoura Terminal

$a = 1 / CVT$

CVT = Comprimento da vassoura terminal

VA = Vassoura axilar

$b = 1 / NVA$

NVA = Número de vassouras maiores que 1 cm

VS = Vassoura seca

$c = 4$

SB = Superbrotamento

PEC = Vassoura Peciolar

PUL = Pulvino inchado

ENG = Engrossamento

Can = Cancro

Ent = Entortamento

HI = Hipocótilo inchado

Vcot = Vassoura cotiledonar.

Os dados de incidência e severidade da vassoura de bruxa foram utilizados para construção dos gráficos da AACPD a partir da equação proposta por Shaner e Finney (1977), onde:

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} \left( \frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

onde:

AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença;

$Y_i$  = proporção de doença na  $i$ -ésima observação;

$T_i$  = tempo, em dias, na  $i$ -ésima observação;

$n$  = número total de observações.

## 2.5 Variáveis Morfológicas

Foram avaliadas de 15 em 15 dias a partir da inoculação, as variáveis morfológicas como altura da parte aérea (cm), determinada a partir do coleto até a gema apical e o diâmetro do coleto medido na base do coleto (cm), sendo duas medidas por planta.

O teores de clorofilas: A, B e AB (total) foram obtidos com o medidor portátil de clorofila Clorofilog diretamente das folhas. As leituras foram feitas de 15 em 15 dias a contar da inoculação no quarto par de folha completamente expandida, duas em cada folha.

## **2.6 Variáveis Matéria Seca**

Após o término das avaliações, foram coletadas quatro plantas de cada repetição para obtenção do peso seco das raízes, caule, folhas e peso seco total.

As plantas foram lavadas com água destilada para retirar o excesso do substrato das raízes, cortadas e lavadas novamente em água destilada, posteriormente em solução de HCl a 2% por 5 minutos e novamente em água destilada. Em seguida foi retirada o excesso de água das amostras e levadas para secagem em estufa a 70 °C até peso constante, depois as plantas foram retiradas da estufa e pesadas.

## **2.7 Análise Estatística**

Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro- Wilk para avaliar a distribuição normal dos resíduos e ao teste de Bartlett para verificar a homogeneidade das variâncias, em seguida, foram submetidos à análise de variância. As variáveis quantitativas significativos no teste F foram submetidos ao ajuste de modelos de regressão e a correlação de Pearson. Todas as análises foram feitas utilizando o software R (TIM R 2.4.6) e Microsoft Excel, aceitos até 5% de probabilidade.

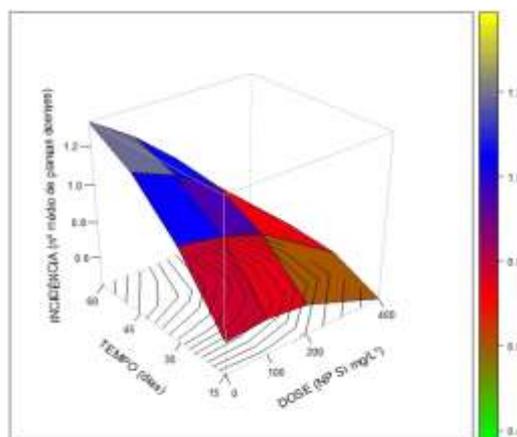
### 3.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 Incidência e Severidade da Vassoura de Bruxa do Cacaueiro no Tempo

NP Si aumentou a resistência de mudas do cacaueiro a vassoura de bruxa causada pelo fungo *M. perniciosa*. A incidência 15 dias após a inoculação foi em média 0,6; 0,67; 0,5 e 0,0 (número de plantas doentes) nas doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NP de Si, respectivamente (Figura 12). Durante a condução do experimento ocorreu aumento da incidência em todos os tratamentos.

A incidência da vassoura de bruxa aos 60 dias após a inoculação foi em média 1,3; 1,1; 0,8 e 0,4 (número de plantas doentes) para as doses 0, 100, 200, 400 mg/L<sup>-1</sup> respectivamente. A dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> da NP Si inibiu a incidência de vassoura de bruxa acima de 95% (Figura 12).

Figura 12- Incidência de vassoura de bruxa, no tempo, em mudas de cacaueiro fertilizadas com NP de Si e inoculadas com *M. perniciosa*.



Fonte: Próprio autor (2020).

A severidade da incidência de vassoura de bruxa em mudas do cacaueiro 15 dias após a inoculação foi em média 0,2; 0,7; 0,7 e 0 cm<sup>2</sup> (área lesionada) para as doses 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Si respectivamente (Figura 13). Na dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> a severidade foi ligeiramente menor em relação as doses de 0 e 100 mg/L<sup>-1</sup> no período de 45 e 60 dias após a inoculação de *M. perniciosa*. Aos 60 dias a severidade foi em média 1,70; 1,8; 1,44 e 0,5 cm<sup>2</sup> (área lesionada) para as doses 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Si, respectivamente (Figura 13). A dose que mais inibiu a severidade da vassoura de bruxa em mudas de cacaueiro foi de 400 mg/L<sup>-1</sup>, sendo que os sintomas apresentados foram de encurtamento de nódulos e superbrotamentos (Figura 16B).

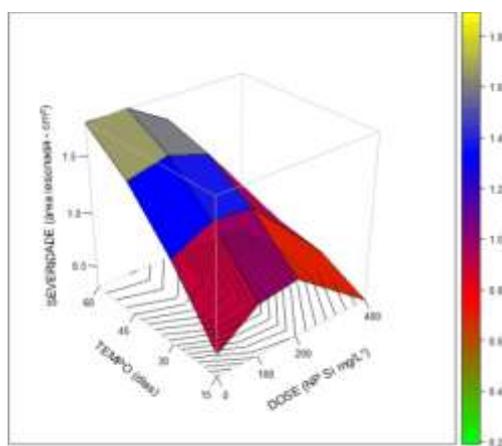
O silício é absorvido pelas raízes das plantas na forma de ácido monossilício e transportado passivamente por fluxo de transpiração, sendo depositado abaixo da cutícula, formando uma camada dupla conhecida como barreira física-mecânica (SANGSTER; HODSON; TUBB, 2001; YOSHIDA et al., 1962).

A deposição do silício ocorre nas paredes da epiderme, tecidos vasculares do tronco, bainha e folhas (MA; YAMAJI, 2006; CURRIE; PERRY, 2007; PARVEN; ASHRAF, 2010) regulando as atividades fisiológicas das plantas (BAO-SHAN et al., 2004).

O silício aumenta as reações bioquímicas nas plantas, produzindo enzimas de defesa como peroxidases, polifenoloxidase e fenilalanina-amonioliasa e acumulação de compostos fenólicos e quitinasas, os quais geram uma estrutura capaz de proteger e resistir ao ataque microbiano (EPSTEIN, 1999; GOMES et al., 2008).

Em plantas de arroz, o silício formou uma camada dupla abaixo da cutícula atrasando a penetração de *Pyricularia grisea* nas folhas de arroz (KIM et al., 2002).

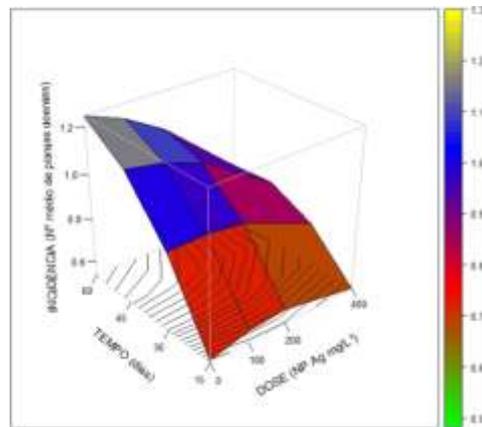
Figura 13 - Severidade da incidência da vassoura de bruxa, no tempo, em mudas de cacaueteiro fertilizadas com NP de Si e inoculadas com *M. perniciosa*.



Fonte: Própria autor (2020).

A incidência da vassoura de bruxa em mudas de cacaueteiro entre 15 e 30 dias após a inoculação foi em média 0,5 e 0,7 (número de plantas doentes) para as doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NP de Ag respectivamente (Figura 14). Aos 60 dias após a inoculação as médias foram 1,3; 1,2; 1,1 e 0,8 (número de plantas doentes) nas doses 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Ag respectivamente (Figura 14).

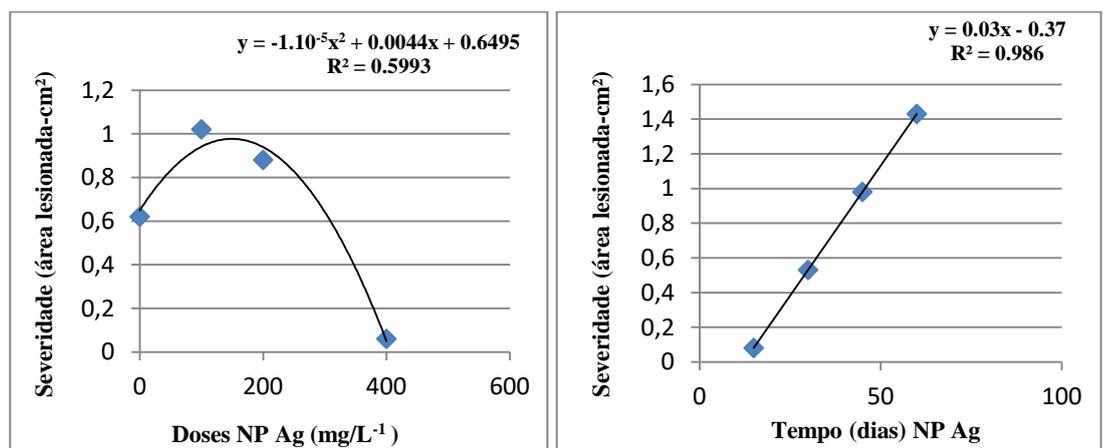
Figura 14 - Incidência da vassoura de bruxa, no tempo, em mudas do cacauero fertilizadas com NP de Ag e inoculadas com *M. perniciosa*.



Fonte: Próprio autor (2020).

A severidade em mudas de cacauero inoculados com *M. perniciosa* foi crescente durante os 60 dias de avaliação (Figura 15). As médias para os tratamentos em estudos foram 0,6; 1; 0,9 e 0,02 cm<sup>2</sup> (área lesionada) para as doses 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Ag, respectivamente. As mudas de cacau apresentaram maior severidade nas doses de 100 e 200 mg/L<sup>-1</sup> quando comparadas com a testemunha, assim como ocorreu com os tratamentos com NP Si, isso é devido aos tipos de sintomas apresentados. A dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> inibiu a severidade da doença acima de 98% (Figura 15).

Figura 15 - Severidade da incidência da vassoura de bruxa, no tempo, em mudas de cacauero fertilizadas com NP de Si e inoculadas com *M. perniciosa*.



Fonte: Própria autor (2020).

### 3.2 AACPD para Incidência e Severidade

AACPDI em mudas de cacauero inoculados com *M. perniciosa* decresceu com o

aumento das doses de NP Si. Nas doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> as médias foram respectivamente 38, 32, 24 e 0 (número de plantas doentes) (Figura 17). A AACPDs as médias das lesões nas plantas foram 81, 118, 108 e 0 (área lesionada em cm<sup>2</sup>) nas doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Si respectivamente (Figura 17).

Embora a incidência nas doses de 100 e 200 mg/L<sup>-1</sup> NP de Si sejam menores quando comparadas à testemunha, a severidade nas mesmas doses foram maiores, isto provavelmente ocorreu devido aos sintomas apresentados pelos mesmos. Nas testemunhas ocorreu mais sintomas de encurtamento e superbrotamento em relação as vassouras axilares, terminal, cotiledonar e pulvino (Figura 16), isto está diretamente relacionado ao estado nutricional das mudas (vigor), devido aos teores de nutrientes presentes no substrato (Tabela 1), segundo Aguilar (1999) Mn induz resistência em mudas de cacauete inoculados com *M. perniciosa*.

Nas doses de 100 mg/L<sup>-1</sup> os sintomas foram: vassoura terminal, vassoura axilar, cotiledonar e pulvino e na dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> os sintomas foram superbrotamento e encurtamento de nódulos, alongamento, vassoura terminal, axilar, pecíolo e pulvino (Figura 16 e 17). A dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> foi a mais eficiente em relação às demais inibindo a incidência e severidade da vassoura de bruxa a zero (Figura 17).

Figura 16 - Mudanças de cacauete com sintomas da vassoura de bruxa, inoculados artificialmente.



Legenda: A - planta não inoculada, sem sintomas; B - planta inoculada com sintomas de encurtamento entre nódulos e superbrotamento; C e D - planta inoculada com sintoma de alongamento entre nódulos; E - planta inoculada com sintoma de vassoura terminal e peciolar; F - planta inoculada com sintoma de vassoura terminal, peciolar e pulvino; G - planta inoculada com sintoma de vassoura axilar. H - planta inoculada com sintoma de vassoura terminal, axilar, peciolar e pulvino; I - planta inoculada com sintomas de vassoura seca.

Fonte: Próprio autor (2020).

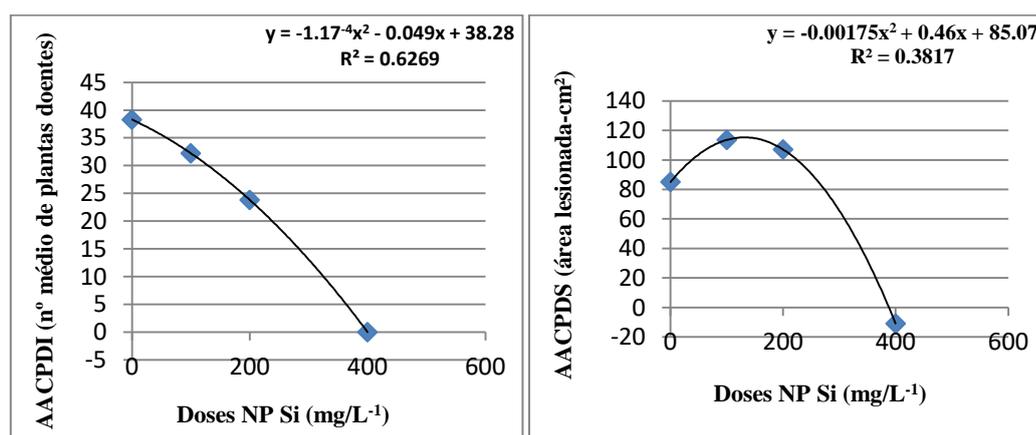
O desenvolvimento de internódios curtos é observado em alguns genótipos de

cacaueiro atacados por vassoura de bruxa, inoculados ou infectado naturalmente, as folhas desenvolvem formando aspecto de superbrotamento no meristema apical (Figura 16 B). As plantas com sintomas de alongamento da gema (Figura 16 C e D) e superbrotamento, podem retomar o seu desenvolvimento normal e não apresentar mais sintomas de vassoura-de-bruxa. Estes sintomas são reações de resistência dos genótipos à *M. pernicioso* (SILVA et al., 2003).

A aplicação de silício em plantas melhora a resistência ao estresse, ataque de pragas e doenças causadas por fitopatógenos por meio das alterações das atividades metabólicas (BRECHET et al., 2003; KANTO et al., 2004). Plantas de arroz quando tratadas com silício aumenta a resistência contra várias doenças fúngicas como mancha parda, queima das bainhas, escaldadura e brusone (DATNOFF; RODRIGUES; SEEBOLD, 2007).

O silício induz resistência a doenças nas plantas por meio da formação de uma barreira contra fitopatógenos, seja pela redução da taxa de progresso da doença ou pela diminuição do tamanho da lesão e produção de esporos para infecção secundária (SEEBOLD et al., 2001), seja aumentando os níveis de inibidores como compostos fenólicos ou pela síntese de fitoalexinas antifúngicas pós-infecciosas ou ainda pela ativação de enzimas oxidativas (FAUTEUX et al., 2005).

Figura 17 - Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD) para incidência e severidade, em mudas de cacaueteiro, fertilizadas por NP de Ag e inoculadas com *M. pernicioso*.



Fonte: Próprio autor (2020).

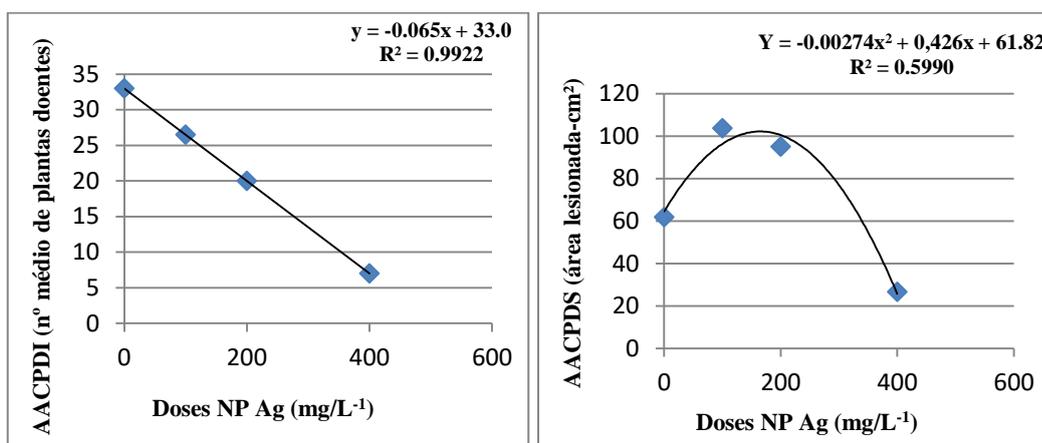
A AACPD em mudas de cacaueteiro inoculados com *M. pernicioso* foram em média de 34, 26, 19 e 7 (número de plantas doentes) para as doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> de NP Ag (Figura 18). A AACPDS foram em média 61, 102, 97, e 23 cm<sup>2</sup> (área lesionada) para as doses 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Ag respectivamente (Figura 18), assim como ocorreu no experimento com NP Si, nas doses de 100 e 200 mg/L<sup>-1</sup> a severidade também foram maiores

quando comparados com a testemunha embora, a incidência foram menores nos mesmos tratamentos.

Na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Ag a incidência e a severidade da vassoura de bruxa foram maiores do que no tratamento com NP de Si, sendo em média 7 (nº de plantas doentes) e 23 cm<sup>2</sup> respectivamente, já para NP de Si foram zero para ambos (incidência e severidade) (Figura 18). No entanto, os sintomas apresentados na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Ag foram sintomas mais agressivos como vassoura terminal, axilar, peciolar e pulvino (Figura 18).

Nanopartícula de Ag na dose de 50 e 200 ppm, aplicados 3 horas antes da inoculação em plantas azevém (*Lolium perenne*) inibiu a severidade da doença mancha foliar e mancha cinza causada pelos fungos *M. grisea* e *B. sorokiniana* a menos de 7% (lesões nas folhas) a testemunha (água) causou danos de mais de 70% nas plantas (JO et al., 2009).

Figura 18 - Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD) para incidência e severidade, em mudas de cacaueteiro, fertilizadas por NP de Ag e inoculadas com *M. pernicioso*.



Fonte: Próprio autor (2020).

### 3.3 Clorofila

Na análise de clorofila houve interação significativa ( $p < 0,01$ ) entre dose x tempo para o tratamento com NP Si. Nos tratamentos com NPs Ag não houve interação significativa entre doses, este ocorreu somente entre os tempos ( $p < 0,01$ ).

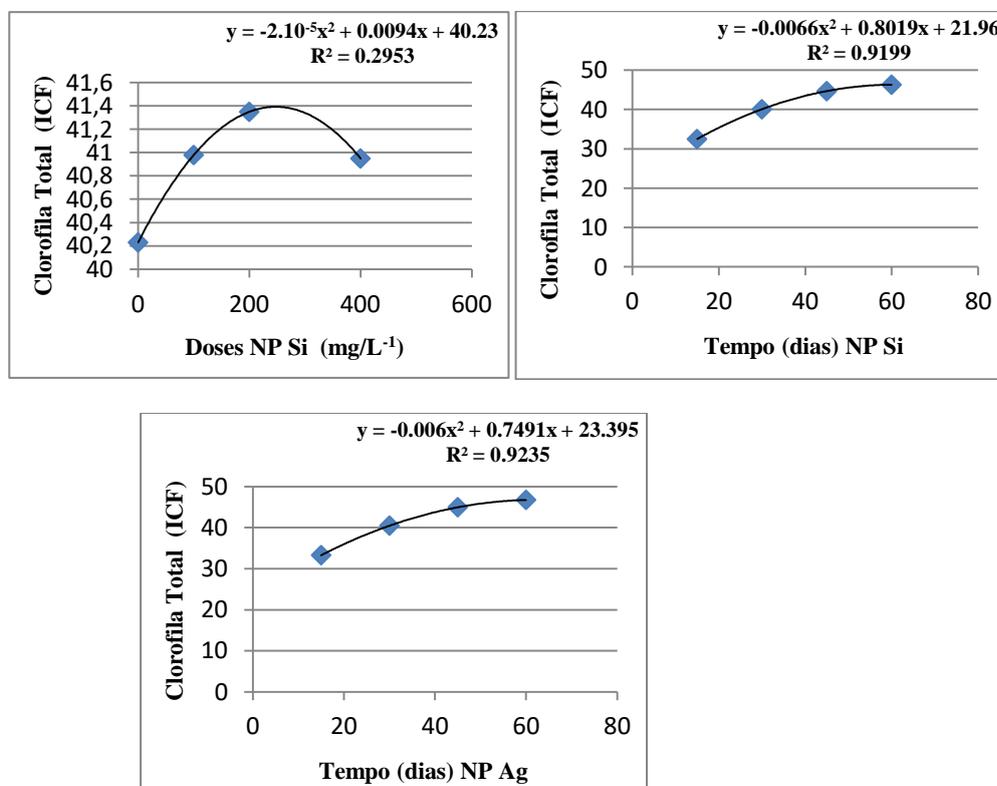
Os teores médios de clorofila total foram 40,2; 41,0; 41,38 e 40,96 ICF (Índice de Clorofila Falk) nas doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Si, respectivamente. Nos tratamentos com NP Si o teor de clorofila total aumentou conforme o aumento das doses, decaído na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> que se posicionou abaixo da dose de 100 mg/L<sup>-1</sup>. O teor máximo de clorofila total ocorreu na dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> (Figura 19).

Os teores de clorofila total aumentaram ao longo do tempo para ambos os tratamentos com NPs Si e Ag, sendo o maior valor obtido aos 60 dias. Entre os tempos 45 e 60 dias podemos observar um ligeiro aumento, indicando uma possível estabilidade nesse período (Figura 19).

Nanopartículas de SiO<sub>2</sub> aceleram o crescimento e o desenvolvimento das plantas, aumentando a fluorescência da clorofila e demais parâmetros de troca gasosa, como taxa líquida fotossintética, taxa de transpiração, condutância estomática, atividade potencial do PSII, eficiência fotoquímica efetiva, eficiência fotoquímica real, taxa de transporte de elétrons e extinção fotoquímica (SIDDIQUI et al., 2014; FENG et al., 2012).

Nanopartículas de Ag desempenham um papel importante no crescimento das plantas (KAVEH et al., 2013; VANNINI et al., 2013), melhorando a eficiência fotossintética e o teor de clorofila (HATAMI; GHORBANPOUR, 2013), conteúdo de carboidratos, proteínas e enzimas antioxidantes em mudas de mostarda (*Brassica juncea*) Sharma et al. (2012) e de feijão (*Phaseolus vulgaris*) e milho (*Zea mays*) (SALAMA, 2012).

Figura 19 - Teor de clorofila total em mudas de cacauete fertilizadas com nanopartículas de Si e Ag e inoculadas com *M. perniciosa*.



Fonte: Próprio autor (2020).

### 3.4 Análise Morfológica

A análise estatística foi significativa ( $p < 0,01$ ) para a variável altura em relação a dose

e tempo nos tratamentos com NP Si. Nos tratamentos com NP de Ag não houve efeito significativo entre as doses, este ocorreu entre os tempos ( $p < 0,01$ ).

Os resultados mostram que a altura das mudas foi incrementada com o aumento das doses de NP Si, mais isso não aconteceu na dose de  $400 \text{ mg/L}^{-1}$ , as médias entre os tratamentos foram 21,4; 22,24; 22,5 e 21,29 cm, nas doses de 0, 100, 200 e  $400 \text{ mg/L}^{-1}$  respectivamente (Figura 38).

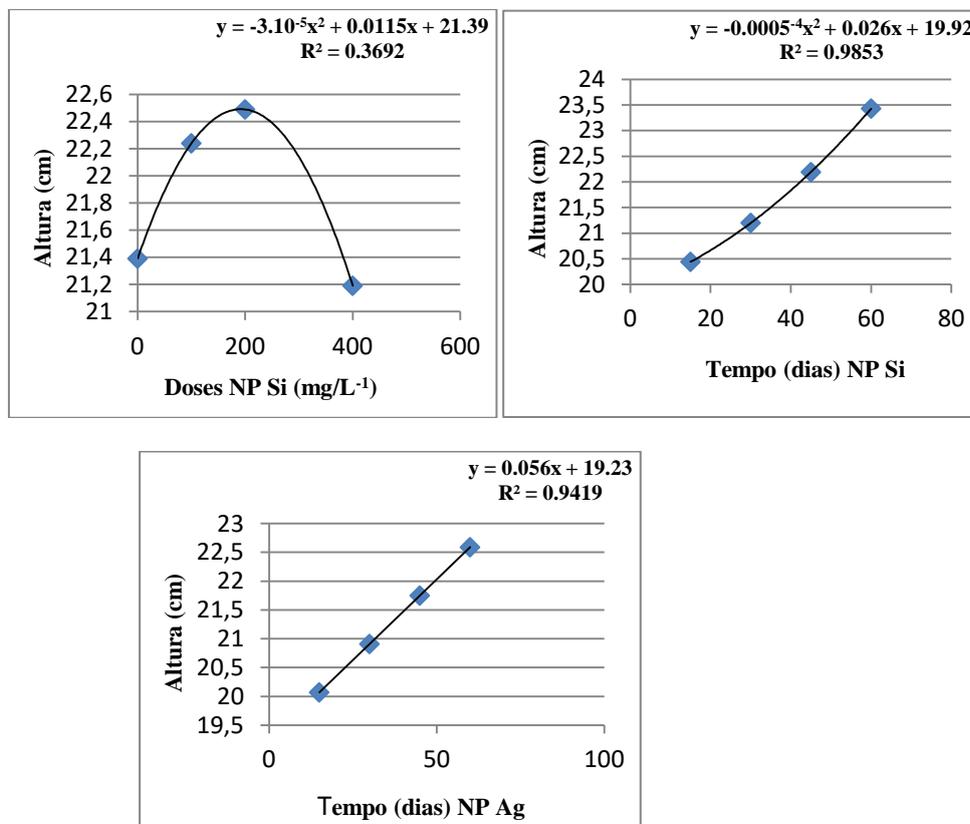
A altura das mudas cresceu linearmente durante a condução do experimento para os tratamentos com NPs de Si e Ag (Figura 38). A altura foi maior na dose de  $200 \text{ mg/L}^{-1}$  NP Si, este tratamento apresentou poucos sintomas de vassoura terminal, axilar e peciolar que poderia levar ao aumento da altura das mudas induzidas pelo fungo como ocorreu na dose de  $100 \text{ mg/L}^{-1}$ , logo a altura apresentada na dose de  $200 \text{ mg/L}^{-1}$  está relacionada aos tratamento de NP Si.

O silício ainda não é considerado um nutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, embora, efeitos benéficos desse elemento já tenham sido comprovados em estudos desenvolvidos em uma ampla variedade de espécies para crescimento, produtividade e resistência biótica e abiótica (MA; YAMAJI, 2006; MA, 2004; PILON-SMITS et al., 2009; SAQIB et al., 2008; PEI et al., 2010).

A aplicação de nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  em mudas de lariço de Changbai (*Larix olgensis*) incrementou a altura média, o diâmetro do caule, o comprimento da raiz principal e o número de raízes laterais e também induziu a síntese de clorofila (BAO-SHAN et al., 2004).

A aplicação de NP de Ag aumentou a altura, o comprimento da raiz, a área foliar em mudas de mostarda (*Brassica juncea*) Sharma (2012), e de feijão (*Phaseolus vulgaris*) e milho (*Zea mays*) (SALAMA et al., 2012).

Figura 20 - Altura de mudas de cacaueteiro fertilizadas com nanopartículas (NPs) de Si e Ag inoculadas com *M. perniciosa*



Fonte: Próprio autor (2020).

Os resultados da variável diâmetro evidenciaram que houve efeito significativo entre doses, tempo e doses x tempo ( $P < 0,01$ ) para os tratamentos com NP Si, já com NP de Ag ocorreu somente entre os tempos ao mesmo nível de significância.

Nos tratamentos com NP Si ocorreu um crescimento linear durante os períodos de avaliações. Os diâmetros do caule das mudas de cacaueteiro foi em média 0,37 cm para a testemunha (0 mg/L<sup>-1</sup>), 0,36 cm para as doses de 100 e 200 mg/L<sup>-1</sup> e 0,38 cm na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> de NP de Si aos 15 dias (Figura 21). Aos 30 dias os valores médio do diâmetro do caule foi de 0,39 e 0,41 cm nas doses de 0 e 400 mg/L<sup>-1</sup> respectivamente e 0,37 cm nas doses de 100 e 200 mg/L<sup>-1</sup> de NP de Si (Figura 21). Aos 45 dias os valores médios do diâmetro do caule foram 0,42; 0,40; 0,40 e 0,43 cm nas doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> de NP de Si respectivamente (Figura 39). Aos 60 dias os valores médios do diâmetro do caule foram 0,47; 0,45; 0,45 e 0,48 cm nas doses de 0, 100, 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> NP de Si respectivamente (Figura 21).

Os diâmetros do caule das mudas de cacaueteiro na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> de NP de Si, foi maior do que nas doses de 0, 100 e 200 mg/L<sup>-1</sup> durante todo o período de avaliação, isto está

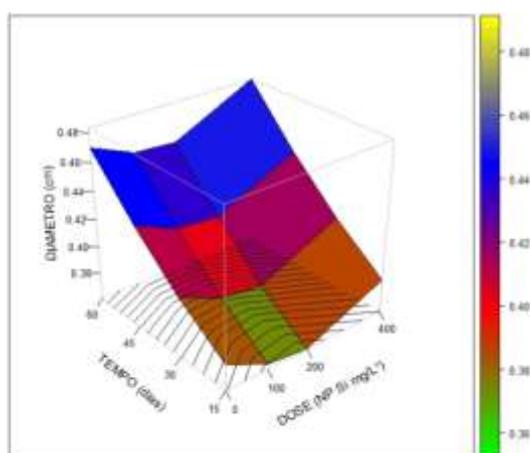
relacionado aos tipos de sintomas apresentados nos tratamentos. Na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> de NP de Si ocorreu mais sintomas de superbrotamento com encurtamento entre nódulos quando comparados com a dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> onde a maioria dos sintomas foram de vassoura terminal, axilar, peciolar e pulvino, estes sintomas induzem uma séria de alterações metabólicas e fisiológicas.

No tratamento com NP de Ag as médias dos diâmetros foram 0,39; 0,69; 0,43 e 0,48 cm para os tempos 15, 30, 45 e 60 dias de avaliações, o maior diâmetro foi alcançado aos 30 dias. Aos 45 dias ocorreu um decréscimo, seguido de um aumento aos 60 dias, isto pode está relacionado aos tipos de sintomas, aliados com a resistência induzida pelas nanopartículas nas mudas de cacaueteiro (Figura 22).

Aos 30 dias após a inoculação os sintomas mais severos aparecem com maior frequência, influenciando alterações fisiológicas e metabólicas nas mudas e interferindo diretamente na morfologia como aumento/diminuição do diâmetro encurtamento e/ou alongamento do caule.

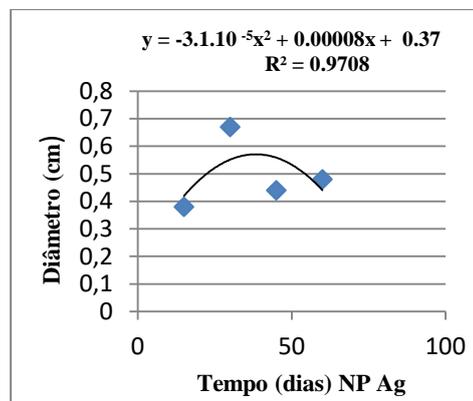
Aos 45 e 60 dias após a inoculação os sintomas estão bem definidos e aparecem com frequências sintomas de resistência (SILVA et al., 2003), muitas vezes induzidos pelos tratamentos aplicados, como aconteceu nas doses de 200 e 400 mg/L<sup>-1</sup> de NPs Si e Ag , onde apareceram sintomas de encurtamento/superbrotamento e alongamento. Estes sintomas são típicos de genótipos que apresentam resistência horizontal induzida pelo tratamento que recebeu como aconteceu nas doses de 400 mg/L<sup>-1</sup> de NP de Si ou característicos dos próprio genótipo.

Figura 21 - Diâmetro médio de mudas de cacaueteiro fertilizadas com NP Si inoculadas com *M. pernicioso*.



Fonte: Próprio Autor.

Figura 22 Diâmetro médio de mudas de cacauete fertilizadas com NP Ag inoculadas com *M. perniciosa*.



Fonte: Próprio Autor (2020).

### 3.5 Análise da Massa Seca

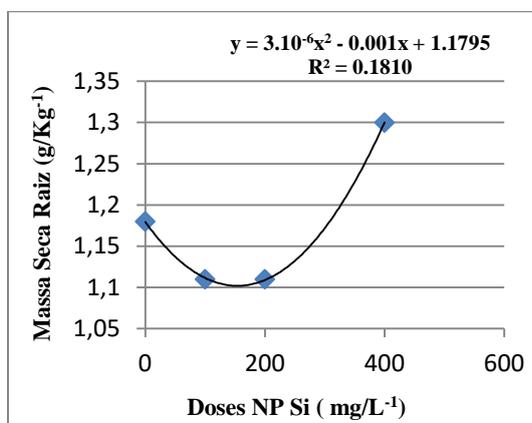
Nas variáveis de massa seca da folha, raiz e caule, para as NPs de Ag não houve efeito significativo entre os tratamentos, assim como não houve efeito significativo para as variáveis de massa seca foliar e do caule para os tratamentos com NP de Si, este ocorreu somente nas variáveis de massa seca da raiz (Figura 23).

Na variável de massa seca da raiz, as doses de 100 e 200 mg/L<sup>-1</sup> obteve em média 1,1 g/Kg<sup>-1</sup>, sendo menor quando comparada com a testemunha. O maior valor de massa seca da raiz foi obtido na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> com média de 1,3 g/Kg<sup>-1</sup> (Figura 23).

NP de Ag aumentou o crescimento das raízes de cevada, mas inibiu o crescimento das raízes de alface (GRUYER et al., 2014). Em plantas de açafrão (*Crocus sativus*) NP Ag induziu o crescimento da raiz bloqueando a produção de etileno (REZVANI et al., 2012).

NP de Ag na forma decaédrica aumentou o crescimento radicular de *Arabidopsis* quando comparadas com a forma esféricas que não teve efeito significativo, aumentando os níveis de acúmulo de antocianina nas mudas (SYU et al., 2014).

Figura 23 - Massa seca das raiz de mudas de cacauete fertilizadas com NP de Si inoculados com *M. pernicioso*.



Fonte: Próprio Autor (2020).

### 3.6 Correlações

Os dados de clorofila A (A), clorofila B, (B) clorofila total (AB), altura (ALT), diâmetro (DIAM), incidência (INC) e severidade (SEV) analisados por meio da correlação de Pearson, mostraram que aos 15 dias após a inoculação houve correlação positiva para todos os tratamentos no presente estudo, sendo que nas testemunhas as correlações foram 0,95\*\* (A/B), 0,99\*\* (A/AB), 0,98\*\* (B/AB) e 1\*\* (SEV/INC) (Tabela 2).

Na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> de NP Si as correlações foram 0,90\*\* (B/A), 0,99\*\* (AB/A), 0,96\*\* (AB/B), 0,35\* (ALT/A), 0,36\* (DIAM/A), 0,55\*\* (DIAM/ALT) e 0,99\*\* (SEV/INC) (Tabela 2). Pode-se observar neste período de avaliação que o diâmetro correlacionou positivamente com a altura, ou seja quando o diâmetro aumentava a altura também aumentava, isso é característicos de plantas com desenvolvimento normal.

No tratamento com NP Si na dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> as correlações foram 0,94\*\* (B/A), 0,99\*\* (AB/A), 0,98\*\* (AB/B) e 0,43\* (ALT/B) no período de 15 dias após a inoculação. Nesse período não houve correlações para incidência e severidade devido a ausência de mudas de cacauete doente, isto é válido também para a dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> de NP Si (Tabela 2).

Na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> as variáveis clorofila B, clorofila total e diâmetro correlacionou positivamente ( $p < 0,01$ ) com as variáveis clorofila A (0,97\*\*), clorofilas AB (0,99\*\*) e B (0,98\*\*) e altura (0,46\*\*) respectivamente (Tabela 2).

Em todos os tratamentos com NP Si no período de 15 dias após a inoculação de *M. pernicioso* em mudas de cacauete da variedade Catongo (suscetível), observamos que as correlações significativas foram diferentes em relação a testemunha, indicando alterações

metabólicas e fisiológicas provocadas pelo silício, sendo que a dose que mais apresentou correlações positivas foi a de  $100 \text{ mg/L}^{-1}$ , porém observamos que este tratamento tinham mudas com sintomas iniciais da doença, onde a variável severidade correlacionou com incidência  $r = 0,99^{**}$  ( $p < 0,01$ ), nesse mesmo período a variável diâmetro correlacionou positivamente com altura ( $p < 0,01$ ), indicando que quando o diâmetro aumentava a altura também aumentava, isso indica que as atividades metabólicas do fungo não estava interferindo no desenvolvimento das mudas (Tabela 2).

Na dose de  $200 \text{ mg/L}^{-1}$  NP Si não houve correlação significativa para diâmetro e altura, já para a dose de  $400 \text{ mg/L}^{-1}$  a correlação foi positiva entre as mesmas variáveis ( $p < 0,01$ ) (Tabela 2).

Tabela 2 - Correlações de Pearson estabelecidas aos 15 dias após a inoculação das mudas de cacaueteiro com *M. pernicioso* - Nanopartícula de Si.

Testemunha - Sem NP

Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.95**					
<b>AB</b>	0.99**	0.98**				
<b>ALT</b>	0.28ns	0.13ns	0.23ns			
<b>DIAM</b>	-0.16ns	-0.06ns	-0.12ns	0.10ns		
<b>INC</b>	0.08ns	0.10ns	0.09ns	0.01ns	-0.15ns	
<b>SEV</b>	0.08ns	0.10ns	0.09ns	0.01ns	-0.15ns	1**
<b>NP de Si na Dose 100 mg/L<sup>-1</sup></b>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.90**					
<b>AB</b>	0.99**	0.96**				
<b>ALT</b>	0.35*	0.09ns	0.25ns			
<b>DIAM</b>	0.36*	0.21ns	0.31ns	0.55**		
<b>INC</b>	-0.12ns	0.17ns	-0.01ns	-0.30ns	-0.22ns	
<b>SEV</b>	-0.12ns	0.18ns	-0.01ns	-0.31ns	-0.22ns	0.99**
<b>NP de Si na Dose 200 mg/L<sup>-1</sup></b>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.94**					
<b>AB</b>	0.99**	0.98**				
<b>ALT</b>	0.24ns	0.43*	0.32ns			
<b>DIAM</b>	-0.01ns	0.05ns	0.02ns	0.21ns		
<b>NP de Si na Dose 400 mg/L<sup>-1</sup></b>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.97**					
<b>AB</b>	0.99**	0.98**				
<b>ALT</b>	-0.01ns	0.03ns	0.01ns			
<b>DIAM</b>	0.04ns	0.16ns	0.09ns	0.46**		

Legenda: ns - não significativo, \* significativo ( $p < 0,05$ ), \*\* significativo ( $p < 0,01$ ).  
 Fonte: Próprio autor (2020).

Na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> de NP Ag, aos 15 dias após a inoculação com *M. pernicioso* as correlações foram significativas em 0,95\*\* para B/A, 0,99\*\* para AB/A, 0,98\*\* para AB/B, 0,82\*\* para DIAM/ALT, 0,45\*\* para INC/B, 0,38\* para INC/AB, 0,45\*\* para SEV/B, 0,38\* para SEV/AB e 1\*\* para SEV/INC (Tabela 3). Assim como aconteceu com o tratamento NP Si na mesma dose, nesse período, essa dose já tinham mudas com sintomas iniciais da doença, porém as mesmas não estavam interferindo no desenvolvimento da planta, podemos observar por meio da correlação positiva entre diâmetro e altura típico de plantas com desenvolvimento normal.

Na dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> da NP Ag as correlações foram significativas ( $p < 0,01$ ) para clorofila B e total, e para severidade em, 0,85\*\* (B/A), 0,98\*\* (AB/A), 0,94\* (AB/B) e 0,99\*\* (SEV/INC) 15 dias após a inoculação de *M. pernicioso* (Tabela 3). Nesse período a

incidência da doença foi baixa, pois os sintomas iniciais da doença em mudas de cacaueteiro começam aparecer discretamente aos 15 dias após a inoculação do fungo (SILVA et al., 2003).

Na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> as variáveis clorofilas B e total, altura e diâmetro correlacionaram positivamente aos 15 dias após a inoculação com *M. perniciosa*. Os valores da correlação de Pearson foram 0,95\*\* (B/A), 0,99\*\* (AB/A), 0,98\*\* (AB/B), 0,37\* (ALT/A), 0,36\* (ALT/B), 0,37\* (ALT/AB), 0,46\*\* (DIAM/B) e 0,37\* (DIAM/AB). Não houve correlação nesse período para incidência e severidade, pois não tinha mudas com sintomas típicos da vassoura de bruxa do cacaueteiro nesse período (Tabela 3).

Analisando os dados dos tratamentos com NP Ag, pode-se observar que as doses de 100 e 400 mg/L<sup>-1</sup> obteve-se o mesmo número de correlações, porém em variáveis diferentes. Na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> a variável diâmetro correlacionou positivamente com a altura, indicando o bom desenvolvimento das mudas, o mesmo não aconteceu para a dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> de NP Ag.

As correlações na dose 400 mg/L<sup>-1</sup> de NP Ag foram entre altura, clorofilas A, B e total e o diâmetro com clorofila B e total. Na dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> NP Ag a correlação entre altura e clorofila B está relacionado a atividade metabólica e fisiológica induzidas pelas NPs na planta, pois nesse período a incidência da doença foi baixa nesse tratamento e inexistente na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup>, diferentemente da dose de 0 mg/L<sup>-1</sup> (testemunha) onde não teve correlação entre a variável altura e diâmetro na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> que apresentou sintomas iniciais da doença aos 15 dias após a inoculação, embora é sabido que as NPs de Ag poderiam está alterando as atividades metabólicas e fisiológicas da planta predispondo ou induzindo a resistência das mudas de cacaueteiro a doença em estudo (JO et al., 2009; SALAMA, 2012; SHARMA et al., 2012).

Tabela 3- Correlações de Pearson estabelecidas aos 15 dias após a inoculação das mudas de cacaueteiro com *M. pernicioso* - Nanopartícula de Ag.

NP de Ag na Dose 100 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.95**					
<b>AB</b>	0.99**	0.98**				
<b>ALT</b>	0.05ns	0.13ns	0.08ns			
<b>DIAM</b>	-0.01ns	0.05ns	0.02ns	0.82**		
<b>INC</b>	0.34ns	0.45**	0.38*	0.06ns	0.05ns	
<b>SEV</b>	0.34ns	0.45**	0.38*	0.06ns	0.05ns	1**
NP de Ag na Dose 200 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.85**					
<b>AB</b>	0.98**	0.94**				
<b>ALT</b>	-0.10ns	0.10ns	-0.04ns			
<b>DIAM</b>	0.15ns	-0.06ns	0.08ns	0.09ns		
<b>INC</b>	0.25ns	0.12ns	0.21ns	-0.17ns	0.18ns	
<b>SEV</b>	0.25ns	0.12ns	0.21ns	-0.17ns	0.18ns	
NP de Ag na Dose 400 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.95**					
<b>AB</b>	0.99**	0.98**				
<b>ALT</b>	0.37*	0.36*	0.37*			
<b>DIAM</b>	0.31ns	0.46**	0.37*	0.11ns		

Legenda: ns - não significativo, \* significativo ( $p < 0,05$ ), \*\* significativo ( $p < 0,01$ ).  
Fonte: Próprio autor (2020).

Aos 30 dias após a inoculação das mudas com *M. pernicioso*, as correlações para o tratamento sem NP (Testemunha), foram significativas ( $p < 0,01$  e  $p < 0,05$ ) para as variáveis clorofilas B e total, diâmetro e severidade (Tabela 4), neste período ocorreu um aumento no número de correlações quando comparado aos 15 dias, destacamos as correlações 0,37\* (DIAM/A) e 0,99\*\* (SEV/INC).

Na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> NP Si aos 30 dias após a inoculação das mudas com *M. pernicioso* as correlações foram significativas para clorofila B/A, clorofilas AB/A e AB/B, DIAM/A, DIAM/AB e SEV/INC, com destaque para diâmetro/clorofila A com  $r = 0,44*$ ; diâmetro/clorofila total com  $r = 0,39*$  e entre severidade e incidência com  $r = 0,78**$  Tabela 11), neste período os sintomas mais severos se destaca em mudas suscetíveis, ocorrendo um grande aumento das atividades metabólicas e fisiológicas induzidas pelo fungo (SILVA et al., 2003; AGUILAR, 1999).

Observa-se que nesse período não houve correlação significativa entre altura e clorofila como no período de 15 dias após a inoculação das mudas de cacaueteiro com *M. pernicioso*, também nesse tratamento ocorreu sintomas mais severos como vassoura terminal,

axilar, pecíolo e pulvino (Figura 16 E, F, G e H).

Na dose de  $200 \text{ mg/L}^{-1}$  de NP Si ocorreu um aumento no número de correlações aos 30 dias após a inoculação em relação aos 15 dias. As correlações que se destacam nesse período foram  $0,47^{**}$  (INC/DIAM),  $0,47^{**}$  (SEV/DIAM) e  $0,98^{**}$  ((SEV/INC), assim podemos observar que a correlação entre incidência, severidade e diâmetro está correlacionado com as atividades metabólicas induzidas pelo fungo nas mudas cacauzeiro, quando a incidência e severidade aumentou, aumentou também o diâmetro (Tabela 4). Neste período os sintomas presentes nas mudas do cacauzeiro foram de vassoura terminal, peciolar e axilar e pulvino, porém bem menores e menos agressivos quanto comparados com o tratamento de  $100 \text{ mg/L}^{-1}$  de NP Si.

Na dose de  $400 \text{ mg/L}^{-1}$  as correlações foram significativas ( $p < 0,01$ ) para as clorofilas B e total. Observa-se que não houve correlações significativas aos 30 dias após a inoculação entre diâmetro e altura como ocorreu no período da avaliação anterior. Nesse período nenhuma planta apresentou sintomas da doença para esse tratamento (Tabela 4).

Tabela 4- Correlações de Pearson estabelecidas aos 30 dias após a inoculação das mudas de cacaueteiro com *M. perniciosa* - Nanopartícula de Si.

Testemunha - Sem NP						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
B	0.94**					
AB	0.99**	0.98**				
ALT	0.07ns	-0.06ns	0.01ns			
DIAM	0.37*	0.28ns	0.33ns	0.22ns		
INC	-0.01ns	-0.03ns	-0.02ns	0.28ns	0.30ns	
SEV	-0.04ns	-0.06ns	-0.05ns	0.27ns	0.29ns	0.99**
NP de Si na Dose 100 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
B	0.76**					
AB	0.93**	0.95**				
ALT	0.17ns	0.02ns	0.10ns			
DIAM	0.44*	0.30ns	0.39*	-0.02ns		
INC	0.18ns	0.21ns	0.21ns	-0.01ns	-0.12ns	
SEV	0.04ns	0.15ns	0.11ns	-0.18ns	-0.16ns	0.78**
NP de Si na Dose 200 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
B	0.95**					
AB	0.99**	0.99**				
ALT	0.20ns	0.32ns	0.26ns			
DIAM	-0.18ns	-0.21ns	-0.20ns	0.06ns		
INC	-0.07ns	-0.10ns	-0.09ns	-0.19ns	0.47**	
SEV	-0.02ns	-0.06ns	-0.04ns	-0.18ns	0.47**	0.98**
NP de Si na Dose 400 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
B	0.78**					
AB	0.96**	0.92**				
ALT	0.13ns	0.12ns	0.13ns			
DIAM	-0.11ns	-0.19ns	-0.16ns	0.24ns		

Legenda: ns - não significativo, \* significativo ( $p < 0,05$ ), \*\* significativo ( $p < 0,01$ ).  
Fonte: Próprio autor (2020).

Na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> de NP Ag aos 30 dias após a inoculação, houve uma diminuição no número de correlações entre as variáveis do presente estudos quando comparados aos 15 dias. Das variáveis em estudo destacam-se as correlações de 0,76\*\* (DIAM/ALT) e 0,91\*\* (SEV/INC) (Tabela 5). Assim como para o tratamento com NP Si, este foi o que mais apresentou a incidência da doença e aos 30 dias os sintomas estavam bem visíveis embora menos agressivo que nos tratamentos com NP Si.

A correlação positiva entre diâmetro e altura está de acordo com o esperado ou seja embora seja o tratamento com mais sintomas da doença, o fungo nesse período não interferiu no desenvolvimento das mudas.

Na dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> houve um aumento no número de correlações no período de 30

dias após a inoculação com *M. perniciosa* quando comparado com o período de 15 dias, destaca-se a correlação entre diâmetro e clorofila B ( $r = 0,48^{**}$ ) e incidência, diâmetro ( $r = 0,38^*$ ) e severidade e incidência ( $r = 0,96^{**}$ ) (Tabela 5). Podemos observar que a incidência correlacionou positivamente com o diâmetro, isso pode está relacionado ao aumento da atividade metabólica induzida pelo fungo, alterando a fisiologia e morfologia da planta.

Na dose de  $400 \text{ mg/L}^{-1}$  de NP Ag houve diminuição da frequência das correlações entre as variáveis analisadas no período de 30 dias após a inoculação quando comparado aos 15 dias. Nesta dose a incidência e severidade foi bem baixa, o que explica a correlação positiva entre as variáveis altura e clorofila B ( $r = 0,43^*$ ) e total ( $r = 0,38^*$ ) possivelmente induzida pelas alterações metabólicas e fisiológicas induzidas pela NP Ag (Tabela 5).

Tabela 5- Correlações de Pearson estabelecidas aos 30 dias após a inoculação das mudas de cacauero com *M. perniciosa* - Nanopartícula de Ag.

NP de Ag na Dose $100 \text{ mg/L}^{-1}$						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.92**					
<b>AB</b>	0.98**	0.97**				
<b>ALT</b>	0.14ns	0.25ns	0.20ns			
<b>DIAM</b>	0.16ns	0.24ns	0.20ns	0.76**		
<b>INC</b>	0.08ns	0.11ns	0.10ns	0.33ns	0.31ns	
<b>SEV</b>	0.10ns	0.14ns	0.12ns	0.26ns	0.31ns	0.91**
NP de Ag na Dose $200 \text{ mg/L}^{-1}$						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.67**					
<b>AB</b>	0.91**	0.92**				
<b>ALT</b>	0.21ns	0.02ns	0.12ns			
<b>DIAM</b>	0.48**	0.13ns	0.33ns	0.17ns		
<b>INC</b>	0.14ns	-0.03ns	0.06ns	0.13ns	0.38*	
<b>SEV</b>	0.05ns	-0.09ns	-0.02ns	0.08ns	0.28ns	0.96**
NP de Ag na Dose $400 \text{ mg/L}^{-1}$						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.82**					
<b>AB</b>	0.95**	0.95**				
<b>ALT</b>	0.29ns	0.43*	0.38*			
<b>DIAM</b>	0.20ns	0.08ns	0.15ns	0.29ns		
<b>INC</b>	-0.09ns	-0.08ns	-0.09ns	-0.09ns	-0.07ns	
<b>SEV</b>	-0.05ns	-0.06ns	-0.06ns	-0.07ns	-0.04ns	0.99**

Legenda: ns - não significativo, \* significativo ( $p < 0,05$ ), \*\* significativo ( $p < 0,01$ ).

Fonte: Próprio autor (2020).

Aos 45 dias após inoculação de *M. perniciosa* em mudas de cacauero, no tratamento sem NP (testemunha), as variáveis diâmetro e altura, severidade e diâmetro correlacionaram-se negativamente a  $r = -0,36^*$  e  $r = -0,41^*$ , respectivamente ou seja a medida que o diâmetro aumentava a altura diminuía e a medida que a severidade aumentava o diâmetro diminuía. A

severidade também correlacionou positivamente com altura (0,37\*) e incidência (0,60\*\*), ou seja a medida que a severidade aumentava a altura e incidência também aumentava (Tabela 6). As correlações das variáveis citadas acima estão relacionadas alterações metabólicas induzidas pelos fungos. Neste período ocorreram sintomas aliados a resistência induzida pela planta como encurtamento de nódulos seguidos de superbrotamentos e alongamentos, isso explica a correlação negativa entre diâmetro e altura.

As correlações foram significativas entre as variáveis diâmetro e clorofilas aos 45 dias após a inoculação para o tratamento com NP Si na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup>, as correlações foram de 0,53\*\* (DIAM/A), 0,62\*\* (DIAM/B) e 0,59 (DIAM/AB). A severidade correlacionou positivamente com a incidência (0,87\*\*), neste período a incidência e severidade nas mudas estavam bastante elevadas e os sintomas não eram de encurtamento e superbrotamento e alongamento que são sintomas de resistência induzida pela planta (Tabela 6).

As correlações significativas na dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> de NP Si para as variáveis em estudo aos 45 dias após inoculação com *M. perniciosa* que se destacam são 0,56\*\* (ALT/B), 0,48\*\* (ALT/AB), 0,48\*\* (DIAM/ALT) (Tabela 6). Neste tratamento pode-se observar que a correlação positiva entre altura e diâmetro está relacionada a baixa severidade e os sintomas de vassoura terminal e axilar aparecerem em baixa frequência.

Na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> de NP Si aos 45 dias após a inoculação não houve correlação para as variáveis incidência e severidade, nenhum sintoma da doença foi observado nas mudas. As correlações foram positivas ( $p < 0,05$ ) para as variáveis diâmetro e clorofila A (0,43\*) e clorofila total (0,41\*) e entre diâmetro e altura de  $r = 0,78^{**}$ , indicando que as NP Si, estava proporcionando um bom desenvolvimento das mudas (Tabela 6).

Tabela 6 - Correlações de Pearson estabelecidas aos 45 dias após a inoculação das mudas de cacaueteiro com *M. pernicioso* - Nanopartícula de Ag.

Testemunha- Sem NP						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
B	0.78**					
AB	0.93**	0.96**				
ALT	0.09ns	-0.08ns	-0.01ns			
DIAM	-0.22ns	0.11ns	-0.04ns	-0.36*		
INC	0.25ns	0.04ns	0.14ns	0.11ns	-0.28ns	
SEV	0.16ns	-0.18ns	-0.03ns	0.37*	-0.41*	0.60**
NP de Si na Dose 100 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
B	0.91**					
AB	0.98**	0.97**				
ALT	-0.3ns	-0.27ns	-0.29ns			
DIAM	0.53**	0.62**	0.59**	-0.32ns		
INC	0.06ns	0.05ns	0.06ns	0.07ns	-0.13ns	
SEV	-0.01ns	-0.06ns	-0.03ns	0.00ns	-0.23ns	0.87*
NP de Si na Dose 200 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
B	0.63**					
AB	0.91**	0.89**				
ALT	0.32ns	0.56**	0.48**			
DIAM	-0.09ns	0.23ns	0.07ns	0.48**		
INC	-0.12ns	-0.14ns	-0.14ns	-0.11ns	0.19ns	
SEV	-0.15ns	-0.17ns	-0.18ns	-0.13ns	0.19ns	0.91**
NP de Si na Dose 400 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
B	0.78**					
AB	0.95**	0.93*				
ALT	0.25ns	0.04ns	0.16ns			
DIAM	0.43*	0.32ns	0.41*	0.78**		

Legenda: ns - não significativo, \* significativo ( $p < 0,05$ ), \*\* significativo ( $p < 0,01$ ).  
 Fonte: Próprio autor (2020).

Na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> NP Ag aos 45 dias após inoculação, pode-se observar que as variáveis altura e diâmetro correlacionaram positivamente com as clorofilas A, B e total (Tabela 7), não houve correlação significativa entre altura e diâmetro, pode-se observar também que neste mesmo período a severidade correlacionou positivamente com incidência (0,89\*\*), esta dose foi a que mais apresentou a incidência da doença entre os tratamentos com NP de Ag em todo o período de avaliação.

Na dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> NP Ag as variáveis diâmetro e altura correlacionaram-se negativamente ( $p < 0,05$ ) aos 45 dias após a inoculação com *M. pernicioso* em mudas do cacaueteiro (Tabela 7). A correlação negativa entre a variável diâmetro e altura pode estar relacionada as alterações metabólicas induzidas pela fungo na presença da NP Ag, isso porque

neste tratamento ocorreu alguns sintomas de encurtamento e superbrotamento que poderia explicar o comportamento do desenvolvimento das mudas. As variáveis severidade e incidência correlacionaram-se positivamente ( $p < 0,01$ ) com  $r = 0,91^{**}$ .

A correlação entre altura e clorofila B foi de  $r = 0,42^*$  na dose de  $400 \text{ mg/L}^{-1}$  NP Ag aos 45 dias após inoculação. Outras variáveis que também correlacionaram-se positivamente ( $r = 0,91^{**}$ ) foi severidade e incidência ( $r = 0,91^{**}$ ), embora a incidência tenha sido baixa para este tratamento, neste período em mudas de cacauero suscetível todos os sintomas é possível de ser observado, incluindo o início de vassoura seca em mudas de cacauero com sintomas bem severos (Tabela 7). Aos 60 dias, todas as plantas com presença dos sintomas de incidência de *M. pernicioso* com resistência do tipo horizontal são suscetíveis e apresentam algum tipo de alteração morfológica.

Tabela 7 - Correlações de Pearson estabelecidas aos 45 dias após a inoculação das mudas de cacauero com *M. pernicioso* - Nanopartícula de Ag.

NP de Ag na Dose $100 \text{ mg/L}^{-1}$						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.93**					
<b>AB</b>	0.98**	0.98**				
<b>ALT</b>	0.46**	0.40*	0.44**			
<b>DIAM</b>	0.58**	0.54**	0.57*	0.31ns		
<b>INC</b>	0.04ns	0.00ns	0.02ns	0.09ns	0.00ns	
<b>SEV</b>	0.11ns	0.07ns	0.09ns	0.22ns	0.01ns	0.89**
NP de Ag na Dose $200 \text{ mg/L}^{-1}$						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.83**					
<b>AB</b>	0.95**	0.96**				
<b>ALT</b>	-0.06ns	0.10ns	0.03ns			
<b>DIAM</b>	0.01ns	-0.02ns	-0.01ns	-0.36*		
<b>INC</b>	-0.26ns	0.05ns	-0.10ns	0.22ns	0.24ns	
<b>SEV</b>	-0.28ns	-0.08ns	-0.18ns	0.15ns	0.32ns	0.91**
NP de Ag na Dose $400 \text{ mg/L}^{-1}$						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.87**					
<b>AB</b>	0.97**	0.97**				
<b>ALT</b>	0.20ns	0.42*	0.32ns			
<b>DIAM</b>	-0.05ns	0.19ns	0.07ns	0.26ns		
<b>INC</b>	-0.25ns	-0.25ns	-0.26ns	0.05ns	0.06ns	
<b>SEV</b>	-0.14ns	-0.16ns	-0.16ns	-0.03ns	-0.05ns	0.91**

Legenda: ns - não significativo, \* significativo ( $p < 0,05$ ), \*\* significativo ( $p < 0,01$ ).  
Fonte: Próprio autor (2020).

Aos 60 dias após a inoculação para o tratamento sem NPs (testemunha), houve correlação negativa entre as variáveis clorofila B ( $r = -0,43^*$ ), clorofila A ( $r = -0,38^*$ ) e incidência e clorofila total ( $r = -0,35^*$ ), a variável severidade correlacionou com incidência  $r =$

0,45\*, a baixa correlação entre as variáveis severidade e incidência está relacionado ao tipo de sintomas apresentados pelos mesmos (Tabela 8).

Na dose de  $100 \text{ mg/L}^{-1}$  NP Si aos 60 dias após inoculação das mudas as variáveis diâmetro e clorofilas A, B e total correlacionaram-se positivamente com  $r = 0,53^{**}$ ,  $r = 0,45^{**}$ ,  $r = 0,5^{**}$  (Tabela 8), quando se compara as correlações entre este tratamento e a testemunha pode-se concluir que as NPs de Si estavam influenciando as atividades metabólicas nas mudas de cacaueteiro o que explica a correlação citada acima, sendo que o mesmo não ocorreu para as testemunhas, porém destaca-se dois aspectos importantes, neste tratamentos nenhum sintoma foi de encurtamento com superbrotamento e/ou alongamentos, todos os sintomas foram de vassoura terminal, axilar, peciolar e pulvino que são sintomas mais agressivo podendo evoluir para vassoura seca (SILVA et al., 2003).

Na dose de  $200 \text{ mg/L}^{-1}$  da NP de Si, diâmetro e altura correlacionaram-se ( $p < 0,01$ ) com  $r = 0,93^{**}$ , a severidade correlacionou com a incidência com  $r = 0,75^{**}$ , neste tratamento alguns dos sintomas são de superbrotamento e alongamento que são sintomas de resistência, porém pode-se observar a correlação positiva entre diâmetro e altura, isso provavelmente está relacionado com a influência das NP no desenvolvimento das mudas (Tabela 8).

A dose de  $400 \text{ mg/L}^{-1}$  da NP Si foi a que mais controlou a incidência e a severidade da vassoura de bruxa do cacaueteiro entre todos os tratamentos do presente estudos e os sintomas apresentados foram baixíssimo (encurtamento e superbrotamento) chegando a zero nos dados da AACPD devido ao efeito de bloco da análise estatística (Tabela 8).

Tabela 8 - Correlações de Pearson estabelecidas aos 60 dias após a inoculação das mudas de cacaueteiro com *M. perniciosa* - Nanopartícula de Si.

Testemunha - Sem NP						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.86**					
<b>AB</b>	0.96**	0.96**				
<b>ALT</b>	-0.16 ns	-0.43*	-0.30 ns			
<b>DIAM</b>	-0.12 ns	-0.22 ns	-0.18 ns	0.17 ns		
<b>INC</b>	-0.38*	-0.27 ns	-0.35*	0.07 ns	-0.02 ns	
<b>SEV</b>	-0.18 ns	-0.18 ns	-0.19 ns	0.30 ns	0.11 ns	0.45**
NP de Si na Dose 100 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.94**					
<b>AB</b>	0.98**	0.98**				
<b>ALT</b>	0.13 ns	0.06 ns	0.1 ns			
<b>DIAM</b>	0.53**	0.45**	0.5**	-0.20 ns		
<b>INC</b>	0.12 ns	0.06 ns	0.09 ns	0.21 ns	0.04 ns	
<b>SEV</b>	0.14 ns	0.08 ns	0.11 ns	0.09 ns	0.0 ns	0.88**
NP de Si na Dose 200 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.92**					
<b>AB</b>	0.98**	0.98**				
<b>ALT</b>	0.24 ns	0.29 ns	0.27 ns			
<b>DIAM</b>	0.04 ns	0.1 ns	0.07 ns	0.93**		
<b>INC</b>	0.11 ns	0.10 ns	0.11 ns	0.04 ns	0.01 ns	
<b>SEV</b>	0.02 ns	0.03 ns	0.02 ns	-0.11	-0.11	0.75**
NP de Si na Dose 400 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.88**					
<b>AB</b>	0.97**	0.97**				
<b>ALT</b>	0.06 ns	-0.18 ns	-0.06 ns			
<b>DIAM</b>	0.26 ns	0.27 ns	0.27 ns	-0.28 ns		
<b>INC</b>	0.19 ns	0.11 ns	0.15 ns	-0.23 ns	0.16 ns	
<b>SEV</b>	0.19 ns	0.11 ns	0.15 ns	-0.23 ns	0.16 ns	1**

Legenda: ns - não significativo, \* significativo ( $p < 0,05$ ), \*\* significativo ( $p < 0,01$ ).  
Fonte: Próprio autor (2020).

Na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> as variáveis diâmetro, clorofilas B e total correlacionaram-se positivamente com  $r = 0,41^*$  e  $r = 0,36^*$  respectivamente. Enquanto que a severidade correlacionou positivamente com incidência com  $r = 0,92^{**}$ , assim como nos tratamentos com NP Si na mesma dose, esta foi a dose que mais apresentou sintomas da doença entre os tratamentos com NP Ag (Tabela 9).

Na dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> de NP Ag aos 60 dias após a inoculação, a variável diâmetro correlacionou negativamente com as clorofilas A, B, total e altura. A correlação entre diâmetro e altura foi de  $r = -0,45^{**}$ , já na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> não ocorreu correlação entre as mesmas variáveis e o diâmetro que correlacionou positivamente (Tabela 9), sendo assim pode-

se inferir que as correlações negativas para a dose de 200 mg/L<sup>-1</sup> são influenciadas pelas atividades metabólicas e fisiológicas das NPs na planta, induzidas pela presença do fungo.

Na dose de 400 mg/L<sup>-1</sup> NP Ag aos 60 dias após a inoculação, as variáveis diâmetros correlacionaram com clorofilas A, B e total com  $r = 0,69^{**}$ ;  $0,79^{**}$ ;  $0,76^{**}$  respectivamente, essa dose foi a que menos apresentou sintomas da doença entre os tratamentos com NP Ag e assim como na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> não houve correlação entre as variáveis diâmetro e altura (Tabela 9).

Tabela 9 - Correlações de Pearson estabelecidas aos 60 dias após a inoculação das mudas de cacauero com *M. perniciosa* - Nanopartícula de Ag.

NP de Ag na Dose 100 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.91**					
<b>AB</b>	0.98**	0.98**				
<b>ALT</b>	-0.29 ns	-0.16 ns	-0.22 ns			
<b>DIAM</b>	0.29 ns	0.41*	0.36 *	0.18 ns		
<b>INC</b>	-0.04 ns	0.04 ns	0.01 ns	-0.14 ns	-0.14 ns	
<b>SEV</b>	-0.09 ns	-0.02 ns	-0.06 ns	-0.05 ns	-0.24 ns	0.92**
NP de Ag na Dose 200 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.85**					
<b>AB</b>	0.96**	0.96**				
<b>ALT</b>	0.33 ns	0.32 ns	0.34 ns			
<b>DIAM</b>	-0.35 *	-0.35 *	-0.36 *	-0.45**		
<b>INC</b>	0.11 ns	-0.09 ns	0.01 ns	0.2 ns	-0.23 ns	
<b>SEV</b>	-0.05 ns	-0.17 ns	-0.11 ns	0.13 ns	-0.05 ns	0.87**
NP de Ag na Dose 400 mg/L <sup>-1</sup>						
Variável	A	B	AB	ALT	DIAM	INC
<b>B</b>	0.93**					
<b>AB</b>	0.99**	0.98**				
<b>ALT</b>	0.15 ns	0.22 ns	0.19 ns			
<b>DIAM</b>	0.69**	0.79**	0.76**	-0.03 ns		
<b>INC</b>	-0.13 ns	-0.15 ns	-0.14 ns	-0.03 ns	-0.06 ns	
<b>SEV</b>	-0.07 ns	-0.14 ns	-0.11 ns	-0.01 ns	-0.18 ns	0.86**

Legenda: ns - não significativo, \* significativo ( $p < 0,05$ ), \*\* significativo ( $p < 0,01$ ).  
Fonte: Próprio autor (2020).

A variável severidade correlacionou positivamente com incidência, com  $r = 0,86^{**}$ . Pode-se observar também que ocorreu correlações positivas entre as variáveis diâmetro e clorofilas A, B e AB (Tabelas 9) nas doses de 100 e 400 mg/L<sup>-1</sup> de NP Ag aos 60 dias após a inoculação, isso está relacionado as atividades metabólicas induzidas pelas NPs nas mudas. As mudas de cacauero cultivadas na dose de 100 mg/L<sup>-1</sup> apresentaram maior incidência da doença com sintomas mais severos, já a dose 400 mg/L<sup>-1</sup> proporcionou baixa incidência da doença nas mudas de cacau com sintomas de encurtamento e superbrotamento, e além disso, a

testemunha não teve correlação significativa entre as variáveis citadas acima.

Comparando as correlações nas doses de 400 mg/L<sup>-1</sup> NPs de Si e Ag, pode-se verificar que não ocorreu correlações significativas entre as variáveis diâmetro e clorofilas aos 60 dias após inoculação, porém destacamos que a incidência e a severidade da doença foram elevadas no tratamento com NPs de prata.

Ao comparar as correlações nas doses de 200 mg/L<sup>-1</sup> NPs Si e Ag verifica-se que no tratamento com nanopartículas de Si houve correlação positiva entre diâmetro e altura, enquanto que no tratamento com NP Ag houve correlação negativas entre as mesmas variáveis, possivelmente influenciadas pelas atividades das nanopartículas na planta em presença do fungo.

NP de Si diminuiu a incidência e severidade da vassoura de bruxa e aumentou os teores de clorofilas total, altura, diâmetro e raiz das mudas de cacaueteiro do genótipo Catongo.

O silício suprimiu atividade de algumas enzimas e a supressão da invertase aumentou a produção de sacarose na cana de açúcar, mas reduziu a fosfatase, proporcionando maior suprimento de precursores de energia necessários para o crescimento. Além disso o silício filtra a radiação ultravioleta prejudicial que atinge a superfície da folha, com células foliares atuando como 'janelas' transmitindo a energia da luz para fotossíntese nos tecidos do mesofilo e corticais abaixo da epiderme fotossintética mesofilo e tecidos corticais abaixo da epiderme (TISDALE et al., 1985).

O Si promove o crescimento de muitas espécies vegetais. No entanto em alguns casos, é incerto se a estimulação do crescimento é atribuível ao efeito nutricional ou ao alívio de estresses bióticos ou abióticos (EPSTEIN, 1994; FAUTEUX et al., 2006).

#### 4.0 CONCLUSÕES

Nanopartículas de Si e Ag diminuiu a incidência e severidade da vassoura de bruxa em mudas de cacaueteiro, sendo a dose de  $400 \text{ mg/L}^{-1}$  mais eficiente no controle da doença.

NP de Si aumentou os teores de clorofila total, a altura, o diâmetro e a massa seca das raízes.

Nos tratamentos com NP de Ag não houve efeito significativo entre doses para as variáveis altura, diâmetro, clorofila total e massa seca.

## 5.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of on insecticide. **Journal Economic Entomology**, Lanham, v.18, p.265-267, 1925.

AGUILAR, M.A.G. **Influência do Manganês Sobre Aspectos Bioquímicos e Fisiológicos da Tolerância de Cacau (*Theobroma Cacao L.*) à Vassoura-de-Bruxa (*Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer)**. 1999. 113 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 1999.

ALGHUTHAYMI, M. A.; ALMOAMMAR, H.; RAI, M.; SAID-GALIEV, E.; ABD-ELSALAM, K. A. Myconanoparticles: synthesis and their role in phytopathogens management. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**. v. 29, p. 221-236, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4433920/>>. Acessado em: 15 de dez. de 2019.

ASLI, S.; NEUMANN, P. M. Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. **Plant Cell Environ**. v. 32, p. 577–584, 2009. Disponível em:< <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3040.2009.01952.x>>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

BAO-SHAN, L.; SHAO-QI, D.; CHUN-HUI, L.; LI-JUN, F.; SHU-CHUN, Q.; MIN. Y. Effect of TMS (nanostructured silicon dioxide) on growth of Changbai Larch seedlings. **J. Forest. Res**. v. 15, p. 138-140, 2004.

BRAGG, P. D.; RAINNIE, D. J. 1974. The effect of silver ions on the respiratory chains of *Escherichia coli*. **Can. J. Microbiol**. v. 20, p. 883–889, 1974. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4151872>>. Acessado em: 11 de dez. 2019.

BRECHT, M.; DATNOFF, L.; NAGATA, R.; KUCHARÉK, T. The role of silicon in suppressing tray leaf spot development in St. Augustinegrass. **Publication in University of Florida**. p.1-4, 2003.

BORM, P.; KLAESSIG, F. C.; LANDRY, T. D.; MOUDGIL, B.; PAULUHN, J.; THOMAS, K.; TROTTIER, R.; WOOD, S. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, Part V: role of dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles. **Toxicol. Sci**. v. 90, p. 23–32, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16396841>>. Acessado em: 15 de dez. 2019.

BROWN, P.H., BELLALLOUI, N., WIMMER, M.A., BASSIL, E.S., RUIZ, J., HU, H., PFEFFER, H., DANNELE, F., & RÖMHELD, V. Boron in plant biology. **Plant Biology**. v. 4, p. 205-223, 2008. Disponível em:< <https://www.researchgate.net/publication/229630235> Boron in Plant Biology>. Acessado em 10 de dez. 2019.

CURRIE, H. A, PERRY, C. C. Silica in plants: biological, biochemical and chemical studies. **Ann. Bot**. v. 100. p, 1383–1392, 2007. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2759229/>>. Acessado em: 11 de dez. 2019.

DATNOFF, L. E.; RODRIGUES, F. A.; SEEBOLD, K. W. Silicon and plant disease. In:

DATNOFF, L.E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. Mineral nutrition and plant disease. ed. APS PRES: Minnesota, 2007. p. 233- 242.

DADI, R.; AZOUANI, R.; TRAORE, M; MIELCAREK, C.; KANAIEV, A. Antibacterial activity of ZnO and CuO nanoparticles against gram positive and gramnegative strains. **Materials Science & Engineering C**. v. 104, p.109968, 2019.

DIMKPA, C. O.; MCLEAN, J. E.; BRITT, D. W.; BOYANOV, M. I.; ANDERSON, A. J. Antifungal activity of ZnO nanoparticles and their interactive effect with a biocontrol bacterium on growth antagonism of the plant pathogen *Fusarium graminearum*. **Biomaterials**. v.26, p. 913–924, 2013.

DISNEH, R.; ANANDARAJ, M.; SRINIVASAN, V.; HAMZA, S. Engineered nanoparticles in the soil and their potential implications to microbial activity. **Geoderma**. v. 173-174, p. 19-27, 2012.

DUHAN, J. S.; KUMAR, R.; KUMAR, N.; KAUR, P.; NEHRA, K.; DUHAN, S. Nanotechnology: the new perspective in precision agriculture. **Biotechnol Rep**. v. 15, p. 11–23, 2017. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5454086/>>. Acessado em: 12 de dez 2019.

EICHERT, T.; GOLDBACH, H. E. Equivalent pore radii of hydrophilic foliar uptake routes in stomatous and astomatous leaf surfaces: further evidence for a stomatal pathway. **Physiol. Plant**. v. 132, p. 491–502, 2008. Disponível em:<<https://www.researchgate.net/publication/5518256>>. Acessado em: 11 de dez. 2019.

ELMER, W. H.; WHITE, J. C. The use of metallic oxide nanoparticles to enhance growth of tomatoes and eggplants in disease infested soil or soilless medium. Royal Society of Chemistry. **Environmental Science: Nano**, New Haven, v. 3, p. 1072-1079, 2016.

EL-ARGAWY, E.; RAHHAL, M. M. H.; EL-KORANY, E. M. Efficacy of some nanoparticles to control damping-off and root rot sugar beet in El-Behiera governorate. **Plant Pathol.**, Asian, v. 11, p. 35-47, 2017. Disponível em:<<http://docsdrive.com/pdfs/academicjournals/ajppaj/2017/35-47.pdf>>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

EPSTEIN, E. Silicon. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.**, California, v. 91, p. 641-664, 1999.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, California, v. 91, p. 11-17, 1994.

FAUTEX, F.; REMUS-BORE W.; MENZIES J. G.; BELANGER R. R. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. **FEMS Microbiol. Lett.**,v. 249, p. 1-6, 2006. Disponível em:<<https://academic.oup.com/femsle/article/249/1/1/753472>>. Acessado em: 10 de dez de 2019.

FENG, X. Y.; BO, L.; SHENG, T. G.; QIAN, Q. Z.; XIA, Z. C. Effects of nano-silicon dioxide on photosynthetic fluorescence characteristics of *Indocalamus barbatus McClure*. **J. Nanjing Forest Univ**. v. 2, p. 59-63, 2012.

FENG, Q. L.; WU, J. CHEN, G. Q.; CUI, F. Z, KIM, T. N.; KIM, J. O. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **J. Biomed Mater Res.** v. 52, p. 662-668, 2000.

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

GADD, G. M. The use of solid medium to study effects of cadmium, copper and zinc on yeast and yeasts-like fungi: applicability and limitations. **J. Appl. Bacteriol.** v. 54, p. 57-62, 1983.

GRIFFITH, G.W.; BRAVO-VELASQUEZ, E. WILSON, F. J.; LEWIS, D. M.; HEDGER, J. Autoecology and evolution of the witches' broom pathogen (*Crinipellis pernicioso*) of cocoa. In: BLAKEMAN, J. P.; WILLIAMSON, B. ed: The Ecology of Plant Pathogens. **CABI International**, Wallingford, 1994, p. 245-267.

GOMES, F. B.; MORAIS, J. C.; SANTOS, C. D. DOS; ANTUNES, C. S. Uso de silício como indutor de resistência em batata a *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, n.2, p. 185-190, 2008. Disponível em:<<http://www.scielo.br/scielo>>. Acessado em: 22 de nov.. 2019.

GRUYER, N.; DORAIS, M.; BASTIEN, C.; DASSYLVA, N.; TRIFFAULT-BOUCHET, G. Interaction between silver nanoparticles and plant growth. **Acta Horticulturae**. v. 1037, p. 798-800, 2014. Disponível em:<<https://www.researchgate.net/publication/264858518>>. Acessado em: 12 de nov. 2019.

HATAMI, M.; GHORBANPOUR, M. Effect of nanosilver on physiological performance of pelargonium plants exposed to dark storage. **J. Hort. Res.** v. 21 p. 15–20, 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/271503939>. Acessado em: 14 de nov. de 2019.

HAWTHORNE, J.; MUSANTE, C.; SINHA, S. K.; WHITE, J. C. Accumulation and phytotoxicity of engineered nanoparticles to *Cucurbita pepo*. **Int. J. Phytorem**, v. 14, p. 429–442, 2011.

HE, L.; LIU, Y.; MUSTAPHA, A.; LIN, M. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. **Microbiol. Res.** v. 166, p. 207-215, 2011.

HUBER, D. M.; Copper and plant disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. **Mineral nutrition and plant disease**: APS PRESS, Minnesota, 2007. p. 177-189.

JO, Y. K.; KIM, B. H.; JUNG, G. Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. **Plant Disease**, v. 93, p.1037-1043, 2009. Disponível em:<<https://www.researchgate.net/publication/239829093> Antifungal Activity of Silver Ions and Nanoparticles on Phytopathogenic Fungi>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

JONES, M. D., HUTCHINSON, T. C. The effects of nickel and copper on the axenic growth of ectomycorrhizal fungi. **Can. J. Bot.** v. 66, p.119-124, 1988.

KANHED, P.; BIRLA, S.; GAIKWAD, S.; GADE, A.; SEABRA, A. B; RUBILAR, O.; DURAN, N.; RAI, M. In vitro antifungal efficacy of copper nanoparticles against selected

crop pathogenic fungi. **Materials Letters**. v. 115, p. 13-17, 2014.

KAVEH, R.; LI, Y. S.; RANJBAR, S.; TEHRANI, R.; BRUECK, C. L.; VAN AKEN, B. Changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression in response to silver nanoparticles and silver ions. **Environ. Sci. Technol.** v. 47, p. 10637–10644, 2013.

KANTO, T.; MIYOSHI, A.; OGAWA, T.; MAEKAWA, K.; AINO, M. Suppressive effect of potassium silicate on powdery mildew of strawberry in hydroponics. **J. GEN. PLANT PATHOL.** v. 70, p. 207-211, 2004.

KAISER, C.; MERWE, R. VAN DER; BEKKER, T. F.; LABUSCHAGNE, N. *In-vitro* inhibition of mycelial growth of several phytopathogenic fungi, including *Phytophthora cinnamomi* by soluble silicon. **South African Avocado Growers' Association Yearbook**. v. 28, p. 70-74, 2005. Disponível em: <<http://www.avocadosource.com/Journals/SAAGA/SAAGA2005/SAAGA2005V28PGS70-74Kaiser.pdf>>. Acessado em: 13 de dez. 2019.

KIM, S. W.; JUNG, J. H.; LAMSAL, K.; KIM, Y. S.; MIN, J. S.; LEE, Y. S. Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. **Mycobiology, Korean**, v. 40, p. 53-58, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3385153/>>. Acessado em: 11 de dez. 2019.

KIM, S. W.; KIM, K. S.; LAMSAL, K.; KIM, Y. J. KIM, S. B.; JUNG, M.; SIM, S. J.; KIM, H. S.; CHANG, S. J.; KIM, J. K.; LEE, Y. S. An in vitro study of the antifungal effect of silver nanoparticles on oak wilt pathogen *Raffaelea* sp. **J. Microbiol Biotechnol.** v. 19, p. 760-764, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19734712>>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

KIM, S. G.; KIM, K. W.; PARK, E.; CHOI, D. Silica – induced cell wall fortification of rice leaves; A possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. **Phytopathology**. v. 92, p. 1095-1103, 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18944220>. Acessado em: 11 de dez. 2019.

KIM, T. N.; FENG, Q. L.; KIM, J.O.; WU, J.; WANG, H.; CHEN, G. C.; CUI, F. Z. Antimicrobial effects of metal ions (Ag<sup>+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>) in hydroxyapatite. **J. Mater. Sci. Mater. Med.** v. 9, p. 129- 134, 1998.

LEAL, G. A.; GOMES, L. H.; ALBURQUERQUE, P. S. B.; TAVARES, F. C. A.; FIGUEIRA, A. Searching for *Moniliophthoraperniciosa* pathogenicity genes. **Fungal Biology**. v. 114, p. 842-854, 2010.

LEMIRE, J. A.; HARRISON, J. J.; TURNER, R. J. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. **Nat Rev Microbiol.** v.11, p. 371384, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23669886>>. Acessado em: 15 de dez. 2019.

LI, J.; SANG, H.; GOU, H.; POPKO, J. T.; HE, L.; WHITE, J. C.; DHANKHER, O. P.; JUNG, G.; XING, B. Antifungal mechanisms of ZnO and Ag nanoparticles to *Sclerotinia homoeocarpa*. **IOP Publishing Nanotechnology**. v. 28, p.155101, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24035847>>. Acessado em: 14 de dez. 2019.

MA, J. F. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. **Soil Sci. Plant. Nutr.** v. 50, p. 11–18, 2004.

MA, J. F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends Plant Sci.** v. 11, p. 392–7, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16839801>>. Acessado em: 14 de dez. 2019.

METHA, K. C.; AWARD, M. M. Plant pathology in the era of nanotechnology. **Indian Phytopath.** v. 64, p. 120-127, 2011.

MORAIS, F. I. O. Efeitos do fracionamento da adubação mineral, da adubação orgânica e da calagem na produtividade e incidência de vassoura-de-bruxa em cacauzeiros da amazônia. **Revista Brasileira de Ciências do Solo.** v. 22, p.71-75, 1998.

OLIVEIRA, M. L. de. Doenças do cacauzeiro. In: SODRÉ, G. A. **Cultivo do cacauzeiro no Estado de Bahia.** ed. MAPA/CEPLAC/CEPEC: Ilhéus, 2016. p. 67-104.

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.).** 1991. 111 p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Lavras. Lavras, p. 111. 1991.

PAL, S.; TAK, Y. K.; SONG, J. M. Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology.** v. 73, p. 1712-1720, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1828795/>>. Acessado em: 14 de dez. 2019.

PANÁCEK, A.; KVÍTEK, R.; PRUCEK, M.; KOLÁR, R.; VECEROVÁ, N.; PIZÚRO, VÁ, V. K.; SHARMA, T.; NEVECNA, R.; ZBORIL, R. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. **J. Phys. Chem. B.** v. 110, p. 16248-16253, 2006. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp063826h>>. Acessado em: 11 de dez. 2019.

PARVEEN, N.; ASHRAF, M. Role of silicon in mitigating the adverse effects of salt stress on growth and photosynthetic attributes of two maize (*Zea mays* L.) cultivars grown hydroponically. **Pak. J. Bot.** v. 42, p. 1675-1684, 2010. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/228508415>>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

PEI, Z. F.; MING, D. F.; LIU, D.; WAN, G. L.; GENG, X. X.; GONG, H. J.; ZHOU, W. J. Silicon improves the tolerance to water-deficit stress induced by polyethylene glycol in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **J. Plant Growth Regul.** v. 29, p. 106-115, 2010.

PILON-SMITS, C. F.; QUINN, W.; TAPKEN, M.; MALAGOLI, M.; SHIAVON, M. **Physiological functions of beneficial elements.** Curr. Opin. Plant Biol. v. 12, p. 267-274, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19477676>. Acessado em: 11 de dez. 2019.

PRZEŹDZIECKI, Z.; WOJCIECHOWSKA-KOT, H.; MIKOŁAJSKA, J.; MURAWA, D.

The effect of microelements on mycelium development and fatty acid content in *Fusarium culmorum* and *Fusarium avenaceum*. *Acta Acad. Agricult. Tech. Olst. Agricultura*, v. 53, p. 229, 1991.

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

REZVANI, N.; SOROOSHADEH, A.; FARHADI, N. Effect of nano-silver on growth of saffron in flooding stress. **World Acad Sci Eng Technol**. v. 6, p. 517–52, 2012.

RYTER, S. W.; KIM, H. P.; HOETZEL, A.; PARK, J. W.; NAKAHIRA, K.; WANG, X.; CHOIL, A. M. Mechanisms of cell death in oxidative stress. **Antioxid. Redox Signal**. v. 9, p. 49-89, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17115887>>. Acessado em: 11 de dez. 2019.

ROEMHELD, V.; MARSCHNER, H. Function of Micronutrients in Plants. Pages. In: MORTVEDT, J. J. Micronutrients in Agriculture. Ed. Soil **Sci. Soc. Amer. Inc. Madison**. Wisconsin, 1991, p. 297-328.

RODRIGUES, G. S.; PIRES, J. L.; LUZ, E. D. M. N. Índice de severidade da vassoura de bruxa em genótipos de cacauero inoculados artificialmente. **Revista Agrotrópica**, Ilhéus, v. 31, p. 255- 258, 2019.

ROZYCKI, H. Effect of heavy metals (Pb, Zn, Cu, Cd) on germination of conidia of *Cylindrocarpon destructans*(Zinssrn.) Scholten. **Zbl. Mikrobiol**. v. 147, p. 261-269, 1992.

RAJPUTA, V. D.; MINKINAA, T. M.; BEHALB, A.; SUSHKOVAA, S. N.; MANDZHIEVA, S.; SINGHC, R.; GOROVTSOVA, A.; TSITSUASHVILIA, V. S.; PURVISD, W. O.; GHAZARYANE, K. A.; MOVSESYAN, H. S. Effects of zinc-oxide nanoparticles on soil, plants, animals and soil organisms: A review. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 9, p. 76–84, 2018.

SALAMA, H. M. H. Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). **Int. Res. J. Biotech**. v. 3, p. 190–197, 2012.

SAQIB, M.; ZÖRB, C.; SCHUBERT, S. Silicon-mediated improvement in the salt resistance of wheat (*Triticum aestivum*) results from increased sodium exclusion and resistance to oxidative stress. **Funct. Plant Biol**. v. 35, p. 633-639, 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/240506797>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

SAPIEHA-WASZKIEWICZ, A.; ŻUREK, M.; GRUŻEWSKA, A. Effect of manganese (II) on the growth and development of different species of phytopathogenic fungi in vitro. **Chemiai Inżynieria Ekologiczna**. v. 7, p. 1237-1241, 2000. Disponível: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6432835>. Acessado: 11 de dez. 2019.

SANJEEV, K. K.; ESWARAN, A. Efficacy of micronutrients on banana fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. cubense) and it's synergistic action with *Trichoderma viride*. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**. v. 36, p. 52-54, 2008. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/26628992>>. Acessado em: 11 de dez. 2019.

SANGSTER, A. G.; HODSON, M. J.; TUBB, H. J. Silicon deposition in higher plants. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G.H. ed. **Silicon in Agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. p. 424.

SCHALLER, J.; BRACKHAGE, C.; PAASCH, S.; BRUNNER, E.; BAUCKER, E.; DUDEL, E. G. Silica uptake from nanoparticles and silica condensation state in different tissues of *Phragmites australis*. **Science of the Total Environment**. v. 442, p. 6-9, 2013.

SEEBOLD, K. W.; KUCHARAK, T. A.; DATNOFF, L. E.; CORREA-DICTORIA, F. J.; MARCHETTI, M. A. The influence of silicon on components of resistance to Blast susceptible, partially resistant and Resistant cultivars of rice. **Phytopathology**, v. 91, p. 63-69, 2001.

SHARMA, P.; BHATT, D.; ZAIDI, M. G.; SARADHI, P. P.; KHANNA, P. K.; ARORA, S. Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of Brassica juncea. **Appl Biochem Biotechnol**. v. 167, p. 2225–2233, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22692847>>. Acessado em: 11 de dez. 2019.

SHANER, G. FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildew resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, v.67, p. 1051-1056, 1977.

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

SILVA, S. D. V. M.; LUZ, E. D. M. N.; ALMEIDA, O. C.; GRAMACHO, K. P.; BEZERRA, J. L. Redescrição da sintomatologia causada por *Crinipellis pernicioso* em cacauzeiro. **Revista Agrotrópica**. Ilhéus, v. 14, p. 2-22, 2003.

SIDDIQUI, M. H.; AL-WHAIBI, M. H. Role of nano-SiO<sub>2</sub> in germination of tomato (*Lycopersicon esculentum* seeds Mill.). **Saudi J. Biol. Sci.**, v. 21, p. 13-17, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3937468/>>. Acessado em: 11 de dez. 2019.

SHURT, D. A.; RODRIGUES, F. A.; COLODETTE, J. L.; CARRÉ-MISSIO, V. Efeito do silício nas concentrações de lignina e de açúcares em bainhas de folhas de arroz infectadas por *Rhizoctonia solani*. **Bragantia**. Campinas, v.72, p.360-366, 2013. Disponível em: <[http://www.scielo.br/pdf/brag/v72n4/aop\\_bragafs2137.pdf](http://www.scielo.br/pdf/brag/v72n4/aop_bragafs2137.pdf)>. Acessado em: 11 de dez. 2019.

STANGOULIS, J. C. R.; GRAHAM, R. D. 2007. Boron and plant disease. In: Datnoff, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. **Mineral Nutrition and Plant Disease**. eds. APS Press, Minnesota, 2007, p. 207-214.

SYU, Y. Y; HUNG, J. H.; CHEN, J. C.; CHUANG, H. W. Impacts of size and shape of silver nanoparticles on Arabidopsis plant growth and gene expression. **Plant Physiol Biochem**, v. 83, p. 57–64, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25090087>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

TISDALE, S. L.; NELSON, W. L.; BEATON, J. D. **Soilfertility and fertilizers**. MacMillan

Publ. New York, 1985, p.754.

THOMPSON, I. A.; HUBER, D. M. Manganese and plant disease. Pages. In: Datnoff, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. **Mineral Nutrition and Plant Disease**.ed. APS Press. Minnesota, 2007, p. 139-153.

VANNINI, C.; DOMINGO, G.; ONELLI, E.; PRINSI, B.; MARSONI, M.; ESPEN, L.; BRACALE, M. Morphological and proteomic responses of *Eruca sativa* exposed to silver nanoparticles or silver nitrate. **Journal List. Plos One**. V. 8, p.68752, 2013. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0068752>>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

WANG, Z.; XIE, X.; ZHAO, J.; LIU, X.; FENG, W.; WHITE, J. C.; XING, B. Xylem- and Phloem-Based Transport of CuO Nanoparticles in Maize (*Zea mays* L.). **Environmental Science & Technology**. v. 46, p. 4434-4441, 2012.

XIA, T.; KOVOCHIN, M. BRANT, J.; HOTZE, M.; SEMPF, J.; OBERLEY, T.; SIOUTAS, C.; YE, J. I.; WIESNER, M. R.; NEL, A, E. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. **NANO LETT**. v. 6, p. 1794–1807, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16895376>>. Acessado em: 12 de dez. 2019.

XIE, Y.; HE, Y.; IRWIN, P. L.; JIN, T.; SHI, X. Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against campylobacter jejuni. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, p. 2325-2331, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3067441/>>. Acessado em: 10 de nov. 2019.

YANG, Z.; CHEN, J.; DOU, R.; GAO, X.; MAO, C.; WANG, L. Assessment of the Phytotoxicity of Metal Oxide Nanoparticles on Two Crop Plants, Maize (*Zea mays* L.) and Rice (*Oryza sativa* L.). **Int. J. Environ. Res. and Public Health**, v. 12, p. 15100-15109, 2015. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4690899/>>. Acessado em: 10 de nov. 2019.

YAMANAKA, M.; HARA, K.; KUDO, J. Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 71, p. 7589-93, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1287701/>>. Acessado em: 10 de nov. 2019.

YOSHIDA, S.; OHNISHI, Y.; KITAGISHI, K. Chemical forms, mobility and deposition of silicon in rice plant. **Soil Sci. Plant Nutr**. v. 8, p. 15–21,1962.

ZENG, F.; HOU, C.; WU, S. Z.; LIU, X. X, TONG, Z.; YU, S. N. Silver nanoparticles directly formed on natural macroporous matrix and their anti-microbial activities. **Nanotechnology**. v. 18, p. 1-8, 2007.

## APÊNDICE

### APÊNDICE A - ANOVA do teste de inibição de basidiosporos - NP de ZnO

Bartlett's K-squared = 60,469, df = 5, p-value =  $9.724 \cdot 10^{-12}$

Shapiro-Wilk test de normalidade p-valor = 0,1260238

Quadro 1.1 A Resumo da Análise da Variância do Teste de Inibição de Basidiosporo com NP de ZnO.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5	30.059	6.0119	195.13	1.0386e-46
Resíduo	90	2.773	0.0308		
Total	95	32.832			

CV = 25,4 %

Quadro 1.2 A Desdobramento da Anova do Teste de Inibição de Basidiosporos com NP ZnO.

CV	GL	S.Q.	Q.M.	F	
Tratamentos	5	30.05927			
Desvios Reg	2	3.941633	1.970816	63.96663	**
R Cubica	1	3.981885	3.981885	129.2397	**
R Quadrática	1	8.624503	8.624503	279.9248	
R Linear	1	13.51125	13.51125	438.5335	**
Resíduo	90	2.772906	0.0308		
Total	95	32.83217			

$5\% F_{(2;90)} = 3.0977$      $5\% F_{(1;90)} = 3.9469$

$1\% F_{(2;90)} = 4.8491$      $1\% F_{(1;90)} = 6.9251$

### APÊNDICE B - ANOVA do teste de inibição de basidiosporos - NP de Ag

Bartlett's K-squared = 61,082, df = 5, p-value =  $7,261 \cdot 10^{-12}$

Shapiro-Wilk test de normalidade p-valor = 0,05610548

Quadro 1.1 B Resumo da Análise de Variância do Teste de Inibição de Basidiosporos com NP de Ag.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5	312.60	62.520	749.51	$1.0408 \cdot 10^{-71}$
Resíduo	90	7.51	0.083		
Total	95	320.11			

CV = 17,32 %

Quadro 1.2 B Desdobramento da Anova do Teste de Inibição de Basidiosporos com NP de Ag.

CV	GL	S.Q.	Q.M.	F	
Tratamentos	5	312.5981			
Desvios Reg	2	14.78765	7.393827	88.64016	**
R Cubica	1	55.01966	55.01966	659.5978	**
R Quadrática	1	115.0807	115.0807	1379.633	**
R Linear	1	127.7101	127.7101	1531.04	**
Resíduo	90	7.507256	0.0834		
Total	95	320.1053			

$${}^5\%F_{(2;90)} = 3.0977 \quad {}^5\%F_{(1;90)} = 3.9469$$

$${}^1\%F_{(2;90)} = 4.8491 \quad {}^1\%F_{(1;90)} = 6.9251$$

### APÊNDICE C - ANOVA do teste de inibição de basidiosporos - NP de CuO

Bartlett's K-squared = 61,561, df = 5, p-value =  $5,782 \cdot 10^{-12}$

Shapiro-Wilk test de normalidade p-valor = 0,1791048

Quadro 1.1C Resumo da Análise de Variância do Teste de Inibição de Basidiosporos com NP de CuO.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5	32.282	6.4565	195	$1.0674 \cdot 10^{-46}$
Residuo	90	2.980	0.0331		
Total	95	35.262			

CV = 22,4 %

Quadro 1.2 C Desdobramento da Anova do Teste de Inibição de Basidiosporos com NP de CuO.

CV	GL	S.Q.	Q.M.	F	
Tratamentos	5	32.28243			
Desvios Reg	2	0.917887	0.458943	13.86082	**
R Cubica	1	1.976206	1.976206	59.68458	**
R Quadrática	1	14.75993	14.75993	445.7735	**
R Linear	1	14.6284	14.6284	441.801	**
Resíduo	90	2.979975	0.0331		
Total	95	35.2624			

$${}^5\%F_{(2;90)} = 3.0977 \quad {}^5\%F_{(1;90)} = 3.9469$$

$${}^1\%F_{(2;90)} = 4.8491 \quad {}^1\%F_{(1;90)} = 6.9251$$

**APÊNDICE D - ANOVA do teste de inibição de basidiosporos - NP de Si**

Shapiro-Wilk normality test p-value: 0,09014937

Homogeneity of variances test p-value: 0,09463553

Quadro 1.1 D Resumo da Análise de Variância do Teste de Inibição de Basidiosporos com NP de Si.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5	45236	9047.3	370.71	1.9866.10 <sup>-58</sup>
Residuo	90	2196	24.4		
Total	95	47433			

CV = 21,62 %

Quadro 1.2 D Desdobramento da Anova do Teste de Inibição de Basidiosporos com NP de Si.

CV	GL	S.Q.	Q.M.	F	
Tratamentos	5	45236.38			
Desvios Reg	2	9067.262	4533.631	185.7626	**
R Cubica	1	13457.27	13457.27	551.403	**
R Quadrática	1	15621.6	15621.6	640.0849	**
R Linear	1	7090.249	7090.249	290.5184	**
Resíduo	90	2196.496	24.4055		
Total	95	47432.87			
	<sup>5%</sup> F <sub>(2;90)</sub> =	3.0977	<sup>5%</sup> F <sub>(1;90)</sub> =	3.9469	
	<sup>1%</sup> F <sub>(2;90)</sub> =	4.8491	<sup>1%</sup> F <sub>(1;90)</sub> =	6.9251	

**APÊNDICE E - ANOVA do teste de inibição de basidiosporos - NP de B**

Shapiro-Wilk normality test p-value: 0,8632911

Homogeneity of variances test p-value: 0,0579324

Quadro 1.1 E Resumo da Análise de Variância do Teste de Inibição de Basidiosporos com NP de B.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5	12770.6	2554.12	64.738	2.5623.10 <sup>-28</sup>
Residuo	90	3550.8	39.45		
Total	95	16321.4			

CV = 13,54 %

Quadro 1.2 E Desdobramento da Anova do Teste de Inibição de Basidiosporos com NP de B.

CV	GL	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	5	12770.58		
Desvios Reg	2	1588.7	794.35	20.13406 **
R Cubica	1	5664.34	5664.34	143.5717 **
R Quadrática	1	1549.924	1549.924	39.2853 **
R Linear	1	3967.617	3967.617	100.5656 **
Resíduo	90	3550.774	39.4530	
Total	95	16321.35		
$5\%F_{(2;90)} =$	3.0977	$5\%F_{(1;90)} =$	3.9469	
$1\%F_{(2;90)} =$	4.8491	$1\%F_{(1;90)} =$	6.9251	

#### APÊNDICE F - ANOVA do teste de inibição de basidiosporos - NP de MnO<sub>2</sub>

Shapiro-Wilk normality test p-value: 0,1197878

Homogeneity of variances test p-value: 3,167301.10<sup>-7</sup>

Quadro 1.1F Resumo da Análise de Variância do Teste de Inibição de Basidiosporos com NP de MnO<sub>2</sub>.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5	6.6448	1.32895	120.01	2.9907e-38
Resíduo	90	0.9966	0.01107		
Total	95	7.6413			

CV = 7,81 %

Quadro 1. 6 B Desdobramento da Anova do Teste de Inibição de Basidiosporos com NP de MnO<sub>2</sub>.

CV	GL	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	5	6.644755		
Desvios Reg	2	0.729433	0.364716	32.93666 **
R Cubica	1	1.042132	1.042132	94.11244 **
R Quadrática	1	1.616425	1.616425	145.9755 **
R Linear	1	3.256766	3.256766	294.1107 **
Resíduo	90	0.996594	0.0111	
Total	95	7.641349		
$5\%F_{(2;90)} =$	3.0977	$5\%F_{(1;90)} =$	3.9469	
$1\%F_{(2;90)} =$	4.8491	$1\%F_{(1;90)} =$	6.9251	

### APÊNDICE G - ANOVA do teste de inibição de Crescimento Micelial - NP de ZnO

Shapiro-Wilk normality  $W = 0,97544$ ,  $p\text{-value} = 0,05843$

Homogeneity of variances test K-squared = 13,95,  $df = 4$ ,  $p\text{-value} = 0,007456$

Quadro 1.1 G Resumo da Análise de Variância da Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial com NP ZnO.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Dose	4	23690	5922.4	29.5534	0.00000
Tempo	3	600	200.1	0.9985	0.39800
Dose*Tempo	12	3634	302.8	1.5110	0.13748
Residuo	80	16032	200.4		
Total	99	43955			

CV = 23,89 %

Quadro 1.2 G Desdobramento da Análise de Variância do Teste de Inibição do Crescimento Micelial com NP de ZnO.

CV	GL	SQ	QM	F	
Tratamentos	19	27923.5170			
Desvios REG	1	4333.2131	4333.213	21.6232	***
Cúbica	1	69.3972	69.39725	0.3463	N.S.
Quadrática	1	390.6549	390.6549	1.9494	N.S.
Linear	1	23130.2517	23130.25	115.4223	***
Resíduo	80	16031.7330	200.3967		
TOTAL	99	43955.2500			

${}^5\%F_{(1;80)} = 3.9604$      ${}^1\%F_{(1;80)} = 6.9627$      ${}^{0.1}\%F_{(1;80)} = 11.6714$

### APÊNDICE H - ANOVA do teste de inibição de Crescimento Micelial - NP de Ag

Bartlett's K-squared = 1,0678,  $df = 4$ ,  $p\text{-value} = 0,8993$

Shapiro-Wilk normality test  $p\text{-value} = 0,6040467$

Quadro 1.1 H Resumo da Análise de Variância da Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial com NP Ag - Dados Transformados por log natural.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Dose	4	0.91439	0.228598	22.6032	0.00000
Tempo	3	0.74888	0.249625	24.6824	0.00000
Dose*Tempo	12	0.03015	0.002513	0.2485	0.99474
Residuals	80	0.80908	0.010114		
Total	99	2.50250			

CV = 5,95 %

Quadro 1.2 H Desdobramento da Análise de Variância do Teste de Inibição do Crescimento Micelial com NP Ag.

CV	GL	SQ	QM	F	
Tratamentos	19	1.6934			
Desvios REG	1	0.7890	0.789043311	78.0188	***
Cúbica	1	0.0228	0.022807157	2.2551	N.S.
Quadrática	1	0.0031	0.003116273	0.3081	N.S.
Linear	1	0.8785	0.878453259	86.8595	***
Resíduo	80	0.8091	0.0101135		
<b>TOTAL</b>	<b>99</b>	<b>2.5025</b>			
$5\%F_{(1;80)} =$	3.9604	$1\%F_{(1;80)} =$	6.9627	$0.1\%F_{(1;80)} =$	11.6714

### APÊNDICE I - ANOVA do teste de inibição de Crescimento Micelial - NP de CuO

Shapiro-Wilk normality test,  $W = 0,98865$ ,  $p\text{-value} = 0,5569$

Bartlett's K-squared = 5,491,  $df = 4$ ,  $p\text{-value} = 0,2405$

Quadro 1.1 I Resumo da Análise de Variância da Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial com NP CuO - Dados transformados por log natural.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Dose	4	0.33638	0.084094	5.4130	0.000657
Tempo	3	0.10392	0.034641	2.2298	0.091091
Dose*Tempo	12	0.40599	0.033833	2.1778	0.020507
Residuals	80	1.24284	0.015536		
Total	99	2.08913			

CV = 6,86 %

### APÊNDICE J - ANOVA do teste de inibição de Crescimento Micelial - NP de B

Shapiro-Wilk normality test  $W = 0,98226$ ,  $p\text{-value} = 0,1986$

Bartlett's K-squared = 4,0481,  $df = 4$ ,  $p\text{-value} = 0,3995$

Quadro 1.1 J Resumo da Análise de Variância da Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial com NP B

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Dose	4	372	93.0	0.1120	0.97796
Tempo	3	14932	4977.5	5.9986	0.00097
Dose*Tempo	12	661	55.1	0.0664	0.99999
Residuals	80	66382	829.8		
Total	99	82348			

CV = 27,59 %

Quadro 1.2 J Desdobramento da Análise de Variância do Teste de Inibição do Crescimento Micelial com NP Ag.

CV	GL	SQ	QM	F	
Tratamentos	19	15965.3948			
Desvios REG	1	1032.9048	1032.904762	1.2448	**
Cúbica	1	2.6997	2.699652938	0.0033	N.S.
Quadrática	1	1733.5565	1733.556496	2.0892	N.S.
Linear	1	13196.2339	13196.23388	15.9033	***
Resíduo	80	66382.2413	829.778016		
<b>TOTAL</b>	<b>99</b>	<b>82347.6361</b>			
$^{5\%}F_{(1;80)} =$	3.9604	$^{1\%}F_{(1;80)} =$	6.9627	$^{0.1\%}F_{(1;80)} =$	11.6714

### APÊNDICE L - ANOVA do teste de inibição de Basidiocarpo - NP de Si

Bartlett's K-squared = 17,933, df = 3, p-value = 0,000454

Shapiro-Wilk test de normalidade p-valor = 0,2596033

Quadro 1.1 L Resumo da Análise de Variância do Teste de Inibição de Basidiocarpo com NP Si.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	2	1.235	0.6175	3.052	0.067657
Dose	3	79.202	26.4007	130.472	0.000000
Tempo	2	12.332	6.1658	30.471	0.000000
Dose*Tempo	6	8.379	1.3966	6.902	0.000319
Residuals	22	4.452	0.2023		
Total	35	105.600			

CV = 25,95 %

### APÊNDICE M - ANOVA do teste de inibição de Crescimento Micelial - NP de CuO

Bartlett's K-squared = 22,803, df = 3, p-value = 4,439.10<sup>-5</sup>

Shapiro-Wilk test de normalidade p-valor = 0,2739639

Quadro 1.1 M Resumo da Análise de Variância do Teste de Inibição de Basidiocarpo com NP CuO.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	2	2.151	1.075	4.871	0.0177235
Dose	3	141.221	47.074	213.261	0.0000000
Tempo	2	22.229	11.114	50.353	0.0000000
Dose*Tempo	6	13.740	2.290	10.375	0.0000174
Residuals	22	4.856	0.221		
Total	35	184.196			

CV = 20,16 %

### APÊNDICE N - ANOVA do teste de inibição de Crescimento Micelial - NP de ZnO

Bartlett's K-squared = 34,314, df = 3, p-value =  $1,701.10^{-7}$

Shapiro-Wilk normality test p-value: 0,9476281

Quadro 1.1 N Resumo da Análise de Variância do Teste de Inibição de Basidiocarpo com NP ZnO.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	2	0.862	0.431	2.972	0.072015
Dose	3	104.546	34.849	240.251	0.000000
Tempo	2	10.867	5.434	37.460	0.000000
Dose*Tempo	6	8.979	1.497	10.318	0.000018
Residuals	22	3.191	0.145		
Total	35	128.446			

CV = 27,98 %

### APÊNDICE O - ANOVA do teste de inibição de Crescimento Micelial - NP de MnO<sub>2</sub>

Bartlett's K-squared = 45,477, df = 3, p-value =  $7,328.10^{-10}$

Shapiro-Wilk normality test p-value: 0,3782195

Quadro 1.1 O Resumo da Análise de Variância do Teste de Inibição de Basidiocarpo com NP MnO<sub>2</sub>

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	2	0.237	0.119	0.787	0.46765
Dose	3	107.374	35.791	237.450	0.00000
Tempo	2	7.682	3.841	25.483	0.00000
Dose*Tempo	6	10.427	1.738	11.529	0.00001
Residuals	22	3.316	0.151		
Total	35	129.036			

CV = 29,42 %

### APÊNDICE P - ANOVA do teste de inibição de Crescimento Micelial - NP de Ag

Bartlett's K-squared = 5,8036, df = 3, p-value = 0,1216

Shapiro-Wilk normality test p-value: 0,484301

Quadro 1.1 P Resumo da Análise de Variância do Teste de Inibição de Basidiocarpo com NP Ag.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	2	0.216	0.1078	0.196	0.82309
Dose	3	77.921	25.9737	47.338	0.00000
Tempo	2	24.134	12.0669	21.992	0.00001
Dose*Tempo	6	4.751	0.7918	1.443	0.24345
Residuals	22	12.071	0.5487		
Total	35	119.092			

CV = 41,8 %

#### APÊNDICE Q - ANOVA da incidência da vassoura de bruxa no tempo- NP de Si

Bartlett's K-squared = 13,036, df = 3, p-value = 0,004559

Shapiro-Wilk test de normalidade p-valor = 0,132022

Quadro 1.1 Q Resumo da Análise de Variância da Incidência da Vassoura de Bruxa no Tempo com NP Si.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	0.2985	0.09950	3.241	0.0306791
Dose	3	3.8492	1.28308	41.790	0.0000000
Tempo	3	1.8153	0.60510	19.708	0.0000000
Dose*Tempo	9	1.3409	0.14899	4.853	0.0001495
Residuals	45	1.3816	0.03070		
Total	6	38.6856			

CV = 20,97 %

#### APÊNDICE R - ANOVA da incidência da vassoura de bruxa no tempo- NP de Ag

Bartlett's K-squared = 6,2417, df = 3, p-value = 0,1004

Shapiro-Wilk normality test p-value: 0,9587636

Quadro 1.1 R Resumo da Análise de Variância da Incidência da Vassoura de Bruxa no Tempo com NP Ag.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	0.7387	0.24624	9.315	0.0000663
Dose	3	0.6034	0.20112	7.608	0.0003216
Tempo	3	2.5428	0.84759	32.065	0.0000000
Dose*Tempo	9	0.6900	0.07666	2.900	0.0085821
Residuals	45	1.1895	0.02643		
Total	63	5.7643			

CV = 18,6 %

**APÊNDICE S - ANOVA da severidade da vassoura de bruxa no tempo- NP de Si**

Bartlett's K-squared = 28,27, df = 3, p-value = 0,6064063

Shapiro-Wilk normality W = 0,82251, p-value = 0,1945241

Quadro 1.1 S Resumo da Análise de Variância da Severidade da Vassoura de Bruxa no Tempo com NP Si.

Análise de Variância Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	1.2185	0.4062	6.041	0.00151086
Dose	3	14.2850	4.7617	70.818	0.00000000
Tempo	3	6.4589	2.1530	32.020	0.00000000
Dose*Tempo	9	3.1311	0.3479	5.174	0.00008037
Residuals	45	3.0257	0.0672		
Total	63	28.1192			

CV = 24,08 %

**APÊNDICE T - ANOVA da severidade da vassoura de bruxa no tempo- NP de Ag**

Shapiro-Wilk normality p-value: 0,2606752

Homogeneidade p- valor: 0,6964063

Quadro 1.1 T Resumo da Análise de Variância da Severidade da Vassoura de Bruxa no Tempo com NP de Ag.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	7.094	2.3645	10.107	0.000033
Dose	3	9.094	3.0314	12.957	0.000003
Tempo	3	14.676	4.8919	20.910	0.000000
Dose*Tempo	9	3.723	0.4136	1.768	0.101394
Residuals	45	10.528	0.2340		
Total	63	45.114			

CV = 69,39 %

## 1.2. T Desdobramento da Anova das Doses do Tratamento com NP de Ag.

CV	GL	SQ	QM	F	
Bloco	3	7.0935			
Tratamento	15	27.4927			
Dose	3	9.0943			
Desvios	1	3.6436	3.6436	15.5742	***
Quadrática	1	3.6658	3.6658	15.6690	***
Linear	1	1.7848	1.7848	7.6290	**
TMP	3	14.6757			
Dose*TMP	9	3.7226			
Resíduo	45	10.5279	0.2340		
Total	63	45.1141			

 ${}^5\%F_{(1;45)} = {}^1\%F_{(1;45)} = 7.2339$ 
 ${}^{0,1}\%F_{(1;45)} = 12.3922$

### APÊNDICE U - ANOVA da AACPDI da vassoura de bruxa do cacauero- NP de Si

Shapiro-Wilk normality test p-value: 0,9266167

Homogeneity of variances test p-value: 0,2617394

Quadro 1.1 U Resumo da Análise de Variância da AACPDI com NP de Si.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	5370.5	1790.16	54.042	0.000004
Bloco	3	327.7	109.22	3.297	0.071729
Residuo	9	298.1	33.12		
Total	15	5996.2			

CV = 24,36 %

Quadro 1.1 U Desdobramento da Anova da AACPDI com NP de Si.

CV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	3	5370.469		
Blocos	3	327.6563		
Desvios Reg	1	2003.9114	2003.9114	60.4954 *
Reg Quadrática	1	68.5556	68.5556006	2.0696 *
Reg Linear	1	3298.0018	3298.0018	99.5623 *
Resíduo	9	298.125	33.1250	
Total	15	5996.25		

$5\%F_{(1;9)} = 5.1174$        $1\%F_{(1;9)} = 10.5614$

### APÊNDICE V - ANOVA da AACPDI da vassoura de bruxa do cacauero- NP de Ag

Shapiro-Wilk normality test p-value: 0,2879624

Homogeneity of variances test p-value: 0,1799316

Quadro 1.1 V Resumo da Análise de Variância da AACPDI com NP de Ag.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	1511.54	503.85	6.3374	0.013408
Bloco	3	599.17	199.72	2.5121	0.124394
Residuo	9	715.54	79.50		
Total	15	2826.25			

CV = 41.26 %

Quadro 1.2 V Desdobramento da Anova da AACPDI com NP de Ag.

CV	GL	SQ	QM	F	
Tratamentos	3	1511.54297			
Blocos	3	599.167969			
Desvios Reg	1	26.8786	26.8786	0.3381	N.S.
Reg Quadrática	1	1.8491	1.849127435	0.0233	N.S.
Reg Linear	1	1482.8153	1482.8153	18.6508	*
Resíduo	9	715.535156	79.5039		
Total	15	2826.24609			

$${}^5\%F_{(1;9)} = 5.1174 \quad {}^1\%F_{(1;9)} = 10.5614$$

### APÊNDICE X - ANOVA da AACPDS da vassoura de bruxa do cacauero- NP de Si

Shapiro-Wilk normality test p-value: 0,670879

Homogeneity of variances test p-value: 0,6086179

Quadro 1.1 X Resumo da Análise de Variância da AACPDS com NP de Si.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	103591	34530	34.461	0.000029
Bloco	3	8543	2848	2.842	0.097965
Resíduo	9	9018	1002		
Total	15	121152			

CV = 42,63 %

Quadro 1.2 X Desdobramento da Anova da AACPDS com NP de Si.

CV	GL	SQ	QM	F	
Tratamentos	3	103591.2314			
Blocos	3	8542.783569			
Desvios Reg	1	64052.1199	64052.1199	63.9237	**
Reg Quadrática	1	15462.4632	15462.46321	15.4315	**
Reg Linear	1	24076.6483	24076.6483	24.0284	*
Resíduo	9	9018.077506	1002.0086		
Total	15	121152.0924			

$${}^5\%F_{(1;9)} = 5.1174 \quad {}^1\%F_{(1;9)} = 10.5614$$

### APÊNDICE Z - ANOVA da AACPDS da vassoura de bruxa do cacauero- NP de Ag

Shapiro-Wilk normality test p-value: 0,2694085

Homogeneity of variances test p-value: 0,6329164

Quadro 1.1 Z Resumo da Análise de Variância da AACPDS com NP de Ag.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	20433	6810.8	5.4969	0.020129
Bloco	3	16035	5344.9	4.3138	0.038190
Resíduo	9	11151	1239.0		
Total	15	47618			

CV = 51,44 %

Quadro 1.1 Z Desdobramento da Anova da AACPDS com NP de Ag

CV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	3	20432.50792		
Blocos	3	16034.60902		
Desvios Reg	1	8193.4946	8193.4946	6.6129 *
Reg Quadrática	1	8163.7921	8163.792127	6.5889 *
Reg Linear	1	4075.2212	4075.2212	3.2891 N.S.
Resíduo	9	11151.22926	1239.0255	
Total	15	47618.34619		

$${}^5\%F_{(1;9)} = 5.1174 \quad {}^1\%F_{(1;9)} = 10.5614$$

### APÊNDICE Y - ANOVA da clorofila total- NP de Si

Bartlett's K-squared = 1,3326, df = 3, p-value = 0,7214

W = 0.92468, p-value = 0,0007845

Quadro 1.1 Y Resumo da Análise de Variância da Clorofila Total com NP de Si.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	26.27	8.76	2.731	0.05485
Dose	3	34.22	11.41	3.557	0.02149
Tempo	3	1820.19	606.73	189.206	0.00000
Dose*Tempo	9	27.57	3.06	0.955	0.48852
Residuals	45	144.30	3.21		
Total	63	2052.55			

CV = 4,38 %

Quadro 1.2 Y Desdobramento da Anova da Clorofila Total com NP de Si.

CV	GL	SQ	QM	F	
Bloco	3	26.2693			
Tratamento	15	1881.9812			
Dose	3	34.2225	11.4075	3.5574	**
TMP	3	1820.1860	606.7287	189.2061	***
Dose*TMP	9	27.5728	3.0636	0.9554	N.S.
Resíduo	45	144.3019	3.2067		
Total	63	2052.5524			
$5\%F_{(3;45)} =$	2.8115		$5\%F_{(9;45)} =$	2.0958	
$1\%F_{(3;45)} =$	4.2492		$1\%F_{(9;45)} =$	2.8301	
$0,1\%F_{(3;45)} =$	6.4495		$0,1\%F_{(9;45)} =$	3.9086	

**APÊNDICE W - ANOVA da AACPDI da vassoura de bruxa do cacauero - NP de Ag**

Bartlett's K-squared = 0,65688, df = 3, p-value = 0,8833

Shapiro-Wilk normality W = 0,9303, p-value = 0,07242167

Quadro 1.1 W Resumo da Análise de Variância da Clorofila Total com NP de Ag.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	13.28	4.43	1.439	0.24387
Dose	3	13.29	4.43	1.441	0.24342
Tempo	3	1616.40	538.80	175.239	0.00000
Dose*Tempo	9	14.00	1.56	0.506	0.86241
Residuals	45	138.36	3.07		
Total	63	1795.33			

CV = 4,26 %

Quadro 1.2 W Desdobramento da Anova da Clorofila Total com NP de Ag.

CV	GL	SQ	QM	F	
Bloco	3	13.2762			
Tratamento	15	1643.6929			
Dose	3	13.2908	4.4303	1.4409	N.S.
TMP	3	1616.4015	538.8005	175.2394	***
Dose*TMP	9	14.0006	1.5556	0.5059	N.S.
Resíduo	45	138.3594	3.0747		
Total	63	1795.3285			
$5\%F_{(3;45)} =$	2.8115		$5\%F_{(9;45)} =$	2.0958	
$1\%F_{(3;45)} =$	4.2492		$1\%F_{(9;45)} =$	2.8301	
$0,1\%F_{(3;45)} =$	6.4495		$0,1\%F_{(9;45)} =$	3.9086	

**APÊNDICE AA - ANOVA da altura de mudas inoculadas de cacau - NP de Si**

Bartlett's K-squared = 4,2652, df = 3, p-value = 0,2342

Shapiro-Wilk normality test W = 0,96063, p-value = 0,9390605

Quadro 1.1 AA Resumo da Análise de Variância da Altura com NP de Si.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	24.093	8.0311	6.9168	0.00063
Dose	3	52.460	17.4865	15.0602	0.00000
Tempo	3	81.103	27.0345	23.2833	0.00000
Dose*Tempo	9	7.391	0.8212	0.7073	0.69902
Residuals	45	52.250	1.1611		
Total	63	217.297			

CV = 4,94 %

Quadro 1.2 AA Anova Referente as Doses NP de Si para a Altura.

CV	GL	SQ	QM	F	
Bloco	3	24.0934			
Tratamento	15	140.9541			
Dose	3	52.4596	17.4865	15.0602	***
TMP	3	81.1034	27.0345	23.2833	***
Dose*TMP	9	7.3910	0.8212	0.7073	N.S.
Resíduo	45	52.2499	1.1611		
Total	63	217.2974			
$5\% F_{(3;45)} =$	2.8115		$5\% F_{(9;45)} =$	2.0958	
$1\% F_{(3;45)} =$	4.2492		$1\% F_{(9;45)} =$	2.8301	
$0,1\% F_{(3;45)} =$	6.4495		$0,1\% F_{(9;45)} =$	3.9086	

**APÊNDICE BB - ANOVA da altura de mudas inoculadas de cacau - NP de Ag**

Bartlett's K-squared = 3,625, df = 3, p-value = 0,3049

Shapiro-Wilk normality test W = 0,97881, p-value = 0,5716788

Quadro 1.1 BB Resumo da Análise de Variância da Altura com NP de Ag.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	19.048	6.3493	5.0926	0.00404
Dose	3	3.845	1.2816	1.0279	0.38926
Tempo	3	60.959	20.3196	16.2977	0.00000
Dose*Tempo	9	0.775	0.0862	0.0691	0.99990
Residuals	45	56.105	1.2468		
Total	63	140.732			

CV = 5,23 %

**APÊNDICE CC - ANOVA do diâmetro de mudas inoculadas de cacau - NP de Si**

Bartlett's K-squared = 11,042, df = 3, p-value = 0,0115

Shapiro-Wilk normality test W = 0,93632, p-value = 0,9229341

Quadro 1.1 CC Resumo da Análise de Variância do Diâmetro com NP de Si.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	0.000425	0.000141	70.473	0.70256
Dose	3	0.015287	0.0050958	17.018	0.00000
Tempo	3	0.079262	0.0264208	88.233	0.00000
Dose*Tempo	9	0.019050	0.0021167	7.069	0.00000
Residuals	45	0.013475	0.0002994		
Total	63	0.127500			

CV = 4.16 %

**APÊNDICE DD - ANOVA do diâmetro de mudas inoculadas de cacau - NP de Ag**

Bartlett's K-squared = 3,3781, df = 3, p-value = 0,3369

Shapiro-Wilk normality test W = 0,96733, p-value = 0,08776

Quadro 1.1 DD Resumo da Análise de Variância do Diâmetro com NP de Ag.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	0.003537	0.001179	2.962	0.04209
Dose	3	0.001812	0.000604	1.518	0.22280
Tempo	3	0.104587	0.034862	87.582	0.00000
Dose*Tempo	9	0.006125	0.000681	1.710	0.11471
Residuo	45	0.017913	0.000398		
Total	63	0.133975			

CV = 4,69 %

**APÊNDICE EE - ANOVA do peso seco das folhas de mudas de cacau - NP de Si**

Bartlett's K-squared = 0,77325, df = 3, p-value = 0,8559

Shapiro-Wilk normality test W = 0,9813, p-value = 0,9731

Quadro 1.1 EE Resumo da Análise de Variância do Massa Seca da Folha com NP de Si.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	2.3637	0.78789	0.92192	0.46867
Bloco	3	1.8935	0.63117	0.73855	0.55516
Resíduo	9	7.6916	0.85462		
Total	15	11.9488			

CV = 15,96 %

**APÊNDICE FF - ANOVA do peso seco das folhas de mudas de cacau - NP de Ag**

Bartlett's K-squared = 1,818, df = 3, p-value = 0,611

Shapiro-Wilk normality test W = 0,97584, p-value = 0,922

Quadro 1.1 FF Resumo da Análise de Variância do Massa Seca da Folha com NP de Ag.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	2.6360	0.87867	1.63663	0.24893
Bloco	3	0.3529	0.11762	0.21909	0.88074
Residuo	9	4.8319	0.53688		
Total	15	7.8208			

CV = 11,81 %

### APÊNDICE GG - ANOVA do peso seco das raízes de mudas de cacau - NP de Si

Bartlett's K-squared p-value = 0,2681122

Shapiro-Wilk normality test, p-value = 0,4741642

Quadro 1.1 GG Resumo da Análise de Variância do Massa Seca da Raiz com NP de Si.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.54622	0.182073	5.3849	0.02131
Bloco	3	0.08697	0.028990	0.8574	0.49738
Residuo	9	0.30431	0.033812		
Total	15	0.93749			

CV = 15,59 %

Quadro 1.2 GG Resumo da Análise de Variância do Massa Seca da Raiz com NP de Si.

CV	GL	SQ	QM	F	
Tratamentos	3	0.546219			
Blocos	3	0.086969			
Desvios Reg	1	0.4474	0.4474	13.2310	*
Reg Quadrática	1	0.0537	0.053673	1.5874	*
Reg Linear	1	0.0452	0.0452	1.3362	N.S.
Resíduo	9	0.304306	0.0338		
Total	15	0.937494			
$5\%F_{(1;9)} =$	5.1174	$1\%F_{(1;9)} =$	10.5614		

### APÊNDICE HH - ANOVA do peso seco das raízes de mudas de cacau - NP de Ag

Shapiro-Wilk normality test p-value: 0,9460488

Homogeneity of variances test p-value: 0,0270775

Quadro 1.1 HH Resumo da Análise de Variância do Massa Seca da Raiz com NP de Ag.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.03860	0.0128667	0.41027	0.74959
Bloco	3	0.01705	0.0056833	0.18122	0.90648
Residuo	9	0.28225	0.0313611		
Total	15	0.33790			

CV = 13.75 %

#### APÊNDICE II - ANOVA do peso seco do caule de mudas de cacau - NP de Si

Shapiro-Wilk normality test p-value: 0,1499757

Homogeneity of variances test p-value: 0,9502575

Quadro 1.1 II Resumo da Análise de Variância do Massa Seca do Caule com NP de Si.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	1.5654	0.52180	2.4478	0.13050
Bloco	3	0.8436	0.28122	1.3192	0.32745
Residuo	9	1.9185	0.21317		
Total	15	4.3276			

CV = 16,03 %

#### APÊNDICE JJ - ANOVA do peso seco do caule de mudas de cacau - NP de Ag

Shapiro-Wilk p-value: 0,789142

Homogeneity of variances p-value: 0,819502

Quadro 1.1 JJ Resumo da Análise de Variância do Massa Seca do Caule com NP de Ag.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.43472	0.14491	0.72256	0.56344
Bloco	3	0.71433	0.23811	1.18729	0.36822
Residuo	9	1.80492	0.20055		
Total	15	2.95397			

CV = 16,34 %

#### APÊNDICE LL - ANOVA do peso seco das total de mudas de cacau - NP de Si

Shapiro-Wilk tp-value: 0,5699872

Homogeneity of variances p-value: 0,2254556

Quadro 1.1 LL Resumo da Análise de Variância do Massa Seca  
Total com NP de Si.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	1.3074	0.43579	0.31660	0.81323
Bloco	3	2.0724	0.69081	0.50186	0.69035
Residuals	9	12.3884	1.37648		
Total	15	15.7681			

CV = 11,91 %

**APÊNDICE MM - ANOVA do peso seco das total de mudas de cacau - NP de Ag**

Shapiro-Wilk p-value: 0,9557171

Homogeneity of variances p-value: 0,587928

Quadro 1.1 MM Resumo da Análise de Variância do Massa  
Seca Total com NP de Ag.

Análise de Variância					
	DF	SS	MS	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	5.3822	1.79406	1.39303	0.30690
Bloco	3	1.8349	0.61162	0.47491	0.70742
Residuo	9	11.5910	1.28788		
Total	15	18.8080			

CV = 11.09 %