

**EDILAINE ISTÉFANI FRANKLIN TRASPADINI**

**ESTRATÉGIAS AGRONÔMICAS PARA RECUPERAÇÃO SUSTENTÁVEL DA  
CADEIA CACAUEIRA NO SUDOESTE DA AMAZÔNIA**

**Relatório de Pós-doutorado realizado  
na Universidade Estadual Paulista  
(UNESP), Faculdade de Ciências  
Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal,  
São Paulo.**

**Supervisor(a): Prof. Dr. Renato de  
Mello Prado**

**Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - Nº 2024/00775-7**

**Jaboticabal, São Paulo**

**2025**



**UNESP UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**

**RELATÓRIO CIENTÍFICO**  
**Projeto nº 5271 PD-I**  
**Vigência: 01/05/2024 a 01/05/2025**

**ESTRATÉGIAS AGRONÔMICAS PARA RECUPERAÇÃO SUSTENTÁVEL DA**  
**CADEIA CACAUEIRA NO SUDOESTE DA AMAZÔNIA**

**Pós-doutoranda:**

**Dra. Edilaine Istéfani Franklin Traspadini**

**Supervisor:**

**Prof. Dr. Renato de Mello Prado, Unesp**

**Jaboticabal-SP**

**01/06/2025**

## RESUMO

O cacau é um dos principais produtos da bioeconomia amazônica, cultivado há mais de três mil anos por povos pré-colombianos e valorizado por seus efeitos nutricionais e farmacológicos, atribuídos à presença de compostos fenólicos como flavonoides e procianidinas. No entanto, em sua região de origem, o cultivo do cacau encontra-se tecnicamente defasado, perdendo importância frente a cadeias mais agressivas ao meio ambiente, como a pecuária extensiva e o cultivo de grãos. Diante disso, este projeto teve como objetivo identificar os principais gargalos agrônômicos e propor estratégias científicas para viabilizar a recuperação da cacauicultura amazônica, com base na análise do desempenho nutricional, bioquímico e produtivo de genótipos regionais.

As atividades envolveram três eixos principais: (i) análise agrônômica e fitossanitária de 25 clones de cacauero em Rondônia, com ênfase na identificação de materiais mais tolerantes à vassoura-de-bruxa, menos suscetíveis à germinação interna das sementes e mais eficientes do ponto de vista nutricional; (ii) caracterização do perfil bioquímico e antioxidante de amêndoas submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita (fermentadas e não fermentadas), incluindo quantificação de fenóis, taninos, açúcares, aminoácidos, prolina, GB, MDA e atividade da enzima SOD; e (iii) construção de normas nutricionais foliares pelo método da Composição Nutricional Diagnóstica (CND), com base em 194 lavouras comerciais, associada à avaliação da consistência interlaboratorial dos teores e diagnósticos obtidos. Como principal produto aplicado, foi desenvolvido o sistema FertilizaCacau, uma plataforma regional de diagnose nutricional e recomendação de adubação, capaz de integrar dados foliares, atributos do solo e produtividade, fornecendo recomendações mais adaptadas à realidade amazônica. Os resultados obtidos permitiram identificar genótipos mais resilientes, destacar o impacto do processamento na qualidade funcional do cacau e propor uma abordagem diagnóstica multivariada mais precisa, reforçando a importância de dados regionais e protocolos analíticos consistentes para o fortalecimento da cacauicultura na Amazônia.

**Palavras-chaves:** Cacauicultura amazônica; Diagnose nutricional; Compostos bioativos; Genótipos resilientes; Sustentabilidade agrícola

## 1-INTRODUÇÃO

O cultivo do cacau (*Theobroma cacao* L.) na Amazônia Ocidental configura-se como uma das estratégias mais promissoras para a consolidação de uma agricultura sustentável, de base florestal, com alto potencial de valorização bioeconômica. Apesar de a região contar com uma rede de pesquisa, desenvolvimento e extensão rural voltada à cacauicultura, sob a liderança da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC Rondônia), e dispor de um dos mais importantes bancos de germoplasma de cacau do Brasil, com materiais genéticos selecionados localmente, ainda são limitadas as informações sobre os fatores efetivamente responsáveis pela baixa produtividade das lavouras comerciais. Essa limitação se aplica tanto ao cacau produzido como commodity quanto ao destinado à fabricação de chocolates finos e insumos para as indústrias alimentícias e farmacêuticas.

Nem mesmo a possibilidade de utilizar o cacau, por ser uma espécie nativa, como alternativa viável para a recomposição de áreas de Reserva Legal tem sido suficiente para promover a recuperação econômica da cacauicultura regional. Nesse cenário, a presente proposta visa aplicar a base tecnológica contemporânea em manejo de culturas, nutrição de plantas e manejo do solo para identificar os gargalos produtivos e as medidas necessárias à restauração da importância do cacau, seja como commodity, seja como produto de alto valor agregado, em seu centro de origem, que compreende os estados de Rondônia e do sul do Amazonas.

Compreender os fatores tecnológicos que levaram à perda de protagonismo do cacau regional em comparação à sua expansão em outras regiões produtoras do país poderá fornecer subsídios relevantes não apenas para a revitalização da cadeia cacaueira, mas também para o desenvolvimento sustentável de outras espécies vegetais estratégicas para a bioeconomia amazônica.

Com esse intuito, propõe-se a realização de ensaios experimentais para comparar o desempenho agrônomico, nutricional e funcional de materiais genéticos locais, como os clones desenvolvidos na Estação Experimental de Ouro Preto do Oeste (RO), com híbridos utilizados no Pará, clones recomendados na Bahia e novos materiais promissores. As lavouras serão comparadas quanto ao nível tecnológico adotado, considerando fatores como fertilidade do solo, estado nutricional foliar, manejo fitotécnico e viabilidade econômica.

Essa abordagem permitirá identificar, de forma objetiva, quais fatores técnicos estão associados à maior produtividade observada no Pará e como as correções necessárias podem ser aplicadas no Alto Amazonas. Outro aspecto central consiste na avaliação fitoquímica das amêndoas provenientes dos diferentes clones de cacau selecionados em Rondônia, com o objetivo de identificar materiais com potencial para produção de cacau fino ou com propriedades bioativas passíveis de exploração pela indústria alimentícia. Subsidiariamente, os resultados poderão fundamentar propostas de políticas públicas voltadas à recuperação da cacauicultura na região, enfrentando de forma mais eficaz os atuais vetores de desmatamento.

Alinhada a essa perspectiva, a presente proposta tem como objetivo geral "Viabilizar a recuperação e o fortalecimento da cadeia de produção cacauceira, contribuindo para a identificação dos gargalos e processos responsáveis pela baixa competitividade do cacau produzido no sudoeste da Amazônia".

Além de investigar a composição fitoquímica das amêndoas e a performance agrônômica dos materiais genéticos, a proposta também incorpora uma dimensão estratégica voltada à nutrição de plantas, por meio da aplicação e validação de métodos de diagnose multivariada. A construção de normas regionais específicas de diagnose nutricional, aliada à elaboração de um sistema integrado de recomendação de adubação, visa não apenas melhorar o manejo atual, mas também fornece uma base técnico-científica sólida para políticas públicas e ações de assistência técnica voltadas à cacauicultura amazônica.

As atividades descritas neste relatório concentram-se no escopo desenvolvido pela equipe paulista (UNESP), com ênfase nos aspectos ligados à nutrição de plantas, composição química das amêndoas e desenvolvimento de sistemas diagnósticos aplicáveis à realidade do produtor. As demais atividades do projeto, conduzidas por instituições parceiras e apoiadas pelas fundações de amparo FAPERO e FAPEAM, estão sendo apresentadas separadamente às respectivas agências de fomento.

## **2- ATIVIDADES DESENVOLVIDAS**

Com o objetivo de viabilizar a recuperação e o fortalecimento da cadeia de produção cacauceira no sudoeste da Amazônia, o projeto avaliou a equivalência agronômica, nutricional e funcional entre clones locais, desenvolvidos pela CEPLAC/RO, e materiais amplamente adotados em outras regiões produtoras do Brasil. Essa comparação foi realizada por meio de experimentos integrados envolvendo atributos de solo, estado nutricional foliar, produtividade, tolerância a doenças e composição fitoquímica das amêndoas.

Além disso, o projeto contemplou a aplicação de ferramentas diagnósticas modernas, como a Diagnose de Composição Nutricional (CND), com o objetivo de construir normas regionais específicas para cacauceiro, considerando as condições edafoclimáticas da Amazônia Ocidental. Também foi conduzido um estudo de consistência diagnóstica interlaboratorial para mensurar o impacto dos diferentes protocolos analíticos sobre os diagnósticos nutricionais gerados. Como desdobramento prático, foi desenvolvido um sistema de recomendação de adubação específico para a região, denominado FertilizaCacau, capaz de integrar dados foliares, atributos do solo e produtividade, promovendo um manejo nutricional mais eficiente e adaptado às condições locais. As atividades foram organizadas em quatro eixos estruturantes, descritos a seguir:

### **2.1 Atributos de interesse agronômico avaliados na época da colheita do cacau**

Foi conduzido um experimento de campo com vinte e cinco clones de cacauceiro na Estação Experimental da CEPLAC, situada em Ouro Preto do Oeste (RO), sob Latossolo Amarelo álico e clima do tipo Am, segundo Köppen, caracterizado por temperatura média anual de 25,6 °C e precipitação superior a 2.200 mm (Barbosa; Neves, 1983; INMET, 2024). As plantas, com oito anos de idade, foram cultivadas sob espaçamento de 3 × 3 m (1.111 plantas ha<sup>-1</sup>), em delineamento experimental de blocos ao acaso com três repetições.

Durante a colheita, foram avaliadas variáveis agronômicas (número de frutos por planta, número de sementes por fruto, massa dos frutos com casca, massa total e massa média das sementes), bem como variáveis fitossanitárias e fisiológicas associadas ao rendimento comercial. Dentre os principais agentes bióticos de perda, destacam-se a

vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa*) e a broca-dos-frutos (*Conotrachelus humeropictus*), que comprometem a produção por meio de necroses, deformações, perfurações internas e inviabilização dos frutos (Lima et al., 2022; Meinhardt et al., 2008).

Paralelamente às avaliações fitossanitárias, foi realizada a diagnose do estado nutricional das plantas com base no método do CND (Parent; Dafir, 1992), visando identificar desequilíbrios iônicos e associá-los ao desempenho agrônômico dos clones. Considerando que a homeostase nutricional é um fator determinante na tolerância a estresses bióticos e na produtividade em culturas perenes (Marschner, 2012; Prado, 2021), este estudo buscou verificar se diferentes materiais genéticos apresentariam maior ou menor eficiência em manter equilíbrio nutricional sob as condições edafoclimáticas da Amazônia Ocidental.

As informações geradas permitiram a caracterização do comportamento dos vinte e cinco clones frente a doenças, germinação de sementes e desempenho produtivo, associando esses fatores ao estado nutricional foliar e permitindo a identificação de materiais superiores em termos de resiliência fisiológica, equilíbrio iônico e sanidade dos frutos. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA, com posterior interpretação multivariada com base nas normas CND e seus índices de desequilíbrio.

Os resultados completos deste estudo estão apresentados na seção 3.1 – Resultados Obtidos – Artigo 1: “*Clones de cacauero modulam a tolerância a doenças dos frutos e desequilíbrios nutricionais, potencializando a produção do cacau na Amazônia.*”

## **2.2 Estudos sobre os atributos de qualidade da produção do cacau**

Esta etapa da pesquisa teve como objetivo avaliar o efeito da fermentação e da ausência desse processo sobre os atributos nutricionais, bioquímicos e antioxidantes de amêndoas de cacau oriundas de diferentes clones cultivados na Amazônia. O estudo foi conduzido com nove genótipos, coletados na Estação Experimental da CEPLAC, em Ouro Preto do Oeste (RO), sob condições edafoclimáticas típicas da região: clima Am segundo Köppen, temperatura média anual de 25,6 °C e precipitação superior a 2.200 mm (Barbosa; Neves, 1983; INMET, 2024).

Os frutos colhidos foram submetidos a dois tipos de processamento pós-colheita: fermentado (F), conforme protocolo descrito por Silva Neto et al. (2001), e não fermentado (NF), com secagem direta. Após a secagem, as amêndoas foram trituradas e utilizadas para análises laboratoriais, incluindo a determinação de macro e micronutrientes (Bataglia et al., 1983), açúcares totais (Dubois et al., 1956), aminoácidos (Yemm; Cocking, 1955), lipídeos (IAL, 2008), proteínas solúveis (Bradford, 1976), fenóis totais (Fantozzi; Montedoro, 1978; Gutfinger, 1981), taninos (Price; Butler, 1977) e antocianinas (Lichtenthaler, 1987). Para a avaliação do sistema antioxidante, foram determinados os teores de prolina (Bates et al., 1973), glicina betaína (Grieve; Grattan, 1983), malondialdeído – MDA (Heath; Packer, 1968) e a atividade da enzima superóxido dismutase – SOD (Giannopolitis; Ries, 1977). A atividade específica da SOD foi normalizada pelo teor de proteínas solúveis nas amostras.

Além das análises univariadas com testes estatísticos (ANOVA e Tukey a 5% de probabilidade), empregou-se análise multivariada por meio de Análise de Componentes Principais (PCA), com o intuito de identificar padrões bioquímicos associados aos sistemas F e NF. Também foi realizada análise de correlação de Pearson entre variáveis nutricionais e bioquímicas.

A pesquisa fundamenta-se na hipótese de que a fermentação induz estresse metabólico e reprogramação bioquímica nas amêndoas, modulando teores de compostos funcionais como fenóis, taninos, aminoácidos e antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Além disso, pressupõe-se que diferentes clones respondem de maneira distinta aos tratamentos pós-colheita, o que possibilita identificar materiais mais adequados para estratégias de processamento específicas, como a produção de cacau funcional ou blindado.

Os resultados detalhados desta investigação serão apresentados na seção 3.2 – Resultados Obtidos – Artigo 2: *“O uso de clones do cacaueiro e a fermentação modulam o perfil bioquímico e nutricional em amêndoas de cacau da Amazônia.”*

### **2.3 Estudo interlaboratorial da consistência diagnóstica**

Com o objetivo de avaliar a robustez e a aplicabilidade de normas nutricionais

para o cacauzeiro na Amazônia Ocidental, foi realizado um estudo interlaboratorial de consistência diagnóstica, envolvendo 194 lavouras comerciais monitoradas em diferentes municípios do estado de Rondônia. Essa etapa da pesquisa concentrou-se na análise da influência de variações analíticas entre laboratórios sobre os teores foliares, as normas obtidas pelo método da Composição Nutricional Diagnóstica (CND) e os diagnósticos gerados a partir dessas normas.

As amostras foliares, compostas por folhas recém-maduras do terço médio da copa, foram coletadas conforme os protocolos descritos por Chepote et al. (2013) e Oliveira et al. (2019). O material foi dividido em dois lotes idênticos e analisado independentemente por dois laboratórios: um pertencente à Embrapa e outro da rede privada, ambos empregando metodologias analíticas padronizadas. Os dados gerados foram utilizados para construir três conjuntos distintos de normas CND: um baseado nos dados do Laboratório 1, outro com os dados do Laboratório 2, e um terceiro a partir da combinação dos dois (conjunto total).

A avaliação da consistência diagnóstica considerou os teores médios e variâncias dos nutrientes, os índices CND individuais e a frequência de coincidência entre diagnósticos gerados com normas distintas (grau de concordância, GC%). A interpretação nutricional foi realizada com base em dois critérios complementares: o Potencial de Resposta à Adubação (PRA), com três e cinco classes (Wadt et al., 2005), e o critério da Matéria Seca (Hallmark et al., 1987), que considera a suficiência nutricional associada ao acúmulo de biomassa.

Diferentemente dos estudos anteriores, que avaliaram o impacto do estado nutricional na sanidade dos frutos (Artigo 1) e na qualidade bioquímica das amêndoas (Artigo 2), este estudo teve foco metodológico e estatístico, buscando entender em que medida o diagnóstico nutricional é afetado por variações inerentes aos processos analíticos, mesmo sob condições controladas. Os resultados obtidos oferecem subsídios técnicos fundamentais para a consolidação de um sistema diagnóstico regional, que incorpore não apenas normas específicas para as condições da Amazônia, mas também critérios de controle de qualidade laboratorial e validação cruzada de dados.

Além disso, esse estudo permitiu avançar na formulação de um modelo integrado de recomendação de adubação, o FertilizaCacau (seção 2.4), que utiliza as normas CND como base diagnóstica, integrando-as com atributos do solo e metas de produtividade. O

desenvolvimento dessa ferramenta está sendo finalizado e será incorporado ao sistema técnico de apoio à cacauicultura da região.

Os desdobramentos dessa investigação estão descritos na seção 3.3 – Resultados Obtidos – Artigo 3: “*As normas nutricionais foliares permanecem universais? Evidências interlaboratoriais a partir do cacauzeiro amazônico.*”

## **2.4 Estudos envolvendo a ciência do solo incluso a nutrição de plantas que contribui para programas de adubação do cacau (plataforma FertilizaCacau)**

A etapa anterior deste relatório apresentou os fundamentos experimentais que permitiram a construção de normas nutricionais específicas para o cacauzeiro na Amazônia, com base no método CND. Com essas informações consolidadas, esta seção avança para a aplicação prática desse conhecimento, detalhando o desenvolvimento de um sistema de diagnose nutricional regional adaptado à realidade amazônica.

Os teores de macro e micronutrientes foram utilizados para a construção de um conjunto inicial de normas CND, aplicando transformações log-centradas que possibilitam uma interpretação multivariada do equilíbrio nutricional das plantas (Parent; Dafir, 1992).

A análise estatística demonstrou equivalência dos teores médios entre as lavouras monitoradas e aquelas selecionadas para composição da população de referência, com exceção do Cu, que apresentou valores mais elevados nas amostras selecionadas. A comparação com dados da literatura revelou que os teores de N, P e K estavam frequentemente abaixo dos valores considerados ótimos, enquanto nutrientes como Ca, Mg e os micronutrientes apresentaram variações conforme a fonte. Esses resultados reforçam a importância de normas nutricionais regionais, com maior sensibilidade à realidade edafoclimática e genética local.

Considerando a necessidade de um processo contínuo de monitoramento nutricional com diagnósticos precisos, as normas geradas neste estudo, apresentadas na Tabela 1, representam uma ferramenta tecnicamente segura para integrar programas de adubação específicos, otimizando a produtividade das lavouras sem riscos de sub ou superdosagem.

**Tabela 1.** Normas multivariadas média (MMV) e desvio padrão (DMV) para a interpretação do balanço nutricional pelo método da Composição da Diagnose Nutricional, para os nutrientes N, P, K, Ca, Mg, S, B, Zn, Fe, Mn, Cu e a matéria seca,

Nutriente	MMV	DMV
N	1,1506791	0,0734035
P	-0,0063732	0,0995772
K	0,9403988	0,1168466
Ca	0,9117531	0,1242503
Mg	0,5774635	0,0689090
S	0,0868268	0,1925799
B	-1,5616541	0,1021438
Zn	-1,2397971	0,2349650
Fe	-1,1865829	0,1401032
Mn	-0,3572714	0,1911908
Cu	-2,1908126	0,2731709
MS	2,8753701	0,0516025

Dados expressos em g kg<sup>-1</sup>.

As informações de dados nutricionais da cultura obtidos com os resultados da análise química foliar, parte realizado na Unesp, e de atributos do solo obtidos pelas Instituições parceiras está sendo elaborado um método integrado de recomendação de adubação para lavouras de cacau em Rondônia, considerando a transição dos sistemas agroflorestais para o cultivo a pleno sol. Buscou-se desenvolver estratégias que possibilitem a reposição eficiente de nutrientes exportados, com ênfase em N, P e K, garantindo tanto a produtividade quanto a sustentabilidade das plantações.

Para tanto, está sendo desenvolvido um modelo que integra a avaliação da fertilidade do solo, a exportação de nutrientes e o estado nutricional das plantas, permitindo recomendações mais precisas e adaptadas às condições específicas de cada lavoura. O manejo de elementos essenciais, como B e Zn, também foi considerado, assim como a necessidade de calagem e gessagem, visando ajustes adequados às exigências nutricionais da cultura.

Na planilha "DadosBásicos", é essencial fornecer informações detalhadas para sua aplicação eficaz (Figura 1). Devem ser incluídos a dimensão do talhão, a contagem de cacauzeiros em fase produtiva e a produtividade de amêndoas secas por hectare. Caso o usuário utilize o balanço nutricional para recomendação de adubação, deve inserir os níveis dos seguintes nutrientes: N, P, K, Ca, Mg, S, B, Zn, Fe, Mn e Cu.

Além disso, é necessário informar dados críticos para a avaliação da fertilidade do solo, como pH em água, teor de carbono orgânico, teores trocáveis de Ca, Mg e Al,

K disponível, acidez potencial, além de P disponível e P remanescente. Informações adicionais, embora não obrigatórias, são recomendadas para garantir a correta identificação do talhão e facilitar a associação entre a diagnose foliar e a recomendação de adubação, otimizando o manejo agrícola.

**Figura 1.** Planilha de “DadosBásicos”, da pasta de trabalho FertilizaCacau.

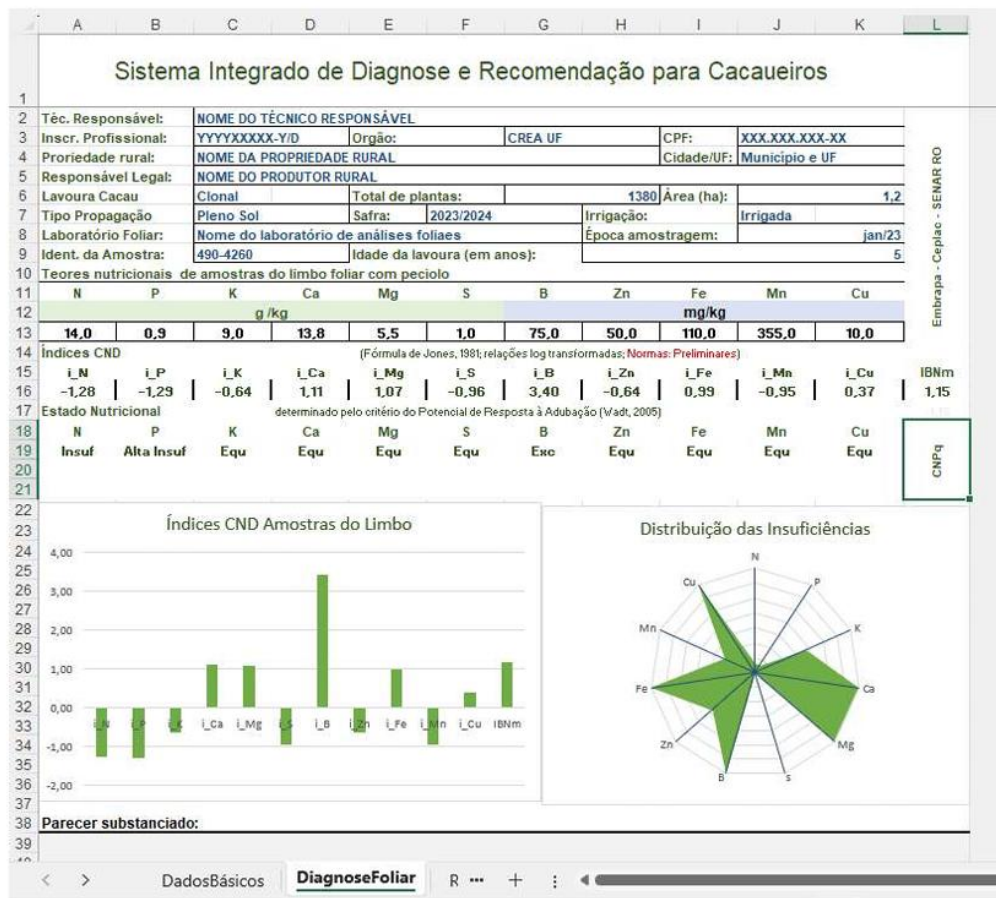
Sistema Integrado de Diagnóstico e Recomendação para Cacaueiros											
1											
2	Téc. Responsável:	NOME DO TÉCNICO RESPONSÁVEL									
3	Inscr. Profissional:	YYYYXXXX-Y/D	Orgão:	CREA UF	CPF:	XXX.XXX.XXX-XX					
4	Propriedade rural:	NOME DA PROPRIEDADE RURAL			Cidade/UF:	Município e UF					
5	Responsável Legal:	NOME DO PRODUTOR RURAL									
6	Lavoura Cacau	Clonal	Total de plantas:	1380	Área (ha):	1,2					
7	Sistema de Produção	Pleno Sol	Safra:	2023/2024	Irrigação:	Irrigada					
8	Produtividade (kg/ha)	1250	Idade da lavoura (em anos):								5
9	Laboratório Foliar:	Nome do laboratório de análises foliares			Dt Amostra Folhas:	jan/23					
10	Cod Amostra Foliar:	490-4260									
11	Laboratório F Solos	Nome do laboratório de análises de solos			Dt Amostra Solos:	jan/23					
12	Cód Amostra Solos	FS 5488/23									
13											
14											
15	Usar análise foliar na recomendação?	Não, utilizar apenas fertilidade do solo									
16											
17	Teores de nutrientes foliares										
18	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Zn	Fe	Mn	Cu
19	g /kg										
20	14,0	0,90	9,00	13,75	5,50	0,98	75	50	110	355	10
21											
22	Fertilidade dos solos										
23	pH H <sub>2</sub> O	C-org	Ca trocável	Mg trocável	Al trocável	K disponível	H + Al	CTC	P disponível	P rem	V%
24	adimensional	dag L <sup>-1</sup>	cmol (+) L <sup>-1</sup>								
25	5,80	0,74	2,80	0,60	0,00	0,34	3,48	7,22	14,00	36,00	51,80
26	Versão 20240223 - Autoria: WADT, P.G.S. (2023)										
27											
28											
29											
30											
31											

A planilha "DiagnoseFoliar" (Figura 2) sintetiza o estado nutricional dos cacaueiros, classificando cada nutriente em cinco categorias: alta insuficiência, insuficiência, equilibrado, excesso e alto excesso.

Além disso, apresenta gráficos de barras e radar para uma visualização clara e intuitiva dos dados, facilitando a interpretação e auxiliando na tomada de decisões para o manejo nutricional, fornecendo uma base sólida para intervenções agrônomicas.

A terceira planilha, "Recomendações", consolida as análises do estado nutricional e da fertilidade do solo, orientando a aplicação de N, P, K, B e Zn (Figura 3). Também inclui recomendações para calagem e/ou gessagem, conforme necessário. As dosagens são especificadas em kg ha<sup>-1</sup> e gramas por planta, ajustando-se às necessidades de cada lavoura.

Figura 2. Planilha de “DiagnoseFoliar”, da pasta de trabalho FertilizaCacau.



A abordagem, pretende superar as limitações dos métodos convencionais, que muitas vezes não asseguram o equilíbrio nutricional adequado das plantas. Ao alinhar as recomendações de adubação com as demandas ambientais e econômicas da cacauicultura em Rondônia, o estudo busca contribuir para uma agricultura mais eficiente, sustentável e produtiva, promovendo a implementação de programas de fertilização bem fundamentados e equilibrados.

Figura 3. Planilha de “Recomendações”, da pasta de trabalho FertilizaCacau.

Sistema Integrado de Diagnóstico e Recomendação para Cacaueiros											
2	Téc. Responsável: NOME DO TÉCNICO RESPONSÁVEL										
3	Inscr. Profissional: YYYXXXXX-YID			Orgão: CREA UF		CPF: XXX.XXX.XXX-XX					
4	Propriedade rural: NOME DA PROPRIEDADE RURAL						Cidade/UF Município e UF				
5	Responsável Legal: NOME DO PRODUTOR RURAL										
6	Lavoura Cacau: Clonal		Total de plantas: 1380		Área (ha): 1,2						
7	Tipo Propagação: Pleno Sol		Safrá: 2023/2024		Irrigação: Irrigada						
8	Laboratório Solos: Nome do laboratório de análises de solos										
9	Ident. da Amostra: FS 5488/23		Idade da lavoura (em anos): 5		Produtividade (kg h)		1250				
10	Adubação: Baseada apenas na interpretação da Fertilidade do Solo										
11	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Zn	Fe	Mn	Cu
12	lactf	Alta lactf	Eqe	Eqe	Eqe	Eqe	Exc	Eqe	Eqe	Eqe	Eqe
13	Fertilidade do Solo										
14	pH H <sub>2</sub> O	C-mq	Ca trocável	Mq trocável	Al trocável	K disponível	H + Al	CTC	P disponível	P rem	Vz
15	adimensional	dag L <sup>-1</sup>	dag L <sup>-1</sup>	dag L <sup>-1</sup>	dag L <sup>-1</sup>	cmol (+) L <sup>-1</sup>	cmol (+) L <sup>-1</sup>	cmol (+) L <sup>-1</sup>	mg L <sup>-1</sup>	mg L <sup>-1</sup>	%
16	5,80	0,74	2,80	0,60	0,00	0,34	3,48	1,22	14,00	36,00	51,80
17	acidez leve	baixo	alto	alto	alto	alto	alto	alto	baixo	baixo	baixo
18	Nutrientes (kg ha <sup>-1</sup> )										
19	Aplicações	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	Calcário	Gesso	B	Zn	Fe	Mn	Cu
20	Formulações	Composto		Simple	Simple	Simple	Simple	Simple	Composto		
21	Parcelamento	Dois	Um	Dois	Um	Um	Bimestra	Trimestr.	Trimestral	Trimestr.	Trimestral
22	1	53	105	43	394						
23	2	40		43							
24	3										
25	Foliar						0,3	1,0			
26	Total	99	105	86	394		1,0	2,0			
27	Parcelamento	Nutrientes (g planta <sup>-1</sup> )									
28	1	52	91	37	343						
29	2	34		37							
30	3										
31	Foliar						0,29	0,87			
32	Total	86	91	75	343		0,87	1,74	0,00	0,00	0,00
33	PRNT(%)	60									
34	ton ha <sup>-1</sup>	0,66									
35	Composto	Fórmula	kg ha <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>							
36	1	12 - 21 - 3	500	435							
37	2	20 - 0 - 22	195	170							
38	3	0 - 0 - 0									
39	Fontes	kg ha <sup>-1</sup>		g planta <sup>-1</sup>							
40	1	Uréia	S-Simples	KCl	Uréia	S-Simples	KCl				
41	2										
42	3										
43	Total	0	0	0							
44	<b>Parecer substanciado</b>										
45	Esse espaço deve ser utilizado para a inclusão do parecer substanciado do técnico. E no campo a seguir o técnico deverá inserir informações adicionais sobre a recomendação de nutrientes e fertilizantes.										
46											
47											
48											
49	<b>Recomendações:</b>										
50	Para incluir uma quebra de linha, use a combinação de teclas "Alt" + "Enter".										
51											
52	Pressione a tecla "Alt" onde pretende incluir a quebra, e pressione a seguir a tecla "Enter".										
53											
54	Esse texto deve ser evoluído antes de imprimir o relatório.										
55											
56	Essa planilha de cálculo deve ser utilizada apenas com acompanhamento do técnico responsável										
57											
58	Assinatura:	Nome: NOME DO TÉCNICO RESPONSÁVEL					Data: 28/2/24 12:00 AM				
59	Nome:	NOME DO TÉCNICO RESPONSÁVEL					Versão: 20230927 - Autoria: WADT, P.B.S. (2023)				

A Pasta de Trabalho, contendo as planilhas eletrônicas, está sendo finalizada os últimos ajustes junto com os parceiros e em breve estará disponível para os usuários Engenheiros Agrônomos e produtores rurais e demais interessados.

### **3- RESULTADOS OBTIDOS**

Os resultados serão apresentados no formato de artigo científico, dividido em três seções

3.1 Resultados Obtidos – Artigo 1: *“Clones de cacaueteiro modulam a tolerância a doenças dos frutos e desequilíbrios nutricionais, potencializando a produção do cacau na Amazônia.”*

3.2 Resultados Obtidos – Artigo 2: *“O uso de clones do cacaueteiro e a fermentação modulam o perfil bioquímico e nutricional em amêndoas de cacau da Amazônia.”*

3.3 Resultados Obtidos – Artigo 3: *“As normas nutricionais foliares permanecem universais? Evidências interlaboratoriais a partir do cacaueteiro amazônico.”*

### **3.1 Resultados Obtidos**

#### **Artigo 1**

**“Clones de cacaveiro modulam a tolerância a doenças dos frutos e  
desequilíbrios nutricionais, potencializando a produção do cacau na Amazônia”**

# Clones de cacauero modula a tolerância a doença dos frutos e desequilíbrios nutricionais potencializando a produção do cacau na Amazônia

Edilaine Istéfani Franklin Traspadini<sup>1\*</sup>, Renato de Mello Prado<sup>1</sup>, Paulo Guilherme Salvador Wadt<sup>2</sup>, Priscila Lupino Gratão<sup>1</sup>, Sylviane Beck Ribeiro<sup>3</sup>, Douglas Marcelo Pinheiro da Silva<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil <sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Porto Velho, Brasil <sup>3</sup>Universidade Federal de Rondônia, Rolim de Moura, Rondônia, <sup>4</sup>Universidade Federal do Amazonas

\*Autor correspondente, Universidade Estadual Paulista, via de acesso Professor Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900 Jaboticabal, Brasil e-mail: [edilainetraspadini@hotmail.com](mailto:edilainetraspadini@hotmail.com)

## RESUMO

O cultivo de cacau na Amazônia brasileira tem tido produtividade limitada devido aos desequilíbrios nutricionais associada com alta incidência de doenças se destacando a vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa*). Uma estratégia sustentável para aumento da produtividade do cacau nesta região seria uso de clones mais adaptados e tolerantes a estresses abióticos e bióticos, mas faltam pesquisas. Para isso, foi realizado um estudo objetivando-se avaliar a interação entre estado nutricional, produtividade e incidência da vassoura-de-bruxa em vinte e cinco clones de cacauero cultivados na Amazônia brasileira. Foram analisados dados agrônômicos, incidência de doenças nos frutos e teores foliares de nutrientes, com o uso da Diagnose de Composição Nutricional (CND). Os resultados revelaram que na região amazônica onde foram cultivados os clones tem-se desequilíbrios nutricionais sendo os mais críticos o excesso de N e a deficiência de B. O clone EEOP 96 apresentou a maior incidência de vassoura-de-bruxa e produtividade reduzida, estando associado a maior desbalanço nutricional. Em contrapartida, os clones EEOP 63 e EEOP 65 combinaram alta produtividade com menor incidência da doença indicando maior homeostase nutricional lidando melhor com os desequilíbrios nutricionais. A PCA confirmou a associação desses clones com maiores teores de Mn, Ca, Zn e Fe associado com maior produtividade e equilíbrio nutricional. Essa pesquisa propõe que a seleção de clones pode melhorar tolerância a doença nos frutos e o desequilíbrio nutricional e potencializar a produção sustentável do cacau na Amazônia.

**Palavras-chave:** *Theobroma cacao*; Diagnose nutricional; Vassoura-de-bruxa; Produtividade; Análise multivariada.

## INTRODUÇÃO

O cacau (*Theobroma cacao* L.) é uma árvore tropical originária da Bacia Amazônica e uma das culturas perenes mais importantes do mundo (Hebbar et al., 2019). Essa espécie é cultivada globalmente em regiões tropicais úmidas tendo grande importância comercial, especialmente para as indústrias alimentícia, devido ao uso de

seus grãos na produção de chocolate (Lahive et al., 2019; Hebbar et al., 2019). Em, 2023, a produção mundial foi estimada em 4,98 milhões de toneladas (ICCO, 2023) concentrando na África e menor proporção nas Américas incluindo Equador e o Brasil (ICCO, 2023; Kongor et al., 2024) e especialmente na região Amazônica (IBGE, 2024a).

Na região Amazônica, diversos fatores podem afetar a produtividade do cacau, especialmente a alta umidade e a precipitação excessiva, que criam um ambiente favorável ao desenvolvimento de doenças fúngicas (Kongor et al., 2024) destacando-se a vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa*) (Braga et al., 2024; Lima et al., 2022). Essa doença causa debilitação geral das árvores, causada pela intensa emissão de brotações, associada à podridão dos frutos, é considerada a principal causa de perdas na safra (Purdy e Schmidt, 1996).

Outro fator fundamental a ser destacado é a nutrição mineral equilibrada pois favorece a produtividade e resistência às doenças, impactando diretamente a qualidade dos frutos (Kongor et al., 2024; Suh e Molua, 2022). Na região amazônica, ainda são escassas as pesquisas que subsidiem programas robustos de recomendação de adubação para o cacauero. Isso pode resultar tanto em práticas de fertilização excessivas quanto em adubações insuficientes, comprometendo o estado nutricional das plantas. Embora existam estudos que caracterizam a fertilidade dos solos amazônicos (Numata et al., 2002; Barboza et al., 2011; Martins et al., 2023), muitos deles concentram-se nos macronutrientes, deixando de lado elementos essenciais como os micronutrientes. Essa lacuna é relevante, considerando que solos da região frequentemente apresentam baixos teores de micronutrientes como boro, zinco, cobre e manganês (Viéguas et al., 2000).

A absorção dos nutrientes, transporte e redistribuição e seus efeitos no metabolismo depende de processos bioquímicos tendo muitos compostos envolvidos como as enzimas que são codificadas por genes específicos induzidos por cada clone (Prado, 2021). É conhecido que a homeostase de nutrientes ao ajustar o metabolismo vegetal permite que algumas plantas mantenham produtividade mesmo sob alguma limitação nutricional de curto prazo ou em condições de estresse biótico. No entanto, isso depende do genótipo e das interações ambientais, sendo um fator essencial para a resiliência da planta contra doenças e condições adversas (Assunção et al., 2022; Braga et al., 2024). Dessa forma, compreender a relação entre nutrição, produtividade e tolerância a doenças pode contribuir para estratégias mais eficientes de manejo e indicação de potenciais clones para estudos complementares de melhoramento genético.

Para isso, é primordial realizar uma avaliação nutricional precisa do cacauero.

Nesse contexto, as abordagens multivariadas se destacam como métodos avançados, pois permitem uma interpretação mais abrangente das interações entre os nutrientes e seu impacto na produtividade. Assim, a Diagnose de Composição Nutricional (CND) (Parent e Dafir, 1992) se estabelece como uma ferramenta precisa para determinar o estado nutricional da planta (Souza et al., 2025; Traspadini et al., 2024), pois com os índices nutricionais é possível categorizar os nutrientes do mais ao menos limitante (Souza et al., 2023). No entanto, ainda são escassos os estudos que avaliaram o estado nutricional do cacauzeiro utilizando essa ferramenta.

O uso de ferramentas eficientes na avaliação do estado nutricional do cacauzeiro associado a busca por genótipos adaptados às condições da Amazônia é um ponto-chave para o avanço da cacauicultura na região. A maioria dos estudos que avaliaram diferentes genótipos de cacau foram realizados fora da região amazônica (Benjamin et al., 2025; Braga et al., 2024; Pereira et al., 2021; Macêdo et al., 2021; Marrocos et al., 2020; Lima et al., 2013). Os estudos realizados na Amazônia (Arévalo-Hernández et al., 2022; Rosas-Patiño et al., 2021; Paramo et al., 2015; Lima et al., 2022; Almeida et al., 2016; Okabe et al., 2004; Carvalho et al., 2001) não contemplam avaliação mais ampla das respostas de diferentes clones de cacau envolvendo a nutrição da planta associado a incidência de doenças.

Diante desse cenário, este estudo busca compreender o impacto de diferentes materiais genéticos de cacau e os seus efeitos na relação entre produtividade, estado nutricional e tolerância à vassoura-de-bruxa em clones cultivados na Amazônia. Nossa hipótese central é que determinados clones podem lidar melhor com desequilíbrio nutricional tendo tolerância a doenças dos frutos de cacau mantendo alta produtividade.

Se essa hipótese for aceita será possível indicar clones mais adaptados as condições adversas dos agroecossistemas do cacau da Amazônia podendo potencializar a produtividade da cultura sem risco para ambiente e economicamente favorável garantindo a sustentabilidade desta cultura estando alinhado aos objetivos do desenvolvimento sustentável (ODS).

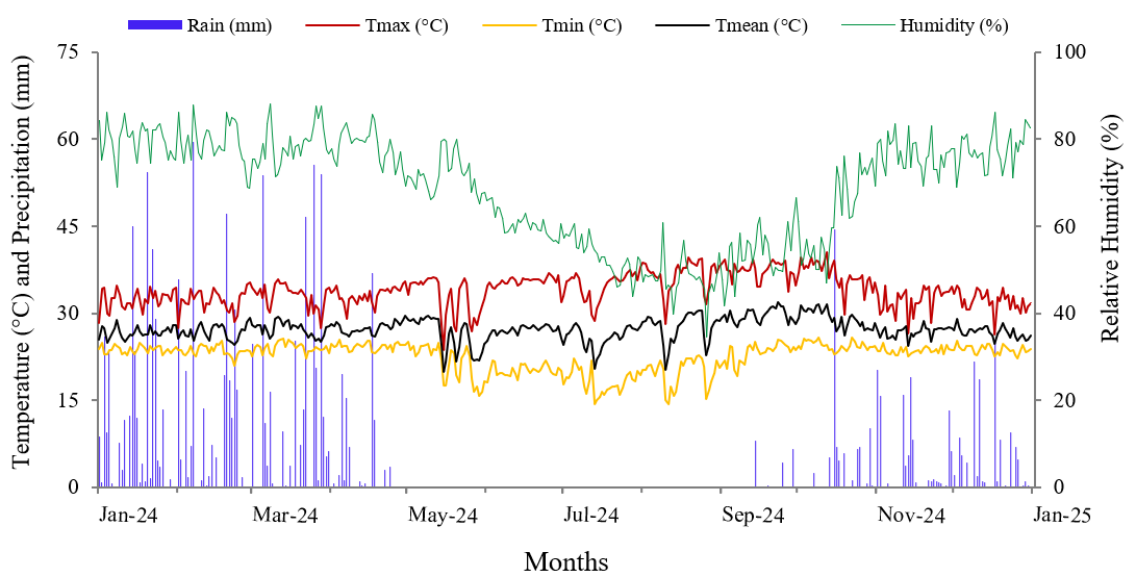
## **MATERIAL E MÉTODOS**

A presente pesquisa foi realizada com diferentes materiais genéticos de cacau cultivado em Acrisols na região Amazônica na Estação Experimental da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (Ceplac) (10°42'30"S, 62°13'30"W), situada no

município de Ouro Preto do Oeste, Brasil e com clima da região tipo Am conforme Köppen. Inclusive nesta região a temperatura média anual é de 25,6 °C, com umidade relativa média do ar de 89% e precipitação anual superior a 2.200 mm (Barbosa e Neves, 1983). Durante o ano experimental de 2024 foram obtidos dados meteorológicos obtido pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2024) (Figura 1).

**Figura 1.** Variação diária da temperatura do ar, umidade do ar e precipitação pluvial ao leste do estado de Rondônia, Brasil.

Fonte: INMET (2024)



O estudo foi realizado em uma área de produção de cacau com oito anos de idade, utilizando vinte e cinco clones dispostos em blocos ao acaso com três repetições. As plantas foram cultivadas em um espaçamento entre plantas 3m × 3 m, resultando em uma densidade populacional de 1.111 plantas por hectare. Os clones avaliados pertencem aos seguintes grupos: Para (P 12), Para híbrido (PH 16), Para seletivo (PS 1319), Ipiranga 1, Bahia Norte (BN 34), Clone Amazônico (CA 1.4), Cacau Cabruca (CAB 214), Coleção Castro Naranjal (CCN 51), Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC 2005) e Estação Experimental de Ouro Preto (EEOP 23, EEOP 26, EEOP 28, EEOP 32, EEOP 33, EEOP 63, EEOP 65, EEOP 66, EEOP 69, EEOP 80, EEOP 83, EEOP 89, EEOP 92, EEOP 96, EEOP 97). A unidade experimental foi composta por nove plantas de cacau.

Foram realizadas colheitas nos dias 2 e 30 de julho de 2024 e nessa ocasião houve uma categorização dos frutos quanto à incidência de ataque da broca-dos-frutos, da vassoura-de-bruxa e de sementes germinadas e foi obtido o número total de frutos. Os

frutos saudáveis foram analisados individualmente e com auxílio de uma balança analítica e foi obtido a massa da vagem inteira (kg), massa das sementes com mucilagem por fruto (kg), massa das sementes com mucilagem ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), número de sementes por fruto e número de frutos por hectare. A massa total das sementes frescas foi calculada pelo somatório das massas individuais de cada fruto, enquanto a massa média das sementes por fruto foi obtida pela divisão da massa total pelo número de frutos analisados.

Realizou-se a amostragem foliar (1 de agosto de 2024) do cacauzeiro para avaliar o estado nutricional das plantas a partir da coleta de quatro folhas recém-maduras do terço médio da planta em nove cacauzeiros totalizando trinta e seis folhas por parcela experimental. Em seguida, as folhas foram lavadas utilizando solução com detergente neutro e água e posteriormente, as amostras foram secas em estufa de circulação de ar fechada a 60 a 65°C até atingirem massa constante e foram moídas em moinho de facas tipo willey. Em seguida, realizou-se a análise química foliar para determinação dos teores de N, P, K, S, Ca, Mg, B, Cu, Fe, Mn e Zn, conforme métodos descritos por Bataglia et al. (1983). Os teores foliares de Si foram analisados segundo Kraska e Breitenbach (2010), enquanto os teores de carbono total foram determinados de acordo com Tedesco et al. (1995).

A partir dos teores foliares dos nutrientes do cacauzeiro foi realizado a diagnose nutricional dos nutrientes a partir do método de Compositional Nutrient Diagnosis (CND) (Parent e Dafir, 1992). Para essa etapa, foi calculada a relação multivariada dos nutrientes ( $z\text{Nutr}_j$ ) no conjunto de dados, possibilitando a comparação com a norma CND, que corresponde à média ( $m\text{Nutr}_j$ ) e ao desvio-padrão ( $s\text{Nutr}_j$ ) das relações multivariadas obtidas a partir de lavouras de alta produtividade (Traspadini et al. 2019). Essa comparação consiste no cálculo dos índices nutricionais (Eq.1). A norma foi estabelecida com base em um conjunto de 194 áreas comerciais de cacau na Amazônia, monitoradas em regiões próximas à área experimental (dados não publicados).

$$i_{\text{Nutr}_j} = (z\text{Nutr}_j - m\text{Nutr}_j) / s\text{Nutr}_j \quad [1]$$

Em que,  $i_{\text{Nutr}_j}$  representa o índice CND do nutriente;  $z\text{Nutr}_j$  é a relação multivariada para o nutriente;  $m\text{Nutr}_j$  e  $s\text{Nutr}_j$  são a média e o desvio-padrão das relações multivariadas do nutriente (norma CND), respectivamente;  $j$  representa cada nutriente específico dentro do conjunto de nutrientes avaliados.

The index can be negative, zero, or positive, depending on whether the multivariate relationship is below, equal to, or above the reference mean, respectively. To interpret the CND indices, the Responsiveness to Fertilization method was applied, using

the Average Nutrient Balance Index (aNBI) as the classification criterion (Wadt, 2005). The aNBI was calculated as the sum of the absolute values of the individual nutrient balance indices (i) (Alvarez & Leite, 1999), divided by the number of evaluated nutrients (n) (Eq. 2).

$$\text{aNBI} = \{ |iN| + |iK| + |iCa| + |iMg| + |iCa| + |iP| + |iS| + |iMn| + |iFe| + |iZ| + |iCu| + |iB| \} / n \quad [2]$$

In the Responsiveness to Fertilization method (Wadt, 2005), each nutritional diagnosis considers both the Index value and the aNBI. An index is classified as insufficient when it has a negative value and its absolute magnitude exceeds 50% of the aNBI (Eq. 3). Similarly, an index is classified as exceeded when it has a positive value and its absolute magnitude also exceeds 50% of the aNBI (Eq. 4). In all other cases, the index is considered balanced.

$$\text{Insufficient: Index} < 0 \text{ and } |\text{Index}| > 0,5 \times \text{aNBI} \quad [3]$$

$$\text{Exceeded: Index} > 0 \text{ and } |\text{Index}| > 0,5 \times \text{aNBI} \quad [4]$$

Para a análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o software Python. A análise multivariada foi realizada por Análise de Componentes Principais (PCA) para identificar padrões entre os clones. O método de agrupamento K-Means foi aplicado para segmentação dos genótipos com base nas variáveis estudadas. A matriz de cargas fatoriais foi utilizada para identificar as variáveis com maior influência na separação dos componentes principais. As análises foram conduzidas no Python, utilizando as bibliotecas scikit-learn e matplotlib.

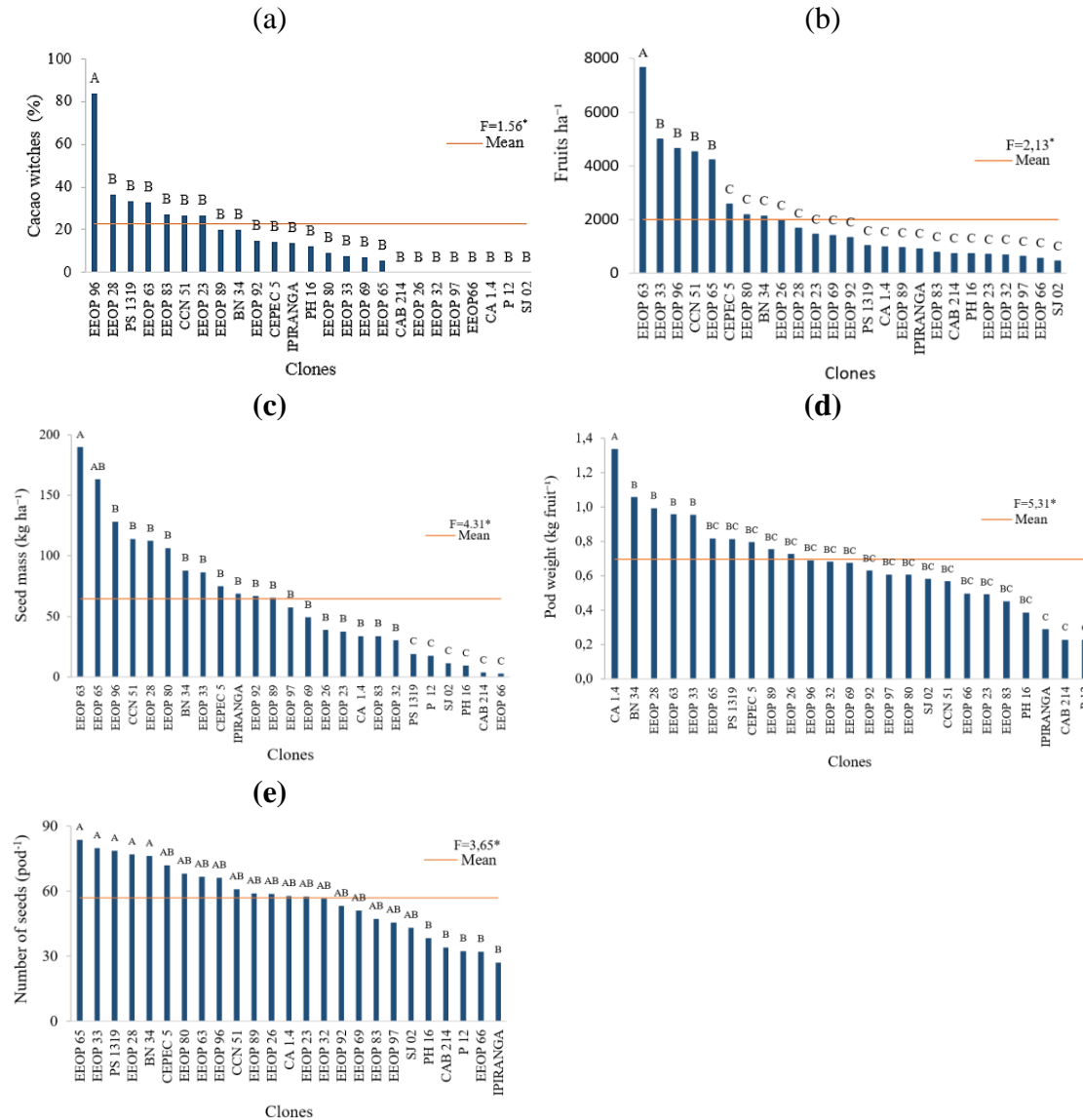
## RESULTADOS

A incidência da broca-dos-frutos ( $F=0,71^{ns}$ ;  $p>0,05$ ), germinação de sementes ( $F=0,84^{ns}$ ;  $p>0,05$ ), massa de uma semente ( $F=1,07^{ns}$ ;  $p>0,05$ ), e a massa das sementes por fruto ( $F=1,47^{ns}$ ;  $p>0,05$ ) não foram afetados pelos tratamentos.

O clone EEOP 96 apresentou a maior incidência de vassoura-de-bruxa em comparação aos demais clones (Figura 1a). O Clone EEOP 63 apresenta o maior número de frutos por hectare entre os clones avaliados (Figura 1b). Para a massa das sementes por hectare, o clone EEOP 63 se destacou, mas de forma semelhante ao EEOP 65, porém esse segundo clone diferiu apenas dos clones PS 1319, P 12, SJ 02, PH 16, CAB 214 e EEOP 66 (Figura 1c). O clone CA 1.4 apresentou o maior valor para a massa por fruto (inteiro), se diferenciando estaticamente dos demais clones avaliados (Figura 2d). Para o número de sementes por fruto, houve maior destaque aos clones EEOP 65, EEOP 33 e

PS 1319, EEOP 28 e BN 34 (Figura 1e), porém eles se diferem estatisticamente apenas dos clones PH 16, CAB 214, P 12, EEOP 66 e IPIRANGA.

**Figura 1.** Efeitos de vinte e cinco clones de cacau na incidência da vassoura de bruxa nos frutos (a), frutos por hectare (b) massa de sementes por hectare (c) massa por fruto (d), número de sementes por fruto (e) Médias com letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0.05$ ).



O teor de S ( $F = 0.97ns$ ;  $p > 0.05$ ), B ( $F = 1.46ns$ ;  $p > 0.05$ ), Mn ( $F = 1.47$ ;  $p > 0.05$ ), Fe ( $F = 1.48ns$ ;  $p > 0.05$ ) Zn ( $F = 1.45ns$ ;  $p > 0.05$ ) e carbono ( $F = 1.55ns$ ;  $p > 0.05$ ), não foram afetados pelos tratamentos. Para o teor foliar de N o clone EEOP 32 se destacou, mas de forma semelhante ao PH 16, porém esse segundo clone diferiu apenas dos clones EEOP 26 e BN 34 (Figura 2a).

**Figura 2.** Efeitos de vinte e cinco clones de cacau nos teores médios de nitrogênio (N) fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), silício (Si) e cobre (Cu). Médias com letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0.05$ ).



Os teores de P foliar foram baixo para os clones PH 16, EEOP 26, CAB 214,

EEOP 80, IPIRANGA, PS 1319, EEOP 97 e CEPEC 5 em relação aos demais clones (Figura 3b). Para os teores foliares de K a maioria dos clones apresentaram teores elevados exceto os clones PS 1319 e PH 16 (Figura 2c). O teor de Ca se destacou para o Clone EEOP 28 mas para os clones PH 16 e PS 1319 tiveram menos teores deste elemento (Figura 2d). Para o teor foliar de Mg o clone EEOP 28 se destacou, mas de forma semelhante ao EEOP 65, porém esse segundo clone diferiu apenas dos clones PS 1319 e PH 16 (Figura 2e).

Os clones EEOP 28, EEOP 89 e EEOP 97 apresentaram os maiores teores foliares de Si, diferenciando-se estatisticamente dos demais (Figura 2f). Em contraste, os menores teores de silício foram observados nos clones EEOP 69, EEOP 33, CA 14, CAB 214, PS 1319, SJ 02, EEOP 32 e BN 34. Os maiores teores foliares de Cu foram obtidos nos clones EEOP 33, EEOP 28, BN 34, EEOP 32, P 12, CA 14 e CCN 51, mas os clones PH 16, IPIRANGA, CEPEC 5, EEOP 97 e SJ 02, apresentaram os menores teores deste nutriente (Figura 2g).

O aNBI variou de 5,1 a 5,6 entre os clones, tendo índice baixo para os clones EEOP 33 e CCN 51, indicando menor desbalanço entre os nutrientes (Figura 3) e índices altos (5,6) para os clones EEOP 66, EEOP 69 e P12 que indicam maior desbalanço nutricional.

Essa variação no aNBI reflete diretamente os desequilíbrios nutricionais observados entre os clones. Em particular, os resultados indicam que N, K, Mg e Ca apresentaram valores positivos elevados, superiores ao aNBI, sugerindo um maior desbalanço nutricional com tendência para o excesso. No entanto, deve-se destacar que houve variação entre os clones, ou seja, houve diferentes níveis de desordens nutricionais entre os materiais genéticos estudados. Houve maiores índices de N, que variou de 19,9 (BN 34) a 30,7 (PH 16). Para K, os teores oscilaram entre 15,1 (PH 16) e 21,3 (EEOP 32). O Mg variou de 12,6 (PH 16) a 20,8 (EEOP 32), enquanto Ca apresentou a menor variação, de 11,2 (BN 34) a 16,7 (EEOP 97).

Em contraste, Zn, Cu e B apresentaram valores negativos expressivos, caracterizando deficiência generalizada (Figura 3). Zn variou de -8,1 (PH 16) a -4,8 (CAB 214), Cu de -11,8 (PH 16) a -8,2 (BN 34), e B de -17,8 (IPIRANGA) a -11,0 (PH 16). Enquanto, os índices de P e de S apresentaram valores próximos de zero e abaixo do aNBI, indicando equilíbrio nutricional (Figura 3). P variou de -2,0 (IPIRANGA) a 4,2 (EEOP 32), enquanto S oscilou entre -0,4 (EEOP 28) e 3,5 (PH 16). Entre os micronutrientes, Mn e Fe também apresentaram valores próximos de zero, mas com

maior variação, alternando entre valores acima e abaixo do aNBI. Mn variou de -7,9 (EEOP 32) a -1,6 (EEOP 23), e Fe de 1,4 (PS 1318) a -9,6 (CAB 214).

**Figura 3.** Mapa de calor da ordem de limitação nutricional N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Mn, Zn e Fe, em vinte e cinco clones de cacaueteiro, determinada com base nos índices nutricionais obtidos pelo método CND.

Clones	Excess					Balance		Deficiency						
	iN	iK	iMg	iCa	aNBI	iP	iS	iMn	aNBI	iFe	iZn	iCu	iB	
EEOP 63	23,7	18,8	18,1	14,5	5,4	0,7	1,4	-4,1	-5,4	-4,0	-6,3	-10,5	-15,7	
EEOP 65	23,9	18,9	20,2	14,1	5,4	1,7	1,8	-4,0	-5,4	-2,4	-6,0	-9,9	-16,4	
EEOP 96	24,3	18,4	17,4	13,7	5,3	1,0	1,3	-4,2	-5,3	-4,8	-6,3	-9,8	-16,0	
CCN 51	23,4	16,9	17,3	14,5	5,1	1,0	1,0	-4,2	-5,1	-0,2	-6,4	-9,4	-16,9	
EEOP 28	22,1	16,7	19,2	16,0	5,3	0,4	0,2	-2,9	-5,3	-6,6	-6,9	-9,2	-16,7	
EEOP 80	22,6	19,5	16,5	13,0	5,2	-0,8	1,8	-4,2	-5,2	-4,1	-4,9	-9,9	-16,1	
BN 34	22,4	18,5	17,9	13,6	5,2	2,2	1,3	-4,6	-5,2	-4,8	-6,2	-8,4	-14,2	
EEOP 33	23,8	19,1	17,8	13,1	5,1	0,1	0,7	-3,0	-5,1	-5,2	-5,8	-8,8	-14,8	
CEPEC 5	22,8	16,8	19,3	15,7	5,2	-1,9	0,3	-1,4	-5,2	-3,9	-6,4	-11,2	-15,7	
PIRANGA	23,9	17,4	16,7	15,6	5,3	-0,4	1,2	-4,1	-5,3	-3,4	-6,2	-11,1	-15,8	
EEOP 92	25,0	19,7	17,7	12,8	5,4	1,2	1,4	-4,8	-5,4	-5,9	-6,3	-9,6	-15,5	
EEOP 89	23,7	18,1	16,9	13,5	5,3	0,7	1,1	-4,4	-5,3	-5,1	-6,5	-9,9	-16,1	
EEOP 97	24,3	17,8	16,3	15,2	5,4	-0,3	1,5	-4,5	-5,4	-3,8	-6,9	-10,9	-15,9	
EEOP 69	24,7	19,4	18,5	13,0	5,6	3,0	2,4	-5,5	-5,6	-7,1	-5,5	-10,2	-14,0	
EEOP 26	23,4	19,5	17,8	14,3	5,5	1,3	1,1	-5,5	-5,5	-7,1	-6,1	-9,3	-14,5	
EEOP 23	24,0	17,6	19,2	14,6	5,5	1,4	1,7	-2,5	-5,5	-6,5	-6,9	-9,8	-15,9	
CA 1.4	24,5	18,9	17,9	12,7	5,3	1,6	1,5	-4,8	-5,3	-5,1	-6,5	-8,8	-14,6	
EEOP 83	24,7	17,6	16,0	13,9	5,3	1,9	2,0	-3,6	-5,3	-4,9	-6,7	-9,9	-15,3	
EEOP 32	27,2	18,9	18,5	14,0	5,5	1,6	0,8	-5,6	-5,5	-5,0	-5,8	-8,8	-14,2	
PS 1319	26,5	18,4	16,2	14,1	5,3	0,3	1,5	-5,4	-5,3	-2,3	-6,1	-10,0	-14,4	
P 12	25,7	19,7	17,0	13,2	5,6	1,6	1,8	-5,7	-5,6	-7,0	-6,1	-8,8	-16,0	
SJ 02	24,6	20,2	17,0	13,4	5,3	1,5	1,3	-2,7	-5,3	-3,0	-6,1	-11,1	-15,2	
PH 16	27,2	16,1	15,0	13,6	5,3	1,3	1,7	-5,1	-5,3	-5,0	-7,2	-10,7	-12,4	
CAB 214	24,8	20,2	17,9	13,6	5,4	0,5	1,6	-4,7	-5,4	-6,9	-5,5	-9,3	-14,7	
EEOP 66	24,3	20,4	18,3	14,1	5,6	1,2	1,5	-4,7	-5,6	-7,5	-6,6	-10,3	-14,4	

A interpretação dos índices nutricionais (Figura 3) com base no aNBI permitiu consolidar os resultados (Tabela 1), pois indica a porcentagem das classificações nutricionais dos vinte e cinco clones de cacaueteiro. A diagnose nutricional revelou que, em 100% dos casos, as plantas apresentaram teores de N, K, Ca e Mg acima do nível de suficiência, enquanto P e S foram classificados como suficientes em todos os diagnósticos. Quanto aos micronutrientes, B e Cu foram diagnosticados por deficiência atingindo valor de 100% e o Zn atingiu 92%, com poucos casos de suficiência. Por outro lado, Mn e Fe tiveram maior proporção de suficiência, embora ainda apresentassem casos de deficiência, com incidência de 29% e 43%, respectivamente.

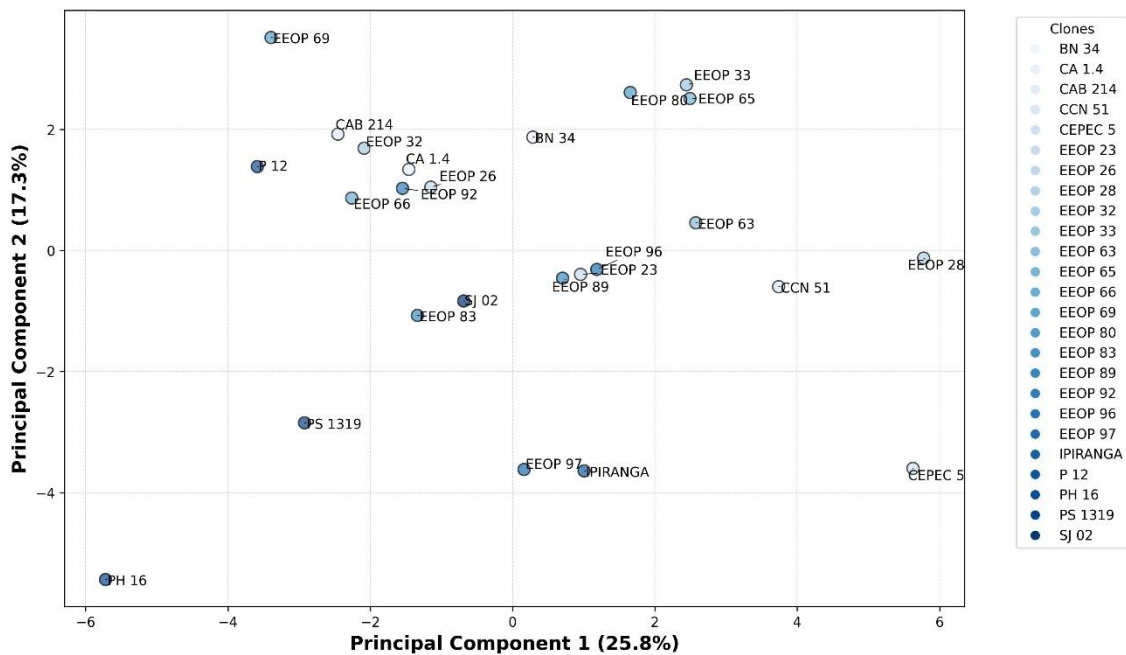
**Tabela 1.** Porcentagem de diagnósticos de deficiência (DF), suficiência (SF) e excesso (EX) nutricional em vinte e cinco clones de cacaueteiro avaliados na Amazônia.

Diagnostico	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Mn	Zn	Fe
DF	0	0	0	0	0	0	100	100	29	92	43
SF	0	100	0	0	0	100	0	0	71	8	57
EX	100	0	100	100	100	0	0	0	0	0	0

Os diagnósticos foram realizados a partir de normas CND de referência obtidos de 194 lavouras de Cacau monitoradas em Rondônia (dados não publicados), considerando aNBI (50%) respectivo a cada clone.

A Análise de Componentes Principais (PCA) revelou a distribuição dos clones de cacauero com base nas características avaliadas. Os dois primeiros componentes principais explicaram 25,8% (PC1) e 17,3% (PC2) da variabilidade total dos dados. A dispersão dos clones no espaço multivariado destacou a diversidade genética presente no grupo avaliado, evidenciando possíveis padrões de agrupamento entre os genótipos analisados (Figura 4).

**Figura 4.** Análise de Componentes Principais (PCA) para identificação de agrupamento entre 25 clones de cacauero avaliados na Amazônia.

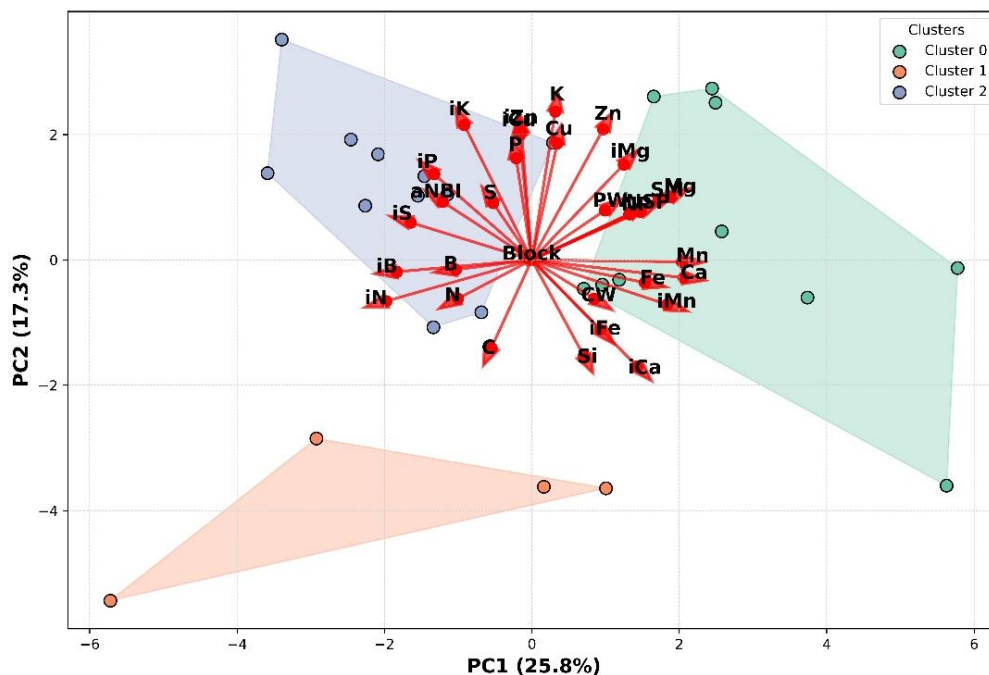


Os clones EEOP 33, EEOP 65 e EEOP 80 se posicionaram na região positiva do PC1, indicando que compartilham características associadas a esses eixos. Em contrapartida, os clones PH 16 e PS 1319 foram alocados na extremidade negativa, sugerindo perfis contrastantes. O clone EEOP 96, EEOP 23 e EEOP 89, localizado próximo a região central e pode apresentar características intermediárias entre os grupos extremos. Os clones como CAB 214, P 12, EEOP 69 se agruparam na região superior do PC2, sugerindo atributos diferenciados em relação aos demais, especialmente ao CEPEC 2005 (Figura 4).

A análise de componentes principais (PCA) revelou a separação dos clones de cacauero em três grupos distintos com base na composição mineral e produtividade (Figura 5). O Cluster 0, localizado na região direita da figura (PC1+ e PC2+), foi

associado a maiores teores de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Si e de produtividade. No entanto, esse grupo também apresentou a maior incidência de vassoura-de-bruxa. O Cluster 1, situado na região inferior esquerda (PC1- e PC2-), indicou maior distanciamento dos demais grupos, indicando clones com padrões nutricionais distintos tendo menor produtividade e ocorrência da doença. Já o Cluster 2, localizado na região superior esquerda (PC1- e PC2+), agrupou clones com maiores teores de N, K, B e S, que refletiu em maior desbalanço nutricional (aBNI). A separação dos grupos pode estar relacionada a variações na composição nutricional, produtividade e respostas a estresses bióticos, incluindo fatores associados à vassoura-de-bruxa.

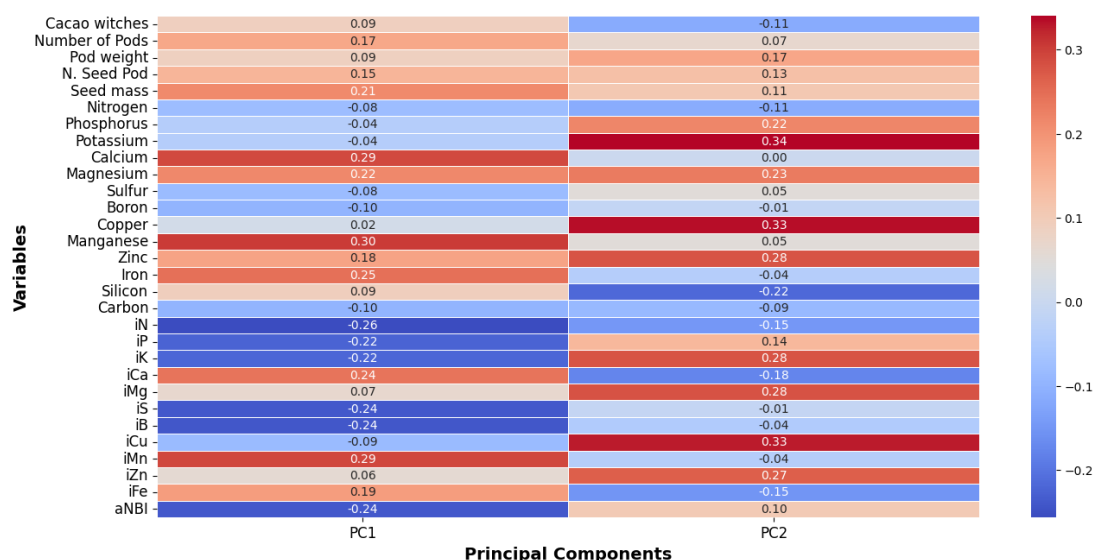
**Figura 5.** Biplot da Análise de Componentes Principais (PCA) com agrupamento por K-Means para os clones de cacaueteiro avaliados na Amazônia.



A matriz de cargas fatoriais indica as variáveis que tiveram maior impacto na separação dos clones (Figura 6). O Mn (0,30), iMn (0,29), cálcio (0,29), iCa (0,24) e Fe (0,25) apresentaram as maiores cargas positivas no PC1, indicando que clones com valores elevados de PC1 tendem a ter maiores concentrações e índices desses nutrientes. Em contraste, os índices iN (-0,26), iS (-0,24), iB (-0,24) e aBNI (-0,24) exibiram as maiores cargas negativas, sugerindo que clones com menor PC1 possuem maior desbalanço nutricional, especialmente em relação ao nitrogênio, enxofre e boro.

Assim, os clones PH 16, SJ 02, CAB 214 e EEOP 66, localizados à esquerda do gráfico PCA (PC1 menor) (Figura 4), apresentaram os maiores valores de aBNI e índices nutricionais elevados (iN e iB), refletindo um desbalanço mais acentuado. Em contrapartida, os clones EEOP 28, CCN 51, EEOP 65 e EEOP 63, posicionados à direita (PC1 maior), exibiram menor desbalanço nutricional e maior disponibilidade de manganês, cálcio, magnésio, ferro e zinco, sendo EEOP 65 e EEOP 63 os de maior produtividade.

**Figura 6.** Heatmap das cargas fatoriais nos componentes principais (PC) para clones de cacauzeiro avaliados na Amazônia.



O PC2 destacou o papel do potássio (0,34), iK (0,28), cobre (0,33), iCu (0,33), zinco (0,28), iZn (0,27) e iMg (0,29) apresentaram as maiores cargas positivas no PC2, indicando que clones com valores elevados de PC2 tendem a ter maiores concentrações desses nutrientes e índices. O silício (-0,22) apresentaram cargas negativas, indicando que clones com maior acúmulo desses elementos se posicionaram de forma distinta no segundo componente principal.

Nesse contexto, os clones EEOP 63, EEOP 96, EEOP 23, CCN 51, que possuem valores mais elevados de PC1 e PC2, apresentaram maior produtividade e teores de silício. Os clones como EEOP 97 e IPIRANGA, situados no quadrante oposto (PC1 negativo e PC2 positivo), tendem a apresentar menores teores de silício. Os clones PH 16 e PS 1319, localizados no quadrante de PC1 negativo e PC2 negativo, também se

distanciam da influência do silício, o que pode indicar diferenças na absorção ou na alocação desse nutriente em relação aos demais genótipos avaliados.

## DISCUSSÃO

A região Amazônica tem ampliado o cultivo do cacau, mas ainda enfrenta desafios para aumentar a produtividade (Kongor et al., 2024; Suh e Molua, 2022). Um dos principais entraves é a severidade do patógeno *Moniliophthora perniciosa*, causador da vassoura-de-bruxa (Santos et al., 2023; Cilas e Bastide, 2020), que compromete a produção e a qualidade dos frutos (Kongor et al., 2024).

Uma estratégia eficaz para reduzir as perdas causadas pela doença é o uso de clones mais tolerantes (Pereira et al., 2024), abordagem já investigada em diversas regiões do Brasil (Pereira et al., 2021; Macêdo et al., 2021; Marrocos et al., 2020; Lima et al., 2013) e também na Amazônia (Arévalo-Hernández et al., 2022; Rosas-Patiño et al., 2021; Paramo et al., 2015; Lima et al., 2022; Almeida et al., 2016; Okabe et al., 2004). No entanto, esses estudos tiveram foco na produtividade em condições nutricionais otimizadas não considerando a relação entre a vassoura-de-bruxa detectada nos frutos e a produtividade e a influência do estado nutricional da cultura do cacau.

Isso é relevante porque o cultivo do cacau na região amazônica pode ter desequilíbrios nutricionais aliada a pressão por doenças e, portanto, é primordial avançar nos estudos para identificar clones mais adaptados a essas condições reais de cultivo. Evidenciamos, de forma geral, por meio do uso do método CND, uma ferramenta avançada para avaliação nutricional, que a cultura do cacau na área estudada, representativa de áreas amazônicas adjacentes, apresenta desequilíbrios sendo mais crítico o excesso de N e a deficiência de B. Inclusive existem indicações que o cacau cultivado na Amazônia também obtiverem alto teor foliar de N especialmente no clone CCN-51 (Paramo et al., 2015) e pode ter solos com deficiência de micronutrientes possivelmente devido material de origem do solo e aos processos de intemperização (Viégas et al., 2000; Barboza et al., 2011).

Observamos que o clone EEOP 96 se destacou tendo alta incidência da doença nos frutos e isso resultou em diminuição da produtividade do cacau próximo de 32% em relação ao clone mais produtivo. Isso ocorreu porque os danos causados pela vassoura-de-bruxa debilitam as árvores, devido à intensa descarga de brotos e podridão dos frutos, resultando em prejuízos produtivos significativos (Purdy & Schmidt, 1996).

É possível que esse clone pode não ter lidado bem com as desordens nutricionais da área de cultivo especialmente os mais críticos induzido pelo excesso de N e deficiência de B e de Cu e conseqüentemente aumentou a incidência de doença pelo fato que esses nutrientes têm relação direta com enfermidades e nutrição da planta. A extensão destes desequilíbrios na planta depende do fator genético pois o metabolismo destes nutrientes é afetado por processos enzimáticos codificados por genes que governa o metabolismo e as sínteses orgânicas para o crescimento e a defesa da planta (Prado, 2021).

Por exemplo, o excesso de N em plantas se não metabolizado rapidamente pode acumular nas células compostos de baixo peso molecular que é considerado alimento para o patógeno (Sun et al., 2020). Enquanto a deficiência de B causa prejuízos na formação das membranas e da parede celular que confere rigidez no tecido vegetal (Riaz et al., 2018), fato semelhante com o Cu pois sua falta diminuir a lignificação da parede celular (Liu et al., 2014). É possível que esse clone tem restrições no processo de absorção e uso destes micronutrientes associado a uma baixa habilidade para uma homeostase destes nutrientes nas células para evitar prejuízos no metabolismo celular e conseqüentemente limita o sistema de defesa da planta e a produção.

Inclusive a análise de componentes principais reforça essa hipótese ao posicionar o clone EEOP 96 em uma região central da figura, afastada dos quadrantes relacionados aos maiores valores de produtividade, equilíbrio nutricional e teores adequados de micronutrientes como Mn, Ca e Zn. Portanto, esse clone tem sua posição próxima a vetores associados a excesso de nitrogênio (N e iN) e a deficiências relativas de B, Cu e outros micronutrientes, evidenciando sua associação com o desequilíbrio nutricional geral. Isso sugere baixa eficiência na homeostase iônica e nutricional, pode ter comprometido não apenas a produção, mas também a ativação dos mecanismos de defesa da planta contra o patógeno.

Esses resultados indicam a importância para seleção de clones tolerantes a vassoura de bruxa fato que foi constatado para maioria dos clones estudados exceto EEOP 96. A resistência genética tem sido amplamente considerada uma estratégia essencial para o manejo da vassoura-de-bruxa (Pereira et al., 2024; Macêdo et al., 2021; Pereira et al., 2021) e pode variar entre genótipos, impactando diretamente a produtividade (Pereira et al., 2021).

Um destaque relevante que os clones EEOP 63 e EEOP 65 estudados cultivados na região Amazônica se destacaram tendo alta produção de massa de sementes por hectare e conciliou com maior tolerância da doença. Resultados semelhantes realizados na mesma

região foram obtidos com outro clone EEOP 33 que indicou boa tolerância a doença e produtivo (Almeida et al., 2016).

É possível que esses resultados da baixa incidência da doença nestes clones EEOP 63 e EEOP 65 podem ter ocorrido pelo fato que a infecção possa ter ocorrido apenas na fase reprodutiva não afetando a parte vegetativa da planta e especialmente ao aspecto nutricional destes genótipos que pode fortalecer o sistema de defesa da planta e manter alta produtividade.

Evidenciamos que esses clones também se destacaram em relação aos demais clones devido altos teores foliares de P, K, Ca, Mg que são nutrientes importantes no sistema de defesa da planta. Soma-se a isso, que esses clones mais produtivos tenham lidado melhor com desequilíbrios indicado pelo método CND ou seja o excesso de N e deficiência de B. Isso pode ter ocorrido devido à maior eficiência nutricional destes clones especialmente na alta assimilação do N (Prado, 2021) associado maior eficiência de absorção dos nutrientes que depende dos clones (Arévalo-Gardini et al., 2021).

Isso ocorre pelo fato dos transportadores das membranas nutrientes de alta eficiência que pode aumentar a absorção dos micronutrientes como o B evitando a deficiência e comprometimento das suas funções nutricionais na formação da parede celular e na fase reprodutiva no pegamento da florada e na frutificação (Prado, 2021). Inclusive nesses dois clones a suficiência de Mn e de Fe, pode ter sustentado um metabolismo mais eficiente destes nutrientes e, conseqüentemente, fortalecido sistema de defesa aliado aos bons rendimentos destes clones. Observou-se também que nestes clones não apresentaram baixos teores de silício em relação aos demais clones. Inclusive esse elemento por fortalecer as paredes celulares tem efeito físico de defesa contra patógenos (Prado et al., 2024), além de atenuar o estresse oxidativo (Pandey et al., 2024), o que pode ter contribuído para a tolerância à vassoura-de-bruxa e manutenção da produtividade.

Evidenciamos pela análise de componentes principais (PCA) que os clones mais produtivos foram agrupados em regiões influenciadas por número de sementes, massa total de sementes e balanço nutricional adequado, indicando forte correlação entre esses fatores e o desempenho agrônômico. Inclusive o clone EEOP 65, que apresentou apenas 6% de incidência de vassoura-de-bruxa e a alta produtividade esteve associado aos níveis adequados de micronutrientes como Mn, Zn, Fe e Ca. E de forma geral para os clones mais produtivos os nutrientes K, Cu, Mn, Ca, Mg e Zn que foram determinantes. Isso difere parcialmente de Marrocos et al. (2020), que destacaram K, Ca e Mg como elementos mais associados à produtividade. Cabe destacar que no presente estudo a maior

influência dos nutrientes indicados na produtividade do cacau pode estar relacionada às características edafoclimáticas específicas da região amazônica e especialmente do material genético utilizado.

Um outro aspecto importante é compreender melhor porque clones com determinada tolerância a vassoura-de-bruxa esteve associada com baixa produtividade fatos que ficaram mais evidentes nos clones PH 16, PS 1319, CAB 214, P 12, SJ 02, EEOP 66 possivelmente por restrições nutricionais. Esses resultados não são de comum ocorrência pois é mais frequente ter clones (EEOP 23) mais sensíveis a doença com produção limitada (Almeida et al, 2016).

Inclusive evidenciamos que nestes clones de baixa produtividade também tiveram os menores teores foliares de alguns nutrientes em relação aos demais clones reforçando a relevância da questão nutricional. Verificamos teores baixos de diferentes elementos com destaque aos clones PH 16 (K, Ca, Mg, Cu) e PS 1319 (P, K, Ca, Mg e Si) em relação aos clones CAB 214 (P, Mg e Si), SJ02 (Mg, Cu e Si) e P12 (Mg). No entanto, pela diagnose do CND essas variações dos teores foliares podem ter contribuído para induzir um maior desequilíbrio de outros nutrientes e conseqüentemente esses clones não foram eficientes para lidar com essas desordens nutricionais mais críticas como excesso de N e a deficiência de B. Inclusive os clones PH 16, SJ 02, CAB 214 e EEOP 66, localizados à esquerda do gráfico PCA (PC1 menor) (Figura 4), apresentaram os maiores valores de aBNI e índices nutricionais negativos ( $iN$  e  $iB$ ), refletindo um desbalanço nutricional mais acentuado.

Além disso, clones com maior desbalanço nutricional (maiores aBNI), como EEOP 66 e P 12, também foram os menos produtivos. E ainda, os clones P12, SJ 02, PH 16, EEOP 66 e CAB 214, apresentaram deficiência de B moderada e severa para Mn e/ou Fe em relação aos clones mais produtivos. Isso indica que, embora a deficiência de B seja importante, a limitação de outros micronutrientes, como Mn e Fe, pode ter exercido maior influência negativa sobre o desempenho produtivo desses genótipos. A deficiência de Mn afeta a estabilidade do PSII e a organização dos tilacoides, reduzindo a eficiência fotoquímica (Messant et al., 2023), enquanto a deficiência de Fe compromete a captação de luz limitando a síntese de clorofila e a atividade fotossintética (Roosta et al., 2018).

A interação entre K e Ca é conhecida, pois altos teores de K podem reduzir a absorção de Ca, comprometendo a formação da parede celular e o transporte de carboidratos (Prado, 2021). Por exemplo, clones com baixa produção como PH 16 e CAB 214, apresentaram teores mais altos de K e baixos de Ca, sugerindo que esse desbalanço

pode ter também prejudicado seu desempenho agrônomo.

De forma geral nesta pesquisa evidenciamos que o material genético do cacauero modula a tolerância a vassoura de bruxa por promover o equilíbrio nutricional e alta produção. Isso pode ser uma estratégia para fortalecer o cultivo sustentável de cacau na Amazônia que tem limitações devido alta pressão por doenças e ambientes de cultivos com desequilíbrios de nutrientes a partir de clones adaptados estando alinhado com os objetivos de desenvolvimento sustentável.

As perspectivas futuras que nos novos estudos que possam avaliar potencial de diferentes clones possam considerar além da produtividade e a sanidade, mas também o estado nutricional pois será importante para maior compreensão das respostas do cacauero. É relevante também avaliar estudos subjacentes a nível de expressão gênica dos clones de cacauero associados ao sistema de defesa da planta enzimático e não enzimático e nos processos de absorção e no metabolismo dos nutrientes.

## **CONCLUSÃO**

Desvendamos que a incidência de vassoura-de-bruxa variou entre os clones, mas o EEOP 96 foi mais suscetível possivelmente por não ter lidado com desequilíbrios nutricionais na planta limitando a produção. E a tolerância essa doença pode estar associada a alta ou baixa produção dependendo do clone e do estado nutricional.

Evidenciamos que os clones EEOP 63 e EEOP 65 se destacaram por serem mais produtivos por lidarem melhor especialmente com desequilíbrios nutricionais mais críticos e ainda apresentam uma determinada tolerância a vassoura de bruxa.

Essa pesquisa propõe que a seleção de clones pode melhorar tolerância a doença nos frutos e o desequilíbrio nutricional e potencializar a produção sustentável do cacau na Amazônia.

## **REFERENCIAS**

- Almeida, C. M. V. C., Cruz, C. D., & Machado, P. F. R. (2016). Avaliação e seleção de híbridos de cacauero em Rondônia. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36(8), 1043-1051.
- Alvarez, V. H. & Leite, R. A. Fundamentos estatísticos das fórmulas usadas para cálculo dos índices DRIS. *Bol. Inf. Soc. Bras. Ciênc. Solo*. 24, 20-25 (1999).
- Arévalo-Gardini, E., Baligar, V. C., He, Z. L., Machado, R. C. R., Hendre, P. S., & Marro, N. (2021). Growth, physiological, nutrient-uptake-efficiency and shade-tolerance responses of cacao genotypes under different shades. *Agronomy*, 11(1536), 1–22. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081536>

Arévalo-Hernández, C. O., Arévalo-Gardini, E., Farfan, A., Amaringo-Gomez, M., Daymond, A., Zhang, D., & Baligar, V. C. (2022). Growth and nutritional responses of juvenile wild and domesticated cacao genotypes to soil acidity. *Agronomy*, 12(12), 3124.

Barbosa, R. C. M.; Neves, A. D. S. Levantamento semidetalhado dos solos da Estação Experimental de Ouro Preto de Oeste, RO. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico n.105, 1983, 24p.

Barboza, E., Moline, E. F. V., Schlindwein, J. A., Farias, E. A. P., & Brasilino, M. F. (2011). Fertilidade de solos em Rondônia. *Enciclopédia Biosfera*, 7(13), 586–591.

Braga, P. D. C. D. S., Oliveira, M. G., Aguilar, M. A. G., Fernandes, A. A., Falqueto, A. R., Partelli, F. L., ... & Martins, W. P. (2024). Responses of cacao to exposed to hypoxia and excess iron in growth, physiology, and nutritional value. *Journal of Plant Nutrition*, 47(6), 972-985.

Carvalho, C. G. P., Almeida, C. M. V. C., Cruz, C. D., & Machado, P. F. R. (2001). Avaliação e seleção de híbridos de cacaueteiro em Rondônia. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36(8), 1043-1051.

Cilas, C., & Bastide, P. (2020). Challenges to cocoa production in the face of climate change and the spread of pests and diseases. *Agronomy*, 10(9), 1232.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Tabela 1618: Área plantada, área colhida e produção, por ano da safra e produto das lavouras. Rio de Janeiro: IBGE, 2024. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618>. Acesso em: 1 fev. 2025.

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia (2024). Dados históricos anuais – Ano 2024. Ministério da Agricultura e Pecuária. Disponível em <https://portal.inmet.gov.br/dadoshistoricos>

ICCO - International Cocoa Organization. ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics 2023. 2023c [https://www.icco.org/wp-content/uploads/Production\\_QBCS-XLIX-No.-2.pdf](https://www.icco.org/wp-content/uploads/Production_QBCS-XLIX-No.-2.pdf) Accessed 04 March 2025

Bataglia, O. C., Furlani, A. M. C., Teixeira, J. P. F., Furlani, P. R., & Gallo, J. R. (1983). Métodos de análise química de plantas (Boletim Técnico, 78). Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), Campinas, SP.

Kongor, J. E., Owusu, M., & Oduro-Yeboah, C. (2024). Cocoa production in the 2020s: Challenges and solutions. *CABI Agriculture and Bioscience*, 5(1), 102.

Lima, J. T. G. P. D., Rocha, R. B., & Almeida, C. M. V. C. D. (2022). Productive performance of cocoa tree (*Theobroma cacao* L.) half-sib families in the municipality of Ouro Preto do Oeste-RO, Brazil.

Liu, J. J., Wei, Z., & Li, J. H. (2014). Effects of copper on leaf membrane structure and root activity of maize seedling. *Botanical Studies*, 55(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s40529-014-0047-5>

Macêdo, M., Rosa, E. S., Luz, E. D. M. N., & Luis, J. (2021). Avaliação de clones de cacaueteiro quanto a produtividade e incidência de vassoura de bruxa e podridão parda. *Agrotropica*, v. 33, n. 1, p. 5-16, 2021.

Marrocos, P. C., Loureiro, G. A. D. A., Araujo, Q. R. D., Sodré, G. A., Ahnert, D.,

Escalona-Valdez, R. A., & Baligar, V. C. (2020). Mineral nutrition of cacao (*Theobroma cacao* L.): relationships between foliar concentrations of mineral nutrients and crop productivity. *Journal of Plant Nutrition*, 43(10), 1498-1509.

Martins, T. S., Souza, F. G., Campos, M. C. C., Cunha, J. M., Brito, W. B. M., Lima, A. F. L., Assis, J. M., Oliveira, I. A., Oliveira, F. P., & Brito Filho, E. G. (2023). Spatial variability of chemical indicators of Amazon agricultural soils through geomultivariate statistics, Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 195, 1167. <https://doi.org/10.1007/s10661-023-11735-3>

Messant, M., Rehman, S., Lyu, M., Andersson, I., & Merchant, S. S. (2023). Manganese concentration affects chloroplast structure and the photosynthetic apparatus in *Marchantia polymorpha*. *Plant Physiology*, 192(1), 356–373. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad052>

Neto, M. R. B., & da Silva Berti, M. P. (2022). DINÂMICA DO COBRE NA PLANTA: REVISÃO. *Revista Agrotecnologia-Agrotec*, v. 13, n. 2, p. 1-13, 2022.

Okabe, E. T., de Almeida, C. M. V. C., de Almeida, L. C., & dos Santos Dias, L. A. (2004). Desempenho de clones de cacauero em Ouro Preto do Oeste, Rondônia, Brasil. *Bioscience Journal*, 20, 133-143.

Pandey, R., Singh, C., Mishra, S., Abdulraheem, M. I., & Vyas, D. (2024). Silicon uptake and transport mechanisms in plants: processes, applications and challenges in sustainable plant management. *Biologia Futura*, 1-13.

Paramo, Y. J. P., Carabalí, A. G., & Flores, J. C. M. (2016). Influence of the relationship among nutrients on yield of cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones. *Acta Agronómica*, 65(2), 176-182.

Parent, L. E., & Dafir, M. (1992). A theoretical concept of compositional nutrient diagnosis. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 117(2), 239–242.

Pereira, A. S., Lopes, U. V., Pires, J. L., Barreto, M. A., Santos, L. P., Gonzaga, R. S., Silva, L. S., Andrade, F. J., Bonilla, J. L. S., & Gramacho, K. P. (2021). Quantitative resistance to witches' broom disease in progenies of different sources of resistance. *Crop Protection*, 146, 105678. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105678>

Pereira, J. D. S., Santos, A. S., Luz, E. D. M. N., & Corrêa, R. X. (2024). Sources of resistance to witches' broom disease in cacao (*Theobroma cacao* L.): Progress update and perspectives. *Plant Breeding*, 143(6), 798-809.

Prado, R. de M. (2021). *Mineral nutrition of tropical plants* (339 p.). Springer Nature.

Prado, R. M., Etesami, H., & Srivastava, A. K. (2024). Silicon Advances for Sustainable Agriculture and Human Health. - <https://doi.org/10.1007/978-3-031-69876-7>

Purdy, L. H., & Schmidt, R. A. (1996). Status Of Cacao Witches 'broom: Biology, Epidemiology, and Management. *Annual review of phytopathology*, 34(1), 573-594.

Riaz, M., Yan, L., Wu, X., Hussain, S., Aziz, O., & Jiang, C. (2018). Boron deprivation induced inhibition of root elongation is provoked by oxidative damage, root injuries and changes in cell wall structure. *Environmental and Experimental Botany*, 156, 74-85. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00916>

Roosta, H. R., Estaji, A., & Niknam, F. (2018). Effect of iron, zinc and manganese

shortage-induced change on photosynthetic pigments, some osmoregulators and chlorophyll fluorescence parameters in lettuce. *Journal of Plant Nutrition*, 41(11), 1443–1455. <https://doi.org/10.1080/01904167.2018.1431707>

Rosas-Patiño, G., Puentes-Páramo, Y. J., & Menjivar-Flores, J. C. (2021). Efecto del pH sobre la concentración de nutrientes en cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Amazonia Colombiana. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 24(1).

Santos, A. S., Mora-Ocampo, I. Y., de Novais, D. P. S., Aguiar, E. R. G. R., & Pirovani, C. P. (2023). State of the art of the molecular biology of the interaction between cocoa and witches' broom disease: A systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5684).

Souza, H. A. D., Rozane, D. E., Vieira, P. F. D. M. J., Sagrilo, E., Leite, L. F. C., Brito, L. C. R. D., ... & Ferreira, A. C. M. (2023). Accuracy of DRIS and CND methods and nutrient sufficiency ranges for soybean crops in the Northeast of Brazil. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 45, e59006.

Souza, H. A., Rozane, D. E., Natale, W., Cipriano, P. E., Pompeu, R. C. F. F., Lisboa Guedes, F., ... & Sagrilo, E. (2025). Application of compositional nutrient diagnosis to maize cultivated in tropical soils in brazilian semi-arid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 56(1), 49-58.

Suh, N. N., & Molua, E. L. (2022). Cocoa production under climate variability and farm management challenges: Some farmers' perspective. *Journal of agriculture and food research*, 8, 100282.

Sun, Y., Wang, M., Mur, L. A. J., Shen, Q., & Guo, S. (2020). Unravelling the roles of nitrogen nutrition in plant disease defences. *International journal of molecular sciences*, 21(2), 572. <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/2/572>

Viéguas, I. de J. M., Carvalho, J. G. de, & Frazão, D. A. C. (2000). Desordens nutricionais na cultura da seringueira: Critérios de diagnose para solo e plantas e correção de deficiência. In: Viegas, I. de J. M., Carvalho, J. G. de (Ed.). *Seringueira: nutrição e adubação no Brasil*. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental; Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000.

Wadt, P. G. S. Relationships between soil class and nutritional status of coffee plantations. *Rev. Bras. Frutic.* 29, 227–234. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832005000200008> (2005).

## **3.2 Resultados Obtidos**

### **Artigo 2**

**“O uso de clones do cacauero e a fermentação modulam o perfil bioquímico e nutricional em amêndoas de cacau da Amazônia.”**

## **O uso de clones do cacau e a fermentação modulam o perfil bioquímico e nutricional em amêndoas de cacau da Amazônia**

Edilaine Istéfani Franklin Traspadini<sup>1\*</sup>, Renato de Mello Prado<sup>1</sup>, Eduarda Gonçalves Reis<sup>2</sup>, Priscila Lupino Gratão<sup>2</sup>, Paulo Guilherme Salvador Wadt<sup>3</sup>, Sylviane Beck Ribeiro<sup>4</sup>, Douglas Marcelo Pinheiro da Silva<sup>5</sup>

*<sup>1</sup>Solos e adubos, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil <sup>2</sup>Biologia, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil <sup>3</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Porto Velho, Brasil <sup>4</sup>Fundação Universidade Federal de Rondônia, Rolim de Moura, Brasil <sup>5</sup>Universidade Federal do Amazonas, Humaita, Brasil*

\*Autor correspondente, Universidade Estadual Paulista, via de acesso Professor Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900 Jaboticabal, Brasil e-mail: [edilainetraspadini@hotmail.com](mailto:edilainetraspadini@hotmail.com)

### **RESUMO**

A interação dos clones de cacau na Amazônia e práticas de pós-colheita como fermentação e não fermentação das amêndoas tem impacto na qualidade da produção, entretanto esses efeitos são pouco desconhecidos. Para isso, esse estudo foi realizado objetivando-se avaliar os efeitos da fermentação e da ausência de fermentação sobre atributos bioquímicos e nutricionais de amêndoas de diferentes clones de cacau e produtividade em plantas cultivadas na Amazônia. Foram analisados nove clones combinados com dois processos de pós-colheita das amêndoas (fermentado e não fermentado) de cacau cultivado na região Amazônica do Brasil. Avaliaram-se os teores de N, P, K, S, Ca, Mg, B, Cu, Fe, Mn, Zn, compostos bioativos fenóis, taninos, antocianinas e os teores dos metabólitos prolina, GB e teores de MDA e atividade da enzima SOD. De forma geral as amêndoas fermentadas se associaram a maiores teores de aminoácidos, SOD, K, Mg, glicina betaína, Zn e Fe e as não fermentadas apresentaram maiores níveis de açúcares, fenóis, taninos, proteínas, MDA e antocianinas. O clone CCN 51 apresentou o perfil bioquímico mais equilibrado em amêndoas nos dois processos de pós-colheita, enquanto EEOP 63 reuniu elevada produtividade e desempenho funcional. Essa pesquisa propõe que é possível potencializar a qualidade das amêndoas de cacau na Amazônia a partir da escolha de clones diferenciados em sistema de pós-colheita fermentado e não fermentado conciliando atributos ligados a produtividade, saúde e inovação no mercado de chocolates especiais.

**Palavras-chave:** Fermentação; Compostos bioativos; Estresse oxidativo; Antioxidantes; Glicina betaína.

### **INTRODUÇÃO**

O cacau (*Theobroma cacao* L.) é uma das culturas tropicais de maior relevância socioeconômica mundial, impulsionada principalmente pela indústria de chocolates e derivados. A qualidade das amêndoas é determinada por uma série de fatores genéticos,

ambientais e de processamento, entre os quais a fermentação pós-colheita desempenha papel central na formação do perfil sensorial característico do produto (Švarc-Gajić et al., 2023).

Durante a fermentação, transformações microbianas e enzimáticas promovem a degradação da mucilagem, a ativação de vias metabólicas e a formação de precursores de aroma, sabor e cor (Kadow, 2020), além de reduzir compostos responsáveis pela adstringência e amargor (Rawel et al., 2019). Além da sua contribuição sensorial e funcional, a fermentação impõe um estresse metabólico moderado às amêndoas, induzindo respostas bioquímicas associadas ao acúmulo de compostos osmoprotetores e antioxidantes, como prolina, glicina betaína (GB) e a enzima superóxido dismutase (SOD) (Ashraf & Foolad, 2007; Hoque et al., 2007; Ding et al., 2021).

Embora a fermentação melhore atributos sensoriais essenciais para a produção de chocolate, também induz a degradação de açúcares, proteínas e a oxidação de compostos fenólicos, resultando em perdas expressivas de antioxidantes naturais (Rawel et al., 2019; Calvo et al., 2021). Nesse contexto, abordagens alternativas envolvendo o uso de amêndoas não fermentadas ou parcialmente processadas têm ganhado interesse, visando preservar compostos bioativos sensíveis, como fenóis e proteínas, e potencializando o valor funcional do cacau (Rawel et al., 2019; Melo et al., 2021; Cortez et al., 2023) e o desenvolvimento de produtos diferenciados beneficiando à saúde (Rawel et al., 2019; Cortez et al., 2023).

Relatos sugerem que a utilização combinada de amêndoas com diferentes níveis de fermentação pode oferecer novas possibilidades de sabor e funcionalidade, de maneira análoga às práticas de blendagem (Melo et al., 2021).

Os estudos que avaliaram os efeitos do processo de pós-colheita de cacau com uso ou não da fermentação concentram os esforços para avaliar a qualidade sensorial, incluindo atributos como aroma, sabor, acidez, amargor e adstringência (Pedrozo Miguel et al., 2017; Pérez et al., 2021) e poucos relacionam com os teores dos elementos químicos, bioativos e metabólitos oxidativos. Isso é relevante porque os processos fermentativos dependendo do genótipo induz diferenças na capacidade de mobilização de nutrientes, na degradação de compostos fenólicos e na ativação de mecanismos de defesa oxidativa (Cruz et al., 2015; Mihai et al., 2022; Zapata-Álvarez et al., 2024). É possível que o processo fermentativo das amêndoas dependendo do teor de elementos químicos participa do metabolismo bioquímico associado ao metabolismo oxidativo, como prolina, GB, SOD e malondialdeído (MDA) que pode refletir na qualidade funcional das

amêndoas.

Entre os indicadores de dano celular, destaca-se o malondialdeído (MDA), amplamente utilizado para determinar a peroxidação lipídica. Embora seu uso seja consolidado em estudos biomédicos relacionados ao consumo de cacau (Katz et al., 2011; Parsaeyan et al., 2014), a quantificação de MDA nas amêndoas durante o processamento pós-colheita permanece pouco explorada, podendo oferecer insights relevantes sobre a integridade fisiológica do grão e os mecanismos bioquímicos ativados frente ao estresse oxidativo.

A hipótese é que pode existir clones mais adaptados aos processos de pós-colheita fermentado e não fermentado que possa ser benéfica para qualidade das amêndoas conciliando com maior produtividade. Diante desse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da fermentação e da ausência de fermentação sobre atributos bioquímicos, nutricionais e antioxidantes de amêndoas de diferentes clones de cacau e produtividade em plantas cultivadas na Amazônia.

Se essa hipótese for aceita será possível identificar o clone de cacau da Amazônia com maior qualidade em diferentes sistemas de pós-colheita para melhor atender as demandas específicas da indústria alimentícia. Essas informações do melhor clone de cacau a ser cultivado podem potencializar a qualidade da matéria prima das indústrias e poderá garantir maior retorno econômico do cultivo sem custo adicional fortalecendo a cadeia cacauceira da Amazônia.

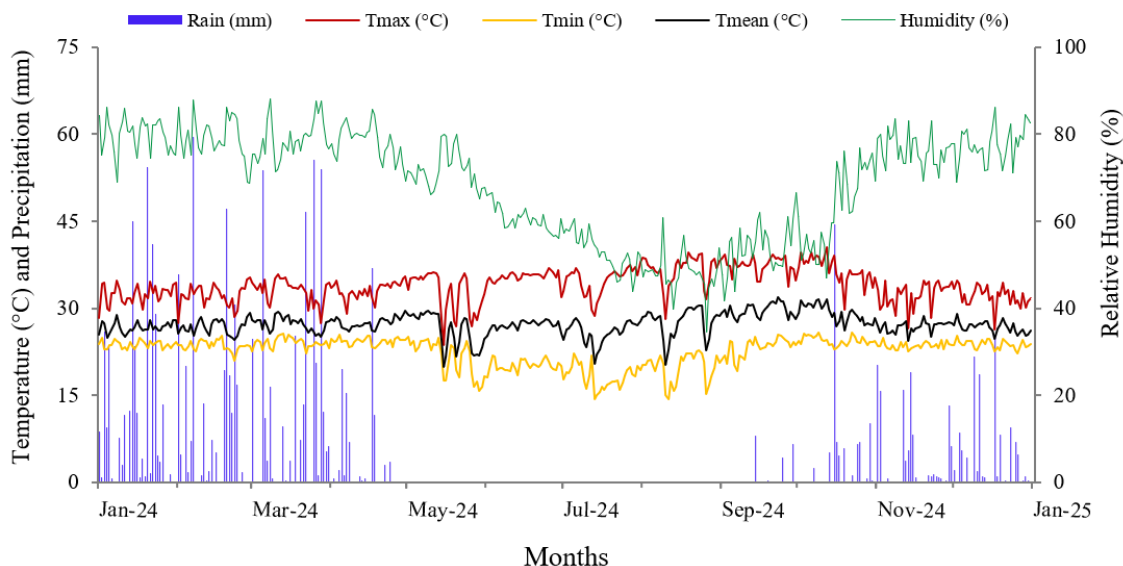
## **MATERIAL E MÉTODOS**

A presente pesquisa foi realizada com diferentes materiais genéticos de cacau cultivado em Acrisols na região Amazônica na Estação Experimental da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (Ceplac) (10°42'30"S, 62°13'30"W), situada no município de Ouro Preto do Oeste, Brasil. O clima da região é do tipo Am conforme Köppen tendo temperatura média anual é de 25,6 °C, com umidade relativa média do ar de 89% e precipitação pluvial anual superior a 2.200 mm (Barbosa e Neves, 1983). Durante o ano experimental do cultivo e das avaliações pós-colheita foram obtidos dados meteorológicos do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2024) (Figura 1).

Observa-se que durante a colheita e processamento dos frutos na área experimental a temperaturas médias diárias atingiu  $26,6 \pm 4,3$  °C, com máximas de  $35,0 \pm 4,8$  °C e mínimas de  $19,6 \pm 3,7$  °C e umidade relativa do ar média atingiu  $53,4 \pm 5,5\%$  (INMET, 2024) (Figura 1). Durante a colheita e pós-colheita do cultivo

realizada de 2 de julho a 10 de agosto de 2024 não houve precipitação pluvial.

**Figura 1.** Variação diária da temperatura do ar, umidade do ar e precipitação pluvial ao leste do estado de Rondônia, Brasil.



O estudo foi desenvolvido em uma área de produção de cacau com oito anos de idade cultivadas em um espaçamento entre plantas 3 m × 3 m, resultando em uma densidade populacional de 1.111 plantas por hectare.

Os tratamentos estudados foram nove clones de cacau combinado com dois processos pós-colheita (com e sem fermentação) dispostos em blocos em acaso com três repetições. Os clones avaliados pertencem aos seguintes grupos: Bahia Norte (BN 34), Coleção Castro Naranjal (CCN 51), Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC 2005) e Estação Experimental de Ouro Preto (EEOP 33, EEOP 63, EEOP 65, EEOP 69, EEOP 80, EEOP 96). A unidade experimental foi composta por nove plantas de cacau.

Foram realizadas colheitas nos dias 2 e 30 de julho de 2024 e os frutos saudáveis livres de danos foram analisados individualmente para estimar a massa das sementes com mucilagem por hectare ( $\text{kg ha}^{-1}$ ).

As amostras de sementes frescas foram divididas para processamento da pós-colheita sendo a metade recebeu apenas pré secagem em estufa e classificadas como não fermentadas (NF), e a outra foi submetida ao processo fermentativo até a conclusão do ciclo sendo classificada como fermentadas (F).

Conforme Silva Neto et al. (2001), a fermentação das sementes de cacau foi realizada em cochos de madeira, com drenos para escoamento do mel e aeração. A massa foi coberta com folhas de bananeira ou sacos de aniagem para evitar ressecamento. O

processo durou 5 a 7 dias, com revolvimentos para homogeneização: o primeiro após 24 horas, o segundo após 48 horas, seguido por mais dois em intervalos de 24 horas. Após a fermentação, as amostras foram pré secas em estufa fechada.

Após a fermentação, as amêndoas foram submetidas a pré-secagem em estufa de circulação de ar fechada, à temperatura ambiente ( $19,6 \pm 3,7$  °C). As amêndoas não fermentadas passaram pelo mesmo processo de pré-secagem. Em seguida, todas as amostras foram secas em estufa de circulação de ar forçada a 60 °C até atingirem peso constante. A temperatura deve ficar em torno de 60 °C, durante a secagem de grãos de cacau, a fim de preservar a qualidade sensorial e evitar a retenção excessiva de ácidos e amargor nos grãos (Dzelagha et al., 2020).

Após a secagem, as amostras foram trituradas e homogeneizadas, em recipiente de inox. O material obtido foi utilizado para análises bioquímicas, nutricionais e antioxidantes.

A partir dessas amostras, foram determinados os teores de N, P, K, Ca, Mg, B, Cu, Fe, Mn e Zn conforme métodos descritos por Bataglia et al. (1983). A quantificação de açúcares totais seguiu o método de Dubois (1956) e os teores de aminoácidos - AA foram avaliados segundo Yemm e Cocking (1955). O teor de taninos foi estimado pelo método do Azul da Prússia, conforme Price & Butler (1977), utilizando ácido gálico como padrão. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra ( $\text{mg GAE g}^{-1}$ ). Os fenóis totais foram estimados de acordo com Fantozzi e Montedoro (1978), com leitura segundo Gutfinger (1981) e de os teores de lipídeos foi realizado conforme o Instituto Adolfo Lutz (2008). Determinou-se os teores de prolina (Bates et al., 1973), malondialdeído – MDA (Heath e Packer, 1968), glicina betaína – GB (Grieve & Grattan, 1983), antocianinas (Lichtenthaler, 1987) e atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase – SOD (Giannopolitis & Ries, 1977). Os teores de proteína solúveis para determinação da atividade específica da SOD foram determinados segundo o método de Bradford (1976).

Para a análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o software Python. A análise multivariada foi conduzida por meio da Análise de Componentes Principais (PCA), com o objetivo de identificar padrões de variabilidade entre os clones de cacauero com base na composição bioquímica e nutricional das amêndoas. Inicialmente, foi realizada uma PCA geral considerando todas as amostras, a fim de

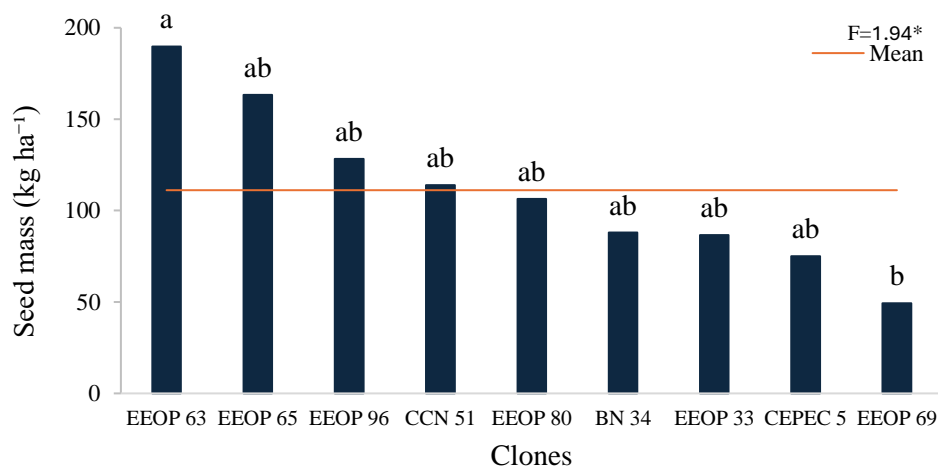
verificar a separação entre os grupos fermentado (F) e não fermentado (NF). Em seguida, duas PCAs adicionais foram conduzidas de forma independente para cada grupo, utilizando a média das repetições por clone, com o intuito de avaliar a associação das variáveis dentro de cada contexto de processamento. A matriz de cargas fatoriais (loadings) foi utilizada para interpretar as variáveis com maior contribuição na separação dos componentes principais. Todas as análises foram realizadas na linguagem Python, com o uso das bibliotecas scikit-learn, matplotlib, pandas e seaborn.

Realizou-se a análise de correlação de Pearson entre as variáveis bioquímicas, nutricionais e produtivas, de forma separada para os grupos fermentado e não fermentado. As associações consideradas relevantes foram aquelas com coeficiente de correlação ( $r$ ) maior ou igual a 0,50 (ou menor ou igual a  $-0,50$ ). As análises foram conduzidas na linguagem Python, utilizando as bibliotecas pandas e scipy.stats.

## RESULTADOS

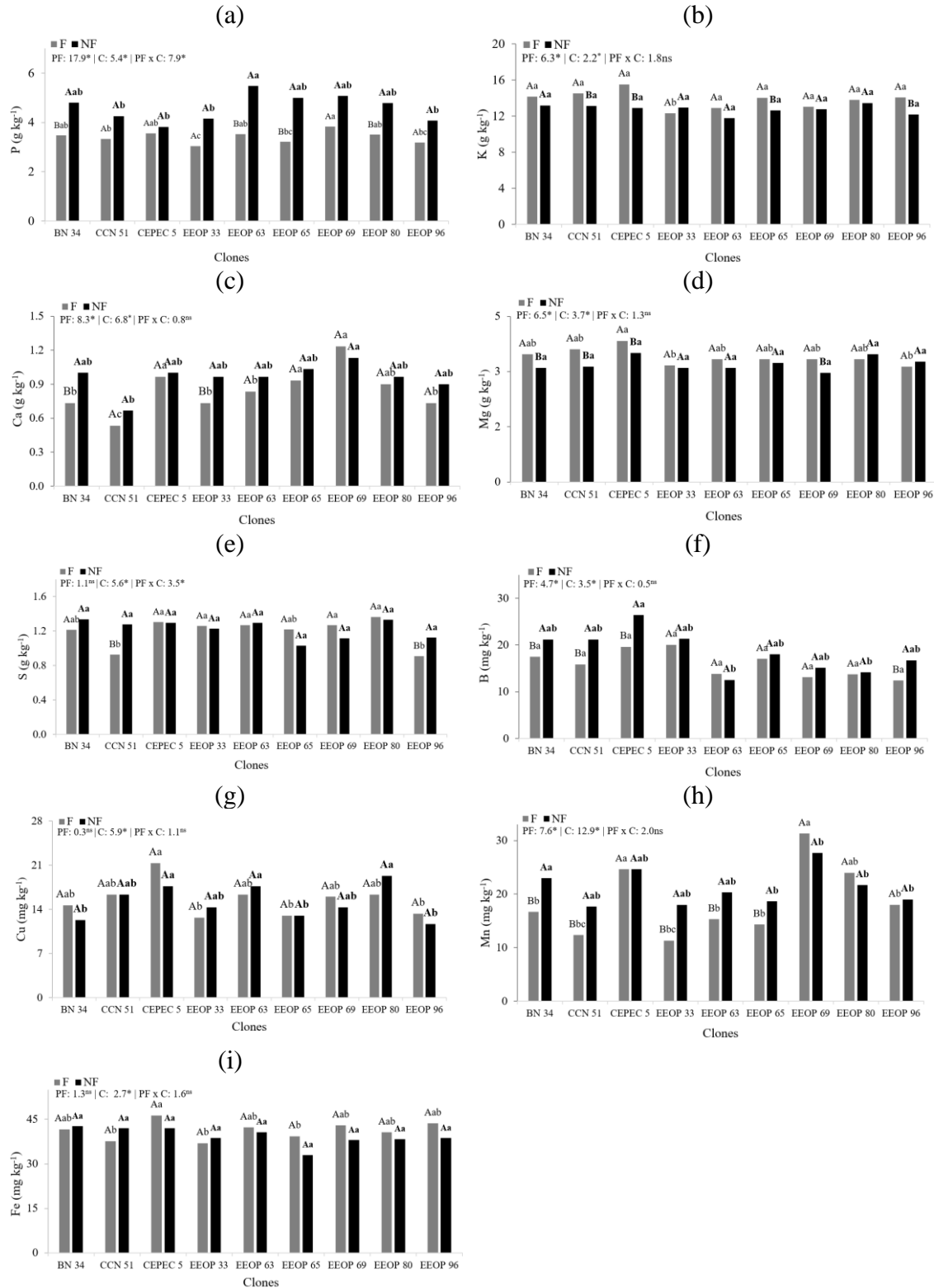
O clone EEOP 63 apresentou a maior massa de sementes e diferiu estatisticamente apenas do EEOP 69 (Figura 2).

**Figura 2.** Efeitos de nove clones de cacau na massa de sementes por hectare. Médias com letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0.05$ ).



Os teores de N e de Zn nas amêndoas de cacau não foram afetados pelos fatores avaliados. Para o N, não houve efeito significativo do clone ( $F = 0.57$ ;  $p > 0.05$ ), do processo de fermentação ( $F = 0.10$ ;  $p > 0.05$ ) ou da interação ( $F = 1.53$ ;  $p > 0.05$ ). Isso foi observado para o Zn, cujo teor também não foi afetado pelo clone ( $F = 1.03$ ;  $p > 0.05$ ), pela fermentação ( $F = 0.20$ ;  $p > 0.05$ ) ou pela interação ( $F = 0.94$ ;  $p > 0.05$ ).

**Figura 3.** Efeitos de nove clones de cacau (C) e do processo de fermentação (PF) fermentado (F) e não fermentado (NF) nos teores médios de fósforo (a), potássio (b), cálcio (c), magnésio (d), enxofre (e), boro (f), cobre (g), manganês (h) e ferro (i) nas amêndoas de cacau. Letras maiúsculas comparam os níveis de fermentação (F vs. NF) dentro de cada clone; letras minúsculas comparam os clones dentro de cada nível de fermentação, conforme o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \* = significativo, ns = não significativo pelo teste F ( $p < 0,05$ ).



O processo de fermentação teve efeito significativo sobre os teores de nutrientes nas amêndoas de cacau, exceto para S, Cu e Fe (Figura 3). O efeito do clone também foi significativo, influenciando todos os nutrientes avaliados, exceto N e Zn. A interação entre fermentação e clone foi significativa apenas para P e S, indicando que o efeito da fermentação sobre esses nutrientes variou entre os genótipos.

Os teores de P nas amêndoas de cacau foram influenciados pelos fatores isolados e pela interação. O teor de P atingiu maiores valores em amêndoas não fermentadas no clone EEO63 que não diferiu dos demais, exceto dos clones CCN51, CEPEC5, EEOP 33 e EEOP96. Houve alto teor de P nas amêndoas fermentadas provindo dos clones EEOP69 que não diferiu dos demais clones, exceto os clones CCN51, EEOP65 e EEOP96. As amêndoas sem fermentação, em relação as fermentadas tiveram maiores teores de P especialmente para os clones BN34, EEOP63, EEOP65 e EEOP80.

Os teores de K nas amêndoas de cacau foram afetados pelos fatores processo de fermentação e clone, sem interação entre os fatores (Figura 3b). Nas amêndoas não fermentadas, os clones apresentaram teores de K semelhantes. Entre os clones fermentados, o maior teor de K foi observado no clone CEPEC 5 que não diferiu dos demais clones, exceto do clone EEOP 33. As amêndoas fermentadas apresentaram maiores teores de K, em relação às não fermentadas, com diferenças significativas nos clones CCN 51, CEPEC 5, EEOP 65 e EEOP 96.

Os teores de Ca nas amêndoas de cacau foram influenciados pelos fatores fermentação e clone, sem interação entre os fatores (Figura 3c). Nas amêndoas fermentadas houve maiores teores de Ca para os clones EEOP 69, CEPEC 5 e EEOP 65 em relação ao clone CCN 51. Nas amêndoas não fermentadas, o maior teor de Ca foi observado no clone EEOP 69 que não diferiu dos demais clones, exceto do clone CCN 51. As amêndoas sem fermentação, em relação as fermentadas tiveram maiores teores de Ca especialmente para os clones BN34 e EEOP33.

Os teores de Mg nas amêndoas de cacau foram afetados pelos fatores fermentação e clone, sem interação entre os fatores (Figura 3d). Nas amêndoas não fermentadas, os clones apresentaram teores de Mg semelhantes. Nas amêndoas fermentadas, o maior teor foi observado no clone CEPEC 5, que não diferiu dos demais clones, exceto do clone EEOP 96. As amêndoas fermentadas apresentaram maiores teores de Mg, em relação às não fermentadas, com diferenças significativas nos clones BN 34, CCN 51, CEPEC 5 e

EEOP 69.

Os teores de S nas amêndoas de cacau foram influenciados pelo fator clone e pela interação entre os fatores, sem efeito do fator fermentação de forma isolada (Figura 3e). Nas amêndoas não fermentadas, os clones apresentaram teores de S semelhantes. Nas amêndoas fermentadas, o maior teor foi observado no clone EEOP 80, que não diferiu dos demais clones, exceto dos clones CCN 51 e EEOP 96. As amêndoas não fermentadas apresentaram maiores teores de S em relação às fermentadas especialmente para os clones CCN 51 e EEOP 96.

Os teores de B nas amêndoas de cacau foram influenciados pelos fatores fermentação e clone, sem interação entre os fatores (Figura 3f). Nas amostras não fermentadas, o maior teor de B foi observado no clone CEPEC 5, que não diferiu dos demais clones, exceto EEOP 63 e EEOP 80. Nas amêndoas fermentadas, os clones apresentaram teores de B semelhantes. As amêndoas não fermentadas apresentaram maiores teores de B em relação às fermentadas com destaque para os clones BN 34, CCN 51, CEPEC 5 e EEOP 96.

Os teores de Cu nas amêndoas de cacau foram influenciados apenas pelo fator clone, sem efeito da fermentação nem da interação entre os fatores (Figura 3g). Nas amêndoas não fermentadas, os maiores teores de Cu foram observados nos clones EEOP 80, CEPEC 5 e EEOP 63, que não diferiram dos demais clones, exceto dos clones EEOP 65, BN 34 e EEOP 96. Nas amêndoas fermentadas, o clone CEPEC 5 apresentou os maiores teores de Cu, que não diferiu dos demais clones, exceto dos clones EEOP 96, EEOP 65 e EEOP 33.

Os teores de Mn nas amêndoas de cacau foram influenciados pelos fatores fermentação e clone, sem interação entre os fatores (Figura 3h). Nas amêndoas não fermentadas, o clone EEOP 69 apresentou os maiores teores de Mg que não diferiram dos demais clones, exceto dos clones EEOP 96, EEOP 65, EEOP 33, CCN 51. Nas amêndoas fermentada, os maiores teores de Mg foram observados nos clones EEOP 69 e CEPEC 5, seguido por EEOP 80, sendo que os dois primeiros se diferem dos demais clones CCN 51 e EEOP 33. As amêndoas não fermentadas apresentaram maiores teores de Mn em relação às fermentadas, com diferenças significativas nos clones BN 34, CCN 51, EEOP 33, EEOP 63 e EEOP 65.

Os teores de Fe nas amêndoas de cacau foram influenciados apenas pelo fator

clone, sem efeito da fermentação nem da interação entre os fatores (Figura 3i). Nas amêndoas não fermentadas, os clones apresentaram teores de Fe semelhantes. Nas amostras fermentadas, o maior teor de Fe foi observado no clone CEPEC 5, que não diferiram dos demais clones, exceto dos clones CCN 51 e EEOP 33.

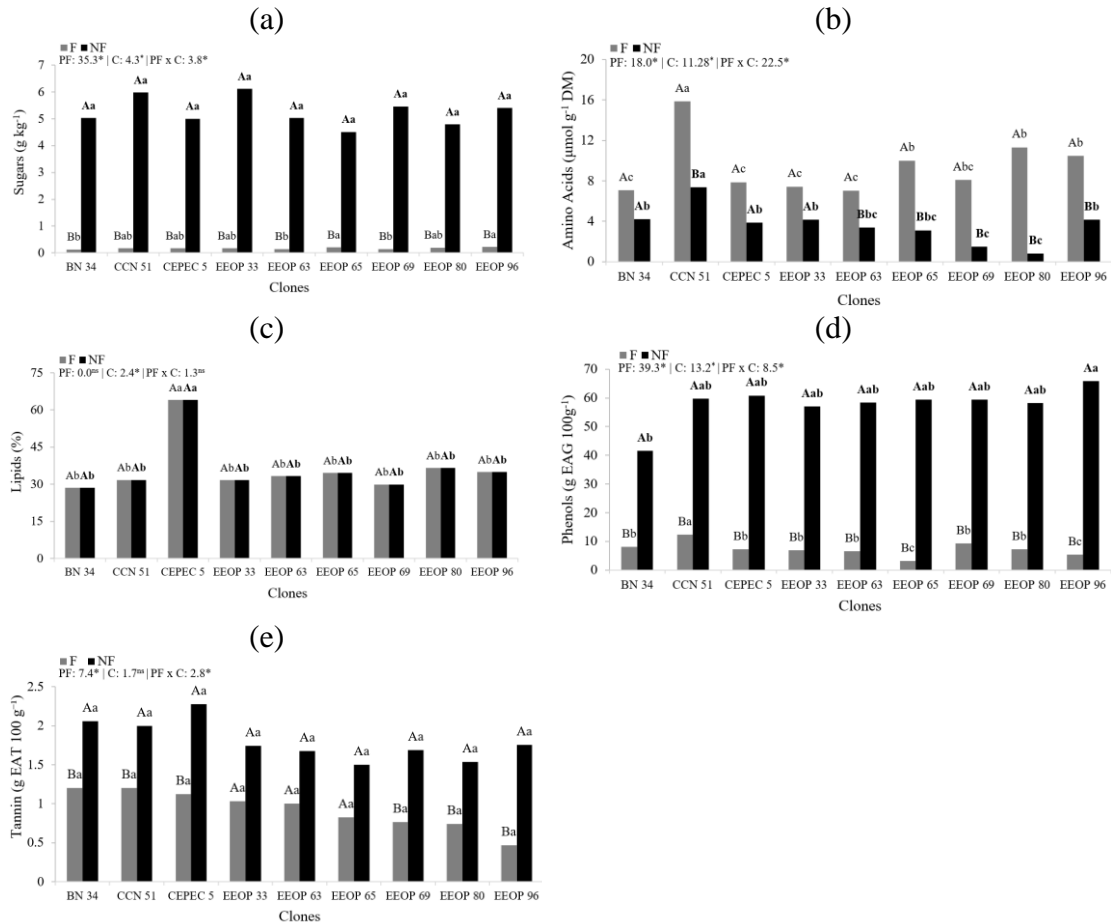
Os teores de açúcares nas amêndoas de cacau foram influenciados pelo processo de fermentação e pela interação entre os fatores (Figura 4a). Nas amêndoas não fermentadas, os clones apresentaram teores de açúcar semelhantes entre si. Nas amêndoas fermentadas, os maiores teores foram observados nos clones EEOP 65 e EEOP 96, que não diferem dos demais clones, exceto dos clones BN 34 e EEOP 63. As amêndoas não fermentadas apresentaram maiores teores de Mn em relação às fermentadas com diferenças para todos os clones avaliados.

Os teores de aminoácidos nas amêndoas de cacau foram influenciados pelos fatores fermentação, clone e pela interação entre eles (Figura 4b). Nas amêndoas não fermentadas, o maior teor de aminoácidos foi observado no clone CCN 51, que se diferenciou dos clones EEOP 63, EEOP 65, EEOP 69 e EEOP 80. Nas amêndoas fermentadas, o maior teor de aminoácidos foi obtido no clone CCN 51 e os menores teores ocorreram nas amêndoas dos clones EEOP 69, CEPEC 5, EEOP 33, BN 34 e EEOP 63. As amêndoas não fermentadas apresentaram maiores teores de aminoácidos em relação às fermentadas com destaque para os clones CCN 51, EEOP 65, EEOP 69, EEOP 80 e EEOP 96.

Os teores de lipídios nas amêndoas de cacau foram influenciados apenas pelo fator clone, sem efeito da fermentação e da interação entre os fatores (Figura 4c). Nas amêndoas fermentadas e não fermentadas, o clone CEPEC 5 apresentou os maiores teores de lipídios, diferindo dos demais genótipos. Os teores de lipídios se mantiveram estáveis entre os processos de fermentação.

Os teores de fenóis totais nas amêndoas de cacau foram influenciados pelos fatores fermentação, clone e pela interação (Figura 4d). Nas amêndoas não fermentadas, os maiores teores de fenóis foram observados no clone EEOP 96, que não diferiu dos demais clones, exceto do clone BN 34. Nas amêndoas fermentadas, o clone CCN 51 apresentou o maior teor de fenóis, enquanto EEOP 65 e EEOP 96 apresentaram os menores valores. As amêndoas não fermentadas apresentaram maiores teores de fenóis totais em relação às fermentadas, com diferenças significativas em todos os clones.

**Figura 4.** Efeitos de nove clones de cacau (C) e do processo de fermentação (PF) — fermentado (F) e não fermentado (NF) — nos teores médios de açúcares (a), aminoácidos (b), lipídios (c), fenóis totais (d) e taninos (e) nas amêndoas de cacau. Letras maiúsculas comparam os níveis de fermentação (F vs. NF) dentro de cada clone; letras minúsculas comparam os clones dentro de cada nível de fermentação, conforme o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \* = significativo; ns = não significativo (teste F,  $p < 0,05$ ).

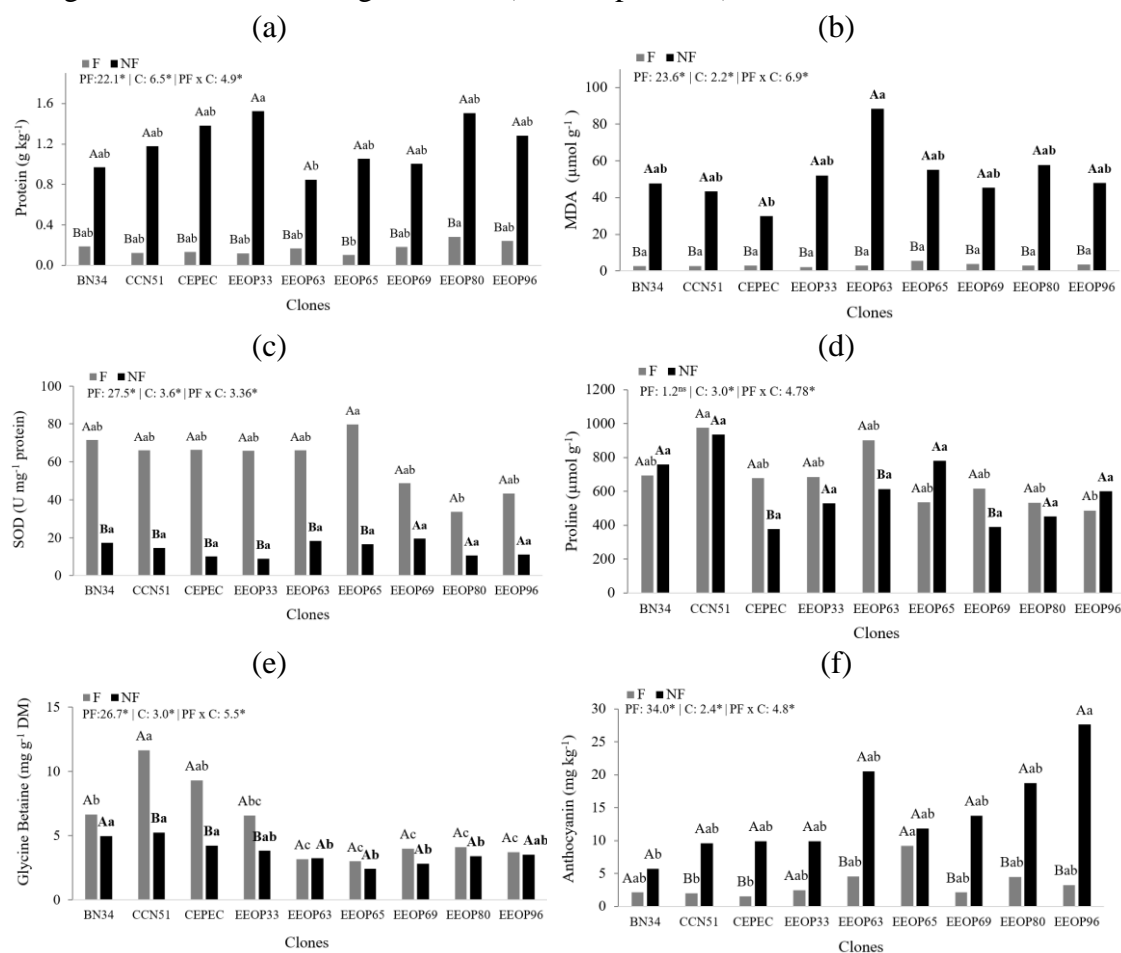


Os teores de taninos nas amêndoas de cacau foram influenciados pelos fatores fermentação e interação entre os fatores, sem efeito do fator clone (Figura 4e). Os teores de taninos foram semelhantes entre os clones nos grupos fermentado e não fermentado. As amêndoas não fermentadas apresentaram maiores teores de taninos em relação às fermentadas, com diferenças em todos os clones, exceto para os clones EEOP 33, EEOP 63 e EEOP 65.

Os teores de proteína nas amêndoas de cacau foram influenciados pelos fatores fermentação, clone e pela interação entre eles (Figura 5a). Nas amêndoas não fermentadas, o maior teor de proteína foi observado no clone EEOP 33, que não diferiu estatisticamente dos demais clones, exceto do clone EEOP 63. As amêndoas não

fermentadas apresentaram maiores teores de proteína em relação às fermentadas, com diferenças significativas em todos os clones. Nas amêndoas fermentadas, o maior teor de proteína foi observado no clone EEOP 80, que não diferiu estatisticamente dos demais clones, exceto do clone EEOP 65. As amêndoas não fermentadas apresentaram maiores teores de proteína em relação às fermentadas, com diferenças significativas em todos os clones.

**Figura 5.** Efeitos de nove clones de cacau (C) e do processo de fermentação (PF) — fermentado (F) e não fermentado (NF) — nos teores médios de proteína (a), MDA (b), SOD (c), prolina (d), glicina betaína (e) e antocianinas (f) nas amêndoas de cacau. Letras maiúsculas comparam os níveis de fermentação (F vs. NF) dentro de cada clone; letras minúsculas, os clones dentro de cada nível de fermentação, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \* = significativo; ns = não significativo (teste F,  $p < 0,05$ ).



Os teores de MDA nas amêndoas de cacau foram influenciados pelos fatores fermentação, clone e pela interação entre eles (Figura 5b). Nas amêndoas não fermentadas, o maior teor de MDA foi observado no clone EEOP 63, que não diferiu dos demais clones, exceto do clone CEPEC 5. Nas amêndoas fermentadas, os teores de MDA

foram e semelhantes entre os clones. As amêndoas fermentadas apresentaram menores teores de MDA em relação às não fermentadas, com diferenças em todos os clones.

A atividade da enzima SOD nas amêndoas de cacau foi influenciada pelos fatores fermentação, clone e pela interação entre eles (Figura 5c). Nas amêndoas não fermentado, os clones apresentaram valores da atividade da SOD semelhantes. Nas amêndoas fermentado, o maior valor da SOD foi observado no clone EEOP 65, que não diferiu dos demais clones, exceto do clone EEOP 80. As amêndoas fermentadas apresentaram maior atividade da SOD em relação às não fermentadas, com exceção dos clones EEOP 69, EEOP 80 e EEOP 96, que não apresentaram diferença entre os tratamentos.

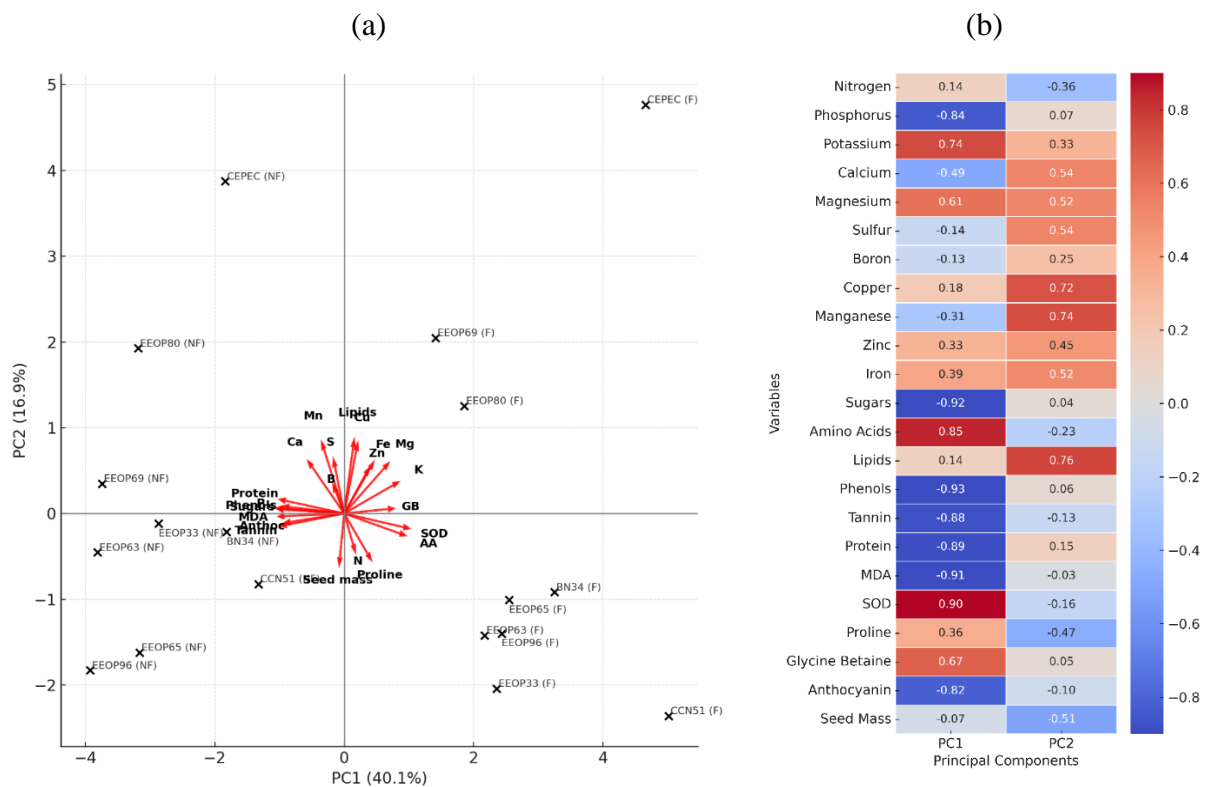
Os teores de prolina nas amêndoas de cacau foram influenciados pela interação entre os fatores, sem efeito isolado da fermentação (Figura 5d). Nas amêndoas não fermentado, os clones apresentaram teores de prolina semelhantes. Nas amêndoas fermentado, o maior teor de prolina foi observado no clone CCN 51, que não diferiu dos demais clones, exceto do clone EEOP 96. As amêndoas fermentadas apresentaram maior teor de prolina, em relação às não fermentadas, para os clones CEPEC 5, EEOP 63 e EEOP 69. Por outro lado, as amêndoas não fermentadas apresentaram maiores teores de prolina apenas no clone EEOP 65. Os demais clones não apresentaram diferenças entre os processos de fermentação.

Os teores de glicina betaína nas amêndoas de cacau foram influenciados pelos fatores fermentação, clone e pela interação (Figura 5e). Nas amêndoas não fermentado, o maior teor de glicina betaína foi observado no clone CCN 51, que não diferiu dos demais clones, exceto dos clones EEOP80, EEOP63, EEOP69 e EEOP65. Nas amêndoas fermentado, os maiores teores de glicina betaína foram observados nos clones CCN51 e CEPEC 5, com destaque para o clone CCN 51, que diferiu dos demais clones. As amêndoas fermentadas apresentaram maiores teores de glicina betaína no clone CCN51, CEPEC 5 e EEOP33 em relação aos demais clones.

Os teores de antocianinas nas amêndoas de cacau foram influenciados pelos fatores fermentação, clone e pela interação (Figura 5f). Nas amêndoas não fermentado, o maior teor foi observado no clone EEOP 65, que diferiu dos clones CCN 51 e CEPEC 5. Nas amêndoas fermentado, o maior teor de antocianinas foi para o clone EEOP 96, que se diferenciou do clone BN 34. As amêndoas não fermentadas apresentaram maiores teores de antocianinas em relação às fermentadas, com exceção dos clones EEOP 33 e EEOP 65, que não apresentaram diferença entre os tratamentos.

A análise de componentes principais (PCA) revelou o padrão de variação multivariada entre os clones de cacaueteiro nas amostras fermentadas (F) e não fermentadas (NF). Os dois primeiros componentes explicaram 57,0% da variância total, sendo 40,1% atribuída ao PC1 e 16,9% ao PC2 (Figura 6). O biplot evidenciou clara separação entre os tratamentos ao longo do eixo PC1, com os clones fermentados predominantemente no quadrante direito e os não fermentados no lado esquerdo, indicando diferenciação bioquímica entre os grupos. Compostos como SOD, aminoácidos, prolina, glicina betaína (GB), Zn e massa da semente associaram-se positivamente aos clones fermentados, enquanto proteína, taninos, açúcares redutores e MDA apresentaram maior relação com os não fermentados.

**Figura 6.** Biplot da PCA geral (a) e heatmap das correlações com PC1 e PC2 (b), baseados em variáveis bioquímicas e nutricionais de amostras fermentadas (F) e não fermentadas (NF) derivadas de clones de cacaueteiro na Amazônia.



A distribuição dos clones nos quatro quadrantes do gráfico PCA reforça as distinções bioquímicas entre os tratamentos (Figura 6a). No quadrante superior direito (PC1+ e PC2+), destacaram-se CEPEC-F, EEOP69-F e EEOP80-F, associados a variáveis como lipídios, ferro, potássio e magnésio. No quadrante superior esquerdo

(PC1- e PC2+), localizaram-se CEPEC-NF, EEOP80-NF e EEOP69-NF, com maior influência de boro, manganês, cálcio. O quadrante inferior esquerdo (PC1- e PC2-) agrupou clones como EEOP33-NF, BN34-NF, EEOP63-NF, EEOP65-NF, EEOP96-NF e CCN51-NF, associados a açúcar, proteína, antocianinas, taninos e MDA. No quadrante inferior direito (PC1+ e PC2-), destacaram-se CCN51-F, EEOP33-F, EEOP63-F, EEOP65-F, EEOP96-F e BN34-F, próximos a vetores como SOD, prolina, GB e aminoácidos, evidenciando um perfil bioquímico relacionado à resposta adaptativa ao estresse.

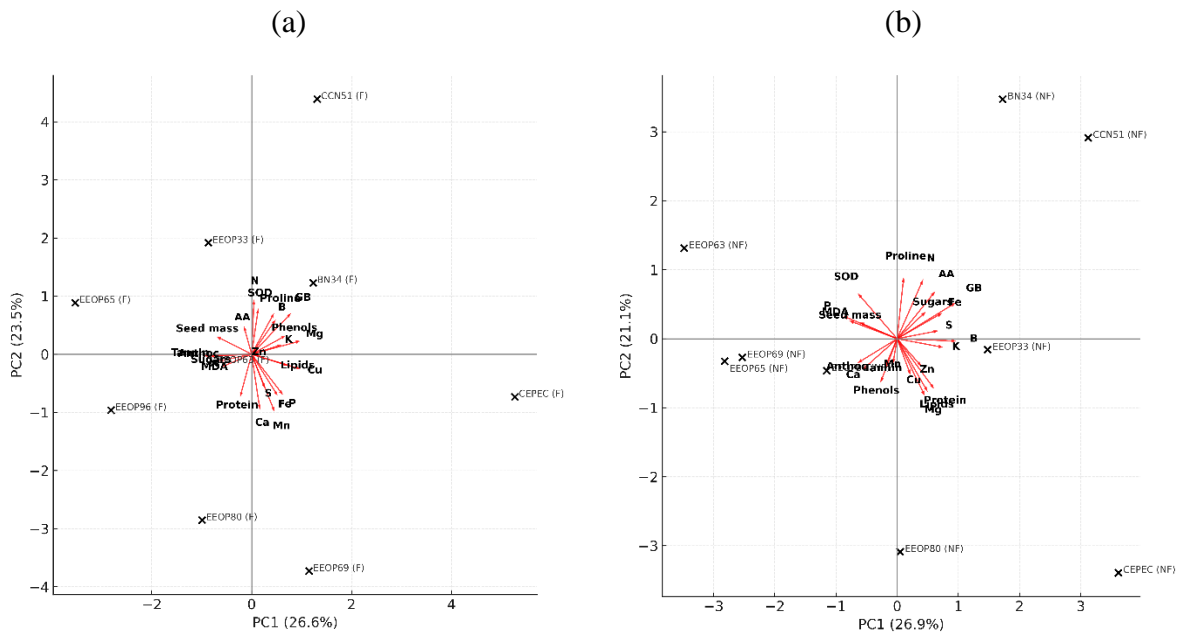
A correlação das variáveis bioquímicas e nutricionais com os componentes principais (Figura 6b) revela que o PC1 foi positivamente associado a K, Mg, Fe, SOD, glicina betaína, aminoácidos e potássio, e negativamente a fósforo, fenóis, taninos, proteína e MDA, evidenciando o contraste entre compostos funcionais e marcadores de estresse. Enquanto isso, o PC2 foi mais influenciado por manganês, cálcio, lipídios, ferro, zinco e magnésio, refletindo variações na composição nutricional secundária. Esses padrões são consistentes com a distribuição dos clones observada na Figura 6 e ajudam a explicar a separação entre os grupos fermentado e não fermentado ao longo dos eixos principais.

A análise separada das PCAs para os grupos fermentado (Figura 7a) e não fermentado (Figura 8b), revelou que a variável *Seed mass* se agrupou em ambos os contextos com compostos como SOD, glicina betaína (GB), prolina e aminoácidos, especialmente no grupo fermentado (Figura 7a). Esse padrão sugere que a maior produtividade esteve associada a um perfil bioquímico ligado à resposta adaptativa ao estresse, com destaque para o clone EEOP 63. Por outro lado, clones com menor produtividade, como o EEOP 69, posicionaram-se em áreas dos biplots relacionadas a compostos indicativos de estresse e degradação, como MDA, taninos e açúcares redutores.

Por fim, a análise de correlação revelou associações relevantes entre variáveis bioquímicas e nutricionais nos grupos fermentado e não fermentado. No grupo fermentado, observou-se correlação forte entre K e Mg ( $r = 0,81$ ), além de associações moderadas entre Ca e P ( $r = 0,56$ ) e entre Mn e MDA ( $r = 0,59$ ). No grupo não fermentado, os destaques foram as correlações negativas muito fortes entre proteína e SOD ( $r = -0,93$ ), proteína e fenóis ( $r = -0,73$ ), e proteína e aminoácidos ( $r = -0,74$ ), indicando que maiores níveis desses compostos estavam associados a menor teor proteico total. Também foram identificadas correlações fortes entre P e Mn ( $r = 0,71$ ), Ca e Mn ( $r = 0,78$ ), bem

como entre SOD e aminoácidos ( $r = 0,64$ ), proteína e boro ( $r = -0,66$ ) e entre MDA e cobre ( $r = -0,61$ ).

**Figura 7.** Biplot da Análise de Componentes Principais (PCA) com vetores das variáveis bioquímicas e nutricionais, mostrando a distribuição das amostras fermentadas (a) e não fermentadas (b) derivadas de clones de cacauero na Amazônia.



## DISCUSSÃO

### Desvendando o impacto do clone de cacau e da fermentação na diminuição dos teores de açúcares e do antinutriente tanino na disponibilidade de nutrientes de amêndoas de cacauero cultivados na Amazônia

A fermentação é considerada uma etapa fundamental no processamento do cacau, promovendo alterações bioquímicas essenciais para o desenvolvimento do perfil sensorial característico do chocolate. Durante esse processo, a degradação da mucilagem, a oxidação de polifenóis e a ativação de vias enzimáticas resultam na formação de precursores de aroma, sabor e cor, além da redução da adstringência e do amargor das amêndoas (Švarc-Gajić et al., 2023; Kadow, 2020). Um aspecto inicial relevante da fermentação seria consumo dos açúcares pelos processos microbiológicos e em seguida tem-se degradação do tanino que é considerado um anti-nutriente. Evidenciou-se que a diminuição do teor de açúcar nas amêndoas com processo de fermentação foi relevante

pois aconteceu em todos os clones avaliados.

No presente estudo, essa redução nos teores de açúcares superou 95% em todos os clones avaliados, evidenciando uma degradação consistente e intensa desses compostos. Esse comportamento é atribuído à elevada atividade microbiológica nas etapas iniciais da fermentação, predominantemente de leveduras e bactérias ácido-láticas, que utilizam os açúcares como substrato primário para produção de etanol, ácido acético e ácido láctico (Afoakwa et al., 2013; Sari et al., 2023). Esses achados condizem com Afoakwa et al. (2013) que, relataram reduções superiores a 90% nos teores de açúcares redutores da mucilagem após seis dias de fermentação. Sari et al. (2023) destacaram que a hidrólise da sacarose, aliada ao metabolismo fermentativo, promove o esgotamento acelerado desses açúcares.

Em seguida, com o avanço da fermentação, houve diminuição dos teores de taninos, compostos fenólicos classificados como antinutrientes por sua capacidade de formar complexos insolúveis com proteínas e minerais como ferro, zinco e cálcio, prejudicando sua absorção no trato gastrointestinal (Bravo, 1998; Hagerman et al., 1998). Essa redução está associada à polimerização e à complexação de catequinas, resultando na formação de taninos de maior peso molecular e menor reatividade (Serra-Bonvehí & Ventura Coll, 1997). No presente estudo, foi observada uma redução média de 49% nos taninos, com variações interclonais expressivas. Clones como EEOP 96 apresentaram perdas superiores a 70%, enquanto CCN 51, EEOP 63 e EEOP 33 mantiveram teores mais estáveis (média de 40%).

A magnitude dessa resposta reforça a importância da seleção de materiais com maior suscetibilidade à degradação de taninos, especialmente em contextos produtivos da região Amazônica, onde estudos sobre esse aspecto ainda são escassos. A redução desses compostos pode contribuir para o incremento da biodisponibilidade de nutrientes nas amêndoas de cacau, sendo um fator relevante para a melhoria da qualidade nutricional do produto fermentado (Bravo, 1998; Hagerman et al., 1998). Resultados semelhantes foram observados por Djali et al. (2017), que relataram reduções de 68% e 93% nos teores de taninos da casca de cacau após a fermentação e a secagem, respectivamente.

No processo de fermentação do cacau é possível ter incrementos nos teores de K especialmente nos clones CCN51, CEPEC 5, EEOP 65 e EEOP 96 e para os teores de Mg com uso dos clones BN34, CCN51 e CEPEC 5. Embora alguns estudos, como o de Millena et al. (2023), tenham relatado reduções desses elementos ao longo da

fermentação, as divergências podem estar associadas a diferenças nos sistemas de fermentação, frequência de revolvimento, composição da mucilagem, perda por lixiviação e características genéticas dos clones avaliados. É possível que, no presente estudo, a liberação intracelular de minerais promovida pelo colapso celular tenha superado as perdas por lixiviação, resultando em maiores teores residuais nas amêndoas fermentadas.

Ainda que estudos como o de Afoakwa et al. (2013) tenham avaliado a dinâmica mineral na polpa do cacau, seus resultados indicam que a fermentação promove aumentos expressivos nos teores de K, Mg e Zn, mas diminui os teores de Fe. K e Mg, além de frequentemente estarem associados à melhoria do perfil funcional do cacau (Van Vliet & Giller, 2017; Prado, 2021), também desempenham funções essenciais na saúde humana: K atua na regulação da pressão arterial e da função neuromuscular, enquanto Mg é cofator em diversas reações enzimáticas, estando associado à saúde cardiovascular e ao metabolismo energético (Rosinger et al., 2024; Volpe, 2023).

Em contrapartida, constatou-se no presente estudo que nutrientes como P, Ca, S, B e Mn apresentaram teores menores nas amêndoas fermentadas em comparação às não fermentadas, sugerindo perdas possivelmente decorrentes de processos de lixiviação, especialmente durante o revolvimento da massa fermentada, ou mesmo de consumo microbiano. Esses resultados indicam que, embora a fermentação promova transformações benéficas do ponto de vista sensorial e funcional, ela também pode acarretar perdas nutricionais seletivas. Achados semelhantes foram relatados por Millena et al. (2023), que observaram reduções significativas nos teores de Ca, Fe, Mg, Mn, Zn e outros minerais ao longo da fermentação, confirmando a suscetibilidade de certos elementos à dinâmica bioquímica e física do processo.

Assim, evidencia-se uma dualidade no efeito da fermentação sobre a qualidade nutricional e funcional das amêndoas. Por um lado, o processo fermentativo pode favorecer a retenção ou mesmo o acúmulo de certos nutrientes, como K e Mg, frequentemente associados à melhoria do perfil funcional do cacau e à saúde humana (Afoakwa et al., 2013; Van Vliet & Giller, 2017; Mihai et al., 2022; Volpe, 2023). Por outro lado, tende a reduzir o teor de elementos como P, Ca, S, B e Mn, o que evidencia um equilíbrio delicado entre ganhos funcionais e perdas nutricionais inerentes ao processo (Millena et al., 2023). Diante disso, a escolha entre fermentação ou não fermentação deve considerar não apenas o perfil sensorial desejado, mas também os objetivos nutricionais e tecnológicos do produto, sobretudo em contextos como o da

Amazônia, onde estratégias diferenciadas podem agregar valor às amêndoas de cacau.

Nesse contexto, amêndoas não fermentadas, por preservarem maiores teores de determinados minerais, apresentam potencial para formulações diferenciadas voltadas à promoção da saúde. O valor funcional, portanto, refere-se à capacidade das amêndoas de minerais essenciais com efeitos benéficos à saúde humana, regulação da pressão arterial, suporte ao metabolismo energético e prevenção de distúrbios crônicos associados à deficiência de micronutrientes (Parsaeyan et al., 2014; Rosinger et al., 2024; Volpe, 2023). A escolha entre fermentação ou não fermentação deve, portanto, considerar não apenas os atributos sensoriais desejados, mas também os objetivos nutricionais e tecnológicos do produto.

Com base nos dados obtidos, é possível ainda identificar os clones com melhor desempenho nutricional sob diferentes condições de fermentação. No aspecto nutricional, o clone EEOP 63 merece destaque por apresentar elevada produtividade e estabilidade, mantendo teores nutricionais satisfatórios mesmo após a fermentação. No grupo fermentado, o clone CEPEC 5 se destacou pelo incremento nos teores de K e Mg e por manter teores elevados dos demais nutrientes. Já no grupo não fermentado, o clone EEOP 65 destaca-se como o mais produtivo, reunindo altos teores da maioria dos nutrientes avaliados, apesar de valores moderados para Mn, B e Cu.

### **Desvendando o impacto do clone de cacau e da fermentação em atributos antioxidantes nas amêndoas de cacauzeiros cultivados na Amazônia**

A fermentação desempenha um papel importante na formação de novos compostos voláteis e no desenvolvimento de aromas complexos no cacau e de bioativos, induzidos pelos diferentes microrganismos e reações bioquímicas. Durante esse processo, reações enzimáticas e oxidativas promovem alterações profundas nos perfis de fenóis, aminoácidos e outros metabólitos funcionais, que impactam diretamente a qualidade nutricional do produto.

Um dos efeitos mais evidentes observados neste estudo foi a redução expressiva dos teores de fenóis totais e antocianinas nas amêndoas fermentadas, com média dos clones estudados de 88% e 73%, respectivamente. A degradação das antocianinas pode diminuir em até 90% do teor inicial antes da fermentação (Aprotosoiaie et al. 2016; Misnawi et al., 2003; Melo et al. 2021). Apesar dessas perdas, os teores remanescentes destes compostos no presente estudo foram superiores aos relatados por estudos

anteriores (Zapata-Álvarez et al., 2024; Freitas et al., 2025). De toda forma, ainda é pouco compreendido por que ocorre essa diminuição acentuada desses compostos durante a fermentação, e uma das possíveis causas poderia estar associada ao estresse oxidativo, que pode induzir a degradação de fenóis e antocianinas por meio da ação de enzimas como polifenol oxidase e peroxidase (Oracz & Żyżelewicz, 2020).

No entanto, essa hipótese se mostra fraca no presente estudo, pois foram observadas baixas concentrações de MDA e alta atividade da SOD, indicando um sistema antioxidante enzimático eficiente em todos os clones avaliados. Além disso, verificou-se o acúmulo de compostos osmoprotetores com função antioxidante, como prolina, estabilizadora de proteínas e membranas (Sánchez-Mundo et al., 2015), e glicina betaína, precursora da glutatona e moduladora do sistema redox (Deus et al., 2020), cuja presença foi identificada pela primeira vez em amêndoas de cacau. Esses resultados sugerem que não houve estresse oxidativo significativo durante a fermentação das amêndoas.

Diante disso, é mais plausível que a degradação dos fenóis e das antocianinas esteja associada a processos de polimerização e complexação com proteínas, o que reduz sua solubilidade e ainda contribui para a diminuição da adstringência do produto (Serra-Bonvehí & Ventura Coll, 1997), embora também pode comprometer a qualidade antioxidante das amêndoas (Rawel et al., 2019; Dzelagha et al., 2020). Adicionalmente, no caso específico das antocianinas, é possível que sua degradação envolva a ação direta de glicosidases, que promovem sua hidrólise em antocianidinas, seguidas de oxidação em quinonas, processo associado à coloração marrom característica das amêndoas fermentadas (Ruiz-Santiago et al., 2024).

A maioria dos estudos anteriores sobre os efeitos da fermentação na qualidade funcional do cacau foi realizada com clones pouco cultivados atualmente, faltando pesquisas com clones com maior representatividade agrônômica. De modo geral, todos os clones estudados apresentaram adequada capacidade antioxidante modulada pela alta atividade da SOD e baixos níveis de MDA após a fermentação.

Entre os genótipos avaliados, o clone CCN 51 se destacou por apresentar, além da atividade antioxidante enzimática, altos teores de fenóis, glicina betaína e prolina — compostos com reconhecida ação antioxidante, osmorreguladora e anti-inflamatória (Rawel et al., 2019; Sánchez-Mundo et al., 2015; Ding et al., 2021; Deus et al., 2020). A correlação positiva entre glicina betaína e prolina reforça a atuação coordenada desses compostos, evidenciando o potencial antioxidante não enzimático do CCN 51. Essa característica pode conferir maior estabilidade oxidativa em etapas posteriores do

processamento, como a torra, que promove degradação térmica intensa, embora essa hipótese ainda precise ser confirmada por novos estudos.

Um comportamento distinto foi observado para o clone EEOP 69, que apresentou valores elevados de MDA tanto em amêndoas fermentadas quanto não fermentadas, mas ainda assim manteve teores de fenóis relativamente altos, especialmente após a fermentação. Essa preservação sugere a atuação de mecanismos alternativos de proteção antioxidante, como a presença de compostos fenólicos menos suscetíveis à oxidação, o grau de polimerização reduzido e a compartimentalização subcelular, fatores que limitam a exposição dos fenóis às enzimas oxidativas (Bravo, 2000; Martín & Ramos, 2018; Juca et al., 2019; Agati et al., 2012). Esse perfil reforça que a resposta antioxidante pode variar entre clones, mesmo sob as mesmas condições de fermentação, e destaca a importância de considerar a estabilidade funcional dos compostos bioativos na seleção de genótipos.

Apesar dos benefícios associados à fermentação das amêndoas ter prejuízos na qualidade antioxidante tem havido estratégias de blendagem, ou seja, mistura envolvendo amêndoas fermentadas e não fermentadas (Melo et al., 2021), e mesmo a fermentação limitada para maximizar o aproveitamento do potencial bioativo do cacau (Rawel et al., 2019). Portanto, diante da retenção de compostos bioativos sensíveis posiciona o cacau não fermentado como uma matéria-prima valiosa para novos segmentos de mercado que busca mesclar aromas distintos e até a mistura com amêndoas fermentadas para obtenção de novos produtos diferenciados.

De forma geral os resultados também revelaram que as amêndoas não fermentadas apresentaram altos teores de fenóis e antocianina e de MDA pois o sistema antioxidativo não foi eficiente e houve baixa atividade da SOD e de compostos protetores como GB e prolina, mas esses efeitos variaram com os clones. Os maiores teores disponíveis dos bioativos nas amêndoas não fermentadas possivelmente se deve mais a baixa polimerização com proteínas e ambiente favorável ao estresse oxidativo que não foi suficiente para causar essa degradação (Agati et al., 2012).

A ação do sistema antioxidante enzimático a partir da SOD em amêndoas de cacau não fermentadas é relativamente limitada, mas a maioria dos clones tem qualidade semelhante com algumas variações diferentemente do processo de fermentação se destaca apenas um clone.

Inclusive é relevante destacar que nem todos os clones em sistema de pós-colheita sem fermentação tem alto teor de bioativos pois o clone BN 34 apresentou os menores teores de fenóis totais e antocianinas, sendo, portanto, pouco indicado para estratégias

que visem à maximização do valor nutricional do cacau. Em contrapartida, o clone EEOP 96 destacou-se no mesmo sistema por manter elevados teores de fenóis e antocianinas, mesmo sob condições de maiores teores de MDA e de baixa atividade da SOD. Esses resultados sugerem que os mecanismos não enzimáticos ou estruturais, como compartimentalização ou maior estabilidade molecular, podem ter contribuído para a preservação funcional do material, tornando-o promissor para aplicações com amêndoas não fermentadas.

Por fim, os resultados obtidos neste estudo revelam que a resposta dos clones à fermentação é altamente variável e depende não apenas do sistema de pós-colheita, mas também da composição bioquímica e funcional intrínseca de cada genótipo. Essa diversidade reforça a importância da seleção de materiais genéticos que combinem desempenho agrônomo, estabilidade antioxidante e potencial nutricional independente do sistema de pós-colheita. Clones como CCN 51, EEOP 63, EEOP 65, CEPEC 5, EEOP 69 e EEOP 96 apresentaram estratégias distintas de preservação funcional e se destacam como alternativas promissoras para o desenvolvimento de produtos diferenciados, inclusive por meio de estratégias como a blendagem de amêndoas fermentadas e não fermentadas, visando otimizar atributos sensoriais e funcionais.

## **CONCLUSÃO**

De maneira geral, a fermentação das amêndoas de cacau teve benefícios ao diminuir compostos associados ao estresse oxidativo e incrementar os teores de K e de Mg mas teve prejuízos nos teores de P, Ca, S, B e Mn e dos compostos bioativos fenóis e antocianinas.

O clone CCN 51 apresentou perfil funcional favorável tanto nas amêndoas fermentadas quanto nas não fermentadas, mas o clone EEOP 63 destacou-se por aliar alta produtividade a um perfil bioquímico equilibrado. Esses achados ressaltam a importância de integrar informações agrônomicas e bioquímicas na seleção de genótipos, considerando os objetivos específicos de processamento.

Essa pesquisa propõe que é possível potencializar a qualidade das amêndoas de cacau na Amazônia a partir da escolha de clones diferenciados em sistema de pós-colheita fermentado e não fermentado conciliando atributos ligados a produtividade, saúde e inovação no mercado de chocolates especiais.

## REFERENCIAS

- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2008). Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(9), 840–857.
- Afoakwa, E. O., Quao, J., Takrama, J., Budu, A. S., & Saalia, F. K. (2013). Chemical Composition and Physical Quality Characteristics of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Beans as Affected by Pulp Preconditioning and Fermentation. *International Food Research Journal*, 20(4), 1843–1853.
- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., & Tattini, M. (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science*, 196, 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.014>
- Aprotosoiaie, A. C., Luca, S. V., & Miron, A. (2016). Flavor chemistry of cocoa and cocoa products—An overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 73–91. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12180>
- Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2), 206–216.
- Barbosa, R. C. M.; Neves, A. D. S. Levantamento semidetalhado dos solos da Estação Experimental de Ouro Preto de Oeste, RO. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico n.105, 1983, 24p.
- Bataglia, O. C., Furlani, A. M. C., Teixeira, J. P. F., Furlani, P. R., & Gallo, J. R. (1983). Métodos de análise química de plantas (Boletim Técnico, 78). Instituto Agrônômico de Campinas (IAC), Campinas, SP.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205–207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317–333. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>
- Bravo, L. (2000). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317–333. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00068-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00068-5)
- Brito, E. S. de, Pezoa García, N. H., Gallão, M. I., Cortelazzo, A. L., Fevereiro, P. S., & Braga, M. R. (2000). Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation, drying and roasting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(2), 281–288. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20010115\)81:2<281::AID-JSFA808>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20010115)81:2<281::AID-JSFA808>3.0.CO;2-B)
- Calvo, A. M., Botina, B. L., García, M. C., Cardona, W. A., Montenegro, A. C., & Criollo, J. (2021). Dynamics of cocoa fermentation and its effect on quality. *Scientific Reports*, 11, 16746. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95703-2>

- Cortez, L. C., de Souza, A. C., & Martinez, S. J. (2023). Changes in the bioactive compounds during fermentation of cocoa beans harvested in the Amazon region. *Current Research in Food Science*, 6, 100494. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100494>
- Cruz, J. F. da, Leite, P. B., Soares, S. E., Bispo, E. S., & Carvalho, A. V. (2014). Modificações nos teores de compostos fenólicos e metilxantinas durante a fermentação e a secagem ao sol de amêndoas de cacau de três cultivares da Bahia. *Ciência Rural*, 44(5), 870–876. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000500026>
- Cruz, J. F. M., Leite, P. B., Soares, S. E., & Bispo, E. S. (2015). Bioactive compounds in different cocoa (*Theobroma cacao* L.) cultivars during fermentation. *Food Science and Technology*, 35(2), 279–284. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6541>
- Deus, V. L., Bispo, E. S., Franca, A. S., & Gloria, M. B. A. (2021). Understanding amino acids and bioactive amines changes during on-farm cocoa fermentation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 97, 103776. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103776>
- Ding, X., Zhu, X., Zheng, W., Li, F., Xiao, S., & Duan, X. (2021). BTH Treatment Delays the Senescence of Postharvest Pitaya Fruit in Relation to Enhancing Antioxidant System and Phenylpropanoid Pathway. *Foods*, 10(4), 846. <https://doi.org/10.3390/foods10040846>
- Djali, M., Setiasih, I. S., & Rindiantika, T. S. (2018). Chemical characteristics, phytochemicals and cacao shell toxicity changes during the processing of cocoa beans. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 6(1), 103–114. <https://doi.org/10.5555/2018325540>
- Do, S., Kim, Y., Yim, J., & Lee, K.-G. (2024). Analysis of volatile compounds, betaine, and antioxidant effect in goji berry (*Lycium barbarum* L.) powder extracted by various drying methods and extraction solvents. *Current Research in Food Science*, 9, 100798. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100798>
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Dzelagha, C. N., Emmanuel, A. O., & Esther, A. I. (2020). A Review of Cocoa Drying Technologies and the Effect on Bean Quality. *International Journal of Food Science*, 2020, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2020/8830127>
- Fantozzi, P., & Montedoro, G. (1978). Dosage des composés phénoliques dans drupes d'olives récoltées à différents stades de maturation. *Industries Alimentaires et Agricoles*, 95, 1335–1339.
- Freitas, L. S., Silva, G. S., dos Santos, I. C., Ferreira, A. C. R., Santos, L. E. S., Umaharan, P., Motilal, L. A., Calle-Bellido, J., Zhang, D., Corrêa, R. X., & Ahnert, D. (2025). Elite cacao clonal cultivars with diverse genetic structure, high potential of production, and good organoleptic quality are helping to rebuild the cocoa industry in Brazil. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(7), 3386. <https://doi.org/10.3390/ijms26073386>
- Giannopolitis, C. N., & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59(2), 309–314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
- Grieve, C. M., & Grattan, S. R. (1983). Rapid assay for determination of water soluble

quaternary ammonium compounds. *Plant and Soil*, 70, 303–307. <https://doi.org/10.1007/BF02374789>

Hagerman, A. E., Riedl, K. M., Jones, G. A., Sovik, K. N., Ritchard, N. T., Hartzfeld, P. W., & Riechel, T. L. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1887–1892. <https://doi.org/10.1021/jf970975b>

Hashim, L., Selamat, J., & Jinap, S. (1999). Effect of drying time, bean depth and temperature on free amino acid, peptide-N, sugar and pyrazine concentrations of Malaysian cocoa beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(5), 487–492.

Heath, R. L., Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 125:2141–2145. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. (2024). *Dados históricos anuais – Ano 2024*. Ministério da Agricultura e Pecuária. Disponível em <https://portal.inmet.gov.br/dadoshistoricos>

Instituto Adolfo Lutz. (2008). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos (3ª ed., Vol. 1). São Paulo: IMESP.

Juca, M. B. et al. (2019). Bioavailability and metabolism of phenolic compounds: A review. *Nutrients*, 11(9), 2226. <https://doi.org/10.3390/nu11092226>

Jumnongpon, R., Karrila, T. T., & Roytrakul, S. (2012). Cocoa protein crosslinking using Maillard chemistry. *European Food Research and Technology*, 235(2), 345–354. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1760-5>

Kadow, D. (2020). The biochemistry of cocoa flavor – A holistic analysis of its development along the processing chain. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 93, 300–312. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2020.093.037>

Kadow, D., Bohlmann, J., Phillips, W., & Niemenak, N. (2013). Identification and quantification of phenolic compounds from *Theobroma cacao* L. beans by HPLC–MS. *Food Research International*, 53(2), 482–489. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.043>

Katz, D. L., Doughty, K., & Ali, A. (2011). Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(10), 2779–2811. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3697> ResearchGate+3SCIRP+3rjpbcs.com+3

Kongor, J. E., Hinneh, M., Van de Walle, D., Afoakwa, E. O., Boeckx, P., & Dewettinck, K. (2016). Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile — a review. *Food Research International*, 82, 44–52.

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. In R. Douce & L. Packer (Eds.), *Methods in Enzymology* (Vol. 148, pp. 350–382). Academic Press.

Martín, M. Á., & Ramos, S. (2018). Impact of cocoa and its flavonoids on inflammation: A critical review of in vitro and in vivo studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(47), 12019–12031. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b04135>

- Melo, L. I. S., Araújo, Q. R., & Ferreira, L. S. (2021). Effect of fermentation time on the bioactive compounds of cocoa beans. *Journal of Food Science and Technology*, 58(1), 363–373. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04706-w>
- Miguel, M. G. C. P., Reis, L. V. de C., Efraim, P., Santos, C., & Schwan, R. F. (2017). Cocoa fermentation: Microbial identification by MALDI-TOF MS, and sensory evaluation of produced chocolate. *LWT - Food Science and Technology*, 77, 362–369. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.076>
- Mihai, R. A., Landazuri Abarca, P. A., Tinizaray Romero, B. A., Florescu, L. I., Catană, R., & Kosakyan, A. (2022). Abiotic factors from different Ecuadorian regions and their contribution to antioxidant, metabolomic and organoleptic quality of *Theobroma cacao* L. beans, variety “Arriba Nacional”. *Plants*, 11(7), 976. <https://doi.org/10.3390/plants11070976>
- Millena, C. G., Balanzo, A. R. R., Rentoy, J. R., Ruivivar, S. S., & Bobiles, S. C. (2023). Effect of fermentation stages on the nutritional and mineral bioavailability of cacao beans (*Theobroma cacao* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 115, 104886. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104886>
- Misnawi, Jamilah, B., & Nazamid, S. (2003). Polyphenol changes during fermentation and their influence on astringency and bitterness of cocoa beans. *Food Chemistry*, 86(3), 403–410. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.021>
- Oracz, J., & Nebesny, E. (2019). Influence of roasting conditions on the formation of Maillard reaction products in cocoa beans. *European Food Research and Technology*, 245(3), 713–732. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3144-y>
- Parsaeyan, N., Mozaffari-Khosravi, H., Absalan, A., & Mozayan, M. R. (2014). Beneficial effects of cocoa on lipid peroxidation and inflammatory markers in type 2 diabetic patients and investigation of probable interactions of cocoa active ingredients with prostaglandin synthase-2 (PTGS-2/COX-2) using virtual analysis. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 13(30). <https://doi.org/10.1186/2251-6581-13-30>
- Pérez, M. A., Rodríguez, L. M., & Gómez, J. F. (2021). Sensory and physical evaluation of cocoas (*Theobroma cacao* L.) from different origins. *Acta Scientific Nutritional Health*, 5(8), 47–52. <https://www.actascientific.com/ASNH/pdf/ASNH-05-0847.pdf>
- Prado, R. de M. (2021). *Mineral nutrition of tropical plants* (339 p.). Springer Nature.
- Price, M. L., & Butler, L. G. (1977). Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(6), 1268–1273. <https://doi.org/10.1021/jf60214a034>
- Rojas, W. J. R., Simionato, E. M. R., García-Romero, E., & Peinado, R. A. (2022). Physicochemical phenomena in the roasting of cocoa: The Maillard reaction and beyond. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(4), 1008–1025. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1827055>
- Rosinger, A., Siscovick, D. S., & Bibbins-Domingo, K. (2024). Dietary potassium and cardiovascular disease: Evidence, challenges, and future research directions. *American Journal of Hypertension*, 37(2), 91–100. <https://doi.org/10.1093/ajh/ahad091>
- Ruiz-Santiago, F. L., Márquez-Rocha, F. J., García-Alamilla, P., Carrera-Lanestosa, A., Ramírez-López, C., Ocaranza-Sánchez, E., & Jiménez-Rodríguez, D. J. (2024).

Physicochemical and biochemical changes in cocoa during the fermentation step. *Fermentation*, 10(8), 405. <https://doi.org/10.3390/fermentation10080405>

Sari, A. B. T., Fahrurrozi, Marwati, T., Djaafar, T. F., Hatmi, R. U., Wanita, Y. P., Lisdiyanti, P., Perwitasari, U., Juanssilfero, A. B., & Rahayu, E. S. (2023). Chemical composition and sensory profiles of fermented cocoa beans obtained from various regions of Indonesia. *International Journal of Food Science*, 2023, Article ID 5639081, 13 pages. <https://doi.org/10.1155/2023/5639081>

Schwan, R. F., & Wheals, A. E. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 205–221. <https://doi.org/10.1080/10408690490464104>

Serra-Bonvehí, J.; Ventura Coll, F. Evaluation of bitterness and astringency of polyphenolic compounds in cocoa powder. *Food Chemistry*, v. 60, n. 3, p. 365-370, 1997. [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00353-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00353-6)

Švarc-Gajić, J., Cvetanović, A., Zeković, Z., Radojković, M., & Mašković, P. (2023). Cocoa hull as a source of bioactive compounds: Extraction with subcritical water and evaluation of antioxidant potential. *Journal of Food Science and Technology*, 60(2), 539–550. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05494-4>

Van Vliet, J. A., & Giller, K. E. (2017). Mineral nutrition of cocoa: A review. In D. L. Sparks (Ed.), *Advances in Agronomy* (Vol. 141, pp. 185–265). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2016.10.017>

Volpe, S. L. (2023). Magnesium in disease prevention and overall health. *Nutrients*, 15(3), 512. <https://doi.org/10.3390/nu15030512>

Yemm, E. W., & Cocking, E. C. (1955). The determination of amino acids with ninhydrin. *The Analyst*, 80, 209–213. <https://doi.org/10.1039/an9558000209>

Zapata-Álvarez, A., Bedoya-Vergara, C., Porrás-Barrientos, L. D., Rojas-Mora, J. M., Rodríguez-Cabal, H. A., Gil-Garzon, M. A., Martínez-Alvarez, O. L., Ocampo-Arango, C. M., Ardila-Castañeda, M. P., & Monsalve-F, Z. I. (2024). Molecular, biochemical, and sensorial characterization of cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans: A methodological pathway for the identification of new regional materials with outstanding profiles. *Heliyon*, 10, e24544. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24544>

Zzaman, W., Ju, H. J., & Yang, T. A. (2017). Influences of superheated steam roasting on changes in sugar, amino acid and flavour compounds in ginkgo nut. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(5), 14

### **3.3 Resultados Obtidos**

#### **Artigo 3**

**“As normas nutricionais foliares permanecem universais? Evidências interlaboratoriais a partir do cacauero amazônico.”**

# As normas nutricionais foliares permanecem universais? Evidências interlaboratoriais a partir do cacauzeiro amazônico

Edilaine Istéfani Franklin Traspadini<sup>1\*</sup>, Paulo Guilherme Salvador Wadt<sup>2</sup>, Renato de Mello Prado<sup>1</sup>, Douglas Marcelo Pinheiro da Silva<sup>3</sup>, Daniel Vidal Pérez<sup>4</sup>, Elaine Almeida Delarmelinda<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Ciência do Solo, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil <sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Porto Velho, Brasil <sup>3</sup> Universidade Federal do Amazonas, Humaita, Brasil <sup>4</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Rio de Janeiro, Brasil <sup>5</sup> Fundação Universidade Federal de Rondônia, Rolim de Moura, Brasil

\*Autor correspondente, Universidade Estadual Paulista, via de acesso Professor Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900 Jaboticabal, Brasil e-mail: [edilainetraspadini@hotmail.com](mailto:edilainetraspadini@hotmail.com)

## RESUMO

O diagnóstico nutricional eficiente é uma ferramenta essencial para o manejo preciso da adubação do cacauzeiro. No entanto, a confiabilidade dos diagnósticos pode ser comprometida por variações analíticas entre laboratórios, mesmo quando métodos padronizados são utilizados, mas isso é pouco estudado. Este estudo teve como objetivo avaliar a influência de diferentes laboratórios na diagnose nutricional de cacauzeiros utilizando o método de Diagnose de Composição Nutricional (CND). Foram analisadas folhas recém-maduras coletadas em lavouras comerciais de Rondônia, cujas amostras foram divididas e enviadas para dois laboratórios distintos. A partir dos teores foliares de nutrientes normas CND específicas foram construídas para cada conjunto de dados (Lab 1, Lab 2 e conjunto total). A consistência dos diagnósticos foi avaliada pelo grau de concordância entre normas, utilizando diferentes critérios interpretativos. Os resultados indicaram variações expressivas entre laboratórios, com graus de concordância variando entre 56% e 99% dependendo do nutriente e do critério adotado. Nutrientes como Ca exibiram alta estabilidade, enquanto K, Zn e Cu apresentaram as maiores discordâncias. A junção dos conjuntos de dados elevou ligeiramente o grau de concordância em alguns casos, mas não eliminou as divergências. Os achados reforçam a importância de protocolos laboratoriais rigorosos e da construção de normas regionais específicas para a diagnose nutricional de cacauzeiros na Amazônia Ocidental.

**Palavras-chave:** CND; análise foliar; variabilidade laboratorial; grau de concordância; normas nutricionais regionais.

## INTRODUÇÃO

Sistemas de diagnose nutricional baseados no balanço nutricional vêm sendo amplamente utilizado, de forma crescente, para avaliar o estado nutricional de culturas anuais e perenes (Martins et al., 2025; Souza et al., 2025; Rezende et al., 2024; Rocha et al., 2024; Traspadini et al., 2024; Agbangba et al., 2024).

Trabalhos clássicos sustentam que, por serem os padrões nutricionais obtidos a partir de relações adimensionais multivariadas, como no caso da Diagnose de Composição Nutricional – CND (Parent & Dafir, 1992), esses padrões podem ser aplicados independentemente da fase de crescimento, da região produtiva ou de características fenológicas da cultura (Beaufils & Sumner, 1976).

Walworth & Sumner (1987) também observaram alta similaridade entre normas obtidas em diferentes continentes, reforçando a ideia de universalidade quando o banco de dados é amplo e representativo. No entanto, essa premissa tem sido contestada por diversos estudos que apontam perda de acurácia diagnóstica ao aplicar normas fora de seu contexto original (Rodríguez & Rodríguez, 2000; Villaseñor-Ortiz et al., 2022; Chabi et al., 2023; Agbangba et al., 2024).

Esses estudos demonstram que a acurácia do diagnóstico pode ser afetada por diferenças na ordem de limitação nutricional, amplitude das faixas de suficiência e número de observações utilizadas para construir as normas. Em fruteiras, normas derivadas de regiões mediterrâneas ou de cultivares específicos apresentaram baixa aplicabilidade em outros contextos, exigindo ajustes locais (Quyen et al., 2024; Morales et al., 2022; Nortjé et al., 2023). No caso do cacau, Bahia et al. (2021) observaram mais de 90% de concordância entre normas gerais e específicas quando o sistema de cultivo era mantido, indicando que a universalidade pode ser viável em cenários homogêneos.

Embora o cultivo do cacau (*Theobroma cacao* L.) esteja em expansão na Amazônia Ocidental, ainda não há valores de referência desenvolvidos especificamente para essa região. Como consequência, utiliza-se na diagnose nutricional do cacau um conjunto de normas elaboradas para outras regiões, principalmente para ecossistemas costeiros do Nordeste (Bahia et al., 2021; Marrocos et al., 2020; Oliveira et al., 2019; Chepote et al., 2013). No entanto, as diferenças edafoclimáticas e de manejo entre essas regiões podem comprometer a acurácia diagnóstica e reduzir a eficiência das recomendações de adubação.

Além disso, mesmo quando se utilizam métodos analíticos padronizados, variações em procedimentos como limpeza foliar, preparo de reagentes e calibração de equipamentos podem gerar resultados discrepantes entre laboratórios (Watson, 1981; Crosland et al., 2001; Ross et al., 2015; Eckert et al., 2023). Isso levanta questionamentos

sobre a robustez e a confiabilidade das normas, especialmente quando derivadas de conjuntos de dados obtidos sob condições metodológicas distintas.

Essas evidências reforçam a importância de se avaliar, simultaneamente, a influência do ambiente produtivo e das incertezas analíticas sobre a consistência das normas nutricionais. Ensaio interlaboratoriais com amostras foliares idênticas e protocolos químicos equivalentes são fundamentais para quantificar o impacto dos desvios laboratoriais na construção de normas e na identificação de nutrientes limitantes.

Portanto, a hipótese deste trabalho é que variações metodológicas entre laboratórios, ainda que sutis, são suficientes para alterar o diagnóstico nutricional e comprometer a padronização das normas aplicadas ao cacaueteiro.

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar a consistência e a aplicabilidade universal das normas nutricionais derivadas de conjuntos de dados foliares obtidos em diferentes laboratórios, comparando os diagnósticos gerados por cada protocolo analítico e quantificando o impacto dos desvios interlaboratoriais na precisão e na concordância das recomendações de adubação para o cacaueteiro na Amazônia Ocidental.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para o levantamento dos dados nutricionais, foram monitoradas 194 lavouras comerciais de cacaueteiro com pelo menos três anos de idade, localizadas no estado de Rondônia. As unidades amostrais abrangeram os municípios de Alta Floresta d'Oeste, Alto Alegre dos Parecis, Ariquemes, Cacaupândia, Cacoal, Jaru, Machadinho do Oeste, Ministro Andreazza, Nova União, Ouro Preto do Oeste, Rolim de Moura, Santa Luzia d'Oeste, Teixeirópolis, Theobroma e Vale do Anari.

As áreas de produção apresentavam distintos sistemas de manejo, regimes de irrigação e programas de adubação. Entre dezembro de 2022 e janeiro de 2023, em cada lavoura coletaram-se, de forma aleatória, aproximadamente quarenta folhas recém-maturadas, obtidas no terço médio da copa de cerca de dez plantas por propriedade, conforme o protocolo descrito por Oliveira et al. (2019) e Chepote et al. (2013). O material foliar foi acondicionado em sacos de papel identificados e transportado ao laboratório para subsequente limpeza, secagem, moagem e determinação dos teores de macronutrientes e micronutrientes.

As amostras foliares, compostas por limbo e pecíolo íntegros, foram pré-secas em ambiente seco e ventilado e, em seguida, acondicionadas em sacos de papel, conforme o protocolo de Chepote et al. (2013). A secagem final realizou-se em estufa de circulação de ar forçada a 65 °C, em ciclos sucessivos, até constância de massa. Após esse procedimento, o material foi moído em moinho de facas e armazenado em recipientes plásticos herméticos.

Para avaliação da precisão analítica, parte do material pulverizado foi dividida em dois lotes destinados a análises duplicadas em laboratórios fisicamente independentes, ambos participantes do Programa Interlaboratorial de Análise de Tecido Vegetal (PIATV).

As análises químicas seguiram metodologias consagradas na literatura, conforme descritas por Bataglia et al. (1983) e Carmo et al. (2000), com pequenas variações entre os laboratórios. Os nutrientes minerais foram determinados, em ambos os casos, predominantemente após digestão nitroperclórica. O boro foi quantificado após calcinação a 550 °C (mufla), seguida de solubilização das cinzas em água destilada. O nitrogênio total foi obtido por digestão sulfúrica, sendo a quantificação realizada por destilação (Kjeldahl) ou por oxidação com peróxido de hidrogênio, a depender do protocolo laboratorial adotado. As quantificações foram realizadas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) para Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn e B; por fotometria de chama para K; por espectrofotometria molecular para P e S; e por destilação com titulação para o N total.

Os dados foliares analisados neste estudo foram gerados por dois laboratórios fisicamente independentes. Para preservar o anonimato institucional, as unidades analíticas foram nomeadas Lab 1 e Lab 2, sendo essa denominação atribuída por sorteio aleatório. Os conjuntos de resultados foram avaliados de três maneiras: (i) separadamente para o Lab 1, (ii) separadamente para o Lab 2 e (iii) de forma conjunta, combinando-se as observações de ambos os laboratórios a fim de aumentar a representatividade amostral. Ao longo do texto, esse agrupamento combinado é referido como “conjunto total” (Lab 1 + Lab 2).

Os teores de Cu, Fe, Mn, Zn e B, originalmente expressos em mg kg<sup>-1</sup>, foram convertidos para g kg<sup>-1</sup> (1 mg kg<sup>-1</sup> = 0,001 g kg<sup>-1</sup>) a fim de uniformizar as unidades com aquelas dos macronutrientes. Para cada amostra foliar, calculou-se a matéria seca residual

(R) mediante a Equação 1, na qual T representa a soma dos teores de todos os nutrientes, em g kg<sup>-1</sup>:

$$R=1000-T \quad [1]$$

A média geométrica (GM) de cada amostra foi obtida pela raiz duodécima do produto entre os teores individuais dos 11 nutrientes e o valor de R (Equação 2):

$$GM = (x_1 * x_2 * \dots * x_{11} * R)^{1/12} \quad [2]$$

em que  $x_i$  denota o teor do  $i$ -ésimo nutriente (g kg<sup>-1</sup>). O víngtil multivariado (índice CND) de cada nutriente foi então calculado como o logaritmo natural da razão entre o seu teor e a GM respectiva (Equação 3):

$$CND_i = \ln (x_i/GM) \quad [3]$$

As normas CND foram definidas pela média aritmética ( $\mu$ ) e pelo desvio-padrão ( $\sigma$ ) dos  $CND_i$  obtidos a partir da população de referência (Parent & Dafir, 1992). O tamanho mínimo dessa população foi estimado com base na distribuição normal padrão, utilizando-se valores-Z entre 0,524 e 1,960, que correspondem a níveis de confiança de 40 % a 95 %, respectivamente.

A interpretação diagnóstica foi conduzida segundo dois critérios complementares: (i) o Potencial de Resposta à Adubação (PRA), em esquemas de três e de cinco classes (Wadt et al., 2005), e (ii) o critério da Matéria Seca (MS) proposto por Hallmark et al. (1987). As faixas de classificação empregadas para os índices de nutrientes (INut), para o índice médio de balanço nutricional (mNBI) e para o índice de matéria seca (IMS) estão resumidas na Tabela 1.

A interpretação dos índices de nutrientes (INut) baseia-se no princípio de que valores mais negativos indicam maior limitação nutricional (Tabela 1). No esquema PRA com cinco classes (PRA-5), diagnosticam-se deficiência severa quando (i) o INut apresenta o menor valor entre todos os nutrientes avaliados, (ii) é negativo e (iii) o seu módulo excede o índice médio de balanço nutricional (mNBI). De forma análoga, caracteriza-se excesso severo quando o INut corresponde ao maior valor positivo do conjunto e o seu módulo também supera o mNBI.

**Tabela 1.** Critérios de interpretação dos diagnósticos nutricionais com base nos índices individuais (INut), no índice médio de balanço nutricional (mNBI) e no índice da matéria seca (IMS).

Classe	Categoria	PRA	MS
		Wadt et al. (2005)	Hallmark et al. (1987)
-2	Deficiência severa	INut < 0,  INut  > mNBI e INut é o menor	—
-1	Deficiência	INut < 0 e  INut  > Mnbi	INut < IMS
0	Suficiência	INut  ≤ Mnbi	INut ≥ IMS
1	Excesso	INut > 0 e  INut  > Mnbi	—
2	Excesso severo	INut > 0,  INut  > mNBI e INut é o maior	—

INut é o índice individual de cada nutriente, mNBI é o módulo do índice médio de balanço nutricional, IMS é o índice calculado para a matéria seca, e os símbolos |INut| representam o valor absoluto de INut, em módulo.

Pelo critério da Matéria Seca (MS), proposto por Hallmark et al. (1987), considera-se que um nutriente é limitante quando o respectivo INut é inferior ao índice de matéria seca (IMS); caso contrário, classifica-se como não limitante ou suficiente. Esse procedimento incorpora uma referência agrônômica direta, o acúmulo de biomassa, permitindo discriminar os nutrientes que efetivamente restringem a produção de matéria seca daqueles cujo índice, embora numericamente baixo, não exerce impacto significativo sobre o crescimento vegetal.

Para o conjunto integrado de 194 lavouras, cada unidade produtiva foi classificada quanto ao estado nutricional segundo (i) o laboratório responsável pela análise (Lab 1 ou Lab 2), (ii) o respectivo conjunto de normas CND e (iii) o critério de interpretação diagnóstica (PRA-3, PRA-5 ou MS). Além disso, elaborou-se um terceiro conjunto de normas, designado “conjunto total”, obtido pela combinação dos dados de ambos os laboratórios; tais normas foram igualmente aplicadas a todas as lavouras para fins de comparação.

A consistência entre os diferentes conjuntos de normas foi avaliada mediante o grau de concordância (GC). Para cada critério de interpretação, os diagnósticos gerados com (a) as normas do Lab 1, (b) as normas do Lab 2 e (c) as normas do conjunto total foram comparadas em pares. O GC foi expresso como a percentagem de coincidência entre duas classificações, tomando-se uma delas como referência e verificando-se a proporção de coincidências na outra. Por depender da direção da comparação, os resultados são apresentados separadamente para: Lab 2 → Lab 1, Lab 1 → Lab 2, Conjunto Total → Lab 1, Lab 1 → Conjunto Total, Conjunto Total → Lab 2 e Lab 2 → Conjunto Total.

Para a comparação entre laboratórios, os dados foram analisados no Microsoft Excel, sem uso de softwares estatísticos dedicados. Os teores nutricionais foliares e as normas CND foram comparados por meio do teste t de Student (médias) e do teste F de Snedecor (variâncias), com nível de significância de 5%. O GC% entre os diagnósticos foi avaliado apenas com o teste t. As análises assumiram normalidade e homogeneidade, com diferenças significativas indicadas por asterisco (\*) e “ns” para resultados não significativos.

## RESULTADOS

O número mínimo de amostras necessárias para compor a população de referência aumentou com o nível de confiança estatística (Tabela 2). Nos níveis mais baixos, como 40% e 50%, os tamanhos amostrais foram nulos em todos os conjuntos analisados. A partir de 80 % de confiança, o conjunto total passou a apresentar dados disponíveis, ainda que em número reduzido. No nível de 95%, todos os conjuntos analisados apresentaram quantitativos expressivos, com 107, 103 e 90 amostras válidas em Lab 1, Lab 2 e no conjunto total, respectivamente (Tabela 2). Essas amostras foram utilizadas para o estabelecimento das normas CND, considerando-se a representatividade estatística da população com base na variabilidade observada nas lavouras monitoradas.

**Tabela 2.** Tamanho mínimo da amostra necessário para compor a população de referência em função do nível de confiança estatística.

Nível de confiança	Estatística Z	Amostras mínimas necessárias*		
		Lab 1	Lab 2	Conjunto total
40 %	0,524	0	0	0
50 %	0,674	0	0	0
60 %	0,840	2	1	2
70 %	1,040	18	9	8
80 %	1,280	49	30	30
85 %	1,440	66	51	47
90 %	1,645	89	77	65
95 %	1,960	107	103	90

\* As quantidades correspondem ao número mínimo de amostras requeridas, por conjunto de dados, para que o intervalo de confiança desejado cubra a variabilidade observada nas lavouras de cacau monitoradas.

Os teores foliares médios dos nutrientes variaram entre os laboratórios, com diferenças em magnitude e direção a depender do elemento analisado (Tabela 3). De

modo geral, o Lab 2 apresentou maiores teores para P, Ca, S, B, Zn, Fe e Mn, enquanto K, Mg e Cu foram superiores no Lab 1. As discrepâncias mais expressivas ocorreram para Zn (-38,4 %), B (-27,7 %), Mn (-23,4 %) e Fe (-22,2 %). Por outro lado, os teores de N apresentaram alta similaridade entre os laboratórios (-1,7 %), indicando maior estabilidade analítica.

As diferenças observadas nos teores médios foram acompanhadas por distintos níveis de variabilidade interna, conforme revelado pelos coeficientes de variação (CV%) (Tabela 3). Os micronutrientes Cu, Zn, Mn e B apresentaram os maiores CVs, com destaque para Cu, cujos valores foram mais elevados no Lab 2 e se mantiveram altos mesmo no conjunto total. Para Zn, observou-se um comportamento atípico, no qual o CV do conjunto total superou os valores dos laboratórios individualmente. Entre os macronutrientes, apenas o Ca apresentou CV superior a 30 % nos dois laboratórios, destacando-se pela maior dispersão relativa dentro da classe. De modo geral, o Lab 2 apresentou CVs mais elevados do que o Lab 1 para a maioria dos nutrientes, sugerindo maior variabilidade interna nesse conjunto.

As diferenças observadas entre os laboratórios foram confirmadas estatisticamente (Tabela 3). Na comparação entre o Laboratório 1 e o Laboratório 2, o teste t indicou diferença significativa nas médias para oito dos onze nutrientes avaliados, reforçando a existência de discrepâncias analíticas relevantes entre os conjuntos. Ao comparar cada laboratório com o conjunto total, observou-se redução no número de diferenças significativas: seis nutrientes no comparativo Lab 1 vs. conjunto e cinco no comparativo Lab 2 vs. conjunto. Para o teste F, que avalia a igualdade das variâncias, observaram-se diferenças apenas para cinco nutrientes (P, S, B, Zn e Mn) para a comparação entre Lab 1 vs. Lab 2. De forma semelhante ao teste t, as comparações com o conjunto também resultaram em menor número de diferenças significativas, em que apenas.

**Tabela 3.** Teores foliares de nutrientes em folhas de cacaueteiro em Rondônia, com base em dados de dois laboratórios e do conjunto total.

Nutriente	Teor (g kg <sup>-1</sup> )			Δ %	Lab 1 x Lab 2		Lab 1 x Conjunto		Lab 2 x Conjunto	
	Lab 1	Lab 2	Conjunto		t	F	t	F	t	F
Macronutrientes										
N	17.675 ± 2.080 (11.8)	17.980 ± 2.268 (12.6)	17.824 ± 2.172 (12.2)	-1.7	ns	ns	ns	ns	ns	ns
P	1.119 ± 0.230 (20.6)	1.279 ± 0.266 (20.8)	1.198 ± 0.257 (21.5)	-13.3	*	*	*	ns	*	ns
K	12.246 ± 2.910 (23.8)	11.287 ± 2.713 (24.0)	11.784 ± 2.867 (24.3)	+8.2	*	ns	ns	ns	ns	ns
Ca	10.535 ± 3.590 (34.1)	11.223 ± 3.385 (30.2)	10.999 ± 3.697 (33.6)	-6.3	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Mg	5.017 ± 0.880 (17.5)	4.810 ± 0.626 (13.0)	4.901 ± 0.769 (15.7)	+4.2	*	ns	ns	ns	ns	*
S	1.620 ± 0.240 (14.8)	1.753 ± 0.584 (33.3)	1.703 ± 0.396 (23.3)	-7.9	*	*	*	*	ns	ns
Micronutrientes										
B	0.028 ± 0.010 (35.7)	0.037 ± 0.010 (27.0)	0.033 ± 0.010 (30.3)	-27.7	*	*	*	*	*	ns
Zn	0.059 ± 0.030 (50.8)	0.087 ± 0.047 (54.0)	0.072 ± 0.041 (56.9)	-38.4	*	*	*	*	*	ns
Fe	0.072 ± 0.030 (41.7)	0.090 ± 0.035 (38.9)	0.082 ± 0.036 (43.9)	-22.2	*	ns	*	ns	*	ns
Mn	0.498 ± 0.240 (48.2)	0.630 ± 0.306 (48.6)	0.567 ± 0.285 (50.3)	-23.4	*	*	*	*	*	ns
Cu	0.015 ± 0.010 (66.7)	0.013 ± 0.014 (107.7)	0.014 ± 0.014 (100.0)	+14.3	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Valores apresentados como média ± desvio-padrão; entre parênteses, o coeficiente de variação (CV %). Δ % = diferença relativa entre as médias dos laboratórios [((Lab 1 - Lab 2)/média) × 100]. O símbolo \* indica diferença significativa entre os diagnósticos; ns indica diferença não significativa.

Um exemplo pontual foi observado para o Mg, cuja variância não diferiu entre os laboratórios, mas apresentou diferença significativa quando o Lab 2 foi comparado ao conjunto (Tabela 3). Esse resultado reforça que a sensibilidade do teste F pode variar conforme o grupo de comparação, exigindo interpretação cautelosa. Por fim, verificou-se que os nutrientes N, Ca e Cu mantiveram-se estáveis em todas as comparações, sem diferença significativa nas médias ou nas variâncias.

O teste t indicou diferenças significativas entre Lab 1 e Lab 2 nas normas CND para dez dos doze componentes avaliados, com exceção apenas de P e Ca (Tabela 4). Na comparação das normas CND entre Lab 1 e o conjunto, cinco variáveis apresentaram diferenças significativas (N, K, B, Zn e R), enquanto a comparação entre Lab 2 e o conjunto revelou oito diferenças (K, Mg, S, B, Zn, Fe, Cu e R) (Tabela 4). Para o teste F, diferenças de variância foram identificadas apenas para S entre Lab 1 e Lab 2 e entre Lab 1 e o conjunto, enquanto Mg, B e R apresentaram diferenças entre Lab 2 e o conjunto. O valor de R, diferiu em todas as comparações no teste t e apresentou variação significativa na comparação entre Lab 2 e o conjunto no teste F.

A comparação dos diagnósticos nutricionais obtidos com normas específicas dos laboratórios frente às normas externas (NE) e à norma geral (NCnj) evidenciou padrões consistentes entre os dois conjuntos de dados (Tabelas 5 e 6). Independentemente do laboratório ou do critério de interpretação adotado (MS, PRA-3 ou PRA-5), os maiores graus de concordância foram observados na comparação com a norma geral. Além disso, o critério MS, resultou nas maiores taxas de concordância, em ambos os laboratórios: variando de 77% a 95% no Laboratório 1 e de 76% a 99% no Laboratório 2. Em contraste, como PRA-3 e PRA-5, apresentaram GC% mais baixos e maior número de diferenças estatísticas. No critério PRA-3, os GC% variaram de 60% a 97% no Lab 1 e de 68% a 98% no Lab 2. Já no critério PRA-5, observou-se a maior amplitude de variação: de 56% a 92% no Lab 1 e de 51% a 95% no Lab 2.

**Tabela 4.** Normas CND para cacauero em Rondônia. Valores apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão das relações multivariada entre nutrientes

Nutriente	Norma CND			Lab 1 x Lab 2		Lab 1 x Conjunto		Lab 2 x Conjunto	
	Lab 1	Lab 2	Conjunto	t	F	t	F	t	F
Macronutrientes									
N	2.723 $\pm$ 0.183	2.646 $\pm$ 0.169	2.675 $\pm$ 0.176	*	ns	*	ns	ns	ns
P	-0.045 $\pm$ 0.255	-0.023 $\pm$ 0.239	-0.041 $\pm$ 0.245	ns	ns	ns	ns	ns	ns
K	2.354 $\pm$ 0.291	2.165 $\pm$ 0.261	2.251 $\pm$ 0.298	*	ns	*	ns	*	ns
Ca	2.113 $\pm$ 0.289	2.099 $\pm$ 0.285	2.105 $\pm$ 0.280	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Mg	1.423 $\pm$ 0.201	1.323 $\pm$ 0.159	1.379 $\pm$ 0.190	*	ns	ns	ns	*	*
S	0.316 $\pm$ 0.189	0.175 $\pm$ 0.462	0.278 $\pm$ 0.273	*	*	ns	*	*	ns
Micronutrientes									
B	-3.740 $\pm$ 0.281	-3.600 $\pm$ 0.239	-3.670 $\pm$ 0.300	*	ns	*	ns	*	*
Zn	-3.211 $\pm$ 0.585	-2.864 $\pm$ 0.528	-3.057 $\pm$ 0.560	*	ns	*	ns	*	ns
Fe	-2.895 $\pm$ 0.425	-2.726 $\pm$ 0.330	-2.839 $\pm$ 0.413	*	ns	ns	ns	*	*
Mn	-0.981 $\pm$ 0.426	-0.824 $\pm$ 0.437	-0.904 $\pm$ 0.440	*	ns	ns	ns	ns	ns
Cu	-4.758 $\pm$ 0.738	-4.990 $\pm$ 0.659	-4.828 $\pm$ 0.707	*	ns	ns	ns	*	ns
R	6.702 $\pm$ 0.153	6.618 $\pm$ 0.122	6.651 $\pm$ 0.148	*	ns	*	ns	*	*

Valores expressos em g kg<sup>-1</sup>. Normas CND estimadas com base nas amostras válidas: Lab 1 (173–185), Lab 2 (175–183), conjunto (351–374). O símbolo \* indica diferença significativa entre os diagnósticos; ns indica diferença não significativa para o teste t e teste F.

No Laboratório 1, a aplicação do critério MS apresentou GC% iguais ou superiores a 95% para dois dos onze nutrientes (Ca e S) quando comparado à norma geral (Tabela 5). A análise estatística entre os graus de concordância obtidos com as normas NE e NCnj, dentro desse mesmo critério, indicou ausência de diferença significativa para quatro nutrientes (N, P, Ca e Mg). Por outro lado, sob os critérios PRA-3 e PRA-5, a frequência de discordâncias aumentou. No critério PRA-3, os GC% ficaram abaixo de 75% para K, S, B e Zn, e houve diferença significativa entre as normas NE e NCnj para todos os nutrientes, exceto Cu. Já no critério PRA-5, as divergências se acentuaram ainda mais: K e S apresentaram GC% inferiores a 56%, mas, nesse caso, nenhuma diferença significativa foi observada entre as normas NE e NCnj.

**Tabela 5.** Grau de concordância (%) entre os diagnósticos nutricionais obtidos com normas específicas do Laboratório 1 em comparação às normas do Laboratório 2 (NE) e às normas gerais derivadas do conjunto (NCnj), sob diferentes critérios interpretativos.

Nutrientes	Amostras Laboratório 1 (GC)								
	MS			PRA-3			PRA-5		
	NE	NCnj	t	NE	NCnj	t	_NE	PRA-5_NCnj	t
N	91%	94%	ns	85%	92%	*	77%	85%	*
P	89%	92%	ns	92%	96%	*	80%	87%	*
K	84%	91%	*	72%	87%	*	56%	75%	*
Ca	94%	95%	ns	85%	96%	*	75%	92%	*
Mg	90%	93%	ns	78%	92%	*	62%	86%	*
S	83%	95%	*	60%	78%	*	56%	71%	*
B	78%	89%	*	71%	83%	*	59%	76%	*
Zn	80%	91%	*	73%	86%	*	63%	80%	*
Fe	77%	91%	*	81%	92%	*	68%	87%	*
Mn	81%	90%	*	87%	93%	*	78%	88%	*
Cu	82%	92%	*	94%	97%	ns	85%	92%	*

Valores expressam o grau de concordância (GC%) entre diagnósticos obtidos com as normas específicas do Laboratório 1 e (i) as normas do outro laboratório (NE) ou (ii) a norma geral construída a partir do conjunto (NCnj). Foram utilizados três critérios interpretativos: MS (matéria seca), PRA-3 (três classes) e PRA-5 (cinco classes). O símbolo \* indica diferença significativa entre os diagnósticos; ns indica diferença não significativa. Número total de amostras: 183.

No Laboratório 2, o critério MS apresentou elevada concordância entre as normas para NCnj, com GC% superiores a 95% para cinco dos onze nutrientes (Tabela 6). A análise estatística dos GC% entre essas normas, dentro do critério MS, indicou diferença significativa para a maioria dos nutrientes, exceto para N, Mg e S. Já sob o critério PRA-3, nove dos onze nutrientes apresentaram diferenças significativas entre NE e NCnj (exceto P, Fe e Cu), com destaque para o nutriente K, que obteve apenas 68% de GC com

a norma NE e 84% com a NCnj. No critério PRA-5, as divergências se intensificaram, com GC menores que 55% para K e S, e nove nutrientes apresentaram diferenças estatísticas entre as normas NE e NCnj, exceto Fe e Cu.

**Tabela 6.** Grau de concordância (%) entre os diagnósticos nutricionais obtidos com normas específicas do Laboratório 2 em comparação às normas do Laboratório 1 (NE) e às normas gerais derivadas do conjunto (NCnj), sob diferentes critérios interpretativos.

Nutrientes	Amostras Laboratório 2 (GC)								
	MS			PRA-3			PRA-5		
	NE	NCnj	t	NE	NCnj	t	NE	NCnj	t
N	94%	96%	ns	82%	93%	*	76%	87%	*
P	87%	96%	*	88%	92%	ns	79%	86%	*
K	87%	96%	*	68%	84%	*	55%	74%	*
Ca	96%	99%	*	94%	98%	*	85%	95%	*
Mg	88%	93%	ns	79%	87%	*	66%	77%	*
S	88%	91%	ns	70%	83%	*	51%	68%	*
B	76%	86%	*	75%	82%	*	68%	76%	*
Zn	87%	93%	*	75%	88%	*	63%	77%	*
Fe	77%	87%	*	84%	86%	ns	77%	81%	ns
Mn	87%	93%	*	89%	96%	*	78%	89%	*
Cu	87%	97%	*	88%	87%	ns	79%	79%	ns

Valores expressam o grau de concordância (GC%) entre diagnósticos obtidos com as normas específicas do Laboratório 2 e (i) as normas do outro laboratório (NE) ou (ii) a norma geral construída a partir do conjunto (NCnj). Foram utilizados três critérios interpretativos: MS (matéria seca), PRA-3 (três classes) e PRA-5 (cinco classes). O símbolo \* indica diferença significativa entre os diagnósticos; ns indica diferença não significativa. Número total de amostras: 189.

## DISCUSSÃO

Um dos aspectos mais relevantes para a construção de normas diagnósticas confiáveis é a representatividade estatística da população de referência. Beaufile (1973) e Rodríguez & Rodríguez (2000) destacam que a robustez das normas depende da existência de um banco de dados amplo e coerente, que represente adequadamente a variabilidade normal das condições de cultivo.

Neste estudo, buscou-se atender a esse princípio por meio da aplicação de um critério rigoroso de seleção baseado em níveis de confiança da distribuição normal ( $Z = 1,960$ ), de forma a garantir maior consistência estatística das amostras incluídas. Como

consequência, observou-se uma redução no número de amostras válidas, especialmente no conjunto, o que é esperado quando se elimina ruídos e duplicidades interlaboratoriais.

Apesar dessa redução, as normas derivadas do conjunto apresentaram desempenho relativamente estável, sugerindo que, quando os critérios de seleção são tecnicamente fundamentados, a integração de dados de diferentes laboratórios pode mitigar variações metodológicas sem comprometer a coerência das normas.

No entanto, os resultados também mostraram que a representatividade estatística, isoladamente, não assegura uniformidade diagnóstica em contextos interlaboratoriais. Diferenças significativas nos teores médios de nutrientes entre os laboratórios indicam variações analíticas importantes, sobretudo para P, K, S, B, Zn, Fe e Mn.

Essas discrepâncias não se limitam às concentrações absolutas, mas podem refletir inconsistências nos procedimentos laboratoriais, como preparo de reagentes, calibração dos equipamentos, controle de qualidade interno e experiência dos analistas, como já destacado por Watson (1981), Ross et al. (2015), McGrath et al. (2019) e Eckert et al. (2023).

Os CV% reforçaram essa interpretação, evidenciando maior instabilidade entre os micronutrientes, com destaque para Cu, Zn, Mn e B. Isso possivelmente se deve à menor concentração natural desses elementos e à maior sensibilidade metodológica dos ensaios. Por outro lado, N, Ca e Cu demonstraram maior estabilidade estatística, sugerindo confiabilidade nos métodos utilizados.

O teste t apontou diferenças estatisticamente significativas entre os laboratórios para oito dos onze nutrientes. No entanto, ao comparar cada laboratório com o conjunto, o número de diferenças diminuiu, indicando que a consolidação dos dados pode atenuar discrepâncias individuais. Resultado semelhante foi observado no teste F, sugerindo que a fusão de dados de diferentes fontes suaviza variabilidades específicas e fortalece a base amostral.

Esse padrão é coerente com Lisboa et al. (2024), ao ressaltarem que a consistência da base é mais determinante do que o volume de dados na definição de normas nutricionais. Mesmo com metodologias declaradamente similares, as divergências persistem, reforçando que fatores extra-metodológicos influenciam significativamente os

resultados laboratoriais. Ensaio interlaboratoriais com protocolos harmonizados são fundamentais para identificar essas fontes ocultas de erro.

Além disso, ainda que o sistema CND tenha sido proposto como universal (Beaufils & Sumner, 1976; Walworth & Sumner, 1987), estudos recentes como Villaseñor Ortiz et al. (2022), Quyen et al. (2024), Bahia et al. (2021) e Oliveira et al. (2019) demonstram que as normas geradas sob condições específicas perdem acurácia quando aplicadas fora do seu contexto original.

Os resultados deste estudo corroboram essa limitação: mesmo com amostras idênticas e protocolos similares, as normas CND derivadas dos dois laboratórios apresentaram diferenças significativas na maioria dos nutrientes. Mais do que diferenças estatísticas, essas variações impactaram diretamente a interpretação diagnóstica.

O grau de concordância entre diagnósticos foi afetado por pequenas flutuações analíticas, especialmente para Zn, S e K, que apresentaram os menores índices de concordância. Em contrapartida, N, Ca e Cu mantiveram maior estabilidade entre laboratórios. Esse padrão persistiu mesmo quando a diagnose foi feita com base nas faixas de suficiência propostas por Oliveira et al. (2019) e Bahia et al. (2021).

A fim de verificar a aplicabilidade dessas faixas já estabelecidas para o cacaueteiro, os teores foliares obtidos neste estudo (Lab 1 e Lab 2) foram comparados com os intervalos diagnósticos definidos por esses autores, ambos baseados em cultivos conduzidos no estado da Bahia. Segundo Oliveira et al. (2019), N, P e K foram diagnosticados como deficientes, Ca e S estiveram em equilíbrio, e Zn, Mn e Cu como excesso. Já Bahia et al. (2021) classificaram P, K e Mg como deficientes, enquanto Zn, Fe e Cu foram novamente classificados como excesso.

No entanto, ao aplicar essas faixas aos dados deste estudo, observou-se que Ca e B apresentaram diagnósticos distintos entre os laboratórios, ou seja, os mesmos nutrientes foram classificados de formas diferentes a depender do laboratório de origem dos dados. Esse achado reforça que mesmo teores médios próximos às referências podem resultar em interpretações conflitantes, evidenciando a sensibilidade do diagnóstico nutricional às variações analíticas, sobretudo quando se utilizam faixas fixas desenvolvidas em contextos regionais distintos.

A magnitude das diferenças entre os teores médios reforça esse cenário: enquanto N variou apenas 1,72% entre laboratórios, Zn apresentou quase 49% de diferença, justamente o nutriente com menor concordância diagnóstica. Já N e Ca, com menor variação nos teores, mantiveram elevados índices de concordância. Isso indica que discrepâncias analíticas mais acentuadas afetam diretamente a consistência do diagnóstico nutricional.

Outro fator relevante é a amplitude das faixas de suficiência. Faixas mais estreitas, comuns para micronutrientes, são mais suscetíveis a pequenas oscilações nos teores, o que amplifica os efeitos das variações laboratoriais sobre a diagnose. Assim, mesmo teores médios próximos às referências da literatura não asseguram uniformidade entre laboratórios distintos.

Esses achados reforçam a argumentação de Walworth & Sumner (1987) sobre a necessidade de que a “variação normal” do sistema esteja representada no banco de dados. Na prática, como mostram Villaseñor Ortiz et al. (2022) e Morales et al. (2022), alcançar essa condição é difícil, especialmente em regiões como a Amazônia Ocidental, cujas condições de solo e clima divergem substancialmente das áreas onde se originaram as normas mais utilizadas para cacaueteiro.

Portanto, a eficácia diagnóstica do sistema CND depende da qualidade metodológica dos dados, da representatividade estatística e da adaptação regional das normas. No entanto, alta concordância não implica alta acurácia diagnóstica. Conforme Traspadini et al. (2018), diferenças laboratoriais afetam tanto os teores quanto a precisão das normas, alterando decisões agrônômicas mesmo em amostras idênticas.

Assim, métricas como o grau de concordância (GC%) são úteis para detectar divergências, mas não devem ser usadas isoladamente como indicadores de eficiência. A validação prática das normas exige testes de eficiência baseados em resposta produtiva ou fisiológica. Essa etapa final de calibração é essencial para que as normas reflitam o real estado nutricional das plantas e sejam aplicáveis em diferentes realidades agrícolas.

Ensaio interlaboratoriais com amostras padronizadas e protocolos harmonizados devem ser incentivados como estratégia fundamental para validar normas nutricionais e promover sua adoção em escalas mais amplas.

## CONCLUSÃO

Foram observadas variações relevantes no grau de concordância entre os diagnósticos obtidos, evidenciando que a construção das normas a partir de diferentes bancos de dados pode alterar substancialmente a interpretação do estado nutricional do cacauero. O cálcio apresentou-se como o nutriente mais estável entre os laboratórios, enquanto potássio, zinco e boro foram mais suscetíveis às variações.

A presente pesquisa propõe que a ampliação do número de amostras fortalece a robustez das normas, mas não é suficiente para garantir uniformidade nos diagnósticos, reforçando a necessidade de protocolos laboratoriais harmonizados e da validação de normas nutricionais específicas para cada realidade.

## REFERÊNCIAS

Agbangba EC, Yalinkpon F, Sossa EL. A simulation study on the comparison of Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS), Modified-DRIS (M-DRIS), and Compositional Nutrient Diagnosis (CND) for pineapple nutrient diagnosis. *Agron Res.* 2024;22(S3):1380–404. <https://doi.org/10.15159/AR.24.101>

Bahia BL, Souza-Júnior JO, Fernandes LV, Neves JCL. Reference values and diagnostic ranges to assess the degree of nutritional balance for cacao plants. *Span J Agric Res.* 2021;19(1):e0801. <https://doi.org/10.5424/sjar/2021191-16905>

Bataglia, O. C., Furlani, A. M. C., Teixeira, J. P. F., Furlani, P. R., & Gallo, J. R. (1983). Métodos de análise química de plantas. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas (Boletim Técnico, 78).

Beaufils ER. Diagnosis and recommendation integrated system (DRIS): a general scheme for experimentation and calibration based on principles developed from research in plant nutrition. Pietermaritzburg: University of Natal; 1973.

Carmo, C. A. F. S., Lopes, A. S., & Oliveira, A. L. (2000). Determinação de nitrogênio total em material vegetal pelo método Kjeldahl modificado. In: Silva, F. C. (Ed.), Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes (2. ed., pp. 167–176). Embrapa Solos.

Chabi OF, Dagbénonbakin GD, Agbangba EC, Oussou B, Amadji GL, Ahoton LE, Aliou S. Soil nutrient deficiency assessment under soybean cropping systems using the DRIS system in northern and central Benin. *S Afr J Plant Soil.* 2023;40(3):149–58. <https://doi.org/10.1080/02571862.2023.2243274>

Chepote RE, Sodré GA, Reis EL, Pacheco RG, Marrocos PCL, Valle RR. Recomendações de corretivos e fertilizantes na cultura do cacauero no sul da Bahia. Ilhéus: CEPLAC, Centro de Pesquisas do Cacau; 2013. (Boletim Técnico, 203).

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/ceplac/publicacoes/boletins-tecnicos-bahia/bt-203.pdf>

Crosland AR, Zhao FJ, McGrath SP. Inter-laboratory comparison of sulphur and nitrogen analysis in plants and soils. *Commun Soil Sci Plant Anal*. 2001;32(5–6):685–95. <https://doi.org/10.1081/CSS-100103901>

Eckert S, Eilers EJ, Jakobs R, Anaia RA, Aragam KS, Bloss T, et al. Inter-laboratory comparison of plant volatile analyses in the light of intra-specific chemodiversity. *Metabolomics*. 2023;19:62. <https://doi.org/10.1007/s11306-023-02026-6>

Hallmark, W. B., Beverly, R. B., & Martens, D. C. (1987). Nutrient sufficiency ranges for evaluating plant analysis data. In C. O. Plank (Ed.), *Plant analysis handbook for Georgia* (pp. 25–33). Athens: University of Georgia, Cooperative Extension Service.

Marrocos PC, Loureiro GA, Araujo QR, Sodré GA, Ahnert D, Baligar VC. Mineral nutrient ratios and cacao productivity. *J Plant Nutr*. 2020;43(15):2368–82. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1771582>

Martins TDS, Taniguchi CAK, Serrano LAL, Natale W, Rozane DE, Artur AG. Diagnostic leaves for evaluating dwarf cashew nutritional status. *Rev Bras Cienc Solo*. 2025;49:e0240080. <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20240080>

McGrath, T., Cronin, M., Kerrigan, E., Wallace, D., Gregory, C., Normandeau, C., & McGovern, E. (2019). A rare intercomparison of nutrient analysis at sea: Lessons learned and recommendations to enhance comparability of open-ocean nutrient data. *Earth System Science Data*, 11(1), 355–374. <https://doi.org/10.5194/essd-11-355-2019>

Morales J, Rodríguez-Carretero I, Martínez-Alcántara B, Canet R, Quiñones A. DRIS norms and sufficiency ranges for persimmon 'Rojo Brillante' grown under Mediterranean conditions in Spain. *Agronomy*. 2022;12(6):1269. <https://doi.org/10.3390/agronomy12061269>

Nortjé GP, van Zijl G, Bouwer D. DRIS norms for avocado production in South Africa. *S Afr Avocado Growers' Assoc Yearb*. 2023;46:7–16. [https://www.avocadosource.com/journals/saaga/saaga\\_2023/saaga\\_2023\\_46\\_pg\\_007.pdf](https://www.avocadosource.com/journals/saaga/saaga_2023/saaga_2023_46_pg_007.pdf)

Oliveira MG, Partelli FL, Cavalcanti AC, Gontijo I, Vieira HD. Soil patterns and foliar standards for two cocoa clones in the States of Espírito Santo and Bahia, Brazil. *Cienc Rural*. 2019;49(10):e20180686. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180686>

Parent LE, Dafir M. A theoretical concept of compositional nutrient diagnosis. *J Am Soc Hortic Sci*. 1992;117(2):239–42. <https://doi.org/10.21273/JASHS.117.2.239>

Quyen NK, Dang LV, Ngoc NP, Phuong Thao PT, Hung NN. Determination of nutritional sufficiency ranges for pomelo (*Citrus grandis* Osbeck) grown on alluvial soils using DRIS. *PLoS ONE*. 2024;19(10):e0312231. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0312231>

Rezende JS, Freire FJ, Silva SRD, Musser RDS, Cavalcante ÍH, Saldanha EC, et al. Nutritional balance in mango plants in the Brazilian semiarid using nutritional diagnostic methods. *Rev Bras Eng Agric Ambient.* 2024;28(11):e277397. <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v25n1p3-9>

Rocha CDS, Rozane DE, Santos EMHD, Cipriano PE, Pauletti V, Lima JD, Zawadneak MAC. Compositional nutrient diagnosis (CND) applied to strawberry soilless. *J Plant Nutr.* 2024;47(19):3444–54. <https://doi.org/10.1080/01904167.2024.2380479>

Rodríguez M, Rodríguez F. Desarrollo, determinación e interpretación de normas DRIS para el diagnóstico nutricional en plantas: una revisión. *Rev Chapingo Ser Hortic.* 2000;6(2):91–9.

Sodré GA, Marrocos PCL, et al. Uso do desvio padrão para estimativa do tamanho da amostra de plantas de cacau (*Theobroma cacao* L.) em estudos de nutrição. *Agrotropica.* 2001;13(3):145–50.

Souza HA, Rozane DE, Natale W, Cipriano PE, Pompeu RCF, Lisboa Guedes F, et al. Application of compositional nutrient diagnosis to maize cultivated in tropical soils in Brazilian semi-arid. *Commun Soil Sci Plant Anal.* 2025;56(1):49–58. <https://doi.org/10.1080/00103624.2024.2404661>

Taniguchi CAK, Rozane DE, Serrano LAL, Artur AG, Natale W. DRIS norms for nutritional diagnosis of dwarf cashew. *J Plant Nutr.* 2025;48(1):1–10. <https://doi.org/10.1080/01904167.2024.2377819>

Traspadini EIF, Wadt PGS, Mello-Prado R, Garcia-Roque C, Roberto-Wassolowski C, Vidal-Perez D. Efficiency of critical level and compositional nutrient diagnosis methods to evaluate boron nutritional status in soybean. *Chilean J Agric Res.* 2022;82(2):309–19. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392022000200309>

Traspadini EIF, Wadt PGS, Prado RM, Perez DV, Roque CG, Arf MV, Vilela RG. Teores de nutrientes foliares em soja determinados por diferentes laboratórios afetam a qualidade dos diagnósticos nutricionais. In: Prado RM, Campos CNS, editores. *Nutrição e adubação de grandes culturas*. Jaboticabal: FUNEP; 2018. p. 97–127.

UNECE - United Nations Economic Commission for Europe. *Guidance to operation of water quality laboratories*. Geneva: United Nations; 2002.

EPA - United States Environmental Protection Agency. *Handbook for analytical quality control in water and wastewater laboratories*. Cincinnati: Environmental Monitoring and Support Laboratory; 1979.

Vaccaro S, Brun EJ, Schumacher MV, König FG, Kleinpaul IS, Ceconi DE. Comparação entre três diferentes métodos de análise de tecido vegetal. *Bol Pesqui Florest.* 2004;48:15–28.

Villaseñor-Ortiz D, Prado RM, Silva GP, Lata-Tenesaca LF. Applicability of DRIS in bananas based on the accuracy of nutritional diagnoses for nitrogen and potassium. *Sci Rep.* 2022;12(1):18125. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-22554-w>

Wadt PGS. Relationships between soil class and nutritional status of coffee plantations. *Rev Bras Frutic.* 2005;29(2):227–34. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832005000200008>

Watson ME. Interlaboratory comparison in the determination of nutrient concentrations of plant tissue. *Commun Soil Sci Plant Anal.* 1981;12(6):601–17. <https://doi.org/10.1080/00103628109367177>

#### **4-RESUMO DA APLICAÇÃO DOS RECURSOS**

O uso dos recursos do projeto com dados fiscais foi enviado no Relatório de Prestação de Contas na presente data e para o período deste relatório constam apenas materiais de consumo. Para a equipe da Unesp não houveram outros aportes de recurso de outras fontes.

#### **5-RESULTADOS ESPERADOS DO PROJETO**

Para a equipe da Unesp/FAPESP foi possível atender as metas com sucesso conforme apresentado neste relatório e será possível:

A partir de padrões nutricionais para a cultura do cacau irá garantir orientações corretas para estabelecer programas de fertilização com base na ciência da nutrição de plantas e atributos de solo com isso deverá aumentar a eficiência das fertilizações e consequentemente incrementos da produtividade e diminuição da incidência de pragas e doenças.

Aprofundar o conhecimento da qualidade das amêndoas de cacau de diferentes genótipos da região amazônica especificamente nos teores de nutrientes, compostos antioxidante e bioativos.

Esses resultados pela equipe da UNESP subvencionados pela Fapesp estão em processo de submissão em periódico de alto impacto. Os resultados de outras equipes que foram subvencionados por outras agências de fomento dos estados de Rondônia (FAPERO) e da Amazônia (FAPEAM) também serão divulgados em periódicos. Além disso, será produzido documentos técnicos (editados pela Embrapa, Ceplac ou qualquer uma das outras instituições) e especialmente na forma de comunicados para serem divulgados na mídia em geral (redes sociais, programas de TV e noticiário local, jornais eletrônicos).

#### **6 - CONSIDERAÇÕES GERAIS**

A síntese dos resultados obtidos nos três estudos evidencia a necessidade de abordagens integradas para superar os principais gargalos agronômicos da cacauicultura na Amazônia. O primeiro estudo *“Clones de cacaueteiro modulam a tolerância a doenças dos frutos e desequilíbrios nutricionais, potencializando a produção do cacau na*

*Amazônia*” demonstrou que clones como EEOP 63 e EEOP 65 apresentam maior estabilidade fisiológica, mantendo produtividade elevada mesmo sob desequilíbrios nutricionais e alta pressão de doenças, como a vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa*). Esses materiais exibiram menores taxas de germinação de sementes e maior eficiência na alocação de biomassa, refletindo sua superioridade agrônômica.

O segundo estudo “*O uso de clones do cacauero e a fermentação modulam o perfil bioquímico e nutricional em amêndoas de cacau da Amazônia*” confirmou que o processamento pós-colheita influencia significativamente os teores de compostos bioativos. As amêndoas não fermentadas preservaram maiores concentrações de fenóis e taninos, enquanto a fermentação promoveu aumento de aminoácidos livres, GB e atividade da enzima SOD em clones como CCN 51 e EEOP 63. Essas alterações bioquímicas indicam que a escolha do genótipo e do regime fermentativo pode ser usada de forma estratégica para otimizar a qualidade nutricional e antioxidante das amêndoas, conforme o perfil funcional desejado.

Já o terceiro estudo “*As normas nutricionais foliares permanecem universais? Evidências interlaboratoriais a partir do cacauero amazônico*” evidenciou que a variabilidade entre laboratórios impacta de forma significativa os resultados diagnósticos, com diferenças nos índices CND e no grau de concordância (GC%) entre nutrientes-chave, como K, S e B. A partir dessas observações, foi desenvolvido o FertilizaCacau, um sistema regional de diagnose nutricional que integra normas multivariadas CND, atributos do solo e metas de produtividade. A plataforma gera recomendações adaptadas às condições locais, utilizando classificações diagnósticas específicas (alta insuficiência até alto excesso) e permitindo intervenções agrônômicas mais precisas.

Em conjunto, os achados reforçam que o sucesso da cacauicultura amazônica depende de três pilares interdependentes: (i) a seleção de genótipos adaptados e eficientes do ponto de vista nutricional e fitossanitário; (ii) a adoção de práticas de pós-colheita que preservem e potencializem a qualidade funcional das amêndoas; e (iii) a construção de diagnósticos nutricionais confiáveis, baseados em dados regionais, análise multivariada e rigor metodológico.

Esses estudos não apenas fortalecem os fundamentos técnicos e científicos da produção cacauera na região, como também geram soluções aplicáveis ao campo. O desenvolvimento do FertilizaCacau representa um avanço estratégico para o manejo

nutricional, permitindo que a diagnose foliar se converta em ações objetivas de correção e recomendação, promovendo maior produtividade, eficiência no uso de insumos e sustentabilidade da cadeia produtiva do cacau na Amazônia.

## 7-REFERÊNCIAS

BARBOSA, R. C. M.; NEVES, A. D. S. Levantamento semidetalhado dos solos da Estação Experimental de Ouro Preto de Oeste, RO. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 1983. (Boletim Técnico, n. 105). 24 p.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, v. 39, p. 205–207, 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00018060>.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

CHEPOTE, R. E. et al. Recomendações de corretivos e fertilizantes na cultura do cacau no sul da Bahia. Ilhéus: CEPLAC, 2013. (Boletim Técnico, 203). Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/ceplac/publicacoes/boletins-tecnicos-bahia/bt-203.pdf>. Acesso em: 19 maio 2025.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.

FANTOZZI, P.; MONTEDORO, G. Dosage des composés phénoliques dans drupes d'olives récoltés à différents stades de maturation. *Industries Alimentaires et Agricoles*, p. 1335–1339, 1978.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. *Journal of Food Science*, v. 33, p. 78–83, 1968.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, v. 59, p. 309–314, 1977. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>.

GRATÃO, P. L. et al. Biochemical dissection of diageotropica and Never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 56, p. 79–96, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.04.009>.

GRIEVE, C. M.; GRATTAN, S. R. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. *Plant and Soil*, v. 70, p. 303–307, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02374789>.

GUTFINGER, T. Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, p. 966–968, 1981.

HALLMARK, W. B.; BEVERLY, R. B.; MARTENS, D. C. Nutrient sufficiency ranges for evaluating plant analysis data. In: PLANK, C. O. (Ed.). *Plant analysis handbook for Georgia*. Athens: University of Georgia, Cooperative Extension Service, 1987. p. 25–33.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 125, p. 2141–2145, 1968. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1).

IAL – Instituto Adolfo Lutz. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3. ed. v. 1. São Paulo: IMESP, 2008.

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. Dados históricos anuais – Ano 2024. Brasília, DF: Ministério da Agricultura e Pecuária, 2024. Disponível em: <https://portal.inmet.gov.br/dadoshistoricos>. Acesso em: 22 maio 2025.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. In: DOUCE, R.; PACKER, L. (Ed.). *Methods in Enzymology*. San Diego: Academic Press, 1987. v. 148, p. 350–382.

LIMA, J. T. G. P. de et al. Desempenho produtivo de famílias de meios-irmãos de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) no município de Ouro Preto do Oeste-RO, Brasil. *Agroecossistemas*, v. 14, n. 1, p. 115–135, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.18542/ragros.v14i1.11818>. Acesso em: 22 maio 2025.

MEINHARDT, L. W. et al. *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao: what's new from this old foe? *Molecular Plant Pathology*, v. 9, n. 5, p. 577–588, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2008.00496.x>. Acesso em: 22 maio 2025.

OLIVEIRA, M. G. et al. Soil patterns and foliar standards for two cocoa clones in the States of Espírito Santo and Bahia, Brazil. *Ciência Rural*, v. 49, n. 10, p. e20180686, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180686>.

PARENT, L. E.; DAFIR, M. A theoretical concept of compositional nutrient diagnosis. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v. 117, n. 2, p. 239–242, 1992.

PRADO, R. de M. *Mineral nutrition of tropical plants*. Switzerland: Springer Nature, 2021. 339 p.

PRICE, M. L.; BUTLER, L. G. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 25, n. 6, p. 1268–1273, 1977. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf60214a034>.

WADT, P. G. S. Relationships between soil class and nutritional status of coffee plantations. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 29, n. 2, p. 227–234, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832005000200008>.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino acids with ninhydrin. *Analyst*, v. 80, p. 209–213, 1955.