



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ALTAMIRA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO**

BRENO CALADO DA SILVA

**EFEITO AMBIENTAL E DE DIFERENTES REGIMES DE REGA E DOSES DE
24-EPIBRASSINOLÍDEO SOBRE O CRESCIMENTO E TEOR DE
CLOROFILA E NITROGÊNIO FOLIAR EM PLANTAS JUVENIS DE CACAU
(*THEOBROMA CACAO*)**

ALTAMIRA

2025

BRENO CALADO DA SILVA

**EFEITO AMBIENTAL E DE DIFERENTES REGIMES DE REGA E DOSES DE
24-EPIBRASSINOLÍDEO SOBRE O CRESCIMENTO E TEOR DE
CLOROFILA E NITROGÊNIO FOLIAR EM PLANTAS JUVENIS DE CACAU
(*THEOBROMA CACAO*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Pará, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação.

Orientador(a): Prof.(a) Dr. Emil José Hernández Ruz

Coorientador(a): Dr.(a) Karin Elisabeth von Schmalz Peixoto

ALTAMIRA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a)
autor(a)

C141e Calado Da Silva, Breno.
EFEITO AMBIENTAL E DE DIFERENTES REGIMES DE
REGA E DOSES DE 24-EPIBRASSINOLÍDEO SOBRE O
CRESCIMENTO E TEOR DE CLOROFILA E NITROGÊNIO
FOLIAR EM PLANTAS JUVENIS DE CACAU
(THEOBROMA CACAO) / Breno Calado Da Silva, . — 2025.
36 f.

Orientador(a): Prof. Dr. Emil José Hernández Ruz
Coorientação: Prof^a. Dra. Karin Elisabeth Von Schmalz
Peixoto

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Campus Universitário de Altamira, Programa de Pós-
Graduação em Biodiversidade e Conservação, Altamira,
2025.

1. cacauero. 2. déficit hídrico. 3. brassinosteróides.
4. metabolismo vegetal. 5. mudanças climáticas. I.
Título.

CDD 577.2

BRENO CALADO DA SILVA

**EFEITO AMBIENTAL E DE DIFERENTES REGIMES DE REGA E DOSES DE
24-EPIBRASSINOLÍDEO SOBRE O CRESCIMENTO E TEOR DE
CLOROFILA E NITROGÊNIO FOLIAR EM PLANTAS JUVENIS DE CACAU
(*THEOBROMA CACAO*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Pará, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação.

Data da aprovação: 31/03/2025

Banca Examinadora:

Doutora Moirah Paula Machado de Menezes

Examinadora interna – Universidade Federal do Pará

Doutor Fábio Miranda Leão

Examinador interno – Universidade Federal do Pará

Doutor Rodolfo Aurelano Salm

Examinador externo – Universidade Federal do Pará

DEDICATÓRIA

Ao meu amado e eterno amigo
“Criado” (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

A conclusão deste trabalho só foi possível graças ao incentivo e apoio de diversas pessoas e instituições, com destaque para a Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas- Fapespa e o Instituto de Desenvolvimento Florestal e da Biodiversidade (IDEFLOR-Bio), às quais gostaria de expressar minha profunda gratidão pela doação bolsa de pesquisa e materiais. Em primeiro lugar, agradeço a meu orientador, Prof. Emil Hernandez, pela paciência e orientação valiosa durante esta trajetória. À co-orientadora Karin Elisabeth von Schmalz Peixoto pela dedicação e auxílio, fundamentais para a conclusão deste estudo. Aos membros da banca examinadora, pelas contribuições e sugestões por fim, à minha família, em especial à minha namorada Taynara Farias, minha filha Clarisse, meus pais Alberto e Sônia Maria e à minha irmã Sabrina, e demais irmãos(as) pelo amor, compreensão e incentivo constante em todas as etapas da minha formação.

“Não acredito em dom
E tudo é tão transitório
Só fazer comprova existir”

(Boogarins- Elogio a Instituição do Cinismo)

RESUMO GERAL

A região da transamazônica e Xingu tem uma economia que depende em boa parte de cultura do cacau (*Theobroma cacao*). Com as mudanças climáticas globais a cultura dessa espécie pode ser altamente prejudicada. Por isso propomos investigar os efeitos da aplicação exógena de duas doses na concentração nanomoles por litro (10 nM e 20 nM e o controle) do fito hormônio 24- epibrassinolídeo, o uso e a ausência de sombreamento e regimes hídricos com intervalos de rega diferentes, sobre características de crescimento, teor de clorofila, e nitrogênio das folhas de 225 plantas juvenis de cacau, no período de 30 dias. Para isso realizamos à randomização das 225 plantas, criando 15 blocos representando os regimes hídricos e em cada um deles distribuímos 15 plantas, entre elas aplicamos uma das doses do BRs (0 nM, 10 nM, 20 nM) a cada 5 plantas. As coletas nos blocos foram realizadas a cada cinco dias, registrando as variáveis de crescimento morfológicas, teores de clorofila, nitrogênio foliar e variáveis ambientais. Verificamos a distribuição dos dados com gráficos de densidade, de frequência das variáveis comprimento e diâmetro do caule. Realizamos um PCA para melhor compreensão da variação dos dados, correlacionando todas as variáveis aos tratamentos. A clorofila e nitrogênio foram utilizados como duas variáveis respostas de duas análises de variância (ANOVA), utilizando os tratamentos como variáveis, foi feito o teste de Tukey para confirmação da variância dentro do tratamento. Cada planta e a aplicação de BRs foram utilizadas como fator aleatório e rodados em um modelo linear de efeitos mistos (LMM), usando máxima similaridade restrita (REML). Os resultados demonstraram que o regime hídrico teve grande efeito na variação das médias de crescimento em relação aos outros tratamentos, e os fatores ambientais temperatura e umidade tiveram grande correlação com a PCA, que conseguiu explicar 46, 32% da variação total dos dados. Em relação ao teor de clorofila e nitrogênio foliar ambos só sofreram efeito significativo em seus níveis do regime hídrico, especificamente do intervalo de rega de 30 dias. Houve diferença na interação entre as plantas com a dosagem 20 nM e o grupo controle, apresentando um efeito nivelador, enquanto a dosagem 10 nM demonstrou reagir mais intensamente às mudanças ambientais.

Palavras-chave: Cacau. Déficit hídrico. Brassinosteróide. Mudanças climáticas.

ABSTRACT

Trans-Amazonian and Xingu region has an economy that depends largely on cocoa cultivation (*Theobroma cacao*). With global climate change, the crop of this species can be highly affected. Therefore, we propose to investigate the effects of the exogenous application of two doses at the concentration in nanomoles per liter (10 nM and 20 nM and the control) of the phytohormone 24-epibrassinolide, the use and absence of shading and water regimes with different irrigation intervals, on growth characteristics, chlorophyll content, and nitrogen of the leaves of 225 juvenile cocoa plants, in the period of 30 days. For this, we randomized the 225 plants, creating 15 blocks representing the water regimes and in each of them we distributed 15 plants, among which we applied one of the BRs doses (0 nmol, 10 nmol, 20 nmol) to every 5 plants. Collections in the blocks were carried out every five days, recording the morphological growth variables, chlorophyll content, leaf nitrogen and environmental variables. We verified the data distribution with density and frequency graphs of the variables stem length and diameter. We performed a PCA to better understand the data variation, correlating all variables to the treatments. Chlorophyll and nitrogen were used as two response variables of two analyses of variance (ANOVA), using the treatments as variables; the Tukey test was performed to confirm the variance within the treatment. Each plant and the application of BRs were used as a random factor and run in a linear mixed effects model (LMM), using restricted maximum similarity (REML). The results demonstrated that the water regime had a great effect on the variation of the growth means in relation to the other treatments, and the environmental factors temperature and humidity had a great correlation with the PCA, which managed to explain 46.32% of the total data variation. Regarding the chlorophyll and leaf nitrogen content, both only suffered a significant effect on their levels of the water regime, specifically the 30-day irrigation interval. There was a difference in the interaction between plants with the 20 nM dosage and the control group, showing a leveling effect, while the 10 nM dosage showed a more intense reaction to environmental changes.

Keywords: Cocoa. Water deficit. Brassinosteroid. Climate change

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	11
2 OBJETIVOS GERAIS	12
3 REFERÊNCIAS	12

1 INTRODUÇÃO GERAL

O cacau (*Theobroma cacao*) tem ganhado cada vez mais espaço nas esferas econômicas, sociais e ambientais na Amazônia (TRINDADE et al., 2024), sua dependência ao clima úmido e sombreado de florestas tropicais densas (IGAWA; TOLEDO; ANJOS, 2022; KOHL; NIETHER; ABDULAI, 2024), acende um alerta contra o desflorestamento e impacto na disponibilidade hídrica advindo das mudanças climáticas. Estudar o manejo hídrico e tecnologias de intervenções mitigadoras como aplicação exógena de fitormônios podem ser promissoras em amortecer efeitos deletérios na cultura (DE SOUZA OLIVEIRA; SAMPAIO SILVEIRA, 2022; MASSOLO; DÍAZ, 2024; NEVES; SANTOS; CAMPOS, 2024).

A relevância da espécie para biodiversidade e conservação está em seu status perene à seca, altamente sensível a variação climática, que induz nestas circunstâncias climáticas seu cultivo em sistemas agroflorestais onde tende a responder melhor a alta temperatura e baixa precipitação, além de adensar com cacau fragmentos florestais proporciona corredores ecológicos e desencadear ou maximiza diferentes processos ecológicos de restauração (MURNIATI et al., 2022; SANTOS et al., 2022; SOMARRIBA et al., 2021).

O cacau embora seja uma espécie relevante na Amazônia, estudos de manejo hídrico e de tecnologias contra efeitos da seca não são amplamente discutidos, isto em parte devido ao bioma remetente do cacau onde a precipitação local não costumava ser associada a seca, o que contrasta com os longos períodos de seca percebidos nos últimos anos.(BRANDÃO; ARIEIRA; NOBRE, 2024; SANTANA et al., 2023) De tal forma, verificar o efeito da variação de regimes hídricos e aplicação de brassinosteróides no crescimento e metabolismo de plântulas de *Theobroma cacao* se tornou pertinente devido a sua sensibilidade na resposta aos tratamentos, somado a imprevisibilidade do uso de BRs influenciado por nível de concentração, fatores ambientais, espécie e fase fenológica (HAFEEZ et al., 2021).

Como resultado ficou nítido que os intervalos de regimes hídricos foram os mais influentes nas repostas do cacau comparado aos demais tratamentos (sombreamento e BRs), fatores ambientais também foram relevantes. O intervalo mais extremo sem

irrigação diminuiu o teor dos metabolitos foliares em todas as situações, de forma geral a magnitude do efeito da seca sobrepôs os possíveis efeitos da sombra e BRs.

A presente pesquisa serve como ponto de partida para mais pesquisas envolvendo o cacau, a seca, e BRS. Havendo indicativos para investigação de doses a partir da concentração superior a 20nM, devido a mesma aparentar efeito nivelador. Demais modificações no tempo e tamanho amostral também podem contribuir para entender melhor os efeitos dos tratamentos. Contudo de forma introdutória, a presente pesquisa demonstra efeitos de suspensão de irrigação, no metabolismo e crescimento de plantas juvenis do cacau.

2 OBJETIVOS GERAIS

Verificar o efeito da variação de regimes hídricos e aplicação de brassinosteróides no crescimento e metabolismo de plântulas de *Theobroma cacao* em condições experimentais. Objetivo geral do trabalho, seguido pelos objetivos específicos de cada um dos capítulos.

3 REFERÊNCIAS

BRANDÃO, D. O.; ARIEIRA, J.; NOBRE, C. A. Impactos das mudanças climáticas na sociobioeconomia da Amazônia. **Estudos Avançados**, [s. l.], v. 38, n. 112, p. 249–270, 2024.

DE SOUZA OLIVEIRA, V.; SAMPAIO SILVEIRA, S. EFFECTS OF DIFFERENT IRRIGATION DEPTHS ON THE CONTENT OF TSH1188 COCOA SEEDLINGS PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS. **Revista Ifes Ciência**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 01–06, 2022.

HAFEEZ, M. B.; ZAHRA, N.; ZAHRA, K.; RAZA, A.; BATOOL, A.; SHAUKAT, K.; KHAN, S. Brassinosteroids: Molecular and physiological responses in plant growth and abiotic stresses. **Plant Stress**, [s. l.], v. 2, p. 100029, 2021.

IGAWA, T. K.; TOLEDO, P. M. D.; ANJOS, L. J. S. Climate change could reduce and spatially reconfigure cocoa cultivation in the Brazilian Amazon by 2050. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. e0262729, 2022.

KOHL, T.; NIETHER, W.; ABDULAI, I. Impact of common shade tree species on microclimate and cocoa growth in agroforestry systems in Ghana. **Agroforestry Systems**, [s. l.], v. 98, n. 6, p. 1579–1590, 2024.

MASSOLO, J.; DÍAZ, A. Brassinosteroid biology, potential uses in post-harvest technology and future challenges. **Postharvest Biology and Technology**, [s. l.], v. 212, p. 112853, 2024.

MURNIATI; SUHARTI, S.; MINARNINGSIH; NURONIAH, H. S.; RAHAYU, S.; DEWI, S. What Makes Agroforestry a Potential Restoration Measure in a Degraded Conservation Forest? **Forests**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 267, 2022.

NEVES, E. D.; SANTOS, T. M.; CAMPOS, J. C. A importância do manejo sustentável na irrigação. **OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA**, [s. l.], v. 22, n. 11, p. e7868, 2024.

SANTANA, R.; FARIAS, V. D.; SILVA, A.; JESUS, K.; SOUSA, G.; JUNIOR, A.; JUNIOR, G.; VIEIRA, D. HIDROGEL E DIFERENTES LÂMINAS DE IRRIGAÇÃO EM MUDAS DE CACAUEIRO NA AMAZÔNIA. Em: **Tecnologia e Inovação na Agricultura: aplicação, produtividade e sustentabilidade em pesquisa**. 1. ed. [s.l.] : Editora Científica Digital, 2023. p. 147–158.

SANTOS, M.; CAJAIBA, R. L.; BASTOS, R.; GONZALEZ, D.; PETRESCU BAKIŞ, A.-L.; FERREIRA, D.; LEOTE, P.; BARRETO DA SILVA, W.; CABRAL, J. A.; GONÇALVES, B.; MOSQUERA-LOSADA, M. R. Why Do Agroforestry Systems Enhance Biodiversity? Evidence From Habitat Amount Hypothesis Predictions. **Frontiers in Ecology and Evolution**, [s. l.], v. 9, p. 630151, 2022.

SOMARRIBA, E.; PEGUERO, F.; CERDA, R.; OROZCO-AGUILAR, L.; LÓPEZ-SAMPSON, A.; LEANDRO-MUÑOZ, M. E.; JAGORET, P.; SINCLAIR, F. L. Rehabilitation and renovation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) agroforestry systems. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, [s. l.], v. 41, n. 5, p. 64, 2021.

TRINDADE, L. X.; SAES, M. S. M.; FERNANDES, J. A. L.; MARCOVITCH, J. Governança e Apropriação de Valor na Bioeconomia do Cacau no Amazonas. **Revista de Administração Contemporânea**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. e240184, 2024.



Este capítulo está formatado nas normas da revista Phyton-International Journal of Experimental Botany, disponível em: https://www.techscience.com/phyton/info/auth_instru .

1
2
3
4
5
6
7



Efeito ambiental e de diferentes regimes de rega e doses de 24-Epibrassinolídeo sobre o crescimento e teor de clorofila e nitrogênio foliar em plantas juvenis de cacau (*Theobroma cacao*).

Doi:10.32604/phyton.2025.0xxxxx

ARTICLE**Efeito ambiental e de diferentes regimes de rega e doses de 24-Epibrassinolídeo sobre o crescimento e teor de clorofila e nitrogênio foliar em plantas juvenis de cacau (*Theobroma cacao*).****Breno Calado da Silva¹**¹Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Universidade Federal do Pará, Campus Altamira, Altamira - PA

ABSTRACT: This study investigates the effects of water regime and the application of brassinosteroids (BRs) on the morphophysiological characteristics of cacao (*Theobroma cacao* L.), focusing on its resilience to climate change. The analysis was conducted through Principal Component Analysis (PCA), analyses of variance (ANOVAs) and a linear mixed model (LMM), identifying variation patterns among individuals subjected to different treatments. The results indicate that water regime is the primary factor influencing the plant's metabolic variables, either attenuating or enhancing the effects of other treatments, such as BR application. Water deficit significantly reduced chlorophyll and foliar nitrogen levels, compromising the plant's photosynthetic capacity, which aligns with previous studies on drought impacts in plant physiology. It was observed that drought periods exceeding 30 days negatively affect cacao metabolism, while inadequate doses of BRs may exacerbate deleterious effects, especially under high temperature and light conditions. The interaction between environmental and metabolic factors highlights the need for further studies to better understand the optimal BR dosage and its application in different drought stress scenarios. The research suggests that water management strategies and growth regulators should be optimized to ensure cacao productivity and adaptation in the context of climate change.

KEYWORDS: cacao, water deficit, brassinosteroids, plant metabolism, climate change.

RESUMO: A presente pesquisa investiga os efeitos do regime hídrico e da aplicação de brassinosteróides (BRs) sobre as características morfofisiológicas do cacau (*Theobroma cacao* L.), com foco na sua resiliência às mudanças climáticas. A análise foi realizada por meio da Análise de Componentes Principais (PCA), análises de variância (ANOVAs) e um modelo linear misto (LMM), identificando padrões de variação entre indivíduos submetidos a diferentes tratamentos. Os resultados indicam que o regime hídrico é o principal fator influenciando as variáveis metabólicas da planta, atenuando ou potencializando os efeitos de outros tratamentos, como a aplicação de BRs. O déficit hídrico reduziu significativamente os teores de clorofila e nitrogênio foliar, comprometendo a capacidade fotossintética da planta, o que está alinhado a estudos anteriores sobre os impactos da seca na fisiologia vegetal. Observou-se que períodos de seca superiores a 30 dias afetam negativamente o metabolismo do cacau, enquanto doses inadequadas de BRs podem exacerbar efeitos deletérios, principalmente em condições de alta temperatura e luminosidade. A interação entre fatores ambientais e metabólicos reforça a necessidade de estudos adicionais para compreender melhor a dosagem ideal de BRs e sua aplicação em diferentes cenários de estresse hídrico. A pesquisa sugere que estratégias de manejo hídrico e reguladores de crescimento devem ser otimizadas para garantir a produtividade e adaptação do cacau no contexto das mudanças climáticas.

PALAVRAS-CHAVE: cacau, déficit hídrico, brassinosteróides, metabolismo vegetal, mudanças climáticas.

9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48

1 Introdução	49
O cacau (<i>Theobroma cacao</i>) possui potencial para ser uma espécie em evidência no processo de restauração da Amazônia, sua grande contribuição para a economia da região adjunto ao cultivo em sistemas agroflorestais, podem promover qualidade de vida enquanto paralelamente reduz a pressão sobre a floresta. Sua cultura tolerante a sombra e ocupando fragmentos florestais interligar-se à floresta nativa possibilitando corredores ecológicos, o que favorece a heterogeneização do hábitat e desencadeia processos ecológicos essenciais da recuperação florestal, como a migração de animais, o melhoramento do solo, e o adensamento da cobertura florestal (1–4)	50 51 52 53 54 55 56
O cultivo do cacau é sensível as mudanças climáticas e disponibilidade hídrica, e passível a decaimento de produção em períodos secos, o que ressalta a necessidade de aderir a estratégias mitigadoras como modelos ecológicos de cultivo, que podem gerar benefícios mútuos, levando em consideração a produção de cacau e conservação da biodiversidade de biomas florestais, e sequestro de carbono (5–7)	57 58 59 60
Contudo, em cenários de secas mais severas talvez somente os sistemas agroflorestais não consigam sanar o impacto negativo (8) . Neste contexto, explorar estratégias e tecnologias adicionais mais focadas na resposta da espécie, pode nos propiciar descobertas da sobrevivência e produção da espécie, o que pode ser relevante para mais de um modelo de cultura, como é o caso do manejo hídrico e uso exógeno de fito hormônios (9–12).	61 62 63 64 65
O manejo hídrico é uma estratégia relevante a ser explorada na cultura de cacau. A espécie apresenta maior crescimento vegetativo e produtividade em uma situação de disponibilidade hídrica que atenda sua demanda biológica (13) , o que de forma superficial não surpreende. Entretanto, quando a disponibilidade hídrica para o cacau é diminuída moderadamente, seus efeitos variam, desde a resposta adaptativa da planta, como aprimorar sua eficiência do uso da água sem comprometer seu desenvolvimento (14) até apresentar maiores concentrações de teor de açúcar nos grãos, impactando a qualidade comercial (15). Já o efeito prolongado da seca gera mudanças significativas nos padrões de precipitação e temperatura na região ocasionado a perda de umidade do solo, afetando a saúde, produção do cacau, e facilitando a proliferação de doenças e pragas (16,17).	66 67 68 69 70 71 72 73 74
O fito hormônio 24-Epibrassinolídeo é da classe dos Brassinosteróides (BRs), e é uma tecnologia promissora para ajudar no crescimento e resistência a efeitos ambientais em diversas espécies. Seu uso exógeno é promissor no aumento da tolerância do cacau ao estresse hídrico, influenciando nas suas respostas fisiológicas, tais como fechamento estomático, aumento radicular, ajuste osmótico e síntese de antioxidantes (18,19).	75 76 77 78 79
Entretanto, sua eficácia é dependente da espécie a ser tratada, fase fenológica, fatores ambientais, e concentração de dosagem adequada, pois uma concentração menor que a ótima pode gerar resultados insignificantes e concentrações maiores ocasionarem limitações morfológicas e na eficiência da resposta ao estresse oxidativo (20). Além disso, o efeito dos BRs não é facilmente previsível devido à complexidade da sua interação com outros hormônios, como o ácido abscísico (ABA), etileno e auxinas, que, dependendo do nível de estresse submetido à planta, podem antagonizar ou sinergizar (21–24).	80 81 82 83 84 85
A utilização do nitrogênio e clorofila foliar como variáveis-resposta de experimentos hídricos permite uma medição simples e não destrutiva dos índices, obtendo uma compreensão integrada do estado fotossintético e nutricional das plantas (25,26) . O nitrogênio, sendo componente chave estrutural da clorofila, define a concentração de pigmentos fotossintetizantes a partir de sua disponibilidade, a clorofila por sua vez é bastante sensível a mudanças hídricas, e tende a reduzir sua concentração na seca, tornando-os indicadores rápidos do efeito ambiental no metabolismo da planta (24).	86 87 88 89 90 91

Diferentes concentrações de BRs e regimes hídricos influem no teor de nitrogênio e clorofila foliar das plantas de cacau a partir da síntese, aumento da eficiência, resistência, e realocação dos metabolitos (27–29). Brassinosteróides são capazes de regular a expressão de genes responsáveis pela produção, proteção e manutenção da clorofila, através da codificação de enzimas, como a da via do ácido 5-aminolevulínico (ALA), precursor da biossíntese do pigmento, ou as enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD), que contribuem a estabilidade estrutural e funcional dos cloroplastos, influenciando no crescimento ou integridade do teor de clorofila e também nitrogênio (30).	92 93 94 95 96 97 98
Este estudo teve o objetivo de verificar o efeito da variação de regimes hídricos e aplicação de brassinosteróides no crescimento e metabolismo de plântulas de <i>Theobroma cacao</i> em condições experimentais, como forma de entender possíveis efeitos de BRs na resistência a condições extremas nesta espécie. Espera-se que haja um forte efeito do regime hídrico, com regimes mais extremos apresentando efeitos mais fortes, e uma possível sinergia entre níveis específicos de aplicação de hormônios e condições hídricas menos restritas.	99 100 101 102 103 104
2 Material e métodos.	105
2.1 Delineamento amostral	106
O experimento foi desenvolvido na casa de vegetação do campus Altamira da Universidade Federal do Pará (Latitude 3°12'45''N, Longitude 52°12'47''W), onde o clima regional de acordo com a classificação de Köppen, é tropical quente e úmido do tipo <i>Am</i> e <i>Aw</i> com temperatura média anual acima dos 26 °C e precipitação anual de 2.100 mm (31). Anterior à aplicação do 24-Epibrassinolídeo e ao início dos regimes de rega, foram selecionadas 225 mudas de cacau doadas pelo instituto de Desenvolvimento Florestal e da Biodiversidade (IDERFLOR-BIO) de Altamira, com aproximadamente cinco meses de vida, que de tubetes foram transplantadas para sacolas de 35cm x18cm, com substrato constituído por 03 sacos (96 kg) de fibra de coco; 12 kg de solo de barranco; 1,5 de yoorin fertilizante fosfatado; 1 kg de pó de osso; 2 kg de NPK (4-14-8); 1,5 kg de torta de mamona; 2 sacos (60 kg) de torta e cacau; 1,5 kg do fertilizante osmocote (14-14-14); 3 kg de calcário; 15 kg de serragem; e 90 L de água.	107 108 109 110 111 112 113 114 115 116
As plantas foram aclimatadas durante um mês, recebendo diariamente 0,6L de água por planta manualmente, diretamente na raiz, adaptado de(32). Em sequência, as 225 plantas foram divididas em três parcelas para a distribuição da concentração (em nanomol - nM) do brassinosteróides. Em cada parcela de 75 plantas, aplicou-se de forma exógena e dose única de 10 ml da solução de hormônio (água destilada, Twin, e BRs) na área foliar, usando pulverizador costal de pressão constante com ponta única tipo leque, alternando em três concentrações diferentes de BRs, igualmente distribuída às 15 plantas, resultando por parcela: cinco plantas pulverizadas com água destilada (grupo controle); cinco plantas pulverizadas com a concentração 10 nM de brassinosteróides, e cinco plantas com a concentração 20 nM de brassinosteróides. Barreiras de plástico foram usadas para garantir que a dosagem específica atingisse apenas as plantas-alvo. A aplicação de BRs das 18:00hàs18:30h.	117 118 119 120 121 122 123 124 125 126
Posteriormente, as plantas foram distribuídas aleatoriamente em 15 blocos representando regimes hídricos e dosagens de BR distintos, sem cobertura contra chuva. Aproximadamente metade das plantas em cada bloco individual recebeu sombreamento com tela de sombreamento com sombrite 50, que reduz a incidência solar em 50%.	127 128 129 130
2.2 Coleta das variáveis	131
As variáveis ambientais, como luminosidade, temperatura e umidade média, foram registradas na proximidade imediata das plântulas com os Luxímetro digital medidor iluminação Meter-30 e Termo-	132 133

higrômetro digital temperatura e umidade Incoterm. Também se registrou se os indivíduos estavam na luz ou na sombra, criando-se uma variável binária. Em seguida, a temperatura, umidade e luz foliar foram medidas na folha mais apical e na folha mais basal de cada indivíduo com o porômetro Li-cor Modelo LI-1600

A clorofila e a estimativa SPAD do nitrogênio foram registrados com o clorofilômetro NITERUS GYJ-A. Variáveis de crescimento morfológico, como comprimento e diâmetro do caule, foram medidas com o auxílio de régua milimétrica de 60 cm e paquímetro digital. O número de folhas e lançamentos foliares em cada indivíduo foram contados manualmente. As medidas ambientais e de luz, temperatura e umidade foliar foram coletadas pela manhã, entre as 9:00h as 11:30h, e a clorofila e nitrogênio, junto às características de crescimento, foram medidas à tarde, entre 15:30h as 17:00h.

As plantas foram submetidas a dois tratamentos experimentais: variação de regime hídrico e aplicação de hormônio brassinosteróide em diferentes concentrações. Os regimes hídricos utilizados foram: “0” (controle), onde as plantas recebiam rega diária; “5”, onde os indivíduos eram regados a cada cinco dias; “10”, com dez dias entre regas; “15”, onde havia 15 dias entre regas; e “30”, onde as plantas foram regadas uma vez a cada 30 dias. Cada tratamento foi aplicado em 45 indivíduos. Em relação ao tratamento com brassinosteróide, havia três categorias experimentais: “0” (controle), sem a aplicação de hormônio; “10” incluiu plantas que receberam aplicação de BRs com concentração de 10 nanomol (nM); e “20” contendo plantas que receberam uma concentração de 20 nM do hormônio. Cada categoria de tratamento continha 75 indivíduos.

Antes da aplicação dos tratamentos, os indivíduos foram aleatoriamente agrupados em 15 blocos, contendo todas as possíveis combinações de tratamentos, com 15 indivíduos em cada bloco. Foram realizadas sete coletas, denominadas de C1 a C7, com intervalos de cinco dias para cada bloco, e de um mês de intervalo a cada cinco blocos, durando de 20 de setembro de 2024 até 21 de janeiro de 2025. Durante o experimento, 42 plantas morreram. Um indivíduo (Nº 133) não sobreviveu ao transplante, três morreram entre C2 e C6, e 38 morreram após a coleta C6.

2.3 Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas em R versão 4.4.2 “Pile off Leaves”, com o ambiente de desenvolvimento integrado RStudio versão 2024.09.1 “Cranberry Hibiscus”. A organização dos dados e análises descritivas utilizaram o pacote “tidyverse” (33), com o pacote “ggplot2” sendo usado para a criação dos gráficos. Para verificar a distribuição dos dados para adequação aos testes estatísticos paramétricos, utilizou-se gráficos de densidade de frequência das variáveis comprimento do caule e diâmetro do caule, divididos nos tratamentos.

O pacote “psych” foi utilizado para calcular a curtose sem a necessidade do uso de testes de significância (34), e as variáveis escolhidas para os modelos cumpriam as exigências de normalidade e homogeneidade de variância. Uma Análise de Componente Principal (PCA) foi realizada para melhor visualização da variação dos dados de crescimento e metabólicos considerando os tratamentos e variáveis ambientais, com o auxílio do pacote “vegan”(35).

Para verificar o efeito dos tratamentos sobre a variação de clorofila e nitrogênio, foram realizadas duas análises de variância (ANOVA), com uso dos pacotes “lme4” (36) e com testes post hoc calculados pelo pacote “emmeans” (37). Para verificar a confiabilidade dos resultados dos ANOVA, foi aplicado o método de Tukey (38). Os valores de p foram corrigidos, quando adequado, pelo método de Holm-

Bonferroni (Holm, 1979) para evitar erros Tipo I, e estão representados como $p(\text{Holm})$. Valores de p em testes post hoc não necessitam de correção e estão representados como p . 177
178

Para testar os efeitos das condições ambientais e da aplicação de hormônios brassinosteróides no crescimento dos indivíduos, foi rodado um modelo linear de efeitos mistos (LMM) com máxima similaridade restrita (REML), tendo como resposta o índice de crescimento calculado a partir da divisão da altura em milímetros pelo diâmetro em milímetros, ou razão altura: diâmetro, como descrito por Haase (Haase, 2008). 179
180
181
182
183

3 Resultados 184

3.1 Análise de componentes principais 185

A Análise de Componentes Principais (PCA) foi rodada com todas as variáveis de uso direto, corrigindo pelo fator “ID” (Identidade de cada planta individual), assim contando com as medidas repetidas dos mesmos indivíduos. A PCA foi realizada para investigar a variação dos dados de crescimento e metabólitos dos indivíduos de cacau, levando em consideração os tratamentos (Regime hídrico, BR, e a variável binária Sombra – com 0 representando luz e 1 o sombreamento) e as variáveis ambientais (Luminosidade Ambiental, Temperatura Ambiental (C°) e Umidade Ambiental (%)), bem como as mudanças temporais ao longo dos pontos de coleta (Coleta). Os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) resultantes da PCA explicaram 46.32% da variação total dos dados, com o PC1 explicando 31,22% e o PC2 15,10% da variação (Tabela 1). 186
187
188
189
190
191
192
193
194

A temperatura ambiente (C°) e a umidade ambiente (%) demonstraram forte correlação com os componentes principais. O PC1 tem contribuições positivas fortes da clorofila foliar média (0,321), Nitrogênio médio (0,316), diâmetro do caule (0,326) e umidade ambiental (0,325), e contribuições negativas da temperatura ambiente (-0,369) e luz ambiente (-0,257). O PC2 tem contribuições positivas fortes de clorofila (0,073), Nitrogênio (0,080) e umidade ambiental (0,189), e contribuições negativas do comprimento do caule (-0,489) e luz ambiente (-0,346). O gráfico tipo *biplot* representa as relações entre as variáveis (Figura 1). O sumário das contribuições de cada variável original para os componentes principais pode ser visto na Tabela 2. 195
196
197
198
199
200
201
202

203

204

Tabela 1: Desvio-padrão e contribuição de cada componente principal da Análise de Componentes Principais para a explicação da variância dos dados morfológicos e metabólicos de plantas de *Theobroma cacao* tratadas com diferentes regimes hídricos, de luminosidade e aplicação de brassinosteróide

205

206

207

Componente Principal	Desvio-Padrão	Variância Explicada (%)	Proporção cumulativa (%)
PC1	2,1641	31,22	31,22
PC2	1,5049	15,10	46,32
PC3	1,20796	9,73	56,05
PC4	1,13162	8,54	64,59
PC5	1,07209	7,66	72,25
PC6	0,95705	6,11	78,35
PC7	0,92554	5,71	84,07
PC8	0,88973	5,28	89,34
PC9	0,78842	4,14	93,49
PC10	0,63859	2,72	96,21
PC11	0,59191	2,34	98,54
PC12	0,39005	1,01	99,56
PC13	0,23321	0,36	99,92
PC14	0,0893	0,05	99,97
PC15	0,06641	0,03	100,00

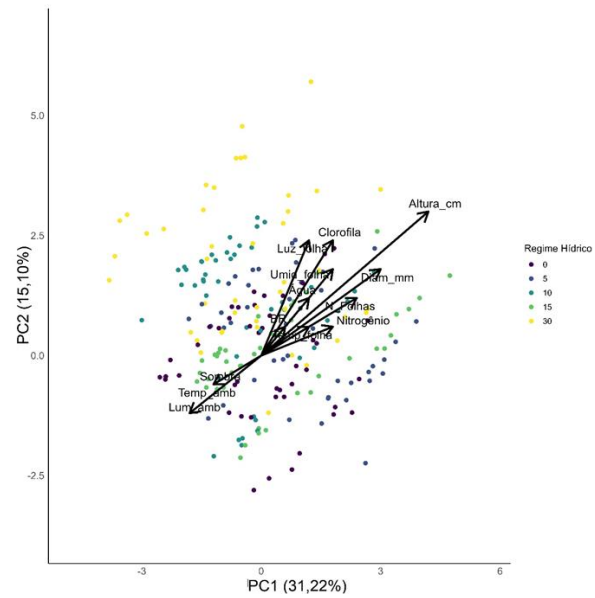
208

209

210

211

212



213

Figura 1: Gráfico de biplot resultante da Análise de Componentes Principais (PCA) dos dados morfológicos e metabólicos de plantas de *Theobroma cacao* tratadas com diferentes regimes hídricos (representados por cores), de luminosidade e aplicação de brassinosteróide

214

215

216



	217
Tabela 2: Sumário da contribuição das variáveis diretas usadas na Análise de Componentes Principais para cada um dos componentes principais explicando a variância dos dados morfológicos e metabólicos de plantas de <i>Theobroma cacao</i> tratadas com diferentes regimes hídricos, de luminosidade e aplicação de brassinosteróides	218 219 220 221



Variável	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10	PC11	PC12	PC13	PC14	PC15
Regime Hídrico	-0.076	-0.214	-0.128	-0.690	0.031	-0.080	-0.261	0.125	-0.322	-0.297	-0.400	0.102	0.052	0.011	0.002
Luz Ambiente	-0.257	-0.346	-0.193	0.115	-0.115	0.050	-0.108	0.175	0.420	-0.566	0.347	0.286	-0.076	-0.002	-0.025
Temp. Ambiente	-0.369	-0.285	-0.149	0.046	-0.065	0.094	-0.087	0.149	0.023	0.074	0.017	-0.814	0.211	-0.003	0.035
Umidade ambiente	0.325	0.190	0.108	-0.284	0.122	-0.179	-0.022	-0.113	-0.213	-0.341	0.669	-0.306	0.056	-0.016	0.006
Comprimento Caule	0.228	-0.489	0.047	0.080	0.312	0.182	0.173	-0.179	-0.091	-0.029	-0.032	0.018	-0.003	-0.621	0.333
Diâmetro Caule	0.326	-0.230	0.304	0.079	-0.345	-0.081	-0.239	0.228	0.002	0.073	-0.023	-0.033	0.072	-0.332	-0.620
N de folhas	0.154	-0.082	-0.150	-0.046	0.484	-0.639	-0.017	0.339	0.371	0.204	-0.046	-0.053	-0.060	-0.004	0.002
Lfoliar	-0.030	-0.206	-0.090	-0.092	-0.487	-0.497	0.604	-0.279	-0.003	-0.067	-0.079	-0.050	-0.018	-0.003	0.001
Clorofila foliar média	0.321	0.073	-0.486	0.055	-0.106	0.137	0.180	0.285	-0.068	0.042	0.051	0.161	0.686	0.020	0.050
Nitrogênio médio	0.316	0.080	-0.483	0.040	-0.127	0.211	0.124	0.273	-0.134	-0.052	-0.054	-0.194	-0.666	-0.031	-0.054
Luz foliar média	0.000	-0.105	-0.425	0.364	-0.052	-0.329	-0.525	-0.412	-0.321	0.077	0.060	0.078	-0.012	-0.008	0.004
Umidade foliar média	0.195	-0.076	-0.220	-0.463	-0.153	0.226	-0.190	-0.410	0.524	0.354	0.119	-0.021	-0.022	0.000	-0.020
Temperatura foliar média	-0.318	-0.238	-0.023	-0.203	-0.031	0.008	0.107	0.256	-0.340	0.525	0.488	0.272	-0.130	-0.019	-0.024

3.2 Efeito dos tratamentos categóricos

Dentre os tratamentos categóricos (regime hídrico, aplicação de BRs e sombreamento), o regime hídrico apresentou efeito fortemente significativo sobre a variação de clorofila e nitrogênio foliar. No primeiro modelo de análise de variância (ANOVA), com a variação de clorofila foliar como resposta, o regime hídrico teve efeito fortemente significativo (ANOVA: $F = 12,37$; $p(\text{Holm}) < 0,001$), enquanto que não houve efeito significativo da aplicação de BR ou sombreamento. O modelo explica mais de 80% da variância na clorofila foliar (Tabela 3). O forte efeito dos diferentes regimes hídricos pode ser visto na Figura 2.

Tabela 3: Sumário de modelo de Análise de Variância (ANOVA) do efeito de diferentes condições de regime hídrico, aplicação de brassinosteróides e sombreamento na quantidade de clorofila foliar de plantas de *Theobroma cacao* cultivadas em condições experimentais. O valor de $p(\text{Holm})$ significativo está indicado por um asterisco.

Variável	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado das médias	F	$p(\text{Holm})$
Regime Hídrico	4	1527	381,7	12,37	< 0,001*
BR	2	30	15,0	0,487	0,615
Sombra	1	0	0,3	0,010	0,922
Resíduos	185	5708	30,9		

Teste do poder do modelo:

Poder explanatório do modelo de ANOVA	80,83%
---------------------------------------	--------

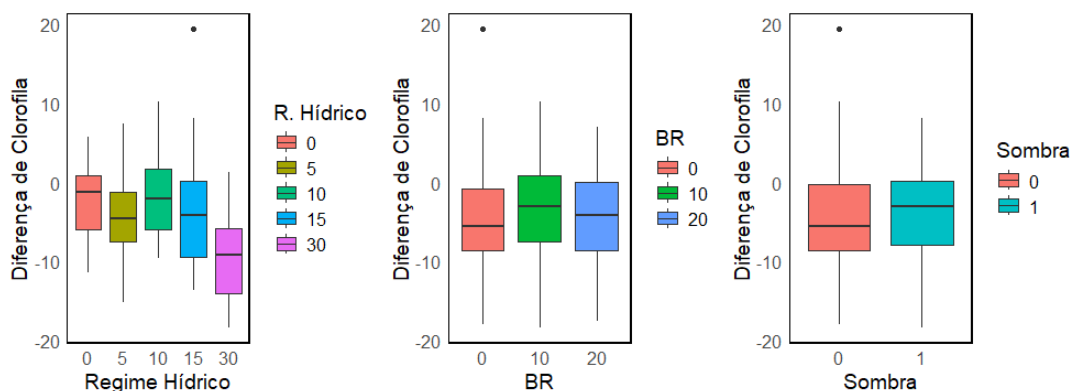


Figura 2: Gráficos tipo *boxplot* da diferença entre a quantidade de clorofila foliar de indivíduos de *Theobroma cacao* sob diferentes tratamentos de regime hídrico, aplicação de BRs e sombreamento. Pontos representam outliers, linhas espessas no centro das caixas representam médias e linhas verticais são barras de erro.

Os resultados se repetem na análise de variância da diferença no nível de nitrogênio ao longo do experimento, com o regime hídrico possuindo um efeito fortemente significativo (ANOVA: $F = 9,064$; $p(\text{Holm}) < 0,001$), apesar do teste possuir menor poder explanatório (65,84% da variação é explicada pelo modelo). O sumário da análise de variância pode ser visto na Tabela 4, e os efeitos dos tratamentos sobre o nitrogênio foliar estão representados na Figura 3.

Tabela 4: Sumário de modelo de Análise de Variância (ANOVA) do efeito de diferentes condições de regime hídrico, aplicação de brassinosteróides e sombreamento na quantidade de nitrogênio foliar de plantas de *Theobroma cacao* cultivadas em condições experimentais. O valor de p(Holm) significativo está indicado por um asterisco.

Variável	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado das médias	F	p(Holm)
Regime Hídrico	4	163,5	40,86	9,064	< 0,001*
BR	2	7,6	3,82	0,846	0,431
Sombra	1	1,9	1,86	0,414	0,521
Resíduos	185	834	4,51		

Teste do poder do modelo:	
Poder explanatório do modelo de ANOVA	65,84%

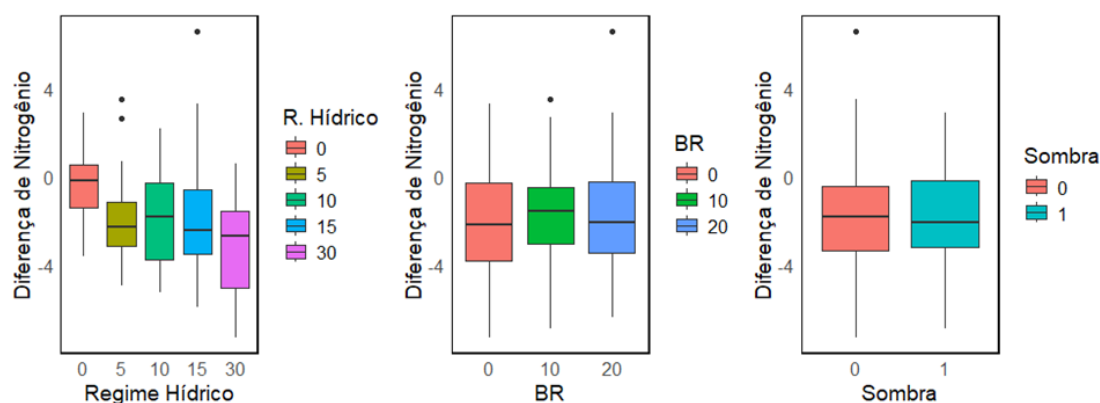


Figura 3: Gráficos tipo *boxplot* da diferença entre a quantidade de nitrogênio foliar de indivíduos de *Theobroma cacao* sob diferentes tratamentos de regime hídrico, aplicação de BRs e som-breamento. Pontos representam outliers, linhas espessas no centro das caixas representam médias e linhas verticais são barras de erro.

3.3 Testes Post Hoc

O método de Tukey de comparação de contrastes (Tukey, 1949) foi aplicado nos dois modelos de ANOVA, para verificar se a diferença entre as categorias de tratamento é real e mensurável. Para o modelo examinando a resposta da clorofila, o teste demonstrou que todos os pares contrastados com o regime hídrico “30” apresentaram diferenças significativas, com o efeito deletério do regime de rega a cada 30 dias na clorofila foliar sendo registrado em contraste a todos os outros regimes (Tabela 5). O efeito é visível também no gráfico de comparação de médias (Figura 4).

Tabela 5: Teste de Tukey de comparação de médias e contrastes de pares do efeito dos tipos de regime hídrico na quantidade de clorofila foliar de indivíduos de *Theobroma cacao* sob cultivo experimental. Valores de p significativos estão representados com um asterisco.

Contraste	Diferença	Límite inferior	Límite superior	Valor de p
10-0	-0.03860096	-3.358293	3.2810910	0.9999998
15-0	-1.86192460	-5.242569	1.5187197	0.5525969

30-0	-7.60422723	-11.030136	-4.1783188	0.0000001*
5-0	-2.81317460	-6.471044	0.8446946	0.2165415
15-10	-1.82332364	-5.184738	1.5380905	0.5674805
30-10	-7.56562627	-10.972560	-4.1586926	0.0000001*
5-10	-2.77457364	-6.414677	0.8655302	0.2245433
30-15	-5.74230263	-9.208655	-2.2759503	0.0000888*
5-15	-0.95125000	-4.647026	2.7445256	0.9542262
5-30	4.79105263	1.053828	8.5282775	0.0046883*

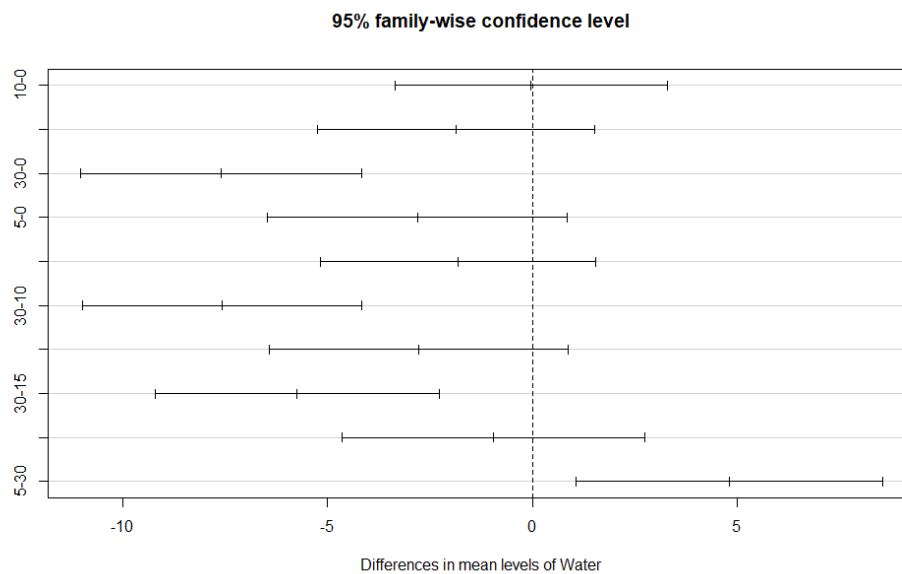


Figura 4: Gráfico intervalar da diferença de quantidade de clorofila foliar entre pares de tratamentos de regime hídrico em indivíduos de *Theobroma cacao* sob cultivo experimental. Barras que não passam pela linha vertical (diferença = 0) apresentam diferenças significativas. Barras horizontais representam os limites inferiores e superiores, com a média das diferenças entre eles.

Em relação à diferença de quantidade de nitrogênio nas folhas, todos os regimes hídricos tiveram pior desempenho do que o regime controle (0), com rega diária. O regime hídrico de 30 dias apresentou diferenças significativas com todos os outros, exceto o regime 5 (Tabela 6). O gráfico de comparação de médias também representa estes resultados (Figura 5).

Tabela 6: Teste de Tukey de comparação de médias e contrastes de pares do efeito dos tipos de regime hídrico na quantidade de nitrogênio foliar de indivíduos de *Theobroma cacao* sob cultivo experimental. Valores de p significativos estão representados com um asterisco.

Contraste	Diferença	Limite inferior	Limite superior	Valor de p
5-0	-1.57444444	-2.972704	-0.17618458	0.0186746*
10-0	-1.49341085	-2.762399	-0.22442288	0.0121302*
15-0	-1.39166667	-2.683954	-0.09937899	0.0278137*
30-0	-2.85087719	-4.160468	-1.54128684	0.0000001*
10-5	0.08103359	-1.310435	1.47250245	0.9998501
15-5	0.18277778	-1.229972	1.59552777	0.9965204
30-5	-1.27643275	-2.705027	0.15216167	0.1040836

15-10	0.10174419	-1.183193	1.38668091	0.9994931
30-10	-1.35746634	-2.659803	-0.05512928	0.0364133*
30-15	-1.45921053	-2.784261	-0.13416004	0.0228803*

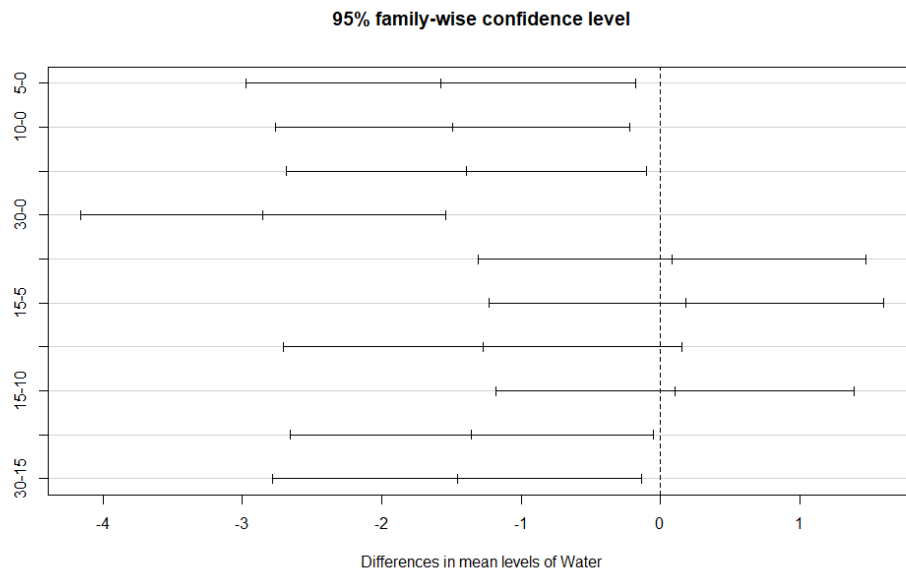


Figura 5: Gráfico intervalar da diferença de quantidade de nitrogênio foliar entre pares de tratamentos de regime hídrico em indivíduos de *Theobroma cacao* sob cultivo experimental. Barras que não passam pela linha vertical (diferença = 0) apresentam diferenças significativas. Barras horizontais representam os limites inferiores e superiores, com a média das diferenças entre eles.

3.4. Efeito das condições ambientais

O índice de crescimento calculado, como descrito por Haase (HAASE, 2008), foi significativamente afetado por todas as três variáveis ambientais contínuas (luz, umidade e temperatura), quando analisado em um modelo linear misto (LMM) com máxima verossimilhança restrita (REML), com indivíduos e tratamento por brassinosteróides como fatores randômicos. É possível ver que há um efeito significativo das condições ambientais nos indivíduos, com um efeito deletério da temperatura e da luminosidade, e um efeito positivo da umidade (Tabela 7). Estes resultados, no entanto, devem ser interpretados com cautela, por causa do alto número de resíduos e baixo R^2 do teste, que explica menos de 10% da variação no índice de crescimento. O regime hídrico foi removido do modelo em um teste de “melhores subconjuntos” por não apresentar poder suficiente para melhorar o poder explanatório do teste.

Tabela 7: Sumário de Modelo Linear Misto com Máxima Verossimilhança Restrita (LMM/REML) dos efeitos das variáveis ambientais contínuas (luz, temperatura e umidade) no índice de crescimento (razão altura: diâmetro) de indivíduos de *Theobroma cacao* sob cultivo experimental. Efeitos significativos estão representados com um asterisco.

Sumário de LMM/REML				
Critério de convergência REML: 17278.7				
Resíduos	Min	1Q	Mediana	3Q
9.9406	-0.4070	-0.0261	0.3718	12.1420
Efeitos randômicos:				
Grupos	Nome	Variância	Desvio-Padrão	
ID	(Intercept)	79527	282.01	
BR	(Intercept)	3910	62.53	

Residual		1485		38.53	
Número de obs.: 1572, grupos: ID, 225; BR, 3					
Efeitos fixos:					
	Estimado	Erro-padrão	GL	Valor de t	p(Holm)
(Intercept)	1136.793090	42.206101	2.273575	26.934	0.006*
Luz_amb	-0.018378	0.004635	1348.666254	-3.965	0.0008*
Temp_amb	-2.256955	0.283724	1352.282706	-7.955	< 0.0001*
Umid_amb	-0.360760	0.111496	1354.131928	-3.236	0.012*
Correlação de efeitos fixos					
	(Intr)	Luz_mb	Temp_mb		
Luz_amb	-0.033				
Temp_amb	-0.203	-0.196			
Umid_amb	-0.154	0.025	0.016		
R² para a Regressão Linear					
	R ² = 9,8%		R ² (ajust.) = 9,7%		

Visualizando os efeitos nos grupos de tratamentos hormonais, é possível perceber a diferença dos efeitos das variáveis ambientais em relação aos tratamentos com BRs e o grupo controle. O grupo tratado com BRs a concentrações de 10nM sofreu um efeito negativo da luminosidade ambiental e um efeito positivo da umidade ambiental mais pronunciados que o grupo controle e o grupo tratado com doses de 20 nM de BRs; o efeito negativo da temperatura ambiente no índice de crescimento também foi um pouco mais pronunciado neste grupo (Figura 6).

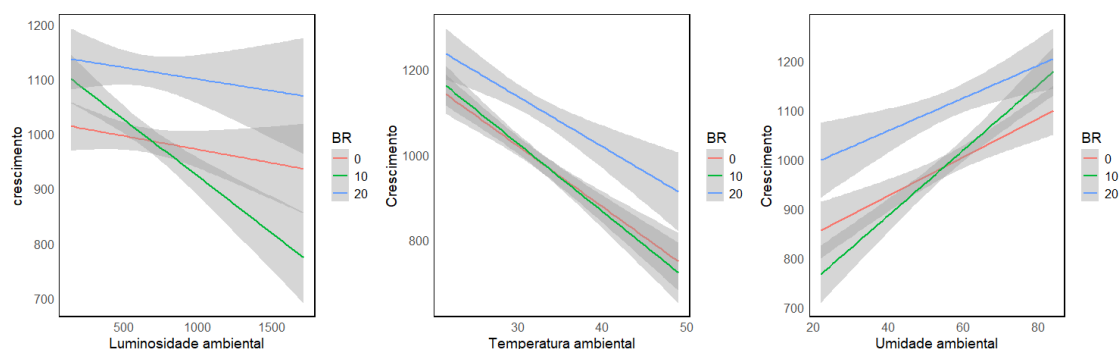


Figura 6: Linhas de regressão linear dos efeitos da luminosidade, temperatura e umidade ambientais no índice de crescimento de indivíduos de *Theobroma cacao* sob cultivo experimental, separadas por regime de aplicação de hormônios brassinosteróides em concentrações de 10 nM (BR 10) e 20nM (BR 20), contra o grupo controle (BR 0), sem tratamento. Áreas cinzas representam intervalo de confiança de 95%.

4 Discussão

O regime hídrico mais prolongado foi o mais atenuante, negativamente, nos teores de clorofila e nitrogênio foliar. Estando alinhado à nossa hipótese, o efeito é tão intenso que mascara a aplicação dos BRs e os demais tratamentos. Foi verificado que os teores foliares de clorofila e nitrogênio do cacau diminuem drasticamente em uma suspensão de irrigação de 30 dias, evidenciando como secas prolongadas são danosas (39). O efeito intenso da seca, verificado em plantas juvenis de cacau, é esperado para as fases fenológicas que antecedem o indivíduo adulto, pois possuem menor capacidade adaptativa e são mais suscetíveis à degradação da máquina fotossintética, precarizando as atividades enzimáticas que estruturam o ciclo do nitrogênio de forma irreversível, podendo assim limitar a saúde e produção de toda uma geração de cacau exposta ao estresse hídrico. (9,27,40-44).

Em relação à ineficácia dos tratamentos com diferentes concentrações de BRs, é possível que para a espécie *Theobroma cacao* existam limitações na sua eficácia contra os efeitos deletérios de seca prolongada(45); como os 30 dias aqui investigados. Sendo mais provável sua eficácia em períodos mais curtos de escassez hídrica, na seca é possível que a resposta natural da espécie com ativação da via ABA e a produção crescente de EROS, possa suprimir a via do BRs e seus efeitos antioxidantes(46). Sendo um adendo para a priorização de estratégias de cultivo que levem em consideração o manejo hídrico como fator chave na conservação do cacau na Amazônia, em vez de tecnologias de alto custo e com a efetividade relativa para a espécie.

Nossas plantas foram estudadas a céu aberto, enquanto a Amazonia vivenciava efeitos do El Niño e La Niña (47), o que não excluiu a hidratação por meio das chuvas ocasionais à cada bloco, e ainda assim os 30 dias sem rega foram, em todas as circunstâncias, prejudiciais ao teor foliar de clorofila e nitrogênio. É provável que o modelo de experimento a céu aberto não contribuiu para a resiliência da espécie, pois possui aspectos prejudiciais ao crescimento similares do monocultivo, como por exemplo uma umidade ambiental menor decorrente à ausência de adensamento florestal e consequentemente menor variação de microclimas e maior temperatura(48–50). Sendo assim, a interrupção da constância das chuvas, por até intervalos mensais na Amazônia, faz do cultivo do cacau em pastos ou áreas similares um desafio inviável, principalmente a longo prazo e a partir de plantas juvenis.

O estado do Pará sendo um dos estados mais relevantes no cultivo do cacau da Amazônia (51) traz consigo, como herança do restante do país, a tendência do uso da terra para pecuária, seguido da reutilização para a agricultura intensiva, que indiretamente demanda novas terras férteis para exploração do agronegócio, expandindo o ciclo da perda de serviços ecossistêmicos e compactação do solo (52). A pressão exercida pelas implementações do método de monocultivo advém da tentativa de maximização de lucros, principalmente da iniciativa privada, que por vezes compram terras pertencentes às comunidades tradicionais e pequenos produtores, em prol da concentração latifundiária para a prática intensiva e em larga escala da monocultura(53).

Contudo, nossa pesquisa evidenciou que o ambiente aberto não favorece a ecologia do cacau em períodos de seca; sofrendo danos até mesmo com o uso de BRs, o que ressalta a complexidade da interação do fito hormônio afetada por diversos fatores (10,54–57). A maior produtividade e menor incidência de fitopatologias e pragas na espécie costumam ser associados aos meios sombreados naturalmente em detrimento às áreas abertas. Variáveis relevantes para a saúde da espécie, como temperatura e luminosidade ambiental, tendem a variar de forma significativa entre tais ambientes contrastantes (58,59). Áreas naturalmente sombreadas são ambientes com maior expectativa ao sucesso adaptativo do cacau, possuindo características capazes de influenciar no decréscimo dos teores de clorofila e nitrogênio foliar em um cenário de seca; por meio da disponibilidade microclimática baseada em menor temperatura, maior umidade, ampliação da disponibilidade da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes ofertados pelas plantas adjacentes (60-61).

5 Conclusão

Os resultados desta pesquisa demonstraram que a suspensão de irrigação por trinta dias em plantas juvenis de cacau, tratadas com brassinosteróide, afetou negativamente os teores de clorofila e nitrogênio foliar, superando os efeitos mitigadores do hormônio. Esses achados indicam que, mesmo com a aplicação de reguladores vegetais, o estresse hídrico prolongado compromete aspectos fisiológicos essenciais para o desenvolvimento do cacau. Considerando que o experimento foi conduzido a céu aberto, em condições semelhantes às de monoculturas, os dados reforçam a importância do cultivo do cacau em sistemas agroflorestais sombreados na Amazônia.

O sombreamento natural proporcionado por esse modelo de produção pode ajudar a reduzir a perda de água e o estresse térmico, amenizando os impactos negativos de períodos de seca. Portanto, a adoção de sistemas agroflorestais surge como uma estratégia sustentável para a cacauicultura na região, promovendo maior resiliência às mudanças climáticas e garantindo a produtividade a longo prazo.

Recomenda-se, assim, que futuros estudos avaliem a interação entre brassinosteróides e diferentes níveis de sombreamento na agrofloresta em condições de déficit hídrico, a fim de otimizar o manejo do cacau em ambientes amazônicos.

6. Referencias

1. Mortimer R, Saj S, David C. Supporting and regulating ecosystem services in cacao agroforestry systems. *Agroforest Syst.* dezembro de 2018;92(6):1639–57.
2. Gama-Rodrigues AC, Müller MW, Gama-Rodrigues EF, Mendes FAT. Cacao-based agroforestry systems in the Atlantic Forest and Amazon Biomes: An ecoregional analysis of land use. *Agricultural Systems.* dezembro de 2021;194:103270.
3. Schuler HR, Alarcon GG, Joner F, Dos Santos KL, Siminski A, Siddique I. Ecosystem Services from Ecological Agroforestry in Brazil: A Systematic Map of Scientific Evidence. *Land.* 6 de janeiro de 2022;11(1):83.
4. Tinoco-Jaramillo L, Vargas-Tierras Y, Habibi N, Caicedo C, Chanaluisa A, Paredes-Arcos F, et al. Agroforestry Systems of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) in the Ecuadorian Amazon. *Forests.* 18 de janeiro de 2024;15(1):195.
5. Schroth G, Garcia E, Griscom BW, Teixeira WG, Barros LP. Commodity production as restoration driver in the Brazilian Amazon? Pasture re-agro-forestation with cocoa (*Theobroma cacao*) in southern Pará. *Sustain Sci.* março de 2016;11(2):277–93.
6. Heming NM, Schroth G, Talora DC, Faria D. Cabruca agroforestry systems reduce vulnerability of cacao plantations to climate change in southern Bahia. *Agron Sustain Dev.* junho de 2022;42(3):48.
7. François M, Pontes MCG, Lima Da Silva A, Mariano-Neto E. Impacts of cacao agroforestry systems on climate change, soil conservation, and water resources: a review. *Water Policy.* 1º de junho de 2023;25(6):564–81.
8. Ling Q, Gao X, Zhao X, Huang J, Li H, Li L, et al. Soil water effects of agroforestry in rainfed jujube (*Ziziphus jujube* Mill.) orchards on loess hillslopes in Northwest China. *Agriculture, Ecosystems & Environment.* setembro de 2017;247:343–51.
9. Lahive F, Hadley P, Daymond AJ. The physiological responses of cacao to the environment and the implications for climate change resilience. A review. *Agron Sustain Dev.* fevereiro de 2019;39(1):5.
10. Nolan TM, Vukašinović N, Liu D, Russinova E, Yin Y. Brassinosteroids: Multidimensional Regulators of Plant Growth, Development, and Stress Responses. *Plant Cell.* fevereiro de 2020;32(2):295–318.
11. Castañeda-Murillo CC, Rojas-Ortiz JG, Sánchez-Reinoso AD, Chávez-Arias CC, Restrepo-Díaz H. Foliar brassinosteroid analogue (DI-31) sprays increase drought tolerance by improving plant growth and photosynthetic efficiency in lulo plants. *Heliyon.* fevereiro de 2022;8(2):e08977.
12. Fraga Junior LS, Vellame LM, Oliveira ASD, Paz VPDS. Transpiration of young cocoa trees under soil water restriction. *Sci agric (Piracicaba, Braz).* 2021;78(2):e20190093.
13. Carr MKV, Lockwood G. THE WATER RELATIONS AND IRRIGATION REQUIREMENTS OF COCOA (*THEOBROMA CACAO* L.): A REVIEW. *Ex Agric.* outubro de 2011;47(4):653–76.
14. Suchithra M, Suma B, Minimol JS, Mathew D, Santhosh Kumar AV. Physiological response of cocoa (*Theobroma cacao* L.) genotypes to drought. *JPC.* 30 de dezembro de 2022;136–44.
15. Gaspar DP, Chagas Junior GCA, De Aguiar Andrade EH, Nascimento LDD, Chisté RC, Ferreira NR, et al. How Climatic Seasons of the Amazon Biome Affect the Aromatic and Bioactive Profiles of Fermented and Dried Cocoa Beans? *Molecules.* 22 de junho de 2021;26(13):3759.

16. Van Passel J, De Keersmaecker W, Bernardino PN, Jing X, Umlauf N, Van Meerbeek K, et al. Climatic legacy effects on the drought response of the Amazon rainforest. *Global Change Biology*. outubro de 2022;28(19):5808–19.
17. Asman A, Iwanami T, Rosmana A. Effect of drought stress on dieback disease development under *Lasiodiplodia theobromae* infection in cocoa clone “MCC 02”. *B*. 2024;4(1):0–0.
18. Bajguz A, Hayat S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*. janeiro de 2009;47(1):1–8.
19. Ahmad Lone W, Majeed N, Yaqoob U, John R. Exogenous brassinosteroid and jasmonic acid improve drought tolerance in *Brassica rapa* L. genotypes by modulating osmolytes, antioxidants and photosynthetic system. *Plant Cell Rep*. março de 2022;41(3):603–17.
20. Chakraborty N, Ganguly R, Sarkar A, Dasgupta D, Sarkar J, Acharya K, et al. Multifunctional Role of Brassinosteroids in Plant Growth, Development, and Defense. *J Plant Growth Regul* [Internet]. 5 de janeiro de 2025 [citado 27 de março de 2025]; Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s00344-024-11593-4>
21. Zheng L, Gao C, Zhao C, Zhang L, Han M, An N, et al. Effects of Brassinosteroid Associated with Auxin and Gibberellin on Apple Tree Growth and Gene Expression Patterns. *Horticultural Plant Journal*. maio de 2019;5(3):93–108.
22. Kour J, Kohli SK, Khanna K, Bakshi P, Sharma P, Singh AD, et al. Brassinosteroid Signaling, Crosstalk and, Physiological Functions in Plants Under Heavy Metal Stress. *Front Plant Sci*. 24 de março de 2021;12:608061.
23. Sharma SK. Brassinosteroids Application Responses in Fruit Crops – A Review. *IJAEB* [Internet]. 20 de junho de 2021 [citado 27 de março de 2025];14(2). Disponível em: <https://ndpublisher.in/admin/issues/IJAEBv14n2b.pdf>
24. Wang S, Guan K, Wang Z, Ainsworth EA, Zheng T, Townsend PA, et al. Unique contributions of chlorophyll and nitrogen to predict crop photosynthetic capacity from leaf spectroscopy. Lawson T, organizador. *Journal of Experimental Botany*. 2 de fevereiro de 2021;72(2):341–54.
25. Pôrto ML, Puiatti M, Fontes PC, Cecon PR, Alves JC. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio na cultura do pepino japonês em ambiente protegido. *Hortic Bras*. setembro de 2014;32(3):292–6.
26. Wenneck GS, Villa E, Vila V, Saath R, Rezende R, Lopes Pereira G, Conti Mondanez BM. PIGMENTOS FOLIARES NA CULTURA DA ERVILHA: RELAÇÃO ENTRE ÍNDICE SPAD E CONTEÚDO DE CLOROFILA. *Braz J Biosyst Eng*. 8 de novembro de 2021;15(3):391–400.
27. Dos Santos LR, Paula LDS, Pereira YC, Da Silva BRS, Batista BL, Alsahli AA, et al. Brassinosteroids-Mediated Amelioration of Iron Deficiency in Soybean Plants: Beneficial Effects on the Nutritional Status, Photosynthetic Pigments and Chlorophyll Fluorescence. *J Plant Growth Regul*. outubro de 2021;40(5):1803–23.
28. Li S, Zheng H, Lin L, Wang F, Sui N. Roles of brassinosteroids in plant growth and abiotic stress response. *Plant Growth Regul*. janeiro de 2021;93(1):29–38.
29. De Souza Oliveira V, Sampaio Silveira S. EFFECTS OF DIFFERENT IRRIGATION DEPTHS ON THE CONTENT OF TSH1188 COCOA SEEDLINGS PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS. *Ifes Ciência*. 18 de outubro de 2022;8(1):01–6.
30. Liu L, Lin N, Liu X, Yang S, Wang W, Wan X. From Chloroplast Biogenesis to Chlorophyll Accumulation: The Interplay of Light and Hormones on Gene Expression in *Camellia sinensis* cv. Shuchazao Leaves. *Front Plant Sci*. 11 de março de 2020;11:256.

31. Cui D, Liang S, Wang D. Observed and projected changes in global climate zones based on Köppen climate classification. *WIREs Climate Change*. maio de 2021;12(3):e701.
32. Jaimez RE, Peña G, Barragán L, Chica E, Arteaga F, Cedeño G. The effect of water deficit on leaf stomatal conductance, water relations, chlorophyll fluorescence and growth of rootstock-scion combinations of cacao. *Scientia Horticulturae*. novembro de 2023;321:112335.
33. Wickham H, Averick M, Bryan J, Chang W, McGowan L, François R, et al. Welcome to the Tidyverse. *JOSS*. 21 de novembro de 2019;4(43):1686.
34. Revelle W. psych: Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research [Internet]. 2007 [citado 28 de março de 2025]. p. 2.5.3. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=psych>
35. Oksanen J, Simpson GL, Blanchet FG, Kindt R, Legendre P, Minchin PR, et al. vegan: Community Ecology Package [Internet]. 2001 [citado 28 de março de 2025]. p. 2.6-10. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>
36. Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using **lme4**. *J Stat Soft* [Internet]. 2015 [citado 28 de março de 2025];67(1). Disponível em: <http://www.jstatsoft.org/v67/i01/>
37. Searle SR, Speed FM, Milliken GA. Population Marginal Means in the Linear Model: An Alternative to Least Squares Means. *The American Statistician*. novembro de 1980;34(4):216–21.
38. Tukey JW. Comparing Individual Means in the Analysis of Variance. *Biometrics*. junho de 1949;5(2):99.
39. Mamani L. Extreme droughts in the Amazon Basin during cyclic ENSO events coupled with Indian Ocean Dipole modes and Tropical North Atlantic warming. *Science of the Total Environment*. 2025;
40. De Almeida J, Tezara W, Herrera A. Physiological responses to drought and experimental water deficit and waterlogging of four clones of cacao (*Theobroma cacao* L.) selected for cultivation in Venezuela. *Agricultural Water Management*. junho de 2016;171:80–8.
41. Tezara W, Pereyra G, Ávila-Lovera E, Herrera A. Variability in physiological responses of Venezuelan cacao to drought. *Ex Agric*. junho de 2020;56(3):407–21.
42. Olayemi L, Agele S, Adejobi A, Aiyelari P. Effects of watering regime on the morphological, physiological and functional traits of seedlings of cacao provenances under screen house conditions. *JPSP*. 24 de novembro de 2022;44–55.
43. Osorio Zambrano MA, Castillo DA, Rodríguez Pérez L, Terán W. Cacao (*Theobroma cacao* L.) Response to Water Stress: Physiological Characterization and Antioxidant Gene Expression Profiling in Commercial Clones. *Front Plant Sci*. 6 de setembro de 2021;12:700855.
44. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. *Artmed*; 2021.
45. Hola D. Role of Brassinosteroids in the Plant Response to Drought: Do We Know Anything for Certain? Em: Hayat S, Yusuf M, Bhardwaj R, Bajguz A, organizadores. *Brassinosteroids: Plant Growth and Development* [Internet]. Singapore: Springer Singapore; 2019 [citado 6 de maio de 2025]. p. 101–68. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-981-13-6058-9_5
46. Wang Q, Yu F, Xie Q. Balancing growth and adaptation to stress: Crosstalk between brassinosteroid and abscisic acid signaling. *Plant Cell & Environment*. outubro de 2020;43(10):2325–35.
47. Silva ACSLD, Silva JFBRD, Pinto CAD, Costa ACLD, Souza MHF, Sanchez-Martinez P. Análise do Índice de Anomalia de Chuva (IAC) e a influência do fenômeno El Niño - Oscilação Sul (ENOS) na Floresta Nacional de Caxiuanã. *RBClima*. 18 de março de 2025;36:384–408.

48. Andres C, Comoé H, Beerli A, Schneider M, Rist S, Jacobi J. Cocoa in Monoculture and Dynamic Agroforestry. Em: Lichtfouse E, organizador. Sustainable Agriculture Reviews [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2016 [citado 6 de maio de 2025]. p. 121–53. (Sustainable Agriculture Reviews; vol. 19). Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-26777-7_3
49. Heming NM, Schroth G, Talora DC, Faria D. Cabruca agroforestry systems reduce vulnerability of cacao plantations to climate change in southern Bahia. *Agron Sustain Dev*. junho de 2022;42(3):48.
50. Mensah EO, Ræbild A, Asare R, Amoatey CA, Markussen B, Owusu K, et al. Combined effects of shade and drought on physiology, growth, and yield of mature cocoa trees. *Science of The Total Environment*. novembro de 2023;899:165657.
51. Cabral MVA, Bitencourt EBE, Caripuna LA, Costa RADS, Leal MVS, Sousa AMD, et al. O DESENVOLVIMENTO DA BIOECONOMIA NO ESTADO DO PARÁ: POTENCIALIDADES, DESAFIOS E PERSPECTIVAS THE DEVELOPMENT OF BIOECONOMY IN THE STATE OF PARÁ: POTENTIALITIES, CHALLENGES AND PERSPECTIVES. REASE. 26 de dezembro de 2023;9(11):4211–24.
52. Kohler MR, Bampi AC, Silva CAFD, Arantes A, Gaspar WJ. O desmatamento da Amazônia brasileira sob o prisma da pecuária: a degradação dos recursos hídricos no contexto da região norte de Mato Grosso. *RSD*. 22 de agosto de 2021;10(11):e66101119252.
53. Domingues MS, Bermann C. O arco de desflorestamento na Amazônia: da pecuária à soja. *Ambient soc*. agosto de 2012;15(2):1–22.
54. Zhao M, Yuan L, Wang J, Xie S, Zheng Y, Nie L, et al. Transcriptome analysis reveals a positive effect of brassinosteroids on the photosynthetic capacity of wucai under low temperature. *BMC Genomics*. dezembro de 2019;20(1):810.
55. Liao K, Peng YJ, Yuan LB, Dai YS, Chen QF, Yu LJ, et al. Brassinosteroids Antagonize Jasmonate-Activated Plant Defense Responses through BRI1-EMS-SUPPRESSOR1 (BES1). *Plant Physiol*. fevereiro de 2020;182(2):1066–82.
56. Ahammed GJ, Choudhary SP, Chen S, Xia X, Shi K, Zhou Y, et al. Role of brassinosteroids in alleviation of phenanthrene–cadmium co-contamination-induced photosynthetic inhibition and oxidative stress in tomato. *EXBOTJ*. janeiro de 2013;64(1):199–213.
57. Tanveer M, Shahzad B, Sharma A, Biju S, Bhardwaj R. 24-Epibrassinolide; an active brassinolide and its role in salt stress tolerance in plants: A review. *Plant Physiology and Biochemistry*. setembro de 2018;130:69–79.
58. Ávila-Lovera E, Coronel I, Jaimez R, Urich R, Pereyra G, Araque O, et al. ECOPHYSIOLOGICAL TRAITS OF ADULT TREES OF CRIOLLO COCOA CULTIVARS (*THEOBROMA CACAO* L.) FROM A GERMPLASM BANK IN VENEZUELA. *Ex Agric*. janeiro de 2016;52(1):137–53.
59. De Araújo RP, De Almeida AAF, Barroso JP, De Oliveira RA, Gomes FP, Ahnert D, et al. Molecular and morphophysiological responses cocoa leaves with different concentrations of anthocyanin to variations in light levels. *Scientia Horticulturae*. outubro de 2017;224:188–97.
60. Jiménez-Pérez A, Cach-Pérez MJ, Valdez-Hernández M, De La Rosa-Manzano E. Effect of canopy management in the water status of cacao (*Theobroma cacao*) and the microclimate within the crop area. *Bot Sci*. 19 de dezembro de 2019;97(4):701–10.
61. Yao, Michel K., et al. "Carbon and nutrient cycling in tree plantations vs. natural forests: implication for an efficient cocoa agroforestry system in West Africa." *Regional Environmental Change* 21.2 (2021): 44.

4. CONCLUSÃO GERAL

A pesquisa investigou os efeitos de brassinosteroides e diferentes regimes de irrigação no metabolismo e crescimento de plantas de cacau. Os resultados demonstraram que os regimes de irrigação foram os principais responsáveis por alterações significativas no metabolismo e no desenvolvimento das plantas, enquanto a aplicação de brassinosteroides não apresentou efeitos relevantes sob as condições testadas. Esses achados destacam a importância do manejo hídrico adequado para a produtividade e o vigor do cacauzeiro, sugerindo que estratégias de irrigação devem ser priorizadas em comparação ao uso de brassinosteroides, pelo menos dentro dos parâmetros avaliados neste estudo.