



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Engenharia Agronómica

Dissertação

**Avaliação da qualidade da 'Pera Rocha' durante a
conservação em atmosfera controlada**

Miguel José Santos Luís

Orientador(es) | Ana Elisa Rato
Claudia Sánchez Lara

Évora 2022



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Engenharia Agronómica

Dissertação

**Avaliação da qualidade da 'Pera Rocha' durante a
conservação em atmosfera controlada**

Miguel José Santos Luís

Orientador(es) | Ana Elisa Rato
Claudia Sánchez Lara

Évora 2022



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Vasco Fitas da Cruz (Universidade de Évora)

Vogais | Ana Elisa Rato (Universidade de Évora) (Orientador)
Custódia Maria Luís Gago (Universidade do Algarve) (Arguente)

Agradecimentos

À Professora Doutora Ana Elisa Rato, por todo o apoio e dedicação, a sua orientação e disponibilidade foram fundamentais na elaboração desta dissertação.

À Dra. Cláudia Sánchez Lara e a toda a equipa do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária do polo de Alcobça, por todo o apoio e disponibilidade demonstrado ao longo da concretização deste trabalho.

À Cooperfrutas CRL, por ter disponibilizado o material vegetal utilizado neste estudo e ao seu corpo técnico que sempre demonstrou disponibilidade para colaborar neste estudo.

A todos os colaboradores da Universidade de Évora, docentes e não docentes, por todas as experiências e oportunidades de aprendizagem. De uma forma especial à equipa de trabalho do laboratório de pós-colheita, à Daniela Farinha e à Beatriz Mendes por toda a ajuda no trabalho laboratorial.

Aos amigos que Évora me deu, em especial ao Rodrigo, Tomás e Luís que desde o primeiro ano foram fundamentais.

Por último, um agradecimento especial à minha família, pais, avós, irmão e à Bruna, pelo suporte, ajuda e por estarem sempre presentes. Sem a vossa força não seria possível terminar esta etapa.

Resumo

Avaliação da qualidade da 'Pera Rocha' durante a conservação em atmosfera controlada

O presente trabalho pretende avaliar a relação entre o teor de minerais, nomeadamente os teores de cálcio e de potássio, nas diferentes zonas dos frutos de pera 'Rocha' (endocarpo, mesocarpo e epicarpo) e a qualidade dos frutos durante a sua conservação. Mais concretamente pretende-se avaliar, durante a fase de pós-colheita da pera, se há alterações na composição mineral dos frutos e se estas alterações estão relacionadas com o desenvolvimento de desordens fisiológicas recorrentes, como a do acastanhamento interno. Paralelamente, recorrendo à técnica não destrutiva da espectroscopia de infravermelho próximo (NIR), desenvolveu-se um modelo para a quantificação do cálcio e do potássio nos frutos de forma a perceber se será possível utilizar esta técnica para identificar frutos mais suscetíveis a este tipo de desordens.

Os resultados obtidos revelaram que o fator 'produtor' foi aquele que mais influenciou as diferenças dentro dos parâmetros da qualidade. Frutos de pomares diferentes apresentaram diferenças significativas nos parâmetros da qualidade. Ao nível da composição mineral os frutos do produtor C apresentaram um comportamento distinto dos restantes, nomeadamente na relação K/Ca. Frutos com sintomas de acastanhamento interno apresentaram menores teores de cálcio em todas as zonas analisadas (epicarpo, mesocarpo, endocarpo). Os modelos obtidos com base na tecnologia do infravermelho próximo (NIR) para a determinação do teor de cálcio e de potássio nos frutos em fresco apresentaram um coeficiente de determinação de 0.8 e de 0.12 respetivamente. De entre os vários modelos obtidos o da previsão do teor em cálcio foi o que registou um melhor ajuste, assumindo alguma capacidade discriminatória. O modelo para a previsão do teor em potássio não apresentou qualidade aceitável.

Palavras-Chave: Pera 'Rocha'; Conservação; Cálcio; Potássio; Acastanhamento Interno.

Abstract

Quality evaluation of 'Pera Rocha' during controlled atmosphere storage

The present study intends to evaluate the relationship between the mineral content, calcium and potassium contents, in the different parts of 'Rocha' pear fruits (endocarp, mesocarp and epicarp) and the quality of the fruits during their conservation. More specifically, it is intended to evaluate, during the postharvest, whether there are changes in the mineral composition of the fruits and whether these changes are related to the development of recurrent physiological disorders, such as internal browning. At the same time, using the non-destructive technique of near infrared spectroscopy (NIR), a model was developed for the quantification of calcium and potassium in fruits to understand if it will be possible to use this technique to identify fruits more susceptible to this type of disorders.

The results obtained revealed that the 'producer' factor was the one that most influenced the differences within the quality parameters. Fruits from different orchards showed significant differences in quality parameters. In terms of mineral composition, the fruits of producer C showed a different behaviour comparing with other producers, also in this producer the K/Ca ratio had the higher value. Fruits with symptoms of internal browning showed lower levels of calcium in all parts analysed (epicarp, mesocarp and endocarp). The models obtained based on near infrared technology (NIR) for the determination of calcium and potassium content in fresh fruits presented a coefficient of determination of 0.8 and 0.12 respectively. Among the various models obtained, the prediction of calcium content in the fruit was the best fit model for prediction, assuming some discriminatory capacity. The model for the prediction of potassium content in the fruits did not show acceptable quality.

Keywords: 'Rocha' pear; Conservation; Calcium; Potassium; Internal browning.

Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo.....	II
Abstract.....	III
Índice.....	IV
Índice de Figuras.....	VI
Índice de Tabelas.....	IX
Índice de Equações.....	X
Índice de Anexos.....	XI
Lista de Abreviaturas e Símbolos	XII
1. Introdução e Objetivos.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	3
2.1. Aspectos gerais da cultura da pera ‘Rocha’.....	3
2.1.1. Taxonomia, origem e morfologia.....	3
2.1.2. Importância económica em Portugal e no Mundo	4
2.1.3. A pera ‘Rocha’ na região do Oeste	5
2.1.4. Qualidade dos frutos.....	10
2.2. A importância da nutrição na qualidade dos frutos.....	11
2.2.1. O azoto.....	12
2.2.2. O fósforo	14
2.2.3. O potássio.....	16
2.2.4. O cálcio.....	21
2.2.5. Antagonismo K/Ca e as relações entre cálcio, potássio e outros nutrientes.....	31
2.3. Pós-colheita e armazenamento de pera ‘Rocha’.....	34
2.3.1. Conservação pós-colheita da pera ‘Rocha’	34
2.3.2. Principais problemas na qualidade durante a conservação da pera ‘Rocha’	40
2.3.3. A influência dos fatores pré-colheita na ocorrência da desordem fisiológica do acastanhamento interno	42
2.3.4. A influência dos fatores pós-colheita na ocorrência da desordem fisiológica do acastanhamento interno	43
2.4. A espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) para avaliação do teor de nutrientes em tecidos vegetais.....	44
2.5. A espectroscopia de absorção atómica para avaliação do teor de nutrientes em tecidos vegetais	47
3. Desenvolvimento Experimental.....	50
3.1. Materiais e Métodos.....	50
3.1.1. Material Vegetal.....	50

3.1.2. Métodos Analíticos.....	51
3.1.3. Métodos Estatísticos.....	55
4. Resultados e Discussão	56
5. Conclusões Gerais	75
Referências.....	77
Anexos.....	85

Índice de Figuras

Figura 1- Área de produção de pera DOP	9
Figura 2- Vias de absorção simplástica (azul) e apoplástica (vermelho)	24
Figura 3- Mobilização de cálcio para o fruto desde o vingamento à colheita em maçã 29	
Figura 4- Padrão respiratório de frutos climatéricos e não climatéricos	37
Figura 5- Cortes transversais de frutos com sintomas de acastanhamento interno	42
Figura 6- Cortes longitudinais de frutos com diferentes graus de severidade de acastanhamento interno	42
Figura 7- Espectro de radiação eletromagnética.....	45
Figura 8- Esquema do funcionamento do espectrómetro na zona do NIR.....	46
Figura 9- Esquema de funcionamento do espectrómetro de absorção atômica.....	48
Figura 10- Amostras de frutos para análise de qualidade.....	50
Figura 11- Endocarpo, Mesocarpo e Epicarpo dos frutos – antes de liofilização	53
Figura 12- Endocarpo, Mesocarpo e Epicarpo - depois de liofilização	53
Figura 13- Amostras após processo de moagem	54
Figura 14- Cinzas com conteúdo mineral das amostras	54
Figura 15- Processo de diluição das cinzas	54
Figura 16 - Espectros de infravermelho na região do espectro entre 12500-3600 cm ⁻¹ recolhidos em peras inteiras.....	56
Figura 17 - Espectros de absorvância que foram utilizados pelo modelo de predição para o Ca nos frutos em fresco	57
Figura 18 - Correlação entre os valores preditos pelo modelo e os valores de referência para os teores de cálcio nos frutos	58
Figura 19 - Espectros de absorvância após processamento que foram utilizado pelo modelo de predição para a determinação da relação k/Ca nos frutos em fresco	60
Figura 20 - Correlação entre os valores preditos pelo modelo e os valores de referência para a relação K/Ca.....	60
Figura 21- Representação dos intervalos de confiança do parâmetro b para os três produtores (n=10) – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança.....	62
Figura 22- Representação dos intervalos de confiança do parâmetro da Firmeza para as três datas analisadas (n=10) – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança.....	63

Figura 23- Representação dos intervalos de confiança determinados para a Firmeza dos frutos de cada produtor e data e da interação destes fatores (n=10) – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança.....	64
Figura 24 - Representação dos intervalos de confiança determinados com $p < 0,005$ para os sólidos solúveis totais dos vários produtores (n=10) – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança.....	64
Figura 25- Representação dos intervalos de confiança determinados com $p < 0,05$ para a acidez titulável do efeito da interação entre data de colheita e produtor (n=10) - produtor (n=10) – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança66	66
Figura 26 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de cálcio nas diferentes datas (n=10) – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança	67
Figura 27 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de cálcio nas diferentes datas - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança.....	68
Figura 28 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de cálcio nas diferentes zonas dos frutos entre as duas datas - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança.....	69
Figura 29 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de cálcio nas diferentes zonas dos frutos – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança	69
Figura 30 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de cálcio nas diferentes datas e zonas do fruto por produtores - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança.....	70
Figura 31 - Teores de cálcio nas diferentes zonas dos frutos em 5 peras com a presença de acastanhamento interno. As barras representam o desvio padrão da amostra	71
Figura 32 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de potássio nas diferentes datas - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança.....	71
Figura 33 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de potássio para os diferentes produtores - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança	72

Figura 34 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de potássio nas diferentes zonas do fruto-As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança	73
Figura 35 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de potássio nas diferentes zonas dos frutos entre os vários produtores - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança.....	73
Figura 36 - Representação dos intervalos de confiança determinados para a relação K/Ca para os diferentes produtores - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança	74
Figura 37 - Representação dos intervalos de confiança determinados para a relação K/Ca para os diferentes produtores nas diferentes zonas dos frutos	74

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Produção de pera em ton/país no ano de 2019	4
Tabela 2 - Coeficientes de transpiração de diversos frutos e produtos hortícolas	35
Tabela 3 - Taxa de respiração para diversos frutos e produtos hortícolas	36
Tabela 4 - Média e desvio padrão do teor de Ca e K presentes na epiderme das peras	57
Tabela 5 - Valores médios (\pm DP) das coordenadas cromáticas do espaço de cor para os diferentes produtores determinados	61
Tabela 6 - Valores médios (\pm DP) de Firmeza, Teor de Sólidos Solúveis Totais e Acidez Titulável para os diferentes produtores nas diferentes datas analisadas	62

Índice de Equações

Equação 1 - Fórmula para determinação da perda de água.....	34
Equação 2 – Fórmula para determinação da acidez titulável	52

Índice de Anexos

ANEXO I - Carta Geológica de Alcobaça	85
ANEXO II - Imagem de Satélite.....	86
ANEXO III - Teste de Tukey entre parâmetro b e produtores	87
ANEXO IV - Teste de Tukey entre firmeza e datas	87
ANEXO V - Teste de Tukey entre firmeza e produtores.....	87
ANEXO VI - Teste de Tukey entre acidez titulável, data e produtores.....	88

Lista de Abreviaturas e Símbolos

- 1-MCP** – 1 - metilciclopropeno
- AC** – Atmosfera Controlada
- AI** – Acastanhamento Interno
- Al³⁺** - Ião Alumínio
- AT** – Acidez Titulável
- ATP** – Adenosina Trifosfato
- B** - Boro
- Ca** – Cálcio
- Ca²⁺** - Ião Cálcio
- CH** – Ligação Carbono - Hidrogénio
- CO₂** – Dióxido de Carbono
- Cu** – Cobre
- DOP** – Denominação Origem Protegida
- EMA** – East Mailing A
- FAO** – Food and Agricultural Organization
- g** – Grama
- H⁺** - Ião Hidrogénio
- H₂PO₄⁻** - Dihidrogenofosfato
- ha** – Hectare
- IV** – Infravermelho
- K** – Potássio
- K⁺** - Ião Potássio
- Kg** – Quilograma
- KPa** – Quilopascal
- Mg** – Magnésio
- mg** – Miligrama
- Mg²⁺** - Ião Magnésio
- ms** – Massa seca
- N** – Azoto

NADPH – Fosfato de Dinucleotideo de Adenina e Nicotinamida

NaOH – Hidróxido de Sódio

NH – Ligação Azoto - Hidrogénio

NH₄⁺ - Forma Amoniacal do Azoto

NIR – Near infra red spectroscopy

nm - Nanómetro

NO₃⁻ - Forma Nítrica do Azoto

O₂ - Oxigénio

OH – Ligação Oxigénio - Hidrogénio

pH – Potencial Hidrogeniónico

PLSR- Regressão por mínimos quadrados parciais

Ppm – Partes por milhão

PPO – Polifenoloxidase

RPD – Razão da performance do desvio

SH – Ligação Enxofre – Hidrogénio

SNV- Variação normal padrão

SST – Sólidos Solúveis Totais

µg – Micrograma

Zn - Zinco

1. Introdução e Objetivos

De entre as várias espécies de fruteiras cultivadas em Portugal a pera ‘Rocha’ é a que mais se destaca na região Oeste. As características particulares da região aliadas ao saber fazer dos agricultores permitem que as peras adquiram características únicas, apreciadas em inúmeros mercados internacionais. Estas características diferenciadoras valeram aos frutos produzidos na região Oeste a classificação de Denominação de Origem Protegida (DOP).

Depois de colhida, a pera ‘Rocha’ é conservada em câmaras de frio de forma a ser comercializada durante o resto do ano (ANP, 1997). Apesar das peras serem frutos passíveis de armazenamento prolongado, importa perceber que este pode levar à ocorrência de acidentes fisiológicos como o escaldão superficial e o acastanhamento interno. Estes acidentes ocorrem essencialmente devido às condições a que os frutos estão sujeitos durante o período de conservação, nomeadamente devido às baixas concentrações de oxigénio e às altas concentrações de dióxido de carbono, traduzindo-se em perdas económicas significativas. Dado que atualmente não existem substâncias que controlem de forma eficiente estes fenómenos é cada vez mais importante estudar os fatores pré-colheita que os minimizam.

A composição mineral dos frutos assume, dentro dos fatores pré-colheita, um papel que parece estar diretamente relacionado com a ocorrência de fenómenos de acastanhamento interno, sendo o cálcio um dos elementos mais diretamente correlacionados com a qualidade dos mesmos para uma boa conservação (Raese & Drake, 2000). No entanto, apesar de ser conhecida a influência do cálcio na melhoria do potencial de conservação dos frutos, ainda não existe um método rápido e não destrutivo capaz de auxiliar os produtores a diferenciar os lotes de acordo com a predisposição para o desenvolvimento de acastanhamentos internos.

O objetivo deste trabalho consistiu em avaliar a evolução dos parâmetros da qualidade em frutos provenientes de três pomares distintos. Para além disso, também se pretendeu avaliar a adequabilidade da tecnologia do infravermelho próximo (NIR) para a determinação do teor de nutrientes (Ca e K) nos frutos e analisar a distribuição destes nas diferentes zonas do fruto (endocarpo, mesocarpo e epicarpo). Assim, este estudo deverá analisar se frutos com acastanhamento interno possuem diferenças na composição

mineral e também averiguar se a tecnologia NIR poderá ser um modelo eficaz para a diferenciação de lotes com relações K/Ca mais propícias a este tipo de desordem.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Aspectos gerais da cultura da pera ‘Rocha’

2.1.1. Taxonomia, origem e morfologia

A origem da identificação da variedade de pereira ‘Rocha’ perde-se em meados do século XIX algures na região Oeste de Portugal. Anos mais tarde, já no início do século seguinte, é referenciada de uma forma testemunhal e científica devido às suas características diferenciadoras das restantes em vários documentos, tendo sido apresentados alguns trabalhos acerca da mesma no I Congresso Nacional de Pomologia, realizado em Alcobaça em 1926.

Esta variedade pertence à família das Rosáceas, subfamília das Pomóideas, ao género *Pyrus* e à espécie *Pyrus communis* L. É uma variedade medianamente exigente em horas de frio no período do outono-inverno, cerca de 550h (Couto, 1979). De acordo com o caderno de especificações da pera ‘Rocha’ do Oeste podemos descrever esta variedade de acordo com as seguintes características:

As flores têm 5 pétalas de forma arredondada, com unha curta, 5 sépalas tomentosas retro-flectidas, de cor verde-amarelado na parte inferior e amarelo-acastanhado na superior. O pecíolo é mediano, de coloração amarelada. A sua floração ocorre entre março e abril, em corimbos abertos com um número médio de 7 flores, de tamanho médio, brancas e quando em botão com os bordos ligeiramente rosados. A variedade ‘Rocha’ é interfértil com outras variedades e parcialmente autofértil, tendo alguma tendência para a estenospermocarpia (ANP, 1997).

Os frutos da pereira ‘Rocha’ caracterizam-se por apresentarem forma variável, sendo predominantes as formas redonda ovada, redonda piriforme e piriforme ovada; pedúnculo médio (33 mm) nos tipos redonda ovada e piriforme, e curto (28 mm) na forma oblonga piriforme ovalada e direito no tipo redonda ovada. Esta variedade apresenta uma coloração amarela ou verde clara pontuada pela presença de carepa, nome dado às pequenas pintas castanhas que se distribuem ao longo dos frutos e que são uma característica diferenciadora desta variedade. A presença de carepa é comum em qualquer que seja o formato da pera ‘Rocha’, esta apresenta-se unida na base, dispersando-se irregularmente por toda a superfície, tendendo a concentrar-se na fossa apical. A epiderme

dos frutos apresenta-se lisa. Os frutos são predominantemente de calibres médios, sendo o calibre mais comum em anos considerados de produção normal e que abrange cerca de 30 % da produção o calibre 60/65mm. O calibre mínimo de comercialização é o 45/50mm (ANP, 1997).

As árvores desta variedade apresentam um porte ereto, com ramos do ano bastante flexíveis, folhas ovais, verde-claras, tomentosas na página inferior e glabras na superior. Os órgãos de frutificação são esporões rugosos e verdascas (ANP, 1997).

Do ponto de vista sensorial, a polpa da pera ‘Rocha’ é caracterizada por uma cor branca, macia-fundente, granulosa, doce, não ácida; succulenta e de perfume ligeiramente acentuado (ANP, 1997).

2.1.2. Importância económica em Portugal e no Mundo

O principal país produtor de pera no mundo é a China, com aproximadamente 70% da produção mundial. De acordo com a Food and Agricultural Organization (FAO, 2019), Portugal era o 16º maior produtor de pera a nível mundial como se pode constatar na tabela seguinte:

País	Produção (Toneladas)
China, mainland	1700000
United States of America	661340
Argentina	595427
Turkey	530723
Italy	429290
South Africa	407212
Netherlands	373000
Belgium	332220
Spain	330670
India	300000
Chile	250240
Japan	238600
Algeria	223467
Republic of Korea	200732
Ukraine	155300
Portugal	153300
Democratic People's Republic of Korea	147776
France	119830
Iran (Islamic Republic of)	106785
Uzbekistan	101858

Tabela 1 - Produção de pera em ton/país no ano de 2019 (FAO, 2019)

A nível nacional a produção na fileira da pera assenta quase exclusivamente na variedade ‘Rocha’. O consumo per capita de pera em Portugal é de 6,2 kg, sendo o quarto fruto mais consumido. Por outro lado, também nos mercados estrangeiros este fruto é bastante valorizado sendo que atualmente 60% da produção é exportada. Portugal é o 8º maior exportador de pera do mundo (WAPA, 2021). A pera ‘Rocha’ apresenta excelentes características comerciais com grande aptidão para a exportação, como a elevada capacidade de conservação e resistência ao transporte e manuseamento, razão pela qual a pera ocupa o primeiro lugar no que toca a exportação no setor frutícola. Os principais mercados de exportação para a produção de pera ‘Rocha’ são o Brasil, Reino Unido, França, Alemanha e Marrocos.

Ao nível da área cultivada com esta variedade verificou-se um ligeiro aumento entre 2012 e 2016. Nos últimos anos esse aumento abrandou tendo assumido valores constantes nos cerca de 12 500 ha entre os anos de 2016 – 2018 (INE, 2018).

Os valores da produção desta variedade oscilam um pouco entre anos devido a fenómenos de alternância. Estes fenómenos, comuns em bastantes fruteiras, caracterizam-se por variações cíclicas bianuais que se traduzem em anos de excesso de produção, alternados com anos de produção reduzida. Apesar disso, de uma forma geral, os produtores têm conseguido aumentar a produtividade da cultura, levando a um aumento do volume de produção numa área cultivada estável. Ao longo dos anos verifica-se também que a produção certificada como Denominação de Origem Protegida (DOP) tem aumentado o seu peso dentro do volume de produção.

2.1.3. A pera ‘Rocha’ na região do Oeste

A zona Oeste de Portugal, região onde a variedade ‘Rocha’ surgiu, tem-se mostrado como a zona de produção de excelência para esta pereira. As características diferenciadoras das peras produzidas nesta região valeram, em 2003, o reconhecimento da pera ‘Rocha’ do Oeste com o selo de denominação de origem protegida - DOP, selo da União Europeia que certifica a qualidade e tradição de produtos alimentares e agrícolas. As características edafo-climáticas como o clima, o relevo, a proximidade do mar, a humidade do ar, o tipo de solo ou o vento influenciam o produto final. Estas características associadas ao conhecimento dos produtores com longos anos de experiência permitem obter uma pera com atributos de cor, textura e sabor realçados (Jordão & Paulo, 2011).

O clima de Portugal Continental, segundo a classificação de Koppen, divide-se em duas regiões: uma de clima temperado com inverno chuvoso e verão seco e quente (Csa) e outra de clima temperado com inverno chuvoso e verão seco e pouco quente (Csb) (IPMA, 2021). A Região Oeste é caracterizada por ter um clima moderadamente chuvoso, com cerca de 600 a 700 mm de precipitação anual. Relativamente à temperatura podemos considerar um clima temperado, sendo que a temperatura média anual do ar se situa entre os 15 e os 16 °C. A influência oceânica faz-se notar na faixa litoral até cerca de 10 km da costa. É uma região com um número reduzido de dias de geada, sendo praticamente inexistente no período de plena floração da pereira.

Segundo Soares *et al.*, (2001), a suavidade climática do Oeste pode, por vezes, apresentar alguns inconvenientes, tais como a falta de horas de frio invernal, o que provoca nas árvores uma rebentação e floração muito irregulares e prolongadas.

Assim, e de forma a contrariar estes inconvenientes, é comum observar-se, em pomares de pera 'Rocha', o recurso a variedades polinizadoras como forma de compensar as taxas de vingamento insuficientes resultantes da autopolinização. Não obstante, é também prática comum na região do Oeste a aplicação de reguladores de crescimento, nomeadamente de giberelinas, como forma de favorecer o vingamento. Esta prática poderá interferir na capacidade de conservação dos frutos uma vez que influencia diretamente o número de sementes por fruto (Weinbaum *et al.*, 2001). Uma outra característica climática desfavorável é a própria humidade relativa do ar elevada e a pluviosidade frequente após o abrolhamento, que originam condições favoráveis a doenças às quais a variedade é suscetível, como a estenfiliose (*Stemphylium vesicarium*) e o pedrado (*Venturia pirina*), que levam a perdas de produção significativas.

Relativamente às características edáficas esta região também apresenta particularidades diferenciadoras de outras onde também se produz pera 'Rocha', tanto pela composição do material originário como pela evolução que este sofreu ao longo dos tempos. Segundo a carta Geológica de Portugal (ANEXO I), publicada em 1952, as formações mais antigas da região Oeste datam do Lias inferior ou possivelmente do Triássico e são elas que alicerçam o vale tifónico, se bem que estejam por vezes recobertas de areias pliocénicas. Soares *et al.*, (2001), afirmavam que o substrato rochoso da região consiste predominantemente em rochas sedimentares do Triássico, principalmente margas variegadas, gipsíferas e calcários.

Verifica-se ainda que o facto da região em estudo se localizar numa zona climática de transição faz com que as ações do clima nos fenómenos de pedogénese não possam ser bem definidas, visto que em vez de um processo preponderante de evolução do solo num determinado sentido se verificam dois processos opostos que alternadamente atuam: um na estação fria e chuvosa, determinando fenómenos de podzolização com lavagem acentuada das camadas superiores, pouco ou nada contrariada pela evaporação; e outro, na estação quente e seca, em que o calor e a evaporação provocam a desidratação das camadas superiores do solo e criam condições de aridez que contrariam o fenómeno de podzolização (Soares et al., 2001).

A variedade 'Rocha' não se adapta a solos com predominância de materiais grosseiros e ausência de argilas, sendo, portanto, de excluir os solos arenosos para qualquer tipo de variedade ou porta-enxerto da pereira. Quanto à estrutura, para a cultura é fundamental um solo estável e poroso de modo que ocorra drenagem natural e haja arejamento, permitindo a oxigenação das raízes e a resistência a longos períodos de saturação do solo. Deve também ter alguma permeabilidade para que possa haver o crescimento e desenvolvimento de novas raízes nos espaços intersticiais. O mesmo autor descreve ainda que na região Oeste a pereira ocupa preferencialmente terrenos de várzea e próximos das linhas de água, onde os solos por norma são franco-argilosos (Soares et al., 2001).

Verifica-se que as zonas de ligeiro declive apresentam benefício para o desenvolvimento das árvores conseguindo-se um gradiente térmico positivo, em comparação com certas várzeas frias, húmidas, com má drenagem atmosférica e solos asfixiantes. Nestes solos, ótimos para a pereira, o perfil apresenta-se diferenciado não apenas em função da natureza da rocha-mãe, mas também em função do declive, da intensidade dos fenómenos erosivos e da drenagem externa, que são por sua vez, dependentes das características do relevo.

Dentro destas características gerais existe a possibilidade de adaptar a cultura a parcelas com características distintas como o nível de fertilidade do solo, a sua capacidade de drenagem ou a exposição aos ventos do local. Essa adaptação é feita através da técnica da enxertia que permite escolher dos vários porta-enxertos disponíveis aquele que melhor se adequa às características da parcela onde se quer instalar o pomar. Assim, a pereira, dependendo do porta enxerto em que é enxertada, pode adaptar-se a diversas texturas do solo.

A enxertia resulta não só numa maior adaptabilidade da cultura a diferentes tipos de solo, mas também permite um aumento da densidade de plantação, diminuindo o tamanho das árvores e induzindo uma precocidade na maturação e aumento do calibre dos frutos, em suma, uma intensificação da cultura que permite obter maiores produtividades por hectare explorado (Barbera et al., 2007). Atualmente verifica-se o uso praticamente generalizado de porta-enxertos desenvolvidos a partir de marmeleiro (*Cydonia oblonga* L.), sendo os mais utilizados na região do Oeste o Provence BA-29, o East Mailling A (EMA) e o Sydo. As características destes porta-enxertos, nomeadamente a sua afinidade com a cultivar, o vigor que induzem, a adaptação às diferentes características dos solos e a sua susceptibilidade a pragas e doenças são fatores preponderantes no dimensionamento de um pomar e que influem diretamente na qualidade final dos frutos obtidos.

De entre os acima mencionados o BA-29 é o que se tem revelado mais vigoroso, com menor sensibilidade ao calcário ativo e à clorose férrica, sendo uma boa opção para terrenos alcalinos. Possui uma afinidade bastante boa com a ‘Rocha’ e apresenta um sistema radicular bem desenvolvido e profundo, pelo que assegura uma boa fixação no solo mesmo em zonas ventosas, permitindo o aproveitamento de parcelas onde o solo seja menos fértil e os recursos de água sejam mais escassos. Pode ser utilizado tanto em compassos de plantação mais largos como em pomares semi-intensivos (600-900 plantas por hectare) em sistemas de condução em vaso, guia modificada ou eixo central revestido. Pomares enxertados em BA-29 em terrenos férteis podem apresentar um desenvolvimento vegetativo exagerado, levando a uma entrada em frutificação mais lenta pelo que é necessário controlar o vigor por meio das operações culturais (poda, adubação, ...) de forma a chegar ao equilíbrio entre a frutificação e a componente vegetativa do pomar (Soares et al., 2001).

Quanto ao porta-enxerto EMA, pode-se afirmar que se adapta a solos francos e franco-argilosos, com teores de matéria orgânica superiores a 1%, admitindo também terrenos ligeiramente ácidos a neutros, em solos alcalinos verifica uma maior sensibilidade a cloroses férricas. O mesmo autor refere que é dos porta-enxertos que melhor se adapta a solos de textura fina (argilosos) ou com problemas de drenagem, características comuns de observar nas várzeas do Oeste, sujeitas a encharcamento entre o inverno e a primavera. É um porta-enxerto menos vigoroso que o BA29 tendo em comparação com o mesmo uma taxa de vingamento nas flores superior. Facilmente adaptável à intensificação

cultural (1500 a 200 plantas por hectare) Soares *et al.*, (Soares et al., 2001) referem que este porta enxerto pode levar a boas produtividades médias e a bons calibres.

O porta-enxerto Sydo tem vindo a ser amplamente utilizado em novas plantações. Possui uma afinidade com a ‘Rocha’ inferior à do Provence BA-29 mas superior à do EMA, levando a árvores menos vigorosas. Possui uma rápida entrada em frutificação, com bons calibres e produtividades médias superiores às dos anteriores. Adequado a cultura de regadio semi-intensiva ou intensiva é um porta enxerto que tem vindo a aumentar a sua área. Possui um sistema radicular semelhante ao do EMA, sensível à falta de humidade no solo e ao calcário ativo (Soares et al., 2001).

Desta forma, conjugando os vários fatores edafo-climáticos, atualmente a zona de produção de pera ‘Rocha’ do Oeste está restrita a 29 concelhos da região, identificados na Figura 1. Esta zona é limitada tendo em conta as condições climáticas requeridas para a produção, o microclima especial, o saber fazer das populações e os métodos locais. A área geográfica de produção e acondicionamento está circunscrita aos concelhos de Sintra, Mafra, Arruda dos Vinhos, Sobral de Monte Agraço, Alenquer, Vila Franca de Xira, Azambuja, Torres Vedras, Cartaxo, Lourinhã, Bombarral, Cadaval, Santarém, Rio Maior, Peniche, Óbidos, Caldas da Rainha, Torres Novas, Alcanena, Alcobaça, Nazaré, Porto de Mós, Batalha, Tomar, Ferreira do Zêzere, Vila Nova de Ourém, Leiria, Marinha Grande e Pombal (ANP, 1997).

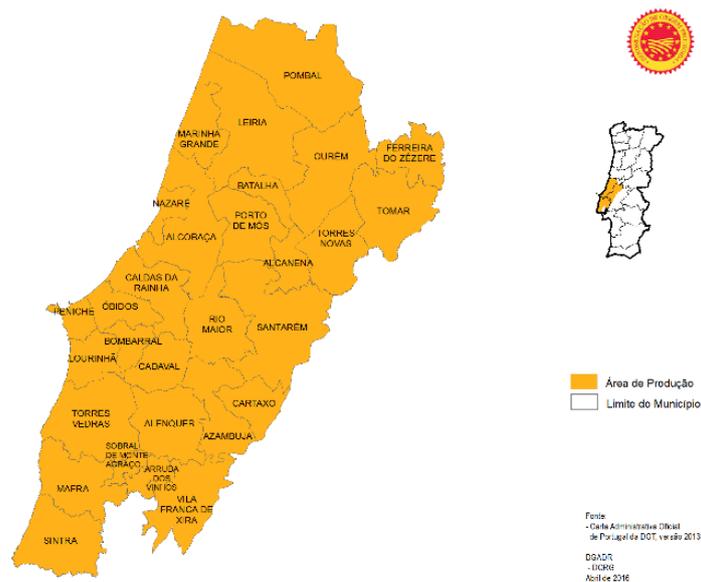


Figura 1- Área de produção de pera DOP (ANP, 2021)

2.1.4. Qualidade dos frutos

O conceito de qualidade de um produto alimentar engloba dentro de si vários atributos. Quando um cliente se depara com um produto hortofrutícola é a combinação destes vários atributos que irá ditar a aceitabilidade do produto. Podem-se dividir estes atributos em vários grupos, são eles: os atributos externos, os atributos internos e os atributos ocultos. Os atributos externos são aqueles que estão diretamente relacionados com a decisão de comprar ou não o produto, sendo aqueles que causam o primeiro impacto no consumidor, destacam-se neste grupo o aspeto visual, a sensação ao tato e os defeitos existentes. Os atributos internos, por norma, são avaliados depois de uma primeira compra, e prendem-se essencialmente com as características internas do produto, como a textura, o sabor e o aroma. São avaliados pelo consumidor quando este trinca ou corta o fruto e estão diretamente associados à decisão de voltar a comprar. Complementarmente a estes, existem ainda os atributos ocultos, que influenciam a decisão do consumidor de optar por um dado produto em função de outro, por norma relacionado com um maior valor nutritivo, maior salubridade ou maior segurança alimentar (Pereira & Rosseau, 2001) .

Dos vários atributos de qualidade utilizados na classificação da qualidade da pera ‘Rocha’, destacam-se a firmeza, a crocância, a acidez, o teor de sólidos solúveis, a cor, os compostos aromáticos, a ausência de defeitos ou imperfeições na epiderme e a existência de pedúnculo (Kader, 1999). Alguns destes parâmetros vão sofrendo alterações à medida que os frutos se aproximam da maturação organolética devido à ação de diversas enzimas que degradam as membranas celulares e da hidrólise do amido em açúcares mais simples. Como resultado desses processos ocorre durante o processo de amadurecimento quebra na firmeza e acumulação de açúcares (Siddiqui, 2017).

Outro aspeto importante para a comercialização dos frutos, que tem assumido na fileira da pera ‘Rocha’ e nos frutos em geral um papel cada vez mais importante associado a um produto de qualidade superior, é o resultado das suas análises quanto ao número de resíduos de produtos fitofarmacêuticos. Este deve ser o menor possível e cumprir com os limites máximos de resíduos estipulados pela legislação em vigor. A estas análises podem ainda somar-se outras, como por exemplo, análises microbiológicas, análises a metais pesados ou ainda a substâncias específicas, como por exemplo a melamina. Esta substância presente na indústria alimentar, nomeadamente na produção dos plásticos constituintes de caixas e palotes pode contaminar os frutos tanto por migração a partir de

materiais de contacto com os frutos como devido a um metabolito da ciromazina (pesticida) (Alexander et al., 2010). São estas análises que irão servir para credibilizar o produto e transmitir ao cliente a confiança no mesmo.

Desta forma, é facilmente perceptível que, atualmente, para obter frutos que respondam ao conceito de produto de qualidade, que engloba todas as variáveis anteriormente referidas, o agricultor deve focar-se nas boas práticas na condução da cultura logo desde o início do ciclo anual das árvores. Não obstante, um produto de qualidade, deverá ainda reunir as condições para, depois de colhido, suportar as manipulações necessárias durante os processos de pós-colheita sem que se verifiquem grandes perdas.

2.2. A importância da nutrição na qualidade dos frutos

Segundo Santos (2015), a nutrição vegetal pode ser definida como “o conjunto de fenómenos através dos quais a planta retira do meio que a rodeia as substâncias que são necessárias ao seu metabolismo e, como consequência, ao seu crescimento e produção”. Dentro dos elementos constituintes dessas substâncias podem-se diferenciar alguns, considerados essenciais ao desenvolvimento vegetal. De acordo com o critério proposto por Arnon e Stout, para ser considerado essencial um nutriente deve respeitar os seguintes critérios:

- A sua presença é indispensável para que a planta possa completar o seu ciclo vegetativo;
- Desempenha na planta funções específicas e, por isso, não pode ser substituído por qualquer outro;
- Está envolvido no metabolismo da planta, seja de modo direto ou indireto.

Dos elementos considerados essenciais destacam-se ainda os que são, de um modo geral, absorvidos em maior quantidade pelas plantas e, desde que em equilíbrio com outros nutrientes não são fitotóxicos – denominados de macronutrientes. É a satisfação das exigências nutricionais da planta ao nível tanto de macronutrientes como de micronutrientes que permite que esta possa expressar todo o seu potencial genético, nomeadamente na produção de frutos de qualidade.

Assim, e apesar da investigação científica relacionar alguns nutrientes de uma forma mais direta com os parâmetros da qualidade, é fácil perceber que a qualidade dos frutos surge como resultado do efeito individual e combinado dos diferentes nutrientes, que influem nos mais variados aspetos, quer ao nível da cor, aroma, forma dos frutos, resistência a doenças e desordens fisiológicas ou até a vida útil pós-colheita. Apesar da importância global e da relação entre todos os macro e micronutrientes, este trabalho focar-se-á essencialmente em dois macronutrientes essenciais para o desenvolvimento vegetal que a investigação científica tem relacionado mais diretamente com a qualidade e capacidade de conservação dos frutos, nomeadamente o cálcio (Ca), um macronutriente secundário, e o potássio (K), um macronutriente principal.

2.2.1. O azoto

Azoto no solo

Por norma, o azoto é considerado o primeiro entre os macronutrientes principais, muito devido ao facto de, na maioria dos casos, ser o principal elemento limitante na produção vegetal. O azoto pode encontrar-se no solo em formas minerais (inorgânicas) e orgânicas. Apesar de se encontrarem em maior quantidade as formas orgânicas não são praticamente absorvidas pelas plantas, encontram-se em macromoléculas complexas associadas a lenhinas, açúcares e partículas de argila, pelo que cumprem apenas uma função de reserva, servindo de substrato para a formação de azoto mineral, esse sim mais diretamente relacionado com a produção vegetal.

As principais formas sob as quais o azoto é absorvido são a forma amoniacal (NH_4^+), e a forma nítrica (NO_3^-). Atendendo à sua carga iónica é fácil perceber que, para a grande maioria das plantas, a forma nítrica seja mais rapidamente absorvida, pois enquanto esta se encontra na solução do solo a forma amoniacal encontra-se adsorvida nos colóides do solo, ou seja mais retida. Apesar de extremamente importantes para o desenvolvimento vegetal o excesso destes complexos minerais na rizosfera para além de não ser benéfico pode causar fito-toxicidade.

O azoto no solo está sujeito a perdas, que podem ocorrer tanto por natureza física, química ou biológica. São as perdas físicas, nomeadamente a lavagem que apresenta maior significado na realidade da região Oeste, visto ser comum a primavera apresentar

alguma precipitação. Esta lavagem afeta todas as formas solúveis de azoto, que são as que as plantas necessitam. Para além desta, também as perdas devido à erosão do solo e sucessivo arrastamento da camada superficial, que é a mais fértil e a que está mais suscetível a estes fenómenos, têm ganho importância, sendo cada vez mais comum o uso de culturas na entrelinha dos pomares de forma a minimizar estas ocorrências (Santos, 2015).

Azoto nas plantas

As suas funções nas plantas são várias, desde a constituição de elementos vitais para o desenvolvimento das plantas como os aminoácidos (constituintes das proteínas e outros que se encontram no seu estado livre), purinas, pirimidinas, pafininas e coenzimas. Não obstante, é um dos macronutrientes mais importantes no crescimento das plantas, estando diretamente relacionado com o processo da fotossíntese, com o crescimento das folhas e, consequentemente, com o fornecimento à planta de hidratos de carbono disponíveis para o desenvolvimento dos órgãos de armazenamento (Varenes, 2003). Para além do efeito referido no desenvolvimento e crescimento das plantas, Soares *et al.*, (2003) associam-no também aos processos de indução e diferenciação floral.

De um modo geral podemos afirmar que o crescimento primaveril das pereiras acaba por estar diretamente relacionado com as reservas de azoto que a mesma possui, tanto em gomos como na madeira ou nas raízes. Assim é facilmente perceptível que as reservas que a planta tenha deste elemento irão influenciar todo o ciclo desde a floração até à pós-colheita dos frutos.

A carência deste nutriente revela-se através de sintomas de clorose nas folhas e fraco desenvolvimento vegetativo. Nas folhas os sintomas de clorose manifestam-se primeiramente nas folhas mais velhas, visto o azoto ser um nutriente móvel. Em situações de carência depois da colheita dos frutos verifica-se um aumento na produção de etileno e de ácido abscísico que promove uma senescência e desfoliação precoce nas árvores. No entanto, verifica-se que quando em excesso este nutriente traduz-se numa resposta vegetativa exagerada por parte das árvores, favorecendo o aparecimento de ramos ladrões e dando origem a árvores excessivamente vigorosas, o que tem efeitos negativos no vingamento das flores e acentua a queda fisiológica dos frutos recém vingados devido à competição exercida pelos lançamentos.

No que toca á conservação verifica-se que o aumento do teor de azoto nos frutos origina problemas na conservação dos mesmos, diminuindo a sua qualidade e a sua vida pós-colheita (Bonora et al., 2021). Este aumento parece ter implicação ao nível dos outros nutrientes, nomeadamente ao nível do cálcio, como será mencionado mais a frente neste trabalho (Soares et al., 2003).

Apesar de neste trabalho não se ter analisado diretamente os níveis de azoto nos frutos é essencial perceber a sua relação com os outros nutrientes, pois a sua influência na qualidade dos frutos e a interação que tem com os outros nutrientes analisados neste estudo são extremamente importantes para a obtenção de frutos com qualidade para um longo período de armazenamento, como é o caso da pera ‘Rocha’.

2.2.2. O fósforo

Fósforo no solo

O fósforo, apesar de ser menos absorvidos pelas culturas que o azoto, é também considerado como um dos três macronutrientes principais. Esta classificação acontece não só pelas funções que desempenha ao nível do desenvolvimento vegetal, mas também pelo facto de na maioria dos solos não se encontrar disponível nas quantidades suficientes, levando à necessidade de o aplicar sob a forma de fertilizantes. Trata-se de um nutriente pouco móvel, com carácter estático no solo, pelo que é ainda mais necessário definir adequadamente a época e a técnica de aplicação por forma a que fique próximo das raízes onde será absorvido.

À semelhança do que se referiu anteriormente para o azoto, também o fósforo se encontra no solo tanto em formas orgânicas como minerais. Verifica-se que as formas orgânicas deste nutriente estão associadas a substâncias complexas que não são diretamente utilizáveis pelas plantas, sendo que a sua absorção só poderá acontecer depois de sofrerem um processo de mineralização, mediado por micro-organismos existentes no solo. A velocidade deste processo está diretamente ligada à quantidade de micro-organismos existentes, sendo tanto mais rápido quanto mais micro-organismos existirem. Por sua vez, a quantidade destes depende das características inerentes aos compostos orgânicos e ao próprio solo, tais como, razão carbono/fósforo dos compostos, reação do solo, e teor de outros nutrientes no solo. Quanto as formas minerais, que são a principal fração deste

nutriente na maioria dos solos (podendo este facto não se verificar em solos com elevado teor de matéria orgânica) verifica-se que apenas uma parte destas se encontram em compostos químicos solúveis na solução do solo, e por consequência, de fácil disponibilidade para as culturas. Existe uma grande parte do nutriente retido, indisponível para as culturas, nomeadamente adsorvido ou precipitado (Santos, 2015).

Fósforo nas plantas

Ao nível das funções no desenvolvimento vegetal podem-se destacar, associadas ao fósforo, a sua participação na composição de compostos fundamentais para o metabolismo das culturas, como são exemplo o fosfato de dinucleotídeo de adenina e Nicotinamida (NADPH) e a adenosina trifosfato (ATP). Assim pode-se afirmar que este nutriente se encontra diretamente ligado com as reações metabólicas que acontecem nas células, nomeadamente ao nível da acumulação e transferência de energia. A sua participação, nomeadamente na reação química que traduz a formação de ATP, demonstra facilmente, como é um nutriente essencial ao desenvolvimento vegetal. No entanto, para além da participação nestes processos, associados ao fornecimento de energia aos processos metabólicos, o fósforo desempenha ainda um papel importante ao nível da estrutura de vários compostos, desde ácido nucleico a fosfoproteínas, fosfolípidos, entre outros.

Verifica-se a sua associação com o desenvolvimento do sistema radicular das plantas, o que influencia diretamente a capacidade da mesma absorver mais água e nutrientes do solo, permitindo um aumento na velocidade de crescimento. No caso da pera 'Rocha' este pode ser um ponto importante na medida em que se deve estabelecer um sistema radicular forte logo nos primeiros anos do pomar, de forma a que as plantas consigam explorar uma maior camada de solo, ficando com uma maior disponibilidade de nutrientes e tolerando melhor stresses induzidos por eventuais primaveras secas ou ventos fortes (Soares et al., 2003).

A absorção deste nutriente é feita através das raízes, sob a forma iónica, principalmente na forma de ortofosfatos primários, $H_2PO_4^-$. As baixas temperaturas limitam este fenómeno de absorção, pelo que em invernos e inícios de primavera frios podem observar-se sintomas de carências. Os principais sintomas de carências de fósforo são um tom avermelhado-arroxeadado das folhas mais velhas, visto que este nutriente, tal como o

azoto, é um nutriente móvel que privilegia as zonas meristemáticas em desenvolvimento. Para além desta coloração anormal das folhas pode verificar-se um atrofiamento das zonas de crescimento, nomeadamente do sistema radicular. Não se verifica, ao contrário do azoto que, excessos de fósforo possam estar associados a perda de qualidade (Santos, 2015).

À semelhança do azoto, também o fósforo não será analisado diretamente neste trabalho mas, pelo efeito que a sua carência tem ao nível do metabolismo dos frutos, decidiu-se introduzir na revisão bibliográfica.

2.2.3. O potássio

Potássio no solo

O potássio assume um papel extremamente importante no que toca às necessidades das plantas, sendo considerado um dos macronutrientes principais para o desenvolvimento vegetal. De todos os macronutrientes principais presentes nos frutos, o potássio é um dos nutrientes que apresenta maiores exigências por parte da pereira (Soares et al., 2003).

O potássio pode ser encontrado no solo sob várias formas, sendo que nem todas se encontram disponíveis para absorção radicular. A capacidade dos solos para fornecer K, a curto e a longo prazo, dependem das características físico-químicas e mineralógicas dos mesmos. Estas características podem atribuir-se, em primeiro lugar, à composição do material originário, e, em segundo lugar, ao grau de desenvolvimento dos solos em função dos processos de meteorização e evolução ocorridos, mas também às práticas culturais, particularmente a adubação potássica.

De uma forma geral podemos afirmar que o potássio disponível para absorção das raízes das culturas se encontra na solução do solo, sob a forma de iões K^+ e nos iões da fração permutável do solo. Sendo que o K^+ em solução está em equilíbrio instantâneo com o K^+ da fração permutável. O equilíbrio entre o potássio em solução e o potássio fixado dá-se nos dois sentidos, isto é, o macronutriente pode ser libertado para a solução do solo a partir do espaço da intercamada dos filossilicatos ou ser aí fixado por difusão da fase líquida para a fase sólida. A fixação do potássio no espaço intercamada atribui-se quer ao perfeito ajustamento do K às cavidades ditrigonais, quer à sua baixa energia de hidratação. A forma permutável do potássio encontra-se nos iões adsorvidos nas superfícies dos

coloides com carga negativa como os minerais de argila e as partículas de húmus. A adsorção destes é feita por ligações fracas (fixação iónica simples) pelo que facilmente podem ser libertados para a solução do solo em caso de necessidade, ficando disponível para as plantas (Portela & Abreu, 2018).

Para além das formas acima mencionadas pode-se encontrar este elemento na fração não permutável do solo, não estando, portanto, facilmente disponível para as plantas. Esta fração encontra-se fixada nos espaços interlamelares dos minerais de argila, que podem libertar algum do K^+ fixo através de fenómenos de contração e expansão dos minerais de argila ou através de processos de meteorização. Esta forma do macronutriente é, portanto, apenas lentamente permutável. Os estudos sobre a fixação do K têm dado ênfase, sobretudo, à fração argila ($< 2 \mu m$) do solo. Porém, há muito se reconheceu que outras frações granulométricas são igualmente relevantes e os artigos mais recentes reforçaram esta ideia, demonstrando que os produtos de meteorização dos minerais primários parcialmente alterados, presentes nas frações limo e areia fina desempenham um papel crucial na fixação do K no solo (Portela & Abreu, 2018). Pode-se ainda considerar o potássio existente na estrutura dos minerais primários como os silicatados (ex. feldspatos) que faz parte da malha cristalina e que se situa entre camadas tetraédricas de unidades contíguas. As ligações a estas unidades estruturais são muito fortes pelo que este macronutriente ligado desta forma também não se encontra diretamente disponível para as culturas. Os solos onde estão inseridos os pomares de pera 'Rocha' na região do Oeste contêm predominantemente argilas do tipo ilite (2:1), que retêm fortemente o potássio na sua malha cristalina (Santos, 2015).

Potássio na planta

O potássio é um dos nutrientes mais importantes para o bom desenvolvimento das plantas, no entanto, ao contrário do que se verifica com o azoto e com o fósforo, o potássio não intervém na composição de substâncias vitais para a planta, isto é, não sofre metabolização mantendo as formas minerais. Apesar deste facto é comumente aceite que, embora não entre na composição dos principais compostos orgânicos da planta, desempenha importantes funções na síntese de muitos desses compostos, exercendo a sua ação em variados fenómenos como o metabolismo dos glícidos, do azoto e da síntese das proteínas, no controlo da atividade de vários constituintes minerais, na neutralização de ácidos orgânicos, na ativação de várias enzimas, no crescimento de zonas meristemáticas,

nas relações hídricas, na resistência a pragas e doenças e na qualidade de produtos agrícolas (Santos, 2015).

Em relação à cultura da pera ‘Rocha’ é comumente aceite que a aplicação de potássio é um fator essencial para a obtenção das características distintas do fruto ao nível da qualidade já referidas anteriormente. A pereira é bastante exigente em potássio estando este catião intrinsecamente associado a elevados níveis de produtividade e de qualidade.

O potássio na pereira melhora a regulação hídrica dos tecidos, por estar envolvido nos mecanismos de abertura e fecho estomático, influi também na absorção de água pelas raízes. É um nutriente necessário para a ativação enzimática e para a fosforilação e síntese de ATP. Apresenta uma grande importância em todo o sistema da planta. Quando as árvores apresentam sintomas visíveis de carência significa que a nível interno o seu funcionamento foi já afetado, podendo ter sido afetada a regulação hídrica, transpiração, fotossíntese, respiração, síntese de ATP, transporte de hidratos de carbono e síntese de proteínas. Assim, é importante a realização de análises constantes a todo o sistema árvore-solo, sobretudo análises foliares (Soares et al., 2003).

A relação entre o potássio e azoto parece condicionar os ataques de pragas e doenças. Doses elevadas de azoto, ou seja, quando a relação N/K é maior aumenta também a suscetibilidade da cultura a ataques de pragas e doenças. Ainda de acordo com Soares *et al.*, (2003) “o potássio deve ser vigiado com cuidado, pois uma carência vai também provocar um aumento das enzimas relacionadas com a decomposição proteica ou proteólise, baixando as resistências naturais das plantas”. Carências ao nível deste nutriente podem afetar os lançamentos vegetativos do ano seguinte, influenciando a qualidade dos corimbos e dos órgãos de frutificação em formação, podendo ainda ter um efeito prolongado na indução e diferenciação floral (Soares et al., 2003).

Relativamente a aspetos fisiológicos e morfológicos, é de notar que o potássio exerce um efeito positivo no engrossamento dos frutos desde o vingamento até à colheita, visto ser um nutriente que está associado a processos de defesa, degradação e síntese das paredes celulares, processos estes que ocorrem durante o desenvolvimento e engrossamento dos frutos (Amano et al., 2013).

Em termos organoléticos o potássio favorece a qualidade gustativa da pera, elevando o teor em açúcares, ácidos orgânicos e compostos voláteis. Valores elevados de potássio provocam a maturação mais rápida da polpa e antecipação da data de colheita. A

coloração é também afetada, tendo sido constatado que peras bem nutridas em potássio apresentam uma cor amarela antecipada, ligeiramente rosadas, característica da variedade 'Rocha'. Sobre este rosado, provocado pela exposição solar dos frutos, o mesmo autor esclarece que esta coloração é também favorecida pelo orvalho noturno e temperaturas frescas durante a noite, podendo também surgir associadas a pulverizações foliares de potássio ao final do dia, perto da data de colheita (Soares et al., 2003).

Absorção do potássio

O potássio é absorvido pelas plantas na forma de K^+ . A absorção do potássio pode ser feita tanto por via radicular como por via foliar, e sendo este um elemento móvel é mais fácil corrigir as necessidades em potássio pela via foliar, em comparação com elementos pouco móveis como o cálcio. Devido à sua mobilidade, as deficiências de potássio nas plantas manifestam-se essencialmente por manchas cloróticas situadas junto às margens das folhas mais velhas, que evoluem posteriormente para necroses, verificando-se simultaneamente o enrolamento sobre a página superior.

O potássio é absorvido pelas plantas em “consumo de luxo”, não se verificando inconvenientes quantitativos e/ou qualitativos nas produções devido a excessos desde que esteja assegurado que não interfira na absorção de outros catiões, nomeadamente o magnésio e o cálcio, através de fenómenos de antagonismo iónico (Santos, 2015).

Nos pomares de pera 'Rocha' na região Oeste é prática comum os produtores recorrerem a adubações potássicas na fase de desenvolvimento do fruto como forma de potenciar alguns parâmetros de qualidade, como o calibre, a coloração e teor em sólidos solúveis. Estas aplicações são feitas tanto por via radicular como por via foliar.

Translocação do potássio

Devido à grande mobilidade deste nutriente no interior da árvore, é de notar algum tipo de sintoma nas folhas mais velhas quando existem carências. Em situações extremas de deficiência deste nutriente, podem também aparecer sintomas em folhas mais novas. Nessas situações as folhas apresentam uma coloração amarelada nas margens, dando origem a uma zona necrótica à medida que aumenta a carência. As áreas necrosadas começam nas margens e progridem para dentro da folha em direção à nervura central. Em

situações limite, para além do enrolar das folhas, pode ocorrer a queda foliar. Por outro lado, o excesso de potássio nos tecidos vegetais ainda que não provoque problemas de toxicidade, pode ser um problema severo. Com efeito, o potássio na forma iónica, K^+ , é muito facilmente absorvido pelas raízes, e por este motivo é possível que se verifiquem desequilíbrios com outros nutrientes no interior da planta, nomeadamente com o cálcio ou o magnésio (Santos, 2015).

Potássio no fruto

Os frutos acumulam grandes quantidades de potássio, o que leva a que haja um grande transporte deste nutriente de outros órgãos da planta, nomeadamente das folhas para o fruto. Desta forma, é evidente a progressão de sintomas (já descritos anteriormente) nestes órgãos dadores deste elemento, como as folhas, à medida que ocorre a maturação dos frutos (Nachtigall, 2004).

Estando o calibre associado ao potássio, será de esperar que uma carência neste nutriente leve à formação de peras de menor calibre, de epiderme menos brilhante e com menor teor em sólidos solúveis, ou seja, peras com menor relação açúcares/ácidos e, portanto, de menor qualidade. Por outro lado, o excesso de potássio nos frutos tem um efeito direto na incidência de vários tipos de acastanhamentos internos, escaldão da epiderme, aumento da taxa de respiração da polpa, menor dureza da polpa e menor riqueza em ácido, maior sensibilidade das peras ao manuseamento em armazém e no mercado. Em pós-colheita, frutos com excesso de potássio, isto é, frutos onde se verifica um desequilíbrio nutricional entre o potássio e outros nutrientes como o cálcio, têm menor tempo de conservação devido ao aumento da taxa de respiração, tornando as peras mais sensíveis ao escaldão da epiderme e a incidência de acastanhamentos internos (Soares et al., 2003).

Assim, o potássio tem um efeito importante na qualidade e na vida pós-colheita dos frutos, desde que se encontre em quantidades adequadas, permitindo a redução de riscos de desidratação e perda de peso das peras em atmosfera refrigerada. A influência do potássio na melhoria do poder de conservação e características organoléticas dos frutos tem sido observada e estará relacionada com a ação do nutriente na formação de proteínas e nas relações açúcares/polissacáridos de reserva, como já foi referido.

2.2.4. O cálcio

Cálcio no Solo

Apesar de ser o quinto elemento mais abundante no planeta, representando uma proporção de cerca de 3,6% da crosta terrestre, a concentração de cálcio nos solos é muito variável. O teor em cálcio de um solo depende não só do material originário da rocha mãe, mas também do grau de meteorização e lixiviação a que esse solo tem estado sujeito (Fragata, 1989).

O cálcio no solo apresenta um comportamento semelhante ao do potássio, visto que ambos têm tendência a formar iões positivos (catiões). Pode-se encontrar cálcio no solo nos minerais primários (como por exemplo nos feldspatos) contudo este não é absorvido pelas plantas, assume um papel de reserva, sendo libertado apenas à medida das alterações nesses minerais. Devido aos processos de lavagem, não raras vezes, verifica-se que um solo derivado de rochas ricas em cálcio apresenta pequenas quantidades deste elemento nas camadas superficiais. Tal acontece devido aos compostos formados por este macronutriente, como fosfatos, carbonatos e sulfatos, que em condições de intensa lavagem são facilmente solubilizados e acabam por se perder, desta forma, é fácil perceber que o cálcio na solução do solo tem um reduzido significado. Para além do cálcio existente nos minerais primários e na solução do solo, o cálcio, na forma de ião (Ca^{2+}), existe também adsorvido no complexo de troca, sendo por norma o cátion predominante, devido à força com que é retido pelos colóides ($\text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{K}^+ > \text{Na}^+$). O cálcio adsorvido, ou seja, o cálcio de troca, constitui, sobretudo após a passagem para a solução do solo, a principal fonte de cálcio para as plantas (Santos, 2015). Segundo INIAV (2006), para um correto equilíbrio nutricional na solução do solo, seria desejável que o cálcio ocupasse 60% a 80% das posições de troca.

De acordo com Van Falcón (2003), uma adequada absorção radicular do cálcio não está somente dependente da composição química da solução do solo. Outros fatores tais como má drenagem, acidez excessiva e fenómenos de fitotoxicidade provocada pela presença de outros iões, apresentam efeito negativo na absorção deste elemento. Um exemplo disto, é o que acontece nos solos ácidos, que além de serem maioritariamente deficientes em cálcio e magnésio contêm alumínio e manganês, em níveis muitas vezes tóxicos para a cultura, afetando o desenvolvimento do sistema radicular. Como consequência toda a absorção de nutrientes e água é afetada, com especial destaque para o cálcio que é

unicamente absorvido pelas extremidades das raízes jovens, onde as paredes celulares da endoderme não estão suberizadas. Este tipo de limitações pode ser contrariado pela aplicação de calcário, mais ou menos rico em magnésio, dependendo das necessidades do solo.

Cálcio na Planta

As funções do cálcio nas plantas são bastante complexas. O cálcio, na forma iónica Ca^{2+} , é um macronutriente secundário com um papel fundamental a nível estrutural, fisiológico e bioquímico (Almeida, 2005). Exerce a sua função, principalmente, fora da célula vegetal, apresentando funções estruturais no fortalecimento das paredes celulares e no controlo da permeabilidade e integridade da membrana (Casero, 1995).

O cálcio é parte constituinte da estrutura das pectinas da lamela média na parede celular, sendo a fração da parede celular que mais contribui para a sua estabilidade, mantendo as células unidas, devido à presença de pectato de cálcio (Alarcón & Gonzáles, 2006). Na lamela média o cálcio encontra-se ligado às pectinas, mais concretamente aos grupos carboxilo (de carga negativa) presentes nas moléculas de pectina. É de notar que as pectinas podem estar também ligadas entre si por diferentes ligações covalentes. A ligação do ião Ca^{2+} aos grupos carboxilo de moléculas vizinhas vai reforçar a parede celular dos tecidos das plantas (Taiz et al., 2017).

As ligações com o cálcio formam o pectato de cálcio, que é um composto insolúvel predominante nos frutos imaturos. Este composto dificulta o acesso e a ação de enzimas degradativas ou enzimas pectolíticas, como a poligalacturonase. A menor acessibilidade que esta enzima tem quando a estrutura das moléculas de pectina se encontra reforçada pela presença de Ca^{2+} , vai provocar uma menor degradação dos frutos ao longo da maturação. Por esta razão é prática habitual recorrer-se a aplicações foliares deste ião, uma vez que a ação destas enzimas é inibida pelas altas concentrações de cálcio. Nos tecidos com baixo teor em cálcio, a ação destas enzimas não é convenientemente inibida, aparecendo os sintomas típicos da deficiência de cálcio, como a desintegração e morte celular, a perda de consistência dos frutos por degradação da parede celular, o aumento da suscetibilidade dos tecidos dos frutos a fungos e outros agentes patogénicos e a aceleração dos processos de senescência (Casero, 1995). Segundo Fragata (1989), à medida que as células se desenvolvem, a área de contacto entre elas aumenta

significativamente, pelo que será necessário muito mais cálcio para manter a estabilidade, a fim de se evitar a ação da poligalacturonase. Ainda segundo este autor, para ocorrer a maturação do fruto é necessário um acréscimo da atividade da poligalacturonase, o que por sua vez requer a remoção de cálcio da parede, para que possa ocorrer a dissolução dos pectatos da lamela média e consequente quebra de dureza dos tecidos. Este facto permite relacionar a aplicação de cálcio com o retardar da maturação dos frutos, a sua senescência e abscisão, melhorando a qualidade e a vida pós-colheita dos mesmos.

Também ao nível da estabilidade da membrana celular este nutriente desempenha um papel importante, esta é conferida pelas pontes estabelecidas entre o cálcio e os grupos fosfato e carboxílicos dos fosfolípidos e proteínas que formam a membrana, exercendo desta forma seletividade sobre os iões absorvidos pela célula (Casero, 1995). A competição pelos lugares de fixação nas membranas entre o cálcio e outros catiões, como K^+ , Na^+ , Mg^{2+} e H^+ , pode conduzir à desestabilização da membrana, dado que qualquer um destes catiões pode substituir o cálcio, mas não conferem uma estabilidade semelhante à que existe associada às ligações por pontes de cálcio. Numa situação de ausência de cálcio, outros catiões podem ocupar os locais de ligação, prejudicando a permeabilidade da membrana e a estabilidade da parede (Alarcón & Gonzáles, 2006).

Para além do papel fundamental no crescimento, o cálcio está ainda envolvido na regulação da absorção de azoto, no transporte dos hidratos de carbono e proteínas no interior da planta e na neutralização dos ácidos orgânicos, intervindo na regulação do potencial hidrogeniónico (pH) celular e consequentemente na osmo-regulação celular. É um cofator para algumas enzimas que intervêm na síntese de ATP e de catabolismo fosfolipídico, e assume também um papel importante como mensageiro na regulação metabólica (Taiz et al., 2017). Por último, Gatti (1985) afirma que o cálcio também inibe o funcionamento do sistema produtor de etileno, hormona responsável pelo amadurecimento, senescência e abscisão de flores, folhas e frutos, muito provavelmente pelo envolvimento tanto do cálcio como do etileno em mecanismos de sinalização ao nível das células (Yu et al., 2019).

Absorção do Cálcio

O cálcio é absorvido pelas plantas sobre a forma iónica, catião bivalente, Ca^{2+} (Santos, 2015). Segundo Van Falcón (2003), a quantidade de cálcio absorvido pela planta é

controlada geneticamente ainda que dependa da concentração deste elemento junto da raiz. A primeira etapa para a absorção radicular do cálcio é a aproximação deste às raízes, que ocorre fundamentalmente através dos processos de interceção radicular e fluxo de massa. A troca iónica por contacto resulta do contacto entre as raízes e os nutrientes presentes na solução do solo ou adsorvidos à superfície dos colóides. As raízes, à medida que se desenvolvem, exploram novas camadas de solo, ficando a solução do solo e as superfícies que retêm os iões adsorvidos em contacto com a massa radicular. Sabendo-se que o processo de interceção da solução não é capaz de satisfazer as necessidades de cálcio junto das raízes, Santos (Santos, 2015) refere que o cálcio existente no solo é mobilizado e conduzido até às raízes como resultado da absorção hídrica devida ao processo de transpiração das plantas, designando-se este processo por fluxo de massa. Este é o principal mecanismo de transporte até às raízes de alguns nutrientes, em particular, do cálcio, do magnésio, do azoto e do enxofre e aí são absorvidos ou acumulados à sua superfície.

No tocante ao local das raízes onde o cálcio é absorvido, este elemento apresenta uma particularidade diferenciadora da generalidade dos nutrientes, sendo unicamente absorvido, numa zona restrita da raiz, na sua zona apical, ou seja, nas extremidades das raízes jovens onde ainda não ocorreu a suberização das paredes celulares da endoderme, seguindo a via apoplástica. Contudo, a deslocação de cálcio por esta via para o xilema vai sendo progressivamente bloqueada à medida que a endoderme se suberiza e lenhifica, devido às bandas de Caspary, sendo as mesmas consideradas como uma estrutura impermeável ao cálcio (Clarkson, 1984). Desta forma a absorção de cálcio pelas raízes segue a via apoplástica e a simplástica, identificadas na Figura 2, sendo a via simplástica a via alternativa quando a via apoplástica se encontra bloqueada ao nível das bandas de Caspary.

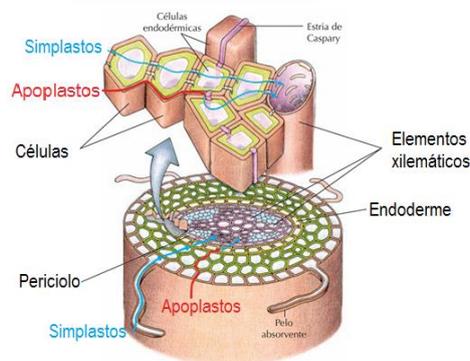


Figura 2- Vias de absorção simplástica (azul) e apoplástica (vermelho)

Ao processo de translocação via apoplasto podemos inferir da importância de uma contínua atividade radicular na otimização da assimilação do cálcio, dado esta estar restringida às raízes jovens não suberizadas. Existe uma inter-relação direta entre a disponibilidade de substâncias elaboradas pela fotossíntese, o crescimento radicular e a absorção de cálcio (Casero, 1995).

Outro dos fatores que interfere na absorção radicular é a concentração salina da solução, principalmente devido a antagonismos com o íon de sódio (Na^+) e ao efeito competitivo das altas concentrações de outros cátions rapidamente absorvidos pela raiz, como o íon potássio (K^+), o íon magnésio (Mg^{2+}), o íon amônio (NH_4^+) e inclusivamente os íons de hidrogénio (H^+) ou os íons de alumínio (Al^{3+}) (Cramer et al., 1989).

Para além da absorção radicular a absorção de cálcio pode acontecer também através da via foliar. A fertilização foliar fundamenta-se na premissa de que as folhas das plantas podem absorver nutrientes (Boaretto et al., 2003). Contudo, a absorção de nutrientes através das folhas não é a via normal. A função da folha não é absorver soluções nutritivas, pelo que, só uma pequena percentagem do fertilizante se incorpora de forma efetiva. As folhas não são órgãos especializados para a absorção de nutrientes como são as raízes, e, como tal, estas têm estruturas anatómicas destinadas a impedir a desidratação da planta que dificultam a movimentação de gases e soluções (A. Santos & Aguilar, 2000).

Com efeito, durante muito tempo considerou-se que os estomas poderiam ter um papel ativo na absorção foliar e contribuir para a entrada de nutrientes ao nível das folhas (Yamada et al., 1964). No entanto, a importância da cutícula como barreira à penetração de nutrientes ao nível foliar nunca foi posta de parte na medida em que a entrada dos nutrientes pelos estomas envolve também a passagem pela superfície cuticular que reveste internamente os mesmos (Wittwer & Teubner, 1959). A importância da cutícula na absorção foliar e os mecanismos que estão na base deste processo quer ao nível das folhas quer dos frutos foi recentemente revisto por Fernández *et al.*, (2013).

Nos frutos, Silva & Rodríguez (1996) mencionam que a penetração do cálcio na cutícula é mais elevada no início e no fim do desenvolvimento do fruto. No início a maior facilidade pode estar relacionada com a cutícula mais fina, à semelhança das folhas mais novas. Durante muitos anos atribuiu-se a capacidade de penetração do cálcio ao nível da epiderme dos frutos à permeabilidade das lenticelas, a qual aumenta com o desenvolvimento do fruto. Estudos sobre a permeabilidade da cutícula a soluções de

cloreto de cálcio indicam que a permeabilidade e o número de fendas na cutícula aumentam à medida que o fruto se desenvolve (Glenn et al., 1990), podendo estas estruturas constituir vias de penetração do cálcio ao nível da cutícula das folhas.

Mais recentemente algumas teorias apontam no sentido da cutícula das folhas apresentar capacidade de translocação dos nutrientes, estando esta capacidade dependente de vários fatores tais como a composição da cutícula, a tensão superficial gerada ao nível da cutícula e o tipo de ião em causa (Fernández et al., 2013).

Translocação do cálcio nas plantas

Uma vez absorvido o cálcio é translocado no xilema, considerada a principal via de translocação deste nutriente nas pomóideas. Esta translocação, tal como na raiz, é um processo essencialmente passivo, com sentido ascendente, impulsionada pela corrente de transpiração. Este movimento implica a troca iónica do cálcio nas paredes dos vasos do xilema e dos feixes vasculares. O cálcio pode deslocar-se como ião livre na solução ou através de permuta iónica, ou seja, o cálcio adsorvido nos centros de carga negativa presentes nas paredes do xilema troca com outros catiões, conduzindo esta troca, neste tipo de coluna de intercâmbio iónico, à deslocação ascendente do cálcio (Fragata, 1989; M. Silva, 1989).

Segundo Van Falcón (2003), a mobilidade do cálcio no xilema pode ser potenciada pela presença de outros catiões bivalentes, que ocupam os locais de troca ao nível dos vasos xilémicos forçando a translocação do cálcio como ião livre ou por quelatização do ião de cálcio. O cálcio que entra no xilema pode aí ser translocado como ião livre (Ca^{2+}) ou como cálcio complexado por ácidos orgânicos, tais como o ácido cítrico e málico, ou ainda ficar retido em locais de troca das paredes xilémicas (Silva, 1989). A retenção do cálcio resulta do facto dos tecidos em crescimento, como na primeira fase de desenvolvimento dos frutos, folhas e ápices dos lançamentos, terem necessidade de cálcio nos centros de troca, uma vez que a divisão celular conduz à formação de novos centros de ligação, que por sua vez requerem o elemento. Por isso, o movimento no apoplasto dá-se no sentido das novas células em formação (Fragata, 1989).

Embora a translocação do cálcio seja realizada através do xilema alguns autores indicam que também o floema pode realizar o transporte de cálcio em longas distâncias. Contudo a concentração de cálcio no floema é muito baixa, da ordem da concentração do cálcio

citoplasmático livre que normalmente varia entre 0,1 e 1 μM (Polito, 1986). Os órgãos da planta, com baixa taxa de transpiração, preferencialmente abastecidos por via floémica, como os frutos na fase de alongamento celular e os órgãos de reserva, apresentam um baixo teor em cálcio quer pela presença em baixas concentrações deste catião no floema quer pelo efeito de diluição provocado pelo aumento de volume das células (Fragata, 1989). O teor em cálcio nas folhas (com grande taxa de transpiração) e jovens lançamentos (com grande atividade meristemática) é proporcionalmente maior que o encontrado nos frutos e sementes. Montull (2003), refere a este respeito, que ensaios realizados com o isótopo radioativo de cálcio, ^{45}Ca , provaram a diminuta concentração deste elemento no floema, facto que justifica a sua praticamente nula mobilidade.

A baixa concentração de cálcio no floema conduz a que os órgãos da planta já totalmente desenvolvidos, como por exemplo frutos ou folhas, onde não se formam novos locais de troca, fiquem mais dependentes do fornecimento de cálcio através do fluxo de transpiração. Se estes órgãos já desenvolvidos não possuem uma alta taxa de transpiração, como é o caso dos frutos, após os primeiros estádios de divisão celular, ficam suscetíveis à carência deste elemento (Silva, 1989). Com efeito, o transporte de cálcio para os frutos, no caso das pomóideas, é mais evidente na primeira fase de desenvolvimento do fruto, fase esta que corresponde a uma intensa multiplicação celular, embora se tenha também observado em maçãs ‘Honeycrisp’ uma translocação para o fruto do cálcio aplicado via foliar entre o vingamento e a colheita (Kalcsits et al., 2017). A capacidade de redistribuição do cálcio na árvore, após depositado num determinado tecido é muito reduzida, ficando grande parte dele imóvel (Alarcón & Gonzáles, 2006). Segundo estes mesmos autores muitas das desordens nutricionais, nomeadamente o “bitter pit”, são devidas não só a uma baixa absorção de cálcio, mas também à limitada capacidade das plantas regularem a distribuição interna deste elemento em relação às necessidades dos órgãos com baixa transpiração. As primeiras necessidades de cálcio, no início de um novo ciclo vegetativo, são supridas através de cálcio translocado das reservas do ano anterior, situadas na raiz e em ramos inferiores.

O grau de fornecimento de cálcio a cada tipo de órgão dependerá, segundo Silva (1989), do equilíbrio entre a taxa de transpiração e os locais em crescimento, fornecendo a planta cálcio aos órgãos com maiores taxas de transpiração geralmente durante o dia e, durante a noite, aos de maior atividade meristemática. A distribuição de cálcio pelos tecidos com reduzidas taxas de transpiração (como os frutos) é favorecida durante a noite, quando a

humidade tende a aumentar e o nível de transpiração foliar a descer. Este processo pode ainda ser reforçado pelo aumento da pressão do fluido xilémico que surge em maior quantidade devido à maior atividade radicular durante a noite. Contudo a capacidade da planta regular a distribuição do cálcio entre os tecidos em crescimento e os órgãos com baixa taxa de transpiração é limitada (Alarcón & Gonzáles, 2006).

Translocação do cálcio para frutos e folhas

A acumulação de cálcio nos frutos é regida por fatores fisiológicos da planta e do fruto, contudo existem fatores culturais e ambientais que influenciam a absorção e a fixação de cálcio. Para se obterem frutos com boa qualidade e principalmente com bom poder de conservação é necessário que estes tenham um nível adequado de cálcio e que este esteja em equilíbrio com outros nutrientes (Casero, 1995). A deficiência de nutrientes como o cálcio poderá estar associada com a ocorrência de distúrbios fisiológicos em peras (Wójcik, 2012) e em maçãs (Amarante et al., 2012). O cálcio tem ao nível das células dos frutos um papel importante na permeabilidade seletiva da membrana celular e conseqüentemente na sua funcionalidade, o que se deve à ligação deste elemento aos fosfolípidos e monogalactosídeos presentes na membrana celular (Miqueloto et al., 2011).

A acumulação de cálcio tanto nas folhas como nos frutos é um processo lento, mas contínuo ao longo de todo o ciclo vegetativo. Nas folhas a concentração de cálcio vai aumentando progressivamente com a idade, sendo este um dos macronutrientes que apresenta os níveis mais elevados, logo a seguir ao potássio. As folhas mais velhas podem apresentar valores de cálcio dez vezes superiores ao das folhas jovens devido à acumulação de formas orgânicas e inorgânicas deste catião. A razão desta diferença resulta quer pela acumulação que vai acontecendo ao longo do tempo quer pelo facto de este ser um catião pouco móvel na planta. Por este motivo quando este catião está em déficit são as partes novas da planta o local onde a deficiência se manifesta primeiro, pelo efeito de diluição que está associado à maior atividade metabólica presente nas folhas em crescimento, flores, frutos e meristemas apicais. Por outro lado, o elevado teor de cálcio nas folhas não é indicador da presença deste elemento nos frutos, podendo estes apresentar sintomas de carência deste elemento (Alarcón & Gonzáles, 2006).

Associados à deficiência de cálcio nas plantas podem ocorrer vários sintomas, desde necroses em regiões meristemáticas jovens e em folhas novas, deformações nas folhas e

também nos frutos devido ao atrofiamento no desenvolvimento dos tecidos (Taiz et al., 2017). Quando o cálcio é transportado em quantidades superiores às necessárias para locais com maior taxa de transpiração, como as folhas, é acumulado, sobretudo nos vacúolos na forma solúvel, sendo neutralizado por iões orgânicos (malato) ou inorgânicos (nitratos) ou precipitado na forma de oxalato e/ou fosfato de cálcio, sendo a taxa de redistribuição do cálcio depositado muito reduzida, daí que, o nível foliar de cálcio não é, frequentemente, um método eficaz para estimar o teor do mesmo nos frutos (Alarcón & Gonzáles, 2006).

Apesar de vários autores afirmarem não existir uma estreita correlação entre o teor de cálcio nas folhas e nos frutos, segundo Faust & Shear (1968), quando os teores foliares de cálcio em inícios a meados do verão forem de 1,7% a 1,8% na matéria seca, significa que a entrada de cálcio no fruto foi contínua, sendo muito provável que estes tenham acumulado teores suficientes deste elemento. A nível do fruto distinguem-se normalmente duas fases na acumulação de cálcio identificadas abaixo na Figura 3 (Gautier, 1982).

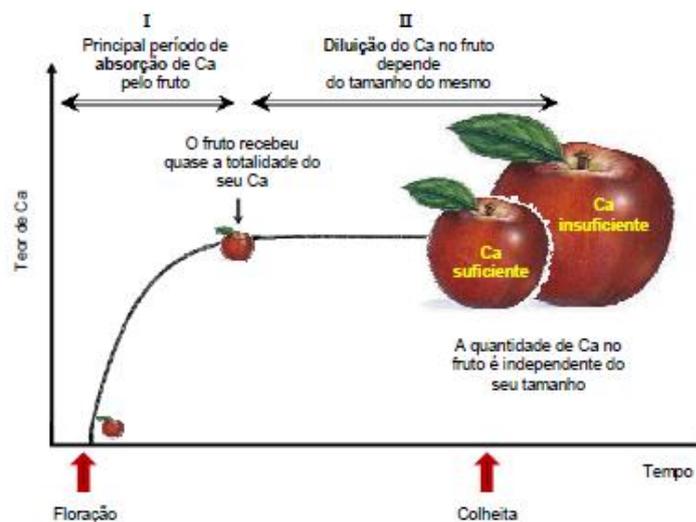


Figura 3- Mobilização de cálcio para o fruto desde o vingamento à colheita em maçã (Gautier, 1982)

A fase I que ocorre durante as primeiras 4 a 6 semanas após a plena floração, corresponde à fase de multiplicação celular na qual a absorção de cálcio pelo fruto é rápida e contínua. Neste período é acumulado cerca de 90% da quantidade de cálcio do fruto (Faust & Shear, 1968), embora em trabalhos desenvolvidos por Casero *et al.*, (1999) o valor determinado

para o cálcio acumulado no fruto foi aproximadamente 70%. A fase de multiplicação celular é uma fase em que a acumulação de cálcio no fruto é alta, pois este tem uma relação superfície/volume elevada, uma cutícula permeável, altas taxas de transpiração e fotossintéticas, grandes necessidades de água e relativamente poucas de fotoassimilados, sendo, quase exclusivamente, abastecidos via xilémica, com um bom fluxo de cálcio para os frutos (Casero, 1995). O mesmo autor, refere que foi nesta fase, mais propriamente durante o mês de maio, que se registaram as maiores taxas de acumulação de cálcio, tendo obtido incrementos diários de 100 µg Ca/fruto. Esta fase de multiplicação celular dos frutos é de primordial importância na assimilação de cálcio, devendo ser dada atenção a todos os fatores que possam influenciar negativamente ou positivamente esta acumulação, como o crescimento vegetativo, teor de humidade no solo e a presença de outros elementos, nomeadamente, o K, Mg, NH₄⁺ e B. No entanto, posteriormente, a concentração de cálcio do fruto diminui devido ao efeito de diluição atingindo o valor mínimo 100 a 110 dias após a plena floração.

A fase II corresponde ao período do crescimento celular, desde o final da fase I até à colheita. Neste período de maior crescimento do fruto, a relação superfície/volume do fruto vai diminuindo e a sua epiderme torna-se menos permeável. Os frutos vão transpirando e fotossintetizando menos, passando a receber os fotoassimilados principalmente das folhas através do floema, o qual, tal como referido anteriormente, veicula uma baixa concentração de cálcio. Este facto, leva a que chegue uma escassa quantidade de cálcio aos frutos, que aliado a um crescimento mais rápido dos mesmos, conduz à diminuição da concentração devido à diluição do cálcio anteriormente acumulado. Nesta fase foram registados níveis baixos de absorção, praticamente durante todo o verão, apesar de um ligeiro incremento no final do desenvolvimento dos frutos (Casero et al., 1999).

Em síntese, podemos referir que a acumulação mais significativa de cálcio nos frutos ocorre nas fases iniciais do seu desenvolvimento, seguindo acréscimos deste nutriente pouco significativos, o que conduz essencialmente a uma diluição do cálcio com o aumento de tamanho do fruto. Assim, de um modo geral, frutos de maior calibre apresentam uma maior diluição do cálcio e por consequência uma menor concentração deste elemento. Esta situação será agravada principalmente se o crescimento dos frutos resultar de incrementos ao nível do volume das células em detrimento da multiplicação celular. Pelo que a contribuição das fases I e II para o calibre final terá uma importância

fundamental que limitará o teor de cálcio dos frutos e conseqüentemente a sua capacidade de conservação. Qualquer fator que altere ou interfira com a duração destas fases poderá ter uma influência decisiva no teor final de cálcio no fruto.

Aos fatores que interferem com a migração de cálcio para os frutos, acresce ainda a existência de gradientes de concentração na distribuição deste elemento na polpa dos frutos. No início do desenvolvimento do fruto das pomóideas, o cálcio encontra-se igualmente distribuído por todo o fruto, mas ao longo do seu desenvolvimento vão-se formando gradientes de concentração transversais e longitudinais. Nos gradientes de concentração transversais, verificou-se que o teor em cálcio vai aumentando da polpa para a epiderme, onde são mais elevados (Faust & Shear, 1968). Contudo, Aznar (2001) refere que para além do gradiente crescente da polpa para a epiderme, existe um teor igualmente alto junto do endocarpo. Sutton *et al.*, (2014) referem que junto à epiderme e endocarpo o teor em cálcio é cerca de duas a quatro vezes superior ao da polpa.

Para a maçã tal como para a pera, ambos pomos, Wills *et al.*, (1998) referem um teor de cálcio ótimo de 2,5 a 4 mg Ca/100 g de peso fresco, ressaltando que estas concentrações variam com a cultivar e as condições do ano. Por sua vez, Turner *et al.*, (1977) referem que a rejeição de todos os frutos com menos de 4 mg de Ca/100g de peso fresco reduz em aproximadamente 20% a incidência de desordens fisiológicas, como por exemplo o “bitter pit”.

2.2.5. Antagonismo K/Ca e as relações entre cálcio, potássio e outros nutrientes

O ião potássio é um antagonista do ião cálcio, isto é, a presença de potássio no meio dificulta a absorção de cálcio, pelo que o conteúdo de cálcio dos tecidos vegetais está correlacionado negativamente com o teor de potássio tanto na folha como no fruto. No complexo solo, a absorção de potássio em excesso leva a que o cálcio e o magnésio assimiláveis permaneçam no complexo solo, permitindo a sua lavagem pela movimentação da água no solo, quer pela água da chuva quer pela rega. O potássio é um nutriente antagonista ao cálcio, devido a uma competição pelos locais de ligação na membrana plasmática e pelo facto de se movimentar muito mais rapidamente dentro das plantas (Prado, 2008). No entanto este elemento não consegue desempenhar a mesma função de manutenção da integridade das membranas que o cálcio desempenha, o que

pode provocar o colapso de membranas e, conseqüentemente, a morte da célula, da mesma forma que a influência do potássio ao nível da estabilidade das paredes celulares é baixa. Acresce ainda que o potássio, sendo um elemento muito móvel no interior da planta, após absorção chega relativamente rápido aos frutos, ao contrário do cálcio que é um elemento muito pouco móvel (James & Jobling, 2009).

A concentração de cálcio na solução do solo é usualmente cerca de 10 vezes superior à do potássio, enquanto que a sua taxa de absorção é geralmente inferior (Mengel et al., 2001). As concentrações de cálcio adequadas a uma fácil absorção radicular, situam-se entre 0,1 a 1 mM à superfície das raízes, desde que não existam antagonismos iónicos devidos a desequilíbrios na solução do solo (Loneragan et al., 1968). Estes desequilíbrios são muitas das vezes provocados por fertilizações regulares com fertilizantes ricos em potássio e que, ao longo do tempo, provocam um enriquecimento do solo neste nutriente, com o conseqüente efeito antagónico sobre a absorção de cálcio e de magnésio pelas raízes. O antagonismo potássio-cálcio é particularmente notório quando, durante o crescimento do fruto, o valor desta relação entre ambos os nutrientes no extrato aquoso do solo é superior a 10 (Jakobsen, 1993).

Assim, o uso de sistemas de fertirrega, atualmente generalizado na grande maioria dos pomares de pera 'Rocha' na região do Oeste, e as aplicações frequentes de potássio pelos efeitos benéficos que este elemento induz na qualidade dos frutos, induzem um aumento na relação K/Ca, acelerando a maturação dos frutos e diminuindo a capacidade de conservação dos mesmos (Soares et al., 2003).

Para além do teor de cálcio nos frutos é também aconselhável analisar as suas relações com outros nutrientes, principalmente K, Mg, N e B. A relação K/Ca tem-se vindo a verificar um bom indicador para a predisposição da ocorrência de desordens fisiológicas como a do acastanhamento interno da pera 'Rocha'. Martin (2015) verificou que peras com esta desordem na polpa apresentaram menores teores de Ca, bem como teores mais elevados de K e maiores relações K/Ca, Mg/Ca e N/Ca, comparativamente a frutos sem incidência do distúrbio. O mesmo autor concluiu que peras 'Rocha' que apresentam menores concentrações de Ca, bem como maiores teores de K e maior relação K/Ca na polpa, têm maior predisposição ao acastanhamento da polpa, indicando como atributo mineral mais adequado para discriminar frutos sem e com escurecimento de polpa, a relação entre o potássio e o cálcio - K/Ca. Sobre esta relação, Tomala (1997) refere que a

relação K/Ca é o um bom indicador para prever a ocorrência de fisiopatias, não aconselhando o armazenamento dos frutos com uma relação maior que 36. Os baixos valores da razão K/Ca são favoráveis a uma boa conservação, pois correspondem a altos teores de cálcio. Werth (1995) refere que a relação K/Ca deve ser inferior a 30. Outros autores aconselham valores de K/Ca inferiores a 26.

Também o magnésio, ao ter uma atividade química similar à do cálcio, pode competir com ele, podendo afetar a sua absorção e translocação. Pratella (1996) verificou que a incidência de “bitter pit” era substancialmente menor quando a relação Mg/Ca passava de 1,2 para 1. Para garantir uma boa conservação a relação (K+Mg)/Ca não deve ser superior a 26,8 (Graell et al., 1989). Os mesmos referem que os níveis de cálcio nas frutos e as relações K/Ca e (K+Mg)/Ca, podem ser utilizadas como uns bons indicadores de qualidade, permitindo diferenciar qual o destino mais adequado a dar aos diferentes lotes de fruta (expedição imediata ou conservação por um período mais ou menos longo).

O azoto, tal como o K e Mg, também é preferencialmente transportado via floema, exercendo, contudo, influência no movimento e distribuição do cálcio. As aplicações, na forma amoniacal, conduzem a uma redução da absorção e translocação do cálcio, devido principalmente ao efeito competitivo do NH_4^+ , tendo assim um efeito direto na incidência do “bitter pit” (Fallahi et al., 1997). Mas, se a aplicação for efectuada na forma de nitrato, a absorção do cálcio aumenta induzindo, no entanto, a uma maior produção de ácidos orgânicos do que a fertilização com amónio. Em qualquer dos casos, elevados teores de azoto não são recomendados, pois favorecem o rápido crescimento vegetativo (ramos e folhas) em detrimento dos frutos e a concentração em cálcio nos frutos pode ser afetada por um excessivo vigor da árvore que origina uma forte competição entre a vegetação e o fruto, nada benéfica para o teor em cálcio do fruto (Alarcón & Gonzáles, 2006).

A absorção do cálcio também está sujeita a antagonismos e a sinergismos, podendo níveis adequados de micronutrientes como boro (B), zinco (Zn) e cobre (Cu) exercer uma ação positiva sobre o transporte do cálcio até aos frutos. Uma carência de boro induz ao bloqueio de outros elementos, principalmente do cálcio. Wojcik & Wojcik (2003) observaram, em pereiras da cultivar ‘Conference’, que a aplicação de boro à copa em pré-floração conduziu, nas folhas e frutos, a um aumento da concentração de cálcio, pelo que se conclui que este elemento intervém na absorção de água e cálcio, nas fruteiras. Por sua

vez Alarcón & Gonzáles (2006) referem que uma inadequada provisão de boro, quer seja por excesso ou deficiência, em relação ao cálcio, condicionam a assimilação deste.

2.3. Pós-colheita e armazenamento de pera ‘Rocha’

2.3.1. Conservação pós-colheita da pera ‘Rocha’

Segundo Domingos *et al.*, (2005), o manuseamento pós-colheita dos produtos agrícolas rege-se por alguns objetivos transversais a todos os produtos. De forma a evitar perdas nos sistemas de manuseamento pós-colheita deve-se:

- Evitar danos mecânicos;
- Minimizar as perdas de água;
- Minimizar a atividade metabólica dos produtos;
- Evitar contaminações e minimizar a atividade microbiana;
- Garantir a segurança alimentar.

Em relação aos danos mecânicos, segundo Wills *et al.*, (1998) as peras são consideradas frutos resistentes aos danos mecânicos. No entanto é comumente aceite que um sistema bem dimensionado que previna impactos desnecessários acrescenta qualidade ao produto final, evitando feridas nos frutos pois estas desvalorizam o produto e funcionam como porta de entrada para microrganismos indesejáveis.

No que toca às perdas de água, e ainda segundo Domingos *et al.*,(2005) , a água de um produto hortofrutícola evapora-se a uma taxa que é igual ao produto do défice de pressão de vapor pelo coeficiente de transpiração. Segundo a seguinte equação:

$$J_A = K \times DPV$$

Equação 1 - Fórmula para determinação da perda de água (Domingos et al., 2005)

Em que:

J_A – Taxa de perda de água (% .dia⁻¹,g.h⁻¹,kg.mês⁻¹)

K – Coeficiente de transpiração

DPV – Défice de pressão de vapor (kPa ou outra unidade de pressão)

Quando comparados a produtos hortícolas, como folhas comestíveis, os frutos de pomóideas não possuem uma predisposição para a perda de água tão elevada, isto é, possuem um coeficiente de transpiração mais baixo que a grande maioria das frutas e hortaliças. Thompson *et al* (2002)., estabeleceram valores de coeficientes de transpiração para várias culturas, apresentados na Tabela 2.

PRODUTO	COEFICIENTE DE TRANSPIRAÇÃO (mg.kg ⁻¹ .s ⁻¹ .MPa ⁻¹)	
	Valor médio	Intervalo de valores
Maçã	42	16-100
Batata	44	2-171
Cebola	60	13-123
Pêra	69	10-144
Toranja	81	29-167
Laranja	117	25-227
Uva	123	21-254
Ameixa	136	110-221
Tomate	140	71-365
Limão	186	139-229
Couve repolho	223	40-667
Pêssego	572	142-2089
Alho francês	790	530-1042
Cenoura	1207	106-3250
Aipo	1760	104-3313
Couve-de-bruxelas	6150	3250-9770
Alface	7400	680-8750

Tabela 2- Coeficientes de transpiração de diversos frutos e produtos hortícolas (Thompson *et al.*, 2002)

No entanto, apesar de ser uma característica de cada cultura, existem vários fatores como a humidade relativa do ar e a temperatura, entre outros, que afetam a taxa de transpiração de um produto hortofrutícola. Verifica-se que as baixas temperaturas e os níveis elevados de humidade presentes nas câmaras de armazenamento de pera ‘Rocha’ previnem em certa medida as perdas de água, uma vez que diminuem o défice de pressão de vapor entre o produto e o ar.

Sendo os frutos órgãos vivos é um facto que depois de serem armazenados em câmaras não deixam de possuir atividade metabólica. Um dos processos que continua a ocorrer é a respiração, um processo que fornece energia e compostos de carbono para o metabolismo celular. A taxa respiratória não é igual para todos os produtos e está diretamente associada à longevidade pós-colheita dos produtos. De uma maneira geral produtos com elevadas taxas de respiração dão origem a produtos mais perecíveis. De acordo com Kader (2002), a pera e a maçã são, dentro dos produtos que se inserem na categoria de fruta, aqueles que possuem uma taxa respiratória mais baixa (8 mg CO₂/kg/h), como é visível na Tabela 3.

CLASSE	RESPIRAÇÃO A 5 °C (mg CO ₂ .kg ⁻¹ .h ⁻¹)	PRODUTOS
Muito baixa	<5	Noz, avelã, castanha, amêndoas, tâmara
Baixa	5 - 10	Maçã, citrinos, uva, kiwi, cebola, batata
Moderada	10 - 20	Damasco, banana, cereja, pêssego, nectarina, pêra, ameixa, figo, couve, cenoura, alface, pimento, tomate
Alta	20 - 40	Morango, framboesa, amora, couve-flor, abacate
Muito alta	40 - 60	Alcachofra, feijão-verde, couve-de-bruxelas, flores cortadas
Extremamente alta	>60	Espargo, brócolo, cogumelos, ervilha fresca, espinafre, milho-doce

Tabela 3- Taxa de respiração para diversos frutos e produtos hortícolas (Kader, 2002)

Para além desta classificação é de notar que a taxa de respiração é afetada por fatores internos, como a variedade ou o grau de maturação dos frutos. Adicionalmente, para além dos fatores internos existem uma série de fatores ambientais que influem na respiração, assim como também os fatores culturais pré-colheita a que os frutos foram expostos. A temperatura é um dos fatores ambientais mais relevantes, sendo que a taxa de respiração tem tendência de aumentar à medida que a temperatura aumenta. Em produtos sensíveis a danos pelo frio verifica-se também que quando é ultrapassada a temperatura crítica existe um aumento na taxa de respiração. Outro dos fatores está relacionado com a composição da atmosfera de armazenamento, sendo do conhecimento geral que a redução da concentração em O₂ reduz a taxa de respiração até que se atinge uma concentração crítica, abaixo da qual as células entram em anaerobiose. Abaixo dessa concentração, a taxa respiratória, medida através da produção de dióxido de carbono (CO₂), aumenta com a redução da concentração de O₂. O aumento da concentração de CO₂ inibe as reações de descarboxilação que ocorrem no processo respiratório o que leva à acumulação de etanol e acetaldeído. A taxa respiratória diminui com o aumento da concentração de CO₂ (Calbo et al., 2007).

Associado ao fenómeno da respiração importa distinguir os frutos designados por climatéricos dos não climatéricos, distinguindo também os seus padrões respiratórios face à presença de etileno. No caso dos frutos ditos climatéricos a taxa respiratória decresce ao longo do período de crescimento e desenvolvimento, no entanto, na fase da maturação fisiológica verifica-se um aumento da mesma, apresentando um máximo, o pico climatérico. Este pico da taxa respiratória ocorre como resposta ao aumento que se verifica na produção de etileno. Nos frutos não climatéricos não se observa este

fenómeno, sendo que a respiração e a produção de etileno diminuem durante a maturação (Lara, 2013).

O etileno, uma hormona vegetal, fisiologicamente ativa em concentrações muito baixas, inferiores a 0,1 partes por milhão (ppm), é naturalmente produzido por todos os tecidos vegetais e por diversos microrganismos, e desempenha importantes funções hormonais na biologia vegetal, regulando diversos processos relacionados com o desenvolvimento e respostas a stresses bióticos e abióticos. As funções do etileno dependem da espécie, do tipo de órgão e tecido e do estágio de desenvolvimento. No contexto da pós-colheita de produtos hortofrutícolas, os efeitos do etileno podem ser benéficos ou indesejáveis. Como anteriormente referido, nos frutos climatéricos, como é o caso da maçã e da pera, o aumento da síntese de etileno está associado ao aumento da taxa respiratória, como se ilustra na Figura 4.

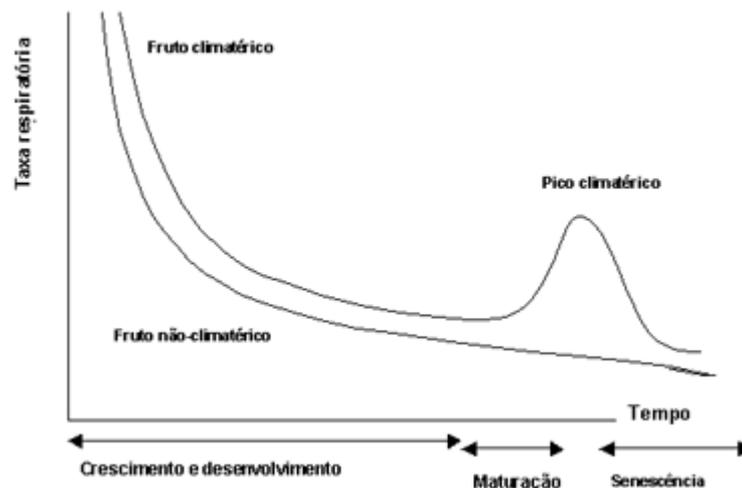


Figura 4- Padrão respiratório de frutos climatéricos e não climatéricos

(Lara, 2013)

A presença de etileno em zonas de manuseamento de produtos hortofrutícolas provoca normalmente uma redução da vida pós-colheita de todos os produtos. O efeito mais dramático do etileno traduz-se no acelerar do amadurecimento e da senescência, aumentando a velocidade de degradação da clorofila e o amolecimento da polpa dos frutos, (Pinto et al., 2000).

Esta hormona aumenta a suscetibilidade dos frutos a fungos, e provoca ou agrava o desenvolvimento de acidentes fisiológicos em folhas e frutos, como por exemplo o “russet spotting” em alface, a acumulação de isocumarinas de sabor amargo em cenoura e o aumento da suscetibilidade ao “bitter pit” em maçã, entre outros. Provoca ainda a abscisão de folhas, flores, frutos. Comercialmente pode ser usado para acelerar e uniformizar o

amadurecimento de frutos climatéricos, para uniformizar a cor em citrinos (desverdeamento) e também permitindo antecipar a colheita e facilitando a colheita mecânica (abscisão). Uma vez em contacto com os tecidos o etileno liga-se a uma proteína da membrana plasmática (que funciona como recetor). Este complexo etileno-recetor altera a atividade de uma cadeia de transdução de sinal, no citoplasma, que leva à transcrição de determinados genes e à consequente síntese ou ativação de enzimas que causam as respostas fisiológicas, (Domingos et al., 2005).

Nas centrais de armazenamento existem uma série de formas de remoção do etileno que passam desde a ventilação, a oxidação catalítica, a adsorção, entre outras. Existem ainda inibidores da síntese do etileno, eficazes em situações em que a biossíntese é a única fonte de etileno. A inibição da síntese, no entanto, não previne a resposta dos tecidos ao etileno exógeno, presente na atmosfera. Uma outra estratégia de silenciamento consiste em inibir a ação do etileno, utilizando produtos que se ligam ao recetor do etileno e impedem a sua ação. Os inibidores da ação do etileno podem ainda ser reversíveis ou irreversíveis, consoante o tipo de ligação ao recetor. O 1-metilciclopropeno (1-MCP), eficaz em concentrações reduzidas, encontra-se atualmente homologado para alguns produtos como a maçã e a pera (Trincherro et al., 2004).

O CO₂ compete também com o etileno ao nível do recetor. Não é um inibidor muito forte, mas as enormes diferenças entre a concentração de CO₂ e de etileno que se podem obter em condições de atmosfera controlada (AC) contribuem para um efeito inibidor da ação do etileno. Uma outra forma de minimizar ou bloquear a ação do etileno é reduzir a atividade metabólica, recorrendo à redução da temperatura ou a vapores de etanol, (Brackmann et al., 2012)

Assim, a atmosfera controlada ou modificada atua sobre a síntese (inibição da ACC oxidase) e sobre a ação (bloqueio do recetor) do etileno através da ação combinada da concentração de O₂ reduzida e da concentração de CO₂ elevada (Weber et al., 2013).

As frutas e hortaliças assumem dentro dos produtos agrícolas um papel de destaque no que toca à perecibilidade e à importância da aparência de fresca. As características morfológicas, anatómicas, fisiológicas e a sua composição química, tornam a maior parte das frutas e hortaliças produtos muito perecíveis. Muitos produtos deste grupo são frequentemente consumidos crus, pelo que a segurança alimentar tem de ser assegurada

através de medidas preventivas, durante a produção e subsequente manuseamento pós-colheita. Ao contrário de alguns produtos agrícolas que são de fácil transporte e armazenamento, os produtos hortofrutícolas necessitam de um grande cuidado no período pós-colheita de forma a manterem os atributos de qualidade que o consumidor deseja (Domingos et al., 2005). É neste quadro que se insere a pera 'Rocha', um fruto colhido no verão e que é conservado durante longos períodos de tempo de forma a estar disponível para o mercado durante praticamente todo o ano.

O armazenamento a que a pera 'Rocha' é sujeita é um armazenamento prolongado. Desta forma, e para que se consiga manter as características do fruto, é essencial assegurar um controlo eficaz das condições das câmaras de armazenamento. Um armazenamento eficaz permitirá ao produtor/distribuidor equilibrar os volumes colhidos e os vendidos, prolongar o período de comercialização e regularizar a oferta tendo em conta a procura, atingindo preços mais competitivos. Não obstante, para conseguir um armazenamento bem-sucedido, o produto a conservar deve dispor de uma qualidade inicial que lhe permita a vida prevista em armazenamento e ainda uma vida de prateleira que cubra o tempo de distribuição até ao consumidor final. Considerando que os frutos são órgãos vivos existem inúmeros fatores envolvidos na sua conservação e vida pós-colheita como a qualidade inicial dos mesmos, ou seja, a qualidade no momento da colheita, a temperatura e a humidade relativa a que serão sujeitos e a composição da atmosfera da câmara de armazenamento.

Como já foi referido anteriormente a classificação da qualidade das pomóideas é feita com base em parâmetros como a dureza, o teor em sólidos solúveis (SST), a acidez titulável (AT) e a cor. Na região Oeste é comum existirem centrais fruteiras que armazenam a produção de vários produtores. Nestes casos, para que se consiga um armazenamento mais eficaz, o controlo de qualidade por norma é feito a todos os lotes, de forma a armazenar na mesma câmara lotes com frutos que tenham características de qualidade semelhantes, evitando especialmente juntar lotes com fruta em diferentes estados de maturação.

A Atmosfera Controlada (AC) tem sido amplamente utilizada no armazenamento de frutos climatéricos, devido à sua alta eficiência em aumentar o período de armazenamento por meio do controlo das concentrações de O₂ e CO₂ no interior da câmara. Como foi

referido anteriormente, as altas pressões parciais de CO₂ aliadas a baixas pressões parciais de O₂ no ambiente de conservação não só reduzem a atividade respiratória como também a síntese e ação de etileno, proporcionando frutos de qualidade após longos períodos de armazenamento (Weber et al., 2013). Porém, o armazenamento sob condições impróprias de AC pode ocasionar uma série de desordens, desde a perda de qualidade sensorial até ao aumento da incidência de distúrbios fisiológicos (Drake et al., 2007).

Saquet *et al.*,(2006) verificaram que condições de altas pressões parciais de CO₂ e baixas pressões parciais de O₂, por períodos muito longos de armazenamento, tendem a favorecer a incidência de escurecimento da polpa em peras europeias, levando a consideráveis perdas económicas.

As condições para o armazenamento de pera diferem de acordo com as variedades. Deuchande *et al.*,(2012) referem que, para peras ‘Rocha’ produzidas em Portugal, condições de AC em que se utilizam 3,0 kPa de O₂ + 0,5 kPa de CO₂ são consideradas condições adequadas para o armazenamento. Já Cavaco *et al.*,(2009) consideram os valores de 2,0 kPa de O₂ + 0,5 kPa de CO₂ os mais favoráveis à conservação. No entanto, além da variação existente entre as cultivares, outros fatores podem interferir na capacidade de conservação e nas condições ideais para o armazenamento dos frutos, principalmente fatores que influenciem a predisposição dos frutos à ocorrência de acastanhamento da polpa durante o armazenamento. Estes fatores podem ser associados tanto a uma fase de pré-colheita como após a colheita, especificando-se os que assumem um maior destaque nos tópicos 2.3.3 e 2.3.4 do presente documento.

2.3.2. Principais problemas na qualidade durante a conservação da pera ‘Rocha’

De uma forma geral, atualmente podem-se identificar três principais problemas que interferem na qualidade dos frutos durante a conservação da pera ‘Rocha’ de uma forma mais recorrente e que originam o maior volume de perdas: o escaldão superficial, a contaminação fúngica (podridões) e os acastanhamentos internos. Apesar de todos eles assumirem um papel importante na pós-colheita da pera ‘Rocha’, neste estudo o principal destaque foi dado à desordem fisiológica do acastanhamento interno.

Acastanhamento interno

As desordens de acastanhamento da polpa são as principais causas da ocorrência de perdas pós-colheita em peras submetidas ao armazenamento prolongado sob condições de AC (Deuchande et al., 2012). Os frutos afetados por esse distúrbio fisiológico normalmente apresentam um aspeto externo normal, sendo que os sintomas são verificados apenas no momento do consumo. O acastanhamento interno é caracterizado por manchas húmidas e escurecidas na polpa, as quais podem estar distribuídas apenas na parte central do fruto ou mesmo de forma assimétrica, podendo tanto atingir apenas pequenas porções da polpa como atingi-la de forma generalizada, como é perceptível nas Figuras 5 e 6. Em determinados casos, pode-se verificar sintomas como a presença de manchas secas ou mesmo a formação de cavidades no interior dos frutos (Franck et al., 2007). De acordo com Streif *et al.*,(2003), em casos mais severos, é possível visualizar mesmo externamente a presença do distúrbio.

O acastanhamento da polpa ocorre devido à oxidação enzimática de compostos fenólicos pela polifenoloxidase (PPO) em *o*-quinonas, que são compostos muito reativos e que formam polímeros de coloração castanha denominados melaninas (Yan et al., 2013). Uma vez que a enzima e o seu substrato estão localizados em diferentes compartimentos na célula (Franck et al., 2007), pode-se concluir que o acastanhamento enzimático é uma causa direta da perda de seletividade das membranas e do processo de degradação celular. Alguns autores já diferenciaram algumas desordens de escurecimento da polpa. De acordo com Larrigaudière *et al.*,(2004), “core breakdown” é uma desordem de escurecimento da polpa em peras relacionada principalmente ao colapso celular ocasionado pela acumulação de etanol nas células da polpa, enquanto em frutos com incidência de “brown heart” os processos oxidativos são considerados as causas mais importantes do distúrbio. Ainda de acordo com os mesmos autores, o “core breakdown” está mais associado à senescência dos frutos em relação ao “brown heart”, sendo que o armazenamento sob altas pressões parciais de CO₂ apenas acelera a expressão dos sintomas do distúrbio. Contudo, de acordo com Franck *et al.*, (2007), ainda que os eventos iniciais envolvidos na ocorrência dessas desordens de escurecimento de polpa possam ser distintos, a limitação na difusão de gases na polpa e, conseqüentemente, o desequilíbrio entre os processos oxidativos e redutores nas células, constituem a principal causa do escurecimento em ambos os casos.

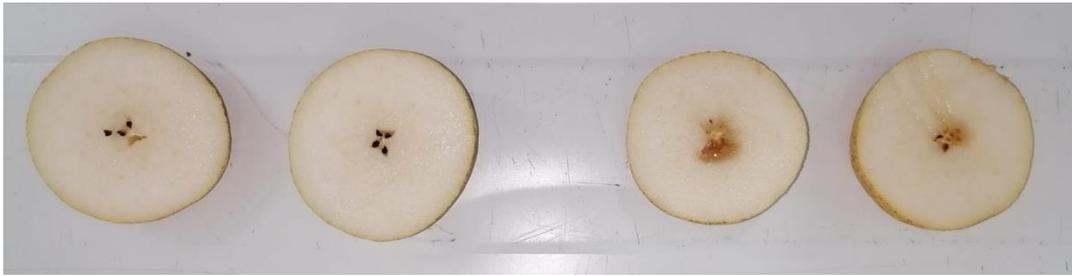


Figura 5- Cortes transversais de frutos com sintomas de acastanhamento interno



Figura 6- Cortes longitudinais de frutos com diferentes graus de severidade de acastanhamento interno

2.3.3. A influência dos fatores pré-colheita na ocorrência da desordem fisiológica do acastanhamento interno

A suscetibilidade das peras ao acastanhamento interno da polpa pode relacionar-se com diversos fatores pré-colheita, no entanto, alguns destes podem até apresentar variação dentro de uma mesma área, tornando determinados frutos mais suscetíveis à ocorrência do distúrbio em relação a outros, pelo que é difícil definir claramente fatores que permitam a distinção entre frutos com e sem tendência à ocorrência destas anomalias por si só (Yan et al., 2013).

Fatores como a cultivar, as características inerentes à planta como o stress a que estão sujeitas, o vigor, a fertilidade do solo, as práticas culturais, as condições climáticas e até mesmo a posição dos frutos na árvore apresentam uma relação com a predisposição dos frutos à ocorrência desta desordem fisiológica. Assim estes vários fatores, que compreendem vários domínios, desde as características edafo-climáticas, às características do pomar e às da própria árvore quando combinados entre si podem gerar frutos com uma maior ou menor suscetibilidade (Franck et al., 2007).

No caso da pera 'Rocha' as baixas temperaturas de verão durante o desenvolvimento do fruto associada a valores de humidade relativa alta são condições que aumentam a sensibilidade dos frutos ao aparecimento do acastanhamento interno (Zerbini, 2002). Não obstante, também a ocorrência de temperaturas anormais na fase da divisão celular do fruto pode afetar a sua predisposição para esta anomalia visto que estas condições vão levar a um aumento de células no fruto e posterior redução dos espaços intercelulares. A diminuição dos espaços intercelulares na polpa dos frutos, irá provocar uma maior dificuldade na difusão dos gases durante a conservação em câmara frigorífica, especialmente do CO₂, o que pode levar ao surgimento de acastanhamentos internos (Larrigaudière et al., 2017).

Quanto às condições do pomar e das árvores verifica-se que, pomares onde a fertilização seja adequada a uma boa nutrição das árvores e onde não se verifiquem desequilíbrios entre nutrientes produzem frutos com menor sensibilidade ao acastanhamento interno. Pelo contrário, pomares com fraco vigor, induzido por períodos de stress, quer hídrico, quer nutricional ou associado à presença de pragas e doenças ou pomares com pouca produção têm uma maior tendência para o desenvolvimento destas anomalias (Bonora et al., 2021; Larrigaudière et al., 2017).

Também a posição dos frutos nas árvores, que influi tanto na composição mineral como na exposição solar, acaba por levar a diferenças significativas entre frutos oriundos da mesma árvore, que podem levar a diferentes níveis de suscetibilidade (Ferguson et al., 1999).

2.3.4. A influência dos fatores pós-colheita na ocorrência da desordem fisiológica do acastanhamento interno

No que toca à desordem fisiológica do acastanhamento interno, pode-se afirmar que os fatores pós-colheita que mais influenciam este distúrbio estão associados ao grau de maturação à colheita, à temperatura do ar, às pressões parciais de CO₂ e O₂ a que os frutos são sujeitos quando se encontram no interior da câmara e à duração do período de armazenamento. De forma geral verifica-se que frutos que são armazenados com um grau de maturação mais avançado, sob pressões parciais mais baixas de O₂ e mais elevadas de CO₂, e submetidos a temperaturas mais altas por longos períodos de tempo, são mais suscetíveis ao escurecimento de polpa (Franck et al., 2007).

Como já foi referido, tendo em conta que os frutos são órgãos vivos, existem processos metabólicos que continuam a ocorrer durante a conservação. A respiração dos frutos, processo também já referido anteriormente, é um desses processos que continua a verificar-se. Esta é condicionada pela atmosfera em que os frutos se encontram. A utilização de pressões parciais excessivamente reduzidas de O₂ na câmara do armazenamento, bem como o uso de pressões parciais muito elevadas de CO₂, podem limitar a difusão de oxigênio para as células do interior da polpa dos frutos, induzindo a respiração anaeróbica. Assim, compostos tóxicos relacionados ao metabolismo fermentativo são produzidos, como por exemplo o etanol e acetaldeído, os quais, por sua vez, podem induzir a degradação e morte celular. Não obstante, verifica-se ainda que sob condições de hipoxia, as células podem ser incapazes de produzir a energia necessária para a regeneração de membranas, bem como para a manutenção do sistema antioxidante, acumulando espécies reativas de oxigênio, que irão levar a um stress oxidativo capaz de degradar as células (Deuchande et al., 2012).

2.4. A espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) para avaliação do teor de nutrientes em tecidos vegetais

A necessidade de segregação de lotes com maior potencial de conservação de outros com menor capacidade de conservação continua a ser um desafio atual nas centrais fruteiras. Sendo do conhecimento geral que os fatores pré-colheita podem influenciar a capacidade de conservação dos frutos é necessário conseguir distinguir quais os lotes que possuem dentro desses fatores as características mais propícias a um armazenamento longo. Esse armazenamento deverá permitir um fornecimento contínuo às cadeias de distribuição sem perda de qualidade. Como já foi anteriormente referido, um destes principais fatores, que pode ser usado para a classificação dos lotes de fruta é a composição mineral dos frutos. Desta forma surge, aliada à preocupação de diagnosticar potenciais deficiências nutricionais, que possam levar a desordens fisiológicas, a necessidade de utilizar uma tecnologia que seja fiável, precisa e de rápida execução. É neste enquadramento que a tecnologia da espectroscopia de infravermelho próximo tem sido analisada como uma forte hipótese para responder a esta necessidade. Cumulativamente ao facto de permitir uma determinação do teor de minerais do material vegetal possui ainda a vantagem de ser

uma técnica não destrutiva, capaz de ser adaptada facilmente à realidade das centrais fruteiras na fase de receção da fruta, sem gerar subprodutos tóxicos e com um baixo nível de impacto ambiental (Manley, 2014).

Pode-se definir a espectroscopia como o ramo da ciência que se foca na compreensão da geração da radiação eletromagnética e da sua interação com a matéria. O espectro eletromagnético compreende as várias frequências da radiação eletromagnética, desde as ondas rádio (com menor frequência) até as ondas da radiação gama (com as maiores frequências), como é ilustrado na Figura 7. Na zona do infravermelho podemos distinguir três regiões: o infravermelho próximo, o infravermelho médio e o infravermelho distante. Associada à tecnologia alimentar, nomeadamente à determinação da composição dos alimentos é a região do infravermelho próximo que é amplamente utilizada.

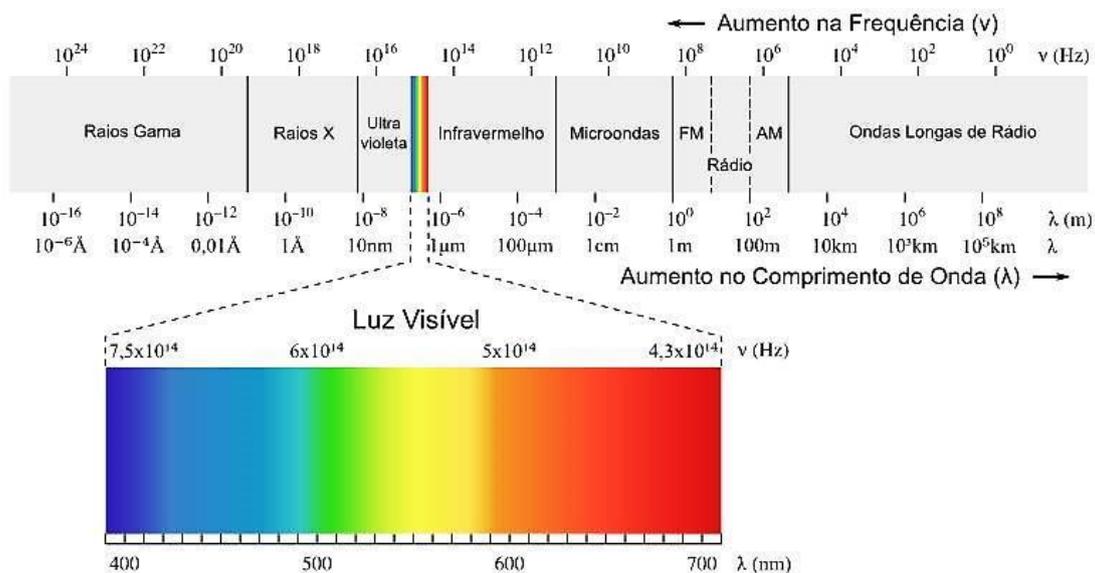


Figura 7- Espectro de radiação eletromagnética

A descoberta da radiação do infravermelho próximo (750 – 2500 nm), deve-se a Sir William Herschel. Ocorreu quando este estudava temperaturas das diferentes regiões do espectro, por volta do ano de 1800, no entanto não foi desde logo amplamente utilizada. Seria preciso esperar até cerca de 1960 para que a sua disseminação nos meios académicos tomasse maiores proporções, nomeadamente através de alguns trabalhos desenvolvidos por Karl Norris sobre a caracterização de produtos agrícolas e alimentares através de NIR, nos Estados Unidos (Siesler et al., 2002).

As interações entre a radiação eletromagnética e a matéria (neste caso em concreto, os frutos de pera ‘Rocha’) permitem, devido à energia emitida pelos átomos e moléculas da matéria a analisar, identificar e quantificar a composição da matéria, tanto em formas orgânicas como inorgânicas, tendo por base as vibrações dos átomos nas moléculas. A radiação infravermelha (IV) ao incidir na amostra é absorvida nas frequências correspondentes às das vibrações moleculares dessa amostra, sendo as restantes frequências da radiação refletidas ou transmitidas. Ao absorver radiação IV vai verificar-se uma transição entre os níveis de energia vibracionais das moléculas, que mediante a sua frequência e intensidade poderá indicar qual o tipo e número de ligações entre átomos e grupos funcionais. No caso da espectroscopia NIR os grupos funcionais cuja absorção predomina são o da ligação Oxigénio – Hidrogénio (OH), da ligação Carbono - Hidrogénio (CH), da ligação Azoto – Hidrogénio (NH) e o da ligação Enxofre – Hidrogénio (SH), permitindo, esta técnica, a determinação de humidade, gorduras, proteínas e hidratos de carbono através da vibração quando as amostras são expostas à radiação. Esta técnica permite também a determinação da composição mineral dos frutos, nomeadamente ao nível de nutrientes como o cálcio, o potássio, o ferro, o magnésio, o sódio e o zinco. No entanto esta técnica é mais exata em elementos presentes em maiores quantidades, sendo mais falível para elementos presentes apenas em quantidades vestigiais nas amostras (Almeida, 2009)

Para aplicação desta técnica e obtenção dos espectros de NIR utiliza-se um espectrómetro, utensílio composto por uma fonte de radiação, várias lentes, um local onde se coloca a amostra a analisar e um detetor que permitirá medir a redução da intensidade da radiação, e conseqüentemente a absorvância da amostra que será proporcional à concentração da substância absorvente, este processo encontra-se esquematizado na Figura 8.

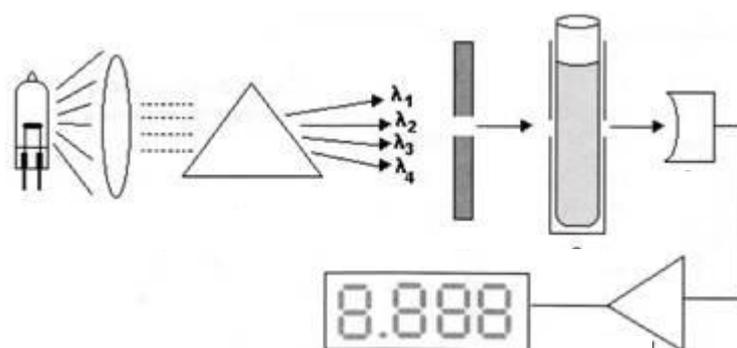


Figura 8- Esquema do funcionamento do espectrómetro na zona do NIR

Tendo em conta que a espectroscopia NIR origina espectros complexos, com sobreposições e várias bandas de combinações não é possível uma interpretação direta dos mesmos, sendo necessário uma calibração multivariada, recorrendo a intensidades medidas em vários comprimentos de onda. Na prática, atualmente são amplamente utilizados equipamentos que utilizam a Transformada de Fourier, que permitem, através de um microprocessador acoplado ao espectrofotómetro, ou por um computador associado, distribuir a energia absorvida pela amostra analisada pelos vários comprimentos de onda, simplificando a leitura e compreensão dos resultados numa curva de energia (Almeida, 2009).

2.5. A espectroscopia de absorção atómica para avaliação do teor de nutrientes em tecidos vegetais

A espectroscopia de absorção atómica é uma outra técnica utilizada para determinar a composição mineral dos alimentos. Capaz de atingir concentrações na ordem das partes por milhão e partes por bilião é uma técnica com uma sensibilidade extraordinária. À semelhança da técnica referida anteriormente também a espectroscopia de absorção atómica tem como base a medição da radiação absorvida pelo material a analisar. Quando existe aplicação de energia sobre um átomo este absorve-a, fazendo com que alguns dos seus eletrões atinjam um nível de energia superior. Esta absorção de energia leva o átomo a passar do seu estado fundamental para o estado excitado. A energia absorvida que provoca a alteração de estado nos átomos é depois libertada quando estes voltam ao seu estado normal, o estado fundamental no qual tem tendência a permanecer.

Esta técnica é aplicada quando a amostra se encontra no estado gasoso, o que permite a separação dos átomos ou iões que a constituem. Para tal é necessário realizar previamente a atomização da amostra, isto é reduzir a amostra a vapor atómico. O vapor do analito é depois irradiado com uma fonte externa de radiação, que será absorvida pelos átomos do analito, promovendo-os a um estado excitado e permitindo a determinação do teor no material a analisar através da medição da radiação que foi absorvida pela amostra. Este processo, esquematizado na Figura 9, permite a obtenção de espectros capazes de identificar os elementos presentes na amostra uma vez que cada elemento possui o seu próprio padrão de comprimento de onda (associados à configuração única de cada átomo e da distribuição dos seus eletrões).

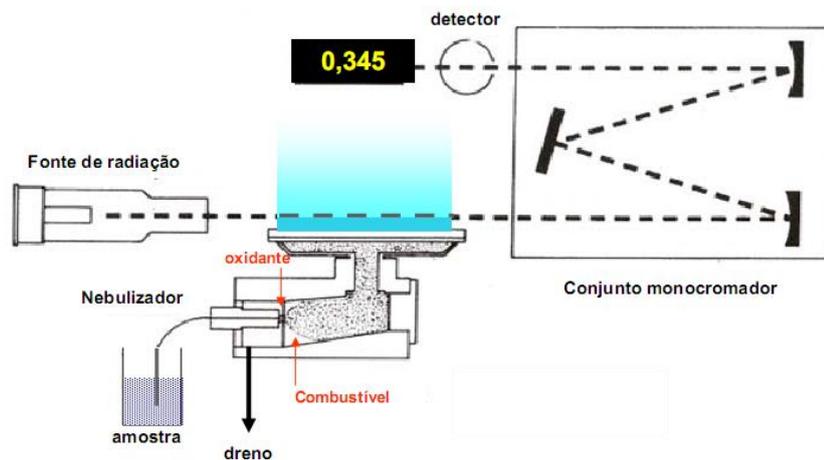


Figura 9- Esquema de funcionamento do espectrômetro de absorção atômica

À semelhança do referido anteriormente para a tecnologia NIR também nesta técnica a absorvância é diretamente proporcional à concentração na amostra. Assim é possível determinar a concentração de cada elemento na amostra, utilizando uma curva de calibração obtida a partir de padrões com concentrações previamente conhecidas (Oliveira, 2015).

Para chegar à determinação da composição mineral dos frutos é necessário fazer um pré-tratamento das amostras, sendo poucos os casos em que é possível uma leitura direta das análises. A maioria das técnicas utilizadas neste processo requer a destruição da matéria orgânica existente na amostra, normalmente feita através da digestão por via seca ou húmida.

A digestão por via seca consiste na eliminação (calcinação) da matéria orgânica da amostra a analisar, por norma são utilizadas temperatura entre os 450 e os 550°C. As cinzas resultantes desse processo são posteriormente solubilizadas num ácido, e será essa a solução que é utilizada no espectrofotômetro para determinação do teor de minerais. Esta forma de eliminar a matéria orgânica apresenta algumas desvantagens, nomeadamente o facto de ser um processo demorado, a possibilidade de contaminações devido ao período de tempo de exposição, a possibilidade de volatilização do material a analisar (cinzas) e a possibilidade de não haver uma decomposição total da matéria orgânica (quando as temperaturas ou o tempo de exposição do material vegetal é insuficiente), podendo originar resultados incorretos.

A outra técnica utilizada para proceder à digestão da matéria orgânica é a da via húmida, esta é feita aquecendo a amostra em conjunto com um ácido ou uma mistura de ácidos. O aquecimento durante um determinado período de tempo permitirá que a matéria orgânica seja oxidada e que apenas os compostos minerais fiquem presente na solução ácida resultante. Por norma os ácidos utilizados são o ácido nítrico, o ácido sulfúrico, o clorídrico e o perclórico (Oliveira, 2015).

3. Desenvolvimento Experimental

3.1. Materiais e Métodos

3.1.1. Material Vegetal

Os frutos utilizados foram fornecidos pela empresa Cooperfrutas C.R.L– Cooperativa de Produtores de Fruta e Produtos Hortícolas de Alcobaça. Foram selecionados frutos provenientes de três produtores distintos (denominados produtor A, B e C), e de parcelas com diferente historial quanto aos problemas verificados durante a conservação. As zonas da recolha estão assinaladas na imagem de satélite em anexo – ANEXO II.

Após a colheita (em agosto de 2019) os frutos foram conservados em atmosfera controlada (0,5% O₂ e 0,5% CO₂) a -0,5°C com humidade relativa de 90%. Foram retirados para serem analisados passados 3, 6 e 8 meses de conservação de forma a analisar a evolução dos parâmetros da qualidade e o teor de minerais. Assim, os tempos de amostragem foram três: após 3 meses de conservação (data 1), após 6 meses de conservação (data 2) e por último após 8 meses (data 3) . Para cada lote de frutos foram realizadas análises químicas, físicas e bioquímicas.

Todos os lotes iniciais dos diferentes produtores estudados foram caracterizados ao nível da qualidade recorrendo a 10 frutos, como é visível através da Figura 10. Nas análises físicas, foi determinada a massa de cada um desses frutos, a cor (L*, h° e C*), a firmeza, o teor em sólidos solúveis totais (SST) e os espetros no infravermelho próximo. Nas análises químicas determinou-se a acidez titulável (AT).



Figura 10- Amostras de frutos para análise de qualidade

Quanto às análises bioquímicas, foram determinados os teores de minerais nos frutos, recorrendo a 10 frutos do lote inicial, nomeadamente o teor em cálcio e em potássio, de forma a posteriormente se obter a relação K/Ca.

3.1.2. Métodos Analíticos

Determinação da Cor (L^* , a^* e b^*)

A cor da epiderme dos frutos foi medida após 3 e 8 meses de conservação utilizando-se para tal um Colorímetro Minolta CR 400 (Konica Minolta Inc., Tokyo, Japão) de acordo com o padrão C.I.E $L^*a^*b^*$, onde L^* expressa o grau de luminosidade da cor medida ($L^* = 100 =$ branco; $L^* = 0 =$ preto); os valores a^* e b^* expressam a componente cromática do vermelho/verde e amarelo/azul respetivamente. Para determinação destes parâmetros foram realizadas quatro leituras em dois pares de lados opostos na região equatorial dos frutos.

Determinação da Firmeza

A firmeza dos frutos foi determinada recorrendo a um texturómetro TA.HD.Plus (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK) equipado com sonda cilíndrica de 0,5 cm de diâmetro de base plana. O teste foi executado até uma profundidade de penetração de 10mm com uma velocidade de avanço da sonda de $1\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$. Os dados obtidos foram da força máxima e foram registados em Newtons (N).

Determinação do teor em Sólidos solúveis totais (SST)

Para a determinação dos sólidos solúveis totais (SST) foram cortados quartos de frutos e espremidos de forma a retirar algumas gotas de sumo. O teor em sólidos solúveis totais foi avaliado por refratometria, obtendo-se valores expressos em °Brix. Para tal utilizou-se um refratómetro digital Atago PR-101 (Atago CO., Ltd, Tóquio, Japão) previamente calibrado com água destilada, e com uma precisão de $\pm 0.2\%$ para uma amplitude de °Brix a variar entre 0 e 45% a 25°C.

Determinação da Acidez titulável (AT)

Para determinar a acidez titulável utilizou-se um titulador automático (Crison Compact Tritador – versão S, Crison Instruments, S.A., Barcelona, Espanha) previamente calibrado com soluções padrão. Para tal as amostras foram trituradas e pesadas cerca de 6g do seu sumo, posteriormente diluídos em 50 ml água destilada. As determinações foram realizadas através do débito de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,5 N, tendo-se obtido um valor de acidez titulável expresso em percentagem de ácido málico através da equação:

$$AT = \frac{V * N * Eq}{P} * 100$$

Equação 2 – Fórmula para determinação da acidez titulável

Em que:

AT = acidez titulável, em % de ácido málico;

V = volume de NaOH gasto na titulação, em ml;

N = normalidade de solução de NaOH

P = peso da amostra de polpa de ‘frutos’ utilizada na titulação, em g;

Eq. de ácido málico= 0,067

Obtenção dos espectros NIR

A obtenção dos espectros FT-NIR foi realizada através de um espectrómetro analisador multifuncional (MPA Multi Purpose FT-NIR Analyser, Bruker Corporation, USA). Os espectros foram recolhidos em refletância tendo sido transformados para absorvância através da relação $\log 1/R$. O espectrómetro encontra-se equipado com uma esfera integradora para efetuar as medições de refletância difusa. Foram analisadas 90 amostras e feitas 2 leituras por amostra, destes dois espectros obtidos calculou-se um espectro médio. Os frutos para a recolha dos espectros não sofreram qualquer tipo de dano, tendo os espectros sido recolhidos à superfície dos mesmos. Cada espectro recolhido pelo espectrómetro resulta de uma média de 32 espectros efetuados a uma frequência de 10kHz e com uma resolução espectral de 16 cm^{-1} . Os valores de referência para a calibração do equipamento foram recolhidos a partir da leitura da refletância de uma superfície

revestida a ouro. Os espectros obtidos apresentam uma amplitude espectral entre os 12 500-3600 cm^{-1} (800-2777 nm).

Teor em Ca e K nas diferentes zonas dos frutos

Para a determinação do teor de cálcio e de potássio nas diferentes zonas dos frutos procedeu-se à separação dos mesmos, por cada produtor, em amostras compósitas, representativas das zonas a analisar (endocarpo, mesocarpo e epicarpo). Cada amostra compósita consistiu na utilização de três frutos. Foram separadas as diferentes zonas dos frutos e embaladas separadamente (Figura 11) de forma a ser possível determinar o teor dos nutrientes na matéria seca do material vegetal.



Figura 11- Endocarpo, Mesocarpo e Epicarpo dos frutos – antes da liofilização

Para isso as diferentes amostras, correspondentes às diferentes zonas dos frutos, foram colocadas no liofilizador até perderem todo o conteúdo de água (Figura 12).



Figura 12- Endocarpo, Mesocarpo e Epicarpo - depois da liofilização

Após secas foram moídas e pesadas em cadinhos, com aproximadamente $0.2 \text{ g} \pm 0.01$ de amostra (Figura 13).



Figura 13- Amostras após processo de moagem

Estas amostras foram de seguida à mufla (Heraeus M110 e Heraeus D-6450, Hanau, Germany), cerca de 10h a 550 °C, onde se pretendia fazer uma digestão por via seca que removesse toda a matéria orgânica existente, deixando apenas as cinzas (componente mineral da amostra, onde se encontram os nutrientes – Figura 14).



Figura 14- Cinzas com conteúdo mineral das amostras



Figura 15- Processo de diluição das cinzas

De forma a diluir as cinzas foram adicionados 10ml de solução de ácido clorídrico (0.5N) a cada cadinho, esta operação permitiu dissolver o conteúdo mineral das amostras. Após esta etapa filtrou-se a solução obtida (Figura 15) e perfez-se o volume em balões

volumétricos com água destilada pura (até se obterem 50ml de solução). Procedeu-se à determinação dos minerais por espectrometria de absorção atômica recorrendo a um espectrofotómetro de absorção atômica com queimador ar/acetileno.

Uma vez que não se verificaram frutos com sintomas evidentes de acastanhamentos internos no material analisado (proveniente da colheita de 2019) foram posteriormente analisados, pelo mesmo procedimento, alguns frutos da campanha seguinte que demonstravam sintomas evidentes de acastanhamento. O estudo destes frutos iria permitir analisar a existência ou não de diferenças significativas na composição mineral de frutos com este tipo de desordem face aos restantes analisados.

3.1.3. Métodos Estatísticos

O delineamento constou de um fatorial completo com 3 fatores ('Produtor', 'Data', 'Zona do Fruto') apresentando o primeiro fator 3 níveis, o segundo 2 níveis e o terceiro 3 níveis, com 10 repetições cada. Para a análise dos resultados recorreu-se a uma análise de variância Anova, utilizando o software STATISTICA. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (Anova) para testar se os fatores em estudo possuem diferenças significativas entre si. À posteriori foi feita também a comparação das médias, realizada pelo teste de Tukey, com nível de significância $p \leq 0,05$ (em anexo).

4. Resultados e Discussão

4.1. Validação do modelo de calibração, baseado nos espectros da região do infravermelho próximo, para a determinação do conteúdo mineral nos frutos

Os espectros obtidos na região do infravermelho próximo para todas as amostras são apresentados na Figura 16. Para a obtenção dos modelos os espectros foram transformados de forma a obter a melhor qualidade para o modelo de calibração.

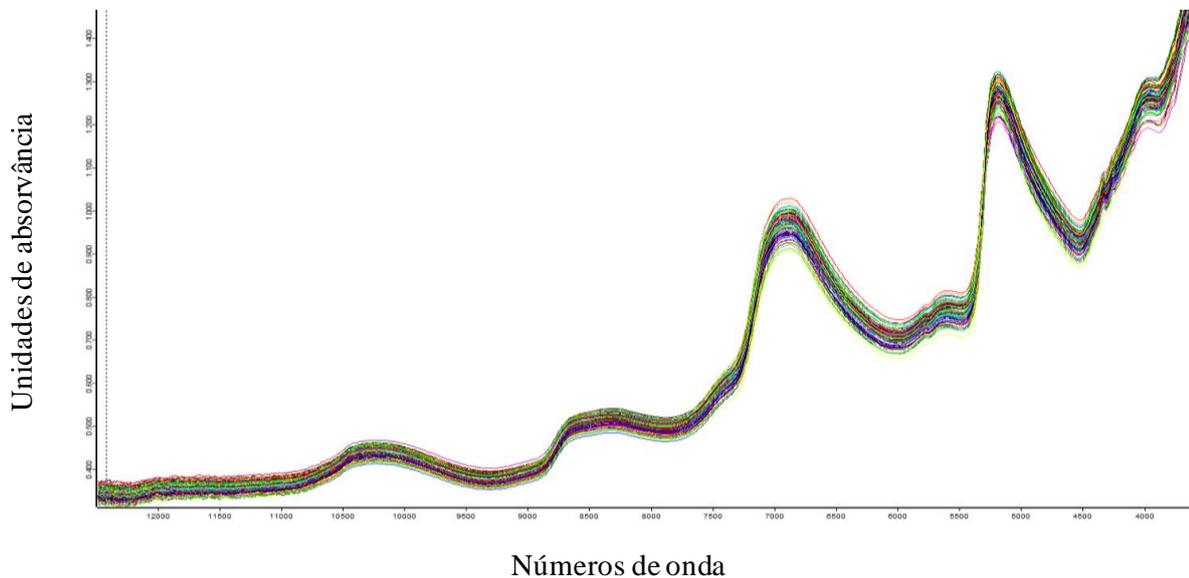


Figura 16 - Espectros de infravermelho na região do espectro entre 12500-3600 cm^{-1} recolhidos em peras inteiras

A obtenção de modelos quimiométricos implica que a variável resposta apresente alguma variabilidade. Na tabela abaixo (tabela 4) observam-se os valores de Ca e de K presentes nas amostras analisadas e verifica-se que estes apresentam uma variabilidade adequada para o efeito. Também Serrano *et al.* (2021) obteve modelos de previsão robustos a partir de espectros de amostras de material vegetal com valores de desvio padrão inferiores.

	Ca (mg/100g ms)	K (mg/100g ms)
Média	74,64	327,89
Desvio Padrão	27,27	139,70

Tabela 4 - Média e desvio padrão do teor de Ca e K presentes na epiderme das peras

Para a obtenção do modelo de previsão para o teor de cálcio dos frutos compararam-se os espectros de infravermelho próximo das diferentes amostras com os valores de cálcio obtidos pelo método de referência dessas mesmas amostras. Para o efeito utilizou-se uma regressão por mínimos quadrados parciais (PLSR), técnica muito utilizada para a obtenção de modelos a partir de medições multivariadas (Wold et al., 2001). Para a obtenção do melhor modelo recorreu-se a uma transformação dos espectros - variação de padrão normal (SNV) que consiste num algoritmo de normalização dos dados que transforma os espectros obtidos sem perda significativa de informação (Næs et al., 2017). Foram previamente selecionadas as melhores regiões espectrais (Figura 17), regiões estas que apresentavam mais informação relativamente à variável resposta (neste caso o teor de Ca nos frutos).

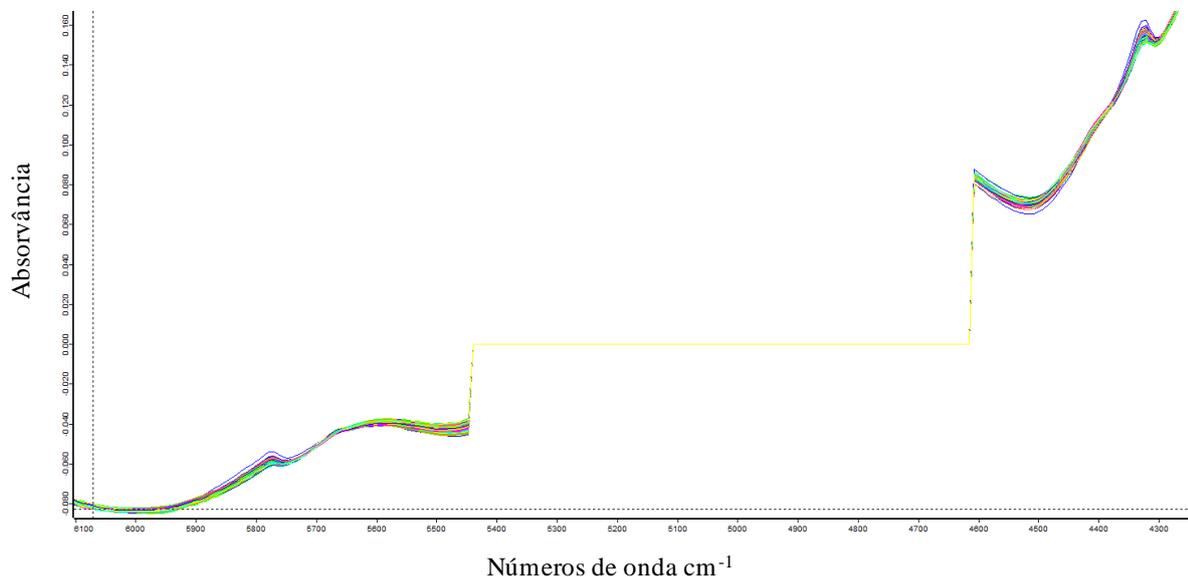


Figura 17 - Espectros de absorvância que foram utilizados pelo modelo de previsão para o Ca nos frutos em fresco

O modelo obtido para a determinação do teor de cálcio dos frutos com base o espectro de infravermelho próximo apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,80 (Figura 18) o que significa que o modelo obtido apresenta um bom ajuste já que o teor de cálcio

obtido através da aplicação do modelo e o teor de cálcio obtido através do método de referência (digestão ácida das cinzas) apresentam uma relação quase linear.

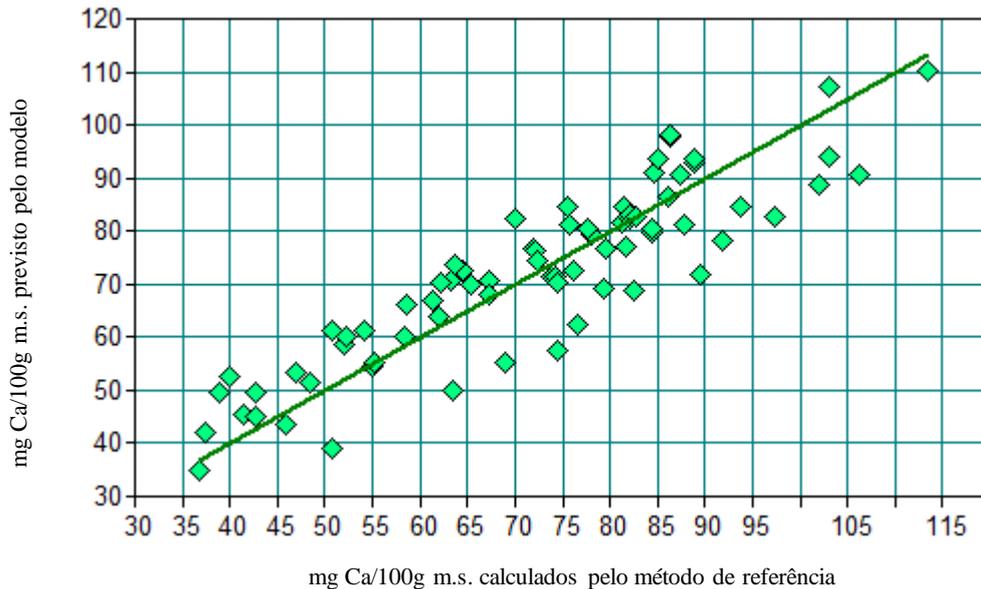


Figura 18 - Correlação entre os valores preditos pelo modelo e os valores de referência para os teores de cálcio nos frutos

Quanto mais esta relação se aproximar de uma reta maior é o R^2 e melhor será o modelo obtido. Outra das formas de se avaliar a qualidade dos modelos obtidos é através do valor do desvio residual do modelo de previsão (RPD), que indica a razão entre o desvio padrão dos valores obtidos pelo método analítico de referência e o erro médio obtido através do modelo de predição. Quanto mais elevado for este valor melhor será o modelo obtido, sendo aceite que valores inferiores a 2 como indicadores de modelos com baixa capacidade discriminatória, entre 2-4 com razoável capacidade discriminatória e de 4-9 com boa capacidade discriminatória e excelentes se o valor de RPD for superior a 9 (Fearn, 2002). Neste caso o modelo de determinação do cálcio nos frutos apresentou um valor de RPD de 2,25 o que mostra alguma capacidade discriminatória deste modelo. Com efeito, a presença de água nos tecidos dos frutos leva a que os espectros apresentem muita informação relacionada com a grande capacidade de absorção da radiação infravermelha pela água. Assim, a presença de muita informação espectral provocada pelo conteúdo em água dos frutos em fresco leva a que outro tipo de informação de menor intensidade e que esteja relacionada com a presença de nutrientes, seja mais dificilmente detetada.

O modelo obtido para a determinação de cálcio em peras apresentou qualidade razoável ainda que seja importante incluir neste tipo de modelos a informação obtida em vários anos porque só desta forma os modelos se apresentarão robustos o suficiente para serem usados pelo sector da produção. De acordo com Donghai *et al.*, (2006) , a espectroscopia Vis/NIR já foi utilizada para a deteção do acastanhamento interno em pera, no entanto esta desordem interna não foi associada à concentração de cálcio nos tecidos dos frutos. A utilização da espectroscopia NIR para a deteção de constituintes minerais em frutos não é muito frequente. A presença de grandes quantidades de água nos tecidos leva a que o sucesso deste tipo de modelos seja reduzido. A presença de cálcio nos tecidos dos frutos encontra-se associada às pectinas das paredes celulares pelo que esta pode ser uma razão para o modelo de previsão deste nutriente na polpa dos frutos tenha apresentado um valor para o coeficiente de determinação razoável. Isto é, o cálcio pode estar a ser previsto com base em informação espectral com origem nas paredes celulares onde se encontra ligado.

O modelo obtido para a determinação do teor de potássio dos frutos com base o espectro de infravermelho próximo apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,12 o que claramente mostra que o modelo não apresenta uma qualidade aceitável.

Avaliou-se ainda qual seria a qualidade do modelo obtido para a determinação da relação K/Ca. Como já foi referido anteriormente esta relação poderá ser um bom indicador da capacidade de conservação dos frutos, pelo que a existência de um modelo que previamente disponibilize este tipo de informação seria uma mais valia importante para adaptar as diferentes alternativas possíveis em lotes distintos, trazendo acréscimos para o produto final ao nível da qualidade dos frutos. Para a obtenção do modelo de previsão da relação K/Ca utilizou-se uma regressão por mínimos quadrados parciais (PLSR) (Wold *et al.*, 2001). Para a obtenção do melhor modelo recorreu-se a uma transformação dos espectros em sequência, isto é, através do cálculo da 1ª Derivada e de uma normalização dos dados através da variação de padrão normal (SNV) (Næs *et al.*, 2017).

No processo de obtenção do modelo foi selecionada a zona do espectro de absorção com mais informação (Figura 19) relativamente à variável resposta (neste caso a relação K/Ca).

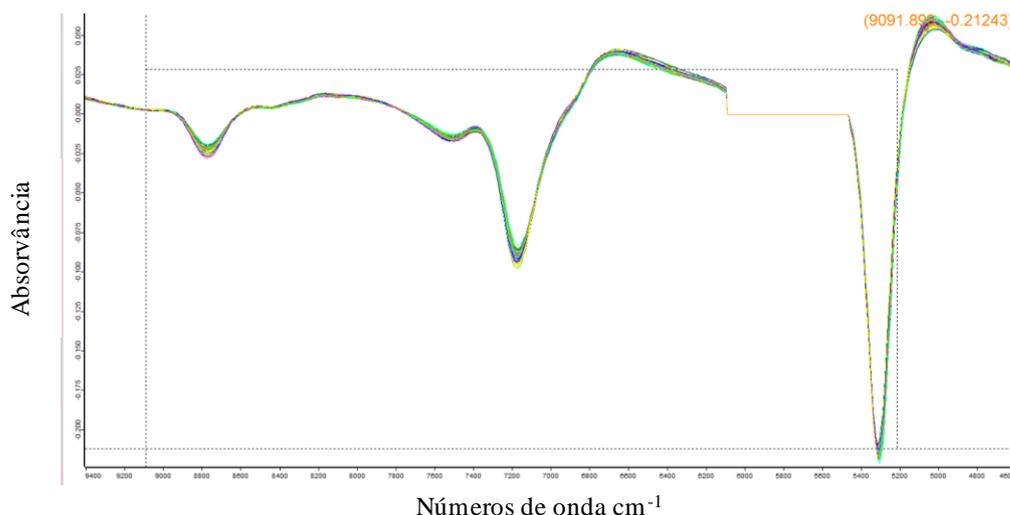


Figura 19 - Espectros de absorvância após processamento que foram utilizados pelo modelo de predição para a determinação da relação K/Ca nos frutos em fresco

O modelo obtido para a determinação da relação K/Ca dos frutos com base o espectro de infravermelho próximo apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,49 e um valor de RPD de 1,41 (Figura 20). Embora o modelo não apresente qualidade para ser utilizado em rotina, este foi o melhor modelo que se obteve para a determinação da relação K/Ca nos frutos. Um dos motivos que contribuiu para esta baixa capacidade de discriminação do modelo é o facto de os espectros terem sido recolhidos de amostras não desidratadas, tal como foi referido para o modelo do cálcio. A exatidão do método de referência é outro fator importante que contribui para a qualidade dos modelos, um método de referência pouco exato vai condicionar negativamente a qualidade de um modelo. A espectrofotometria de chama é um método menos exato que a espectrofotometria de absorção atômica o que vai condicionar a qualidade dos modelos obtidos.

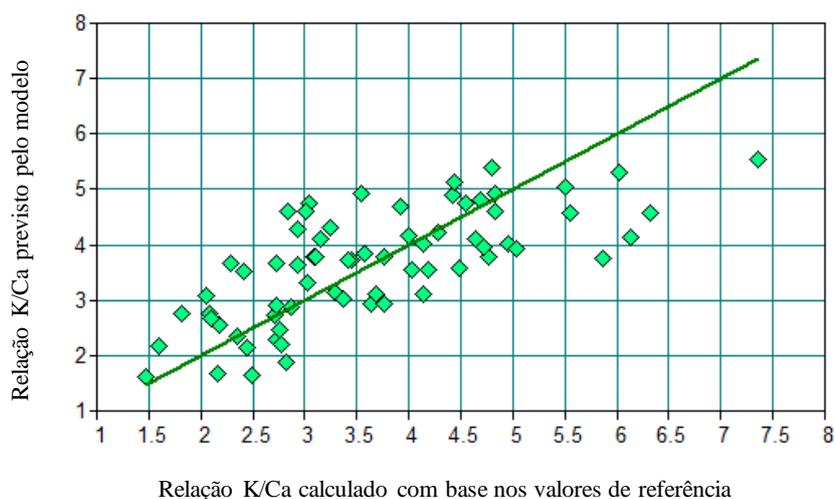


Figura 20 - Correlação entre os valores preditos pelo modelo e os valores de referência para a relação K/Ca

4.2. Avaliação dos parâmetros da qualidade dos frutos ao longo da conservação

A evolução dos parâmetros avaliados foi caracterizada através de estatística descritiva, nomeadamente através de *bloxpots*, médias e testes de *Tukey*. Este estudo foi feito acompanhando o período de armazenamento dos frutos (desde a data 1 até à data 3) para os diferentes pomares de cada produtor.

Quanto à variável “peso” não se verificaram diferenças significativas ($p > 0.05$), nem entre produtores, nem entre datas. Este resultado já seria expectável uma vez que os frutos foram retirados aleatoriamente, não tendo sido efetuada qualquer tipo de escolha durante a seleção.

Na Tabela 5 são apresentados os resultados médios das diferentes coordenadas cromáticas obtidas nos frutos dos vários produtores.

<i>Produtor</i>	<i>L*</i>	<i>a*</i>	<i>b*</i>
A	69,265 ± 1,705	-12,934 ± 1,956	42,169 ± 0,939
B	64,920 ± 2,003	-12,524 ± 2,198	41,183 ± 1,185
C	65,982 ± 1,940	-13,641 ± 1,658	40,854 ± 0,813

Tabela 5- Valores médios ($\pm DP$) das coordenadas cromáticas do espaço de cor para os diferentes produtores determinados

Após análise das diferentes coordenadas cromáticas L^* , a^* , b^* verifica-se que não houve diferenças significativas entre produtores no respeitante às coordenadas da cor da epiderme avaliadas, com exceção dos resultados obtidos para L e b , onde se verificaram valores significativamente superiores para o produtor A, como se observa na Figura 21 (ver ANEXO III). Este facto poderá indicar frutos com grau de maturação ligeiramente mais avançado já que valores elevados no parâmetro b significam uma maior presença do tom amarelo nos frutos, tom característico de frutos mais maduros.

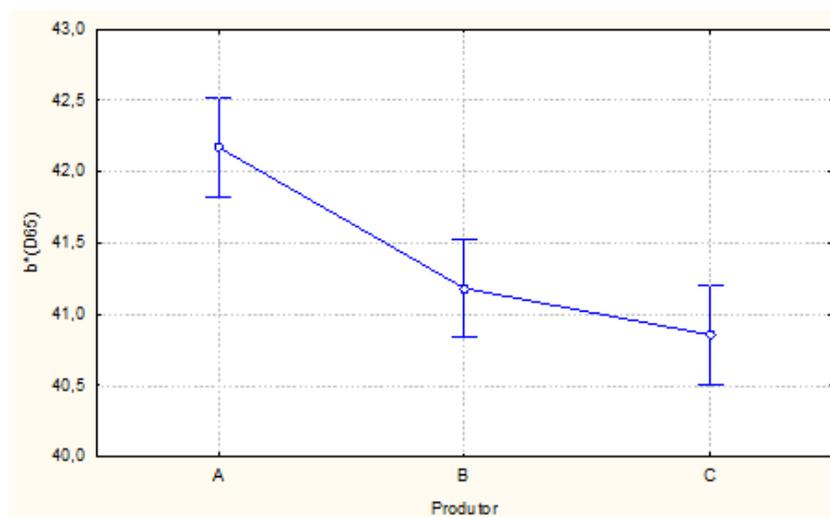


Figura 21- Representação dos intervalos de confiança do parâmetro *b* para os três produtores ($n=10$) – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

Na tabela 6 são apresentados os resultados dos valores médios obtidos para os parâmetros da firmeza, do teor em sólidos solúveis totais e da acidez titulável para os diferentes produtores (A, B e C) e para as diferentes datas (1 – 09/12/2019, 2 – 13/03/2020 e 3 – 22/05/2020).

Data 1	Produtor	Firmeza (N)	SST (° Brix)	AT (%)
	A	37,45 ± 3,74	11,90 ± 0,77	0,31 ± 0,06
B	45,82 ± 5,32	10,55 ± 0,90	0,17 ± 0,01	
C	46,83 ± 6,64	11,01 ± 0,49	0,18 ± 0,01	

Data 2	Produtor	Firmeza (N)	SST (° Brix)	AT (%)
	A	40,72 ± 4,64	11,44 ± 0,72	0,16 ± 0,04
B	45,00 ± 5,46	11,02 ± 0,44	0,16 ± 0,02	
C	45,46 ± 4,20	11,73 ± 0,71	0,19 ± 0,10	

Data 3	Produtor	Firmeza (N)	SST (° Brix)	AT (%)
	A	37,89 ± 3,52	11,09 ± 0,32	0,19 ± 0,04
B	45,42 ± 5,13	10,65 ± 0,60	0,15 ± 0,03	
C	41,92 ± 5,20	11,42 ± 0,54	0,18 ± 0,00	

Tabela 6- Valores médios (\pm DP) de Firmeza, Teor de Sólidos Solúveis Totais e Acidez Titulável para os diferentes produtores nas diferentes datas analisadas

No respeitante ao parâmetro da firmeza dos frutos verifica-se que, apesar de os resultados não evidenciarem diferenças significativas entre datas (ver ANEXO IV), observou-se uma ligeira tendência decrescente ao longo da conservação dos frutos, registando a última data os valores aparentemente mais baixos (Figura 22). A tendência decrescente na firmeza ao longo do tempo é referida em vários estudos sobre a pera 'Rocha' como mencionam Soares *et al.*, (2001) e Ahmad *et al.*, (2015) , uma vez que ao longo da maturação ocorrem fenómenos de hidrólise enzimática de protopectinas presentes nas paredes celulares e que provocam a perda de consistência dos tecidos vegetais, (Alpalhão *et al.*, 2009; Lombardi *et al.*, 2000).

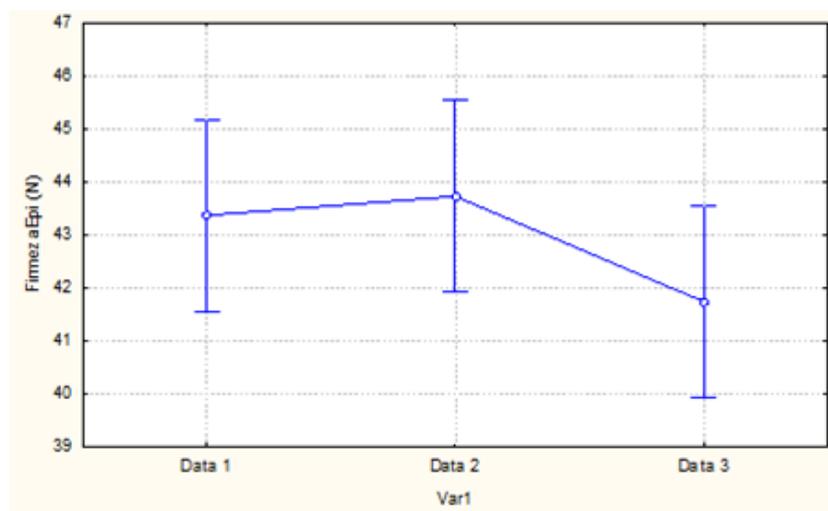


Figura 22- Representação dos intervalos de confiança do parâmetro da Firmeza para as três datas analisadas (n=10) – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

Para o parâmetro da firmeza foram obtidos resultados compreendidos entre 32 e 54 N. Estes resultados foram inferiores aos valores referidos no caderno de especificações da pera 'Rocha' (ANP, 1997). No entanto os resultados obtidos vão ao encontro dos valores referidos noutros estudos para a cultura (Gomes *et al.*, 2015). A diferença entre os valores poderá ser explicada pelo facto de no caderno das especificações as características da variedade serem descritas para o momento da colheita e os resultados alcançados neste estudo serem valores obtidos já após um período de conservação relativamente prolongado.

Entre os diferentes produtores verificaram-se diferenças significativas (ver ANEXO V), sendo que o produtor A apresentou frutos com menor firmeza que os restantes em todas as datas (Figura 23).

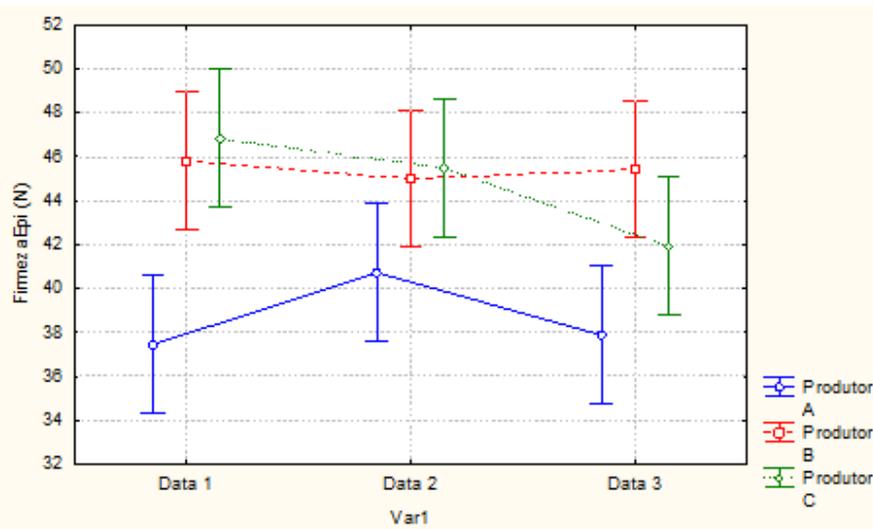


Figura 23- Representação dos intervalos de confiança determinados para a Firmeza dos frutos de cada produtor e data e da interação destes fatores (n=10) – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

Este resultado acaba por reforçar a hipótese levantada aquando da avaliação do parâmetro da cor da epiderme de que o produtor A poderia ter apresentado frutos com um grau de maturação ligeiramente mais avançado. É frequente utilizar a firmeza dos frutos como parâmetro para avaliar o grau de maturação, já que existe uma forte correlação entre a firmeza e o estado de maturação, tal como observaram Soares *et al.*(2001) .

No que diz respeito ao teor em sólidos solúveis totais não se verificou diferença significativa entre as várias datas, no entanto, quando comparados os diferentes produtores constata-se que existe diferença significativa ($p < 0.05$) , sendo que os frutos do produtor B apresentaram em todas as datas valores de °Brix inferiores aos restantes (Figura 24).

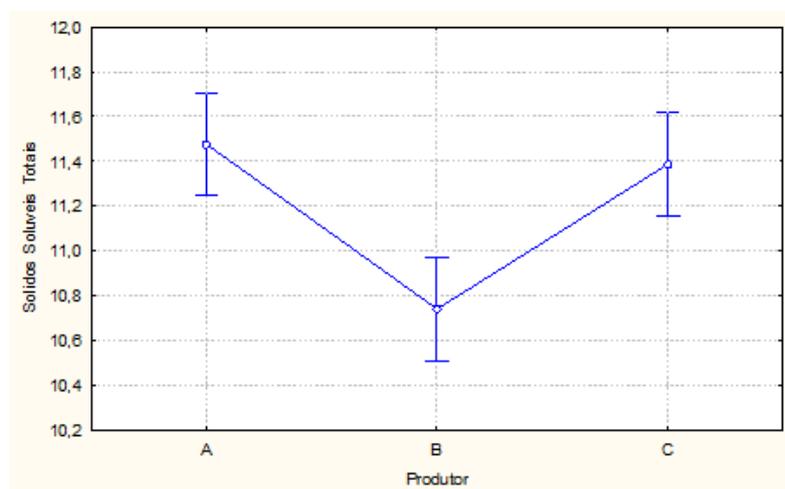


Figura 24 - Representação dos intervalos de confiança determinados com $p < 0,005$ para os sólidos solúveis totais dos vários produtores (n=10) – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

Uma vez que, para cada produtor, os frutos analisados nas várias datas são originários dos mesmos lotes de entrada, seria expectável não existirem diferenças significativas entre datas pois, por norma, não se observa uma evolução significativa dos valores associados a este parâmetro durante o armazenamento. Assim, e visto que o critério utilizado para a data de colheita em todos os produtores foi o parâmetro da firmeza, era expectável que os frutos não apresentassem graus de maturação muito distintos, e por conseguinte, teores de sólidos solúveis muito diferentes entre si.

Análises feitas a amostras com diferentes graus de maturação, por norma, levam a resultados de teores de sólidos solúveis superiores nas amostras com a maturação mais avançada. No entanto, e como foi possível verificar neste estudo, amostras de frutos com graus de maturação semelhantes, avaliados através da firmeza, podem apresentar diferenças significativas no teor de sólidos solúveis totais, o que reforça a influência direta que as características edafoclimáticas de cada parcela e as diferentes estratégias ao nível da nutrição do pomar influem no resultado final do produto, tal como verificou Gomes (2018). Desta forma, seria expectável que o produtor B tivesse um histórico de menor teor em sólidos solúveis na parcela analisada face aos restantes ou que tivesse optado por uma estratégia de adubação diferente dos restantes produtores.

Quanto ao parâmetro da acidez titulável verificaram-se diferenças significativas entre datas e entre produtores (Figura 25) (ANEXO VI). A data 1 foi aquela em que os valores foram superiores, em especial no produtor A. Os frutos do produtor A apresentaram características bastante diferentes dos restantes produtores. Em geral, resultados obtidos para os valores de acidez titulável dos frutos foram ligeiramente mais baixos que os referidos no caderno de especificações da pera 'Rocha' D.O.P, de 2-3 g/L de ácido málico à colheita (ANP, 1997). Esta diferença poderá ser justificada, tal como referido no parâmetro da firmeza, em parte pelas alterações que ocorrem durante a conservação uma vez que os frutos não estão a ser analisados à colheita e sim depois de um período de 3 meses de conservação ou por um possível estado de maturação mais avançado dos lotes em relação ao definido no caderno de especificações. Os resultados obtidos vão ao encontro dos resultados publicados por Martins & Empis (2000), que afirmaram que existia, durante o período de conservação pós-colheita uma diminuição do teor de ácidos orgânicos da pera. Assim, e apesar de existirem ligeiras diferenças nos valores obtidos face ao caderno de especificações da variedade, os resultados deste trabalho parecem

evidenciar uma tendência decrescente da acidez titulável dos frutos, característica da fisiologia pós-colheita da pera que já foi anteriormente constatado por Belitz *et al.*,(2009) e Lombardi *et al.*,(2000).

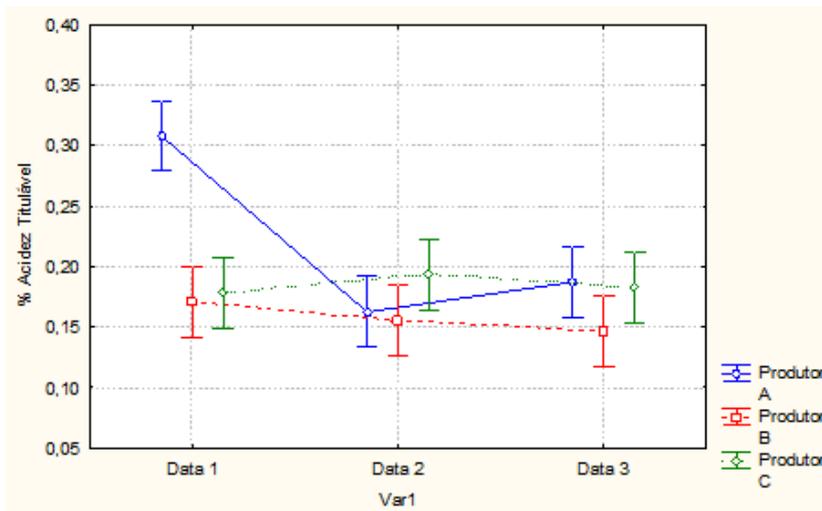


Figura 25- Representação dos intervalos de confiança determinados com $p < 0,05$ para a acidez titulável do efeito da interação entre data de colheita e produtor ($n=10$) - produtor ($n=10$) – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

De uma forma global, ao nível da avaliação dos parâmetros da qualidade dos frutos, verificou-se que as diferenças significativas surgiram mais diretamente relacionadas com os diferentes produtores do que com o tempo de conservação, isto é, com as datas das análises. Este resultado vai ao encontro dos resultados obtidos por Silva *et al.*, (2009) em pera ‘Rocha’, onde observaram a manutenção do teor de sólidos solúveis, da firmeza e da acidez titulável dos frutos durante 6 meses de armazenamento sob atmosfera controlada (2,5% O₂ e 0,7% CO₂).

4.3. Avaliação nutricional dos frutos ao longo da conservação – conteúdo em cálcio e potássio

Cálcio

Analisando os resultados da avaliação nutricional dos frutos ao longo da conservação verifica-se que a variação no teor de cálcio global não foi significativa (Figura 26), embora se note uma tendência decrescente que poderá ser justificada por questões de amostragem já que não será possível verificar-se um consumo de Ca nos frutos durante a

conservação. Apesar deste ser um catião envolvido em muitos processos celulares, principalmente ao nível da sinalização, e estar associado à manutenção da estabilidade da parede e membranas celulares, a quantificação do cálcio nos frutos, efetuada neste trabalho, diz respeito à fração do cálcio total não sendo espectável ocorrerem variações significativas durante o período de conservação.

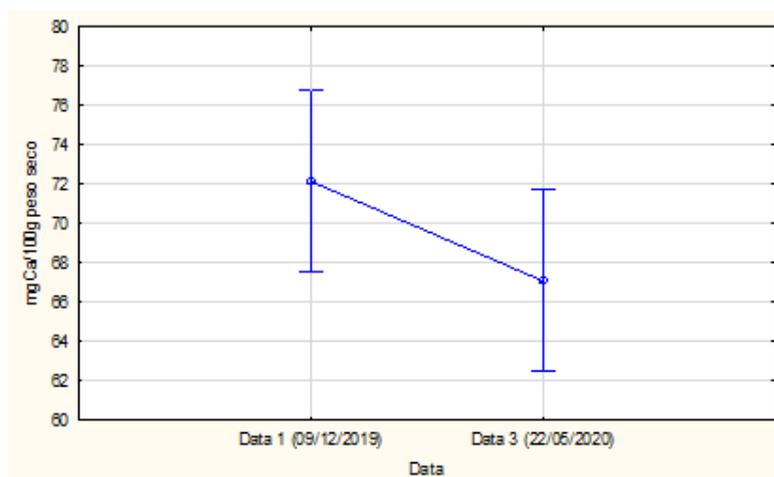


Figura 26 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de cálcio nas diferentes datas ($n=10$) – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

No entanto verificou-se que os frutos do produtor C mostraram valores significativamente inferiores aos restantes dois produtores nas várias datas analisadas (Figura 27). O facto de se ter verificado este resultado nas várias datas, permite levantar a hipótese de que esta situação poderá ter origem em características do solo da parcela deste produtor em particular, ou a uma diferente estratégia de fertilização no que toca aos fertilizantes utilizados e aos momentos de aplicação dos mesmos. Para comprovar qual das hipóteses teria maior fundamento dever-se-ia recorrer a análises de solo e examinar os planos de fertilização, de forma a perceber a existência ou não de limitações ao nível do solo e as diferenças entre os momentos de fertilização e a composição dos fertilizantes aplicados nas várias parcelas. Ao nível do solo as limitações podem ser variadas e ir desde solos com pouca capacidade de troca catiónica, onde o cálcio não é facilmente adsorvido, a antagonismos associados a outros elementos, como é comum verificar-se com o potássio ou o magnésio. Quanto aos planos de fertilização, será de esperar que uma fertilização corrente ao longo do desenvolvimento do fruto com fertilizantes ricos em cálcio se traduza em frutos com maiores teores deste elemento.

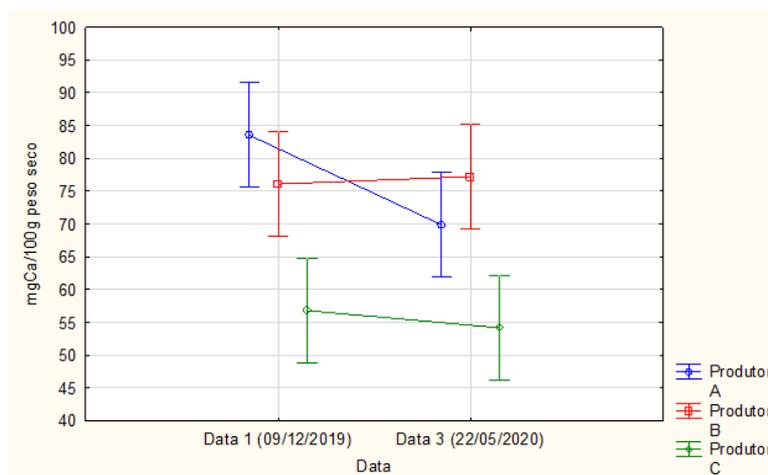


Figura 27 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de cálcio nas diferentes datas - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

Entre as diferentes partes dos frutos verificou-se que as zonas onde se registam os teores mais elevados de cálcio são o interior e a epiderme dos frutos, sendo a polpa a zona com menos quantidade de cálcio para todos os produtores analisados (Figura 23 e 24). Os resultados confirmam o que vem referido no caderno de especificações da variedade (ANP, 1997). Sendo o cálcio um elemento móvel essencialmente no xilema, o transporte deste elemento para os órgãos da planta está condicionado pela capacidade de transpiração destes, pelo que a deposição do cálcio nos frutos ocorre essencialmente no início do seu desenvolvimento (quando estes ainda possuem uma atividade fotossintética e transpiração significativas) (Adams & Ho, 1993). A absorção e a mobilidade deste elemento diminuem à medida que o fruto se desenvolve, pelo que é perceptível que o cálcio assimilado no início venha a ser utilizado nos processos de multiplicação celular. Os processos de multiplicação celular, acompanhados dos processos de aumento de volume celular, nomeadamente nas células do mesocarpo, parecem justificar um aparente efeito de diluição do cálcio na polpa dos frutos. Nos pomos, este efeito de diluição será mais acentuado na fase de crescimento do fruto, em que ocorre o aumento do volume das células. A multiplicação e crescimento celular são os principais responsáveis pela distribuição diferenciada do cálcio nos frutos, sendo o aumento do volume das células do mesocarpo, que ocorre na segunda parte do crescimento dos pomos, a principal causa para o teor significativamente menor de cálcio do mesocarpo em comparação com o epicarpo e endocarpo.

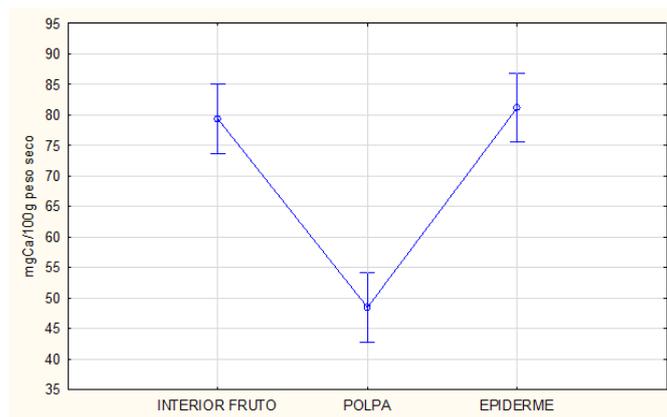


Figura 28 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de cálcio nas diferentes zonas dos frutos entre as duas datas - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

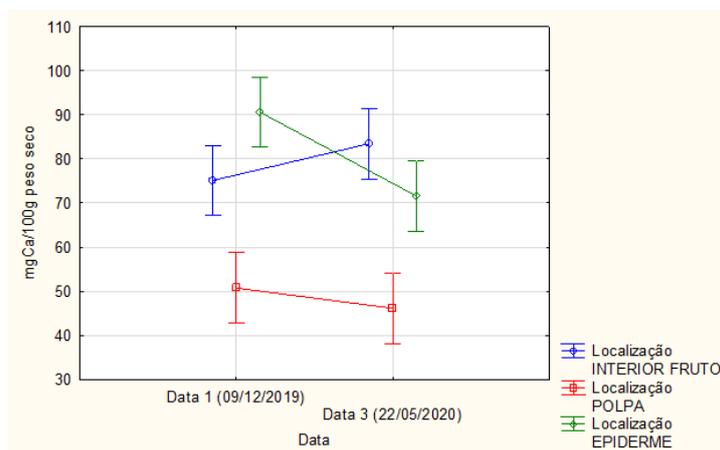


Figura 29 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de cálcio nas diferentes zonas dos frutos – As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

Na Figura 30 pode-se reforçar a análise quanto aos resultados obtidos para o produtor C, uma vez que quando comparados os diferentes produtores, nas diferentes zonas dos frutos e nas diferentes datas, o produtor C apresenta, em todas as datas e em todas as zonas, valores inferiores. Verifica-se ainda nos três produtores uma tendência decrescente ao nível do teor de cálcio na epiderme dos frutos. Esta tendência poderá ter surgido de uma eventual retirada da zona da epiderme com maior quantidade de polpa face à primeira data, ou até por própria variabilidade na amostragem. Parece prematuro analisar esta tendência ao nível de uma eventual deslocação do elemento entre zonas do fruto, uma vez que não se verificam aumentos correspondentes nas outras zonas.

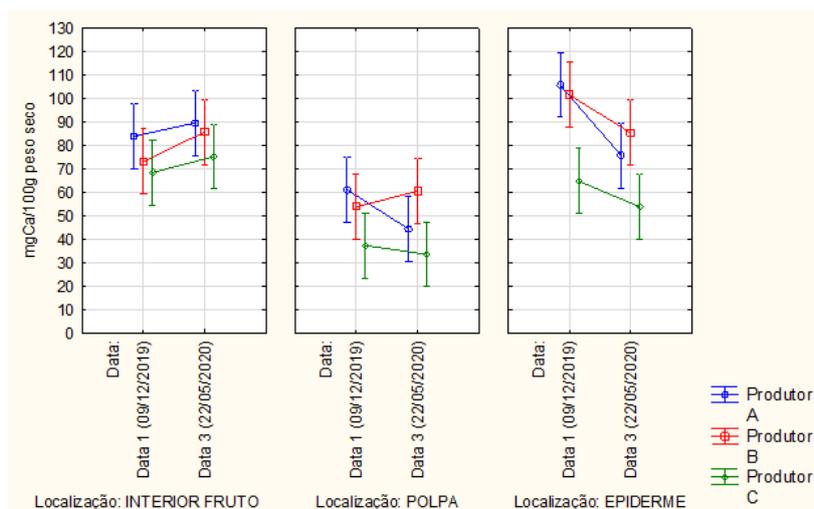


Figura 30 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de cálcio nas diferentes datas e zonas do fruto por produtores - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

A menor presença de cálcio nos frutos do produtor C poderá ser um fator potenciador da ocorrência de algumas desordens fisiológicas do tipo acastanhamento interno dos tecidos. A relação entre o menor teor em cálcio e a presença de desordens fisiológicas como o acastanhamento interno há muito que se conhece, tendo sido já referida por Pusittigul *et al.*, (2014).

Desta forma, neste trabalho, decidiu-se analisar também o conteúdo em cálcio de alguns frutos onde esta desordem já se verificava, seguindo o mesmo procedimento utilizado nos frutos dos três produtores estudados. Os resultados obtidos encontram-se resumidos na Figura 31. Nesta figura pode-se observar que todos os frutos com esta sintomatologia apresentavam teores inferiores de cálcio, com exceção de um que apresentava teores semelhantes aos observados nos frutos do ensaio. Estes resultados reforçam os publicados por Martin (2015), onde se verificou que peras com acastanhamento interno apresentavam menores teores de Ca. Também seguem os critérios de Tomala (1997) e Werth (1995) que indicavam a relação entre potássio e o cálcio como um bom indicador para a previsão de ocorrência desta desordem. Assim, é de realçar que todos os frutos com presença de acastanhamento interno apresentavam teores inferiores de cálcio na epiderme.

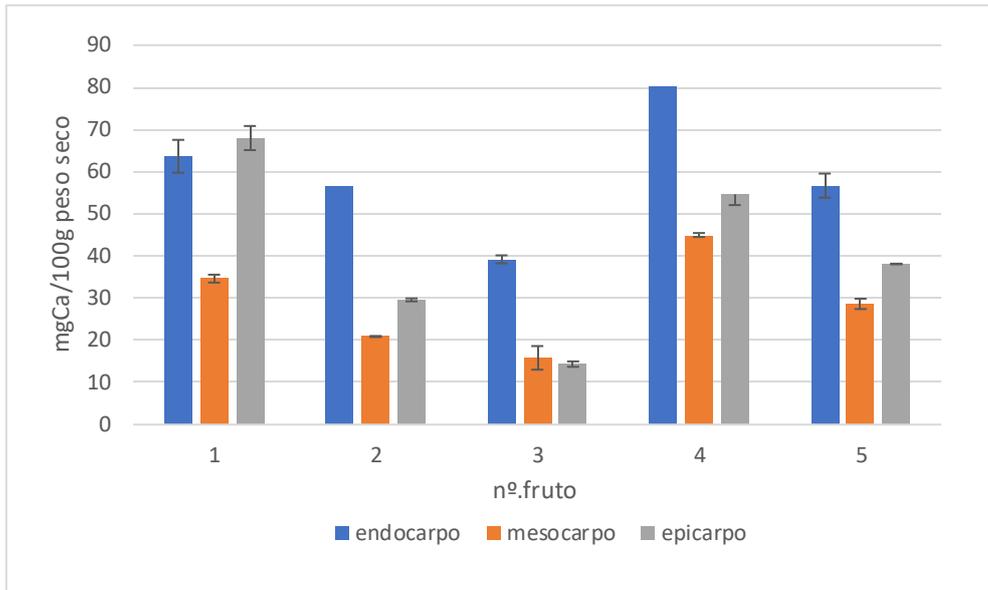


Figura 31 - Teores de cálcio nas diferentes zonas dos frutos em 5 peras com a presença de acastanhamento interno. As barras representam o desvio padrão da amostra

Potássio

No que toca ao potássio verificou-se uma diferença significativa entre a primeira e a segunda data analisada, tendo os valores decrescido (Figura 32). Tal facto poderá estar relacionado com a variabilidade dos próprios frutos na amostra.

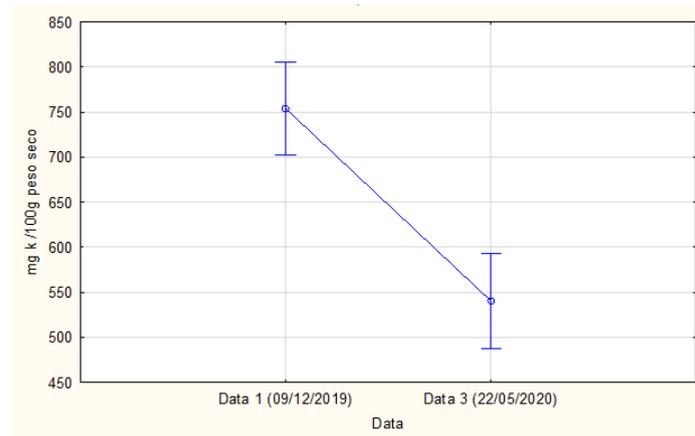


Figura 32 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de potássio nas diferentes datas - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

Verificou-se ainda, em contraste com os valores associados ao cálcio, uma diferença significativa entre o produtor C e os restantes, assumindo os frutos do produtor C valores

superiores de potássio e os do produtor B os valores mais reduzidos (Figura 33). Com efeito, verificou-se que a presença em excesso de K nos tecidos vegetais pode ser inibidora da presença de cálcio na medida em que, sendo ambos catiões, podem fixar-se nos mesmos locais de ligação ao nível das paredes celulares. Este facto é perceptível quando verificamos que o produtor que apresenta os maiores teores de potássio é também o que apresenta valores inferiores de cálcio. Sendo o potássio um elemento mais móvel na planta em situações de excesso deste elemento, nas paredes celulares das plantas, pode ocorrer algum efeito de competição do potássio relativamente ao cálcio, com clara desvantagem para este último catião.

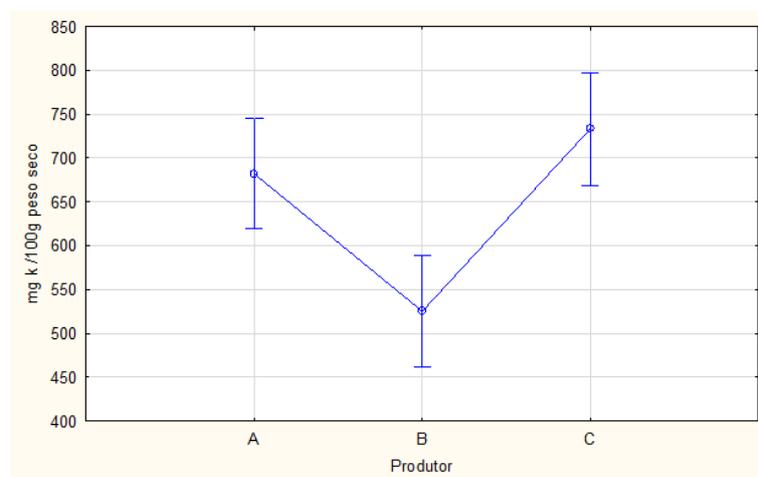


Figura 33 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de potássio para os diferentes produtores - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

Quanto à distribuição do potássio pelas diferentes zonas do fruto constata-se que é no interior do fruto que os valores são significativamente superiores (Figura 34), o que seria de esperar uma vez que ao contrário do cálcio, a mobilização do potássio continua a dar-se ao longo do desenvolvimento do fruto. Assim, será de esperar que a zona do interior do fruto seja aquela onde este elemento se encontre em maior quantidade uma vez que é o local de ligação do fruto aos feixes vasculares da planta. De igual modo, percebe-se que a zona mais afastada da região interna do fruto, (a epiderme) seja a que apresenta valores mais reduzidos.

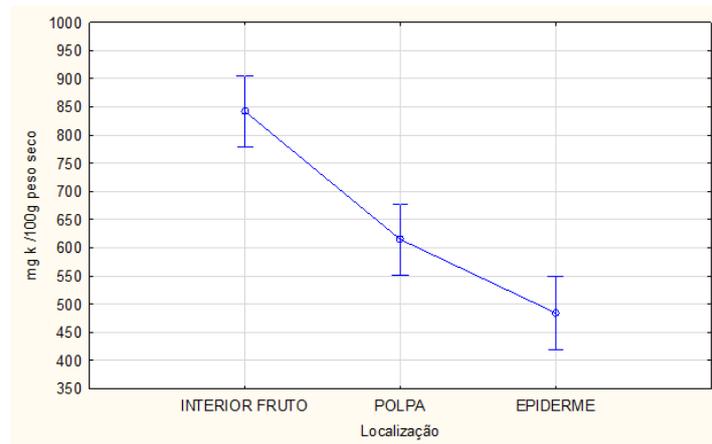


Figura 34 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de potássio nas diferentes zonas do fruto-As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

Quando analisados os valores associados aos vários produtores nas diferentes partes dos frutos constata-se que o produtor B regista tanto na epiderme como no interior do fruto valores inferiores aos restantes (Figura 35).

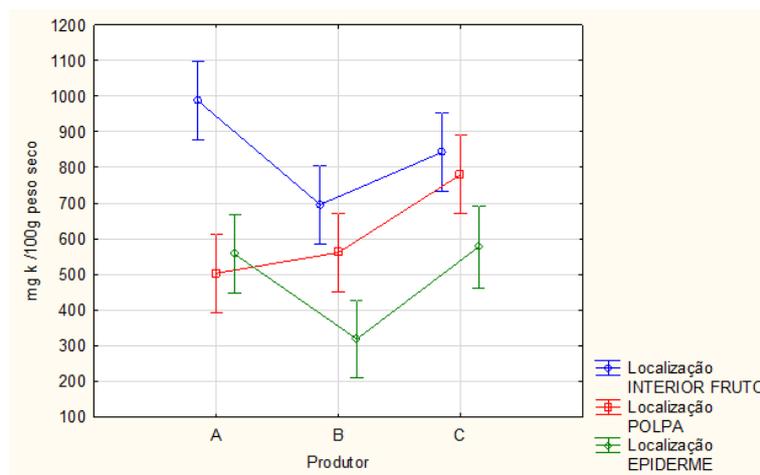


Figura 35 - Representação dos intervalos de confiança determinados para o teor de potássio nas diferentes zonas dos frutos entre os vários produtores - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

Relativamente à relação potássio/cálcio verifica-se que entre produtores existem diferenças significativas, sendo o produtor C aquele que apresenta valores superiores, o que está coerente com o observado relativamente aos teores de cálcio. A competição pelos locais de troca ao nível das paredes celulares entre o potássio e o cálcio já foi referido por Rouxinol *et al.*, (2015), que observaram a menor presença de cálcio nas paredes celulares

de morango em frutos sujeitos a níveis de adubação potássica três vezes superiores ao nível normal.

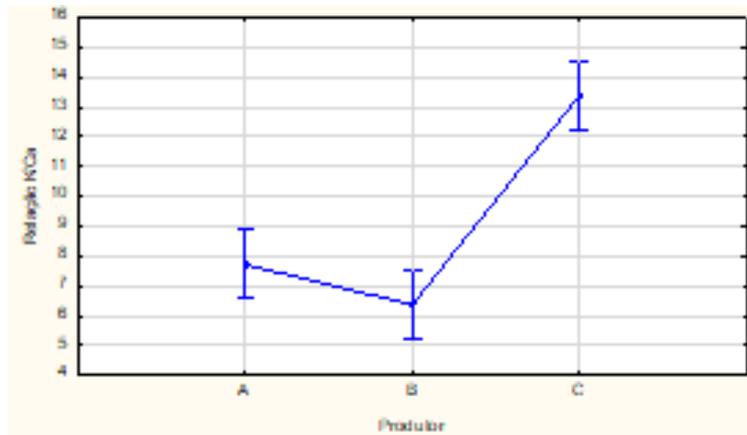


Figura 36 - Representação dos intervalos de confiança determinados para a relação K/Ca para os diferentes produtores - As barras verticais representam intervalos calculados com 95% de confiança

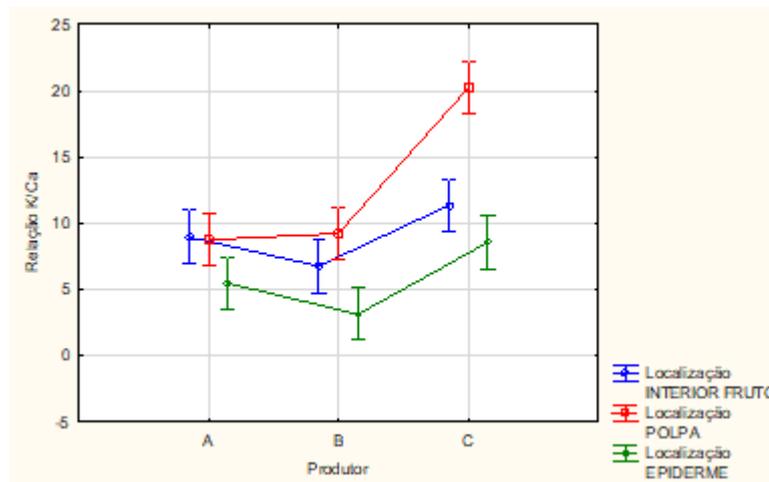


Figura 37 - Representação dos intervalos de confiança determinados para a relação K/Ca para os diferentes produtores nas diferentes zonas dos frutos

É de realçar que apesar do produtor C apresentar o valor para a relação K/Ca mais alta dos três produtores, no entanto os frutos comparativamente não apresentam uma dureza menor, contrariamente ao que foi observado por Dilmaghani *et al.*, (2005). Com efeito verifica-se que para a dureza dos frutos contribuem uma multiplicidade de fatores que se sobrepõem entre si, o que torna difícil a sua análise. Neste trabalho o facto dos frutos do produtor A apresentarem um grau de maturação mais avançado pode ter sido determinante para os resultados da dureza, sobrepondo-se o estado de maturação a todos os outros fatores que contribuem para a perda de consistência dos tecidos.

5. Conclusões Gerais

Neste estudo confirma-se que a qualidade do produto final surge como resultado de um conjunto de variados fatores que englobam tanto as características edafo climáticas do pomar como o tipo de condução e de fertilização a que este é sujeito. Desta forma é perceptível que pomares relativamente próximos geograficamente possam assumir comportamentos distintos durante o período de conservação.

Ainda que o mecanismo que leva ao AI em pera 'Rocha' não esteja totalmente esclarecido, é perceptível que tanto as características da cultivar como o equilíbrio do pomar, o momento da colheita e as características físicas e químicas individuais de cada fruto influem diretamente na ocorrência desta desordem.

Em relação à evolução dos parâmetros da qualidade, depois de analisados os resultados obtidos pode-se concluir que o armazenamento em atmosfera controlada permite a manutenção dos parâmetros de qualidade uma vez que não se verificaram diferenças significativas nos valores da firmeza, SST e AT nos vários produtores ao longo do período de conservação.

No que toca à composição mineral dos frutos, pode-se concluir que durante a conservação não se verificam diferenças significativas na localização dos nutrientes no fruto, no entanto constatou-se que frutos com sintomas de acastanhamento interno apresentavam teores inferiores de cálcio.

Apesar de nas datas de retirada de frutos da câmara não se terem verificado frutos com sintomas de acastanhamentos, verificou-se que existiram diferenças significativas entre produtores no que toca à relação K/Ca, o que pode indicar uma maior predisposição para a desordem. Neste aspeto, de acordo com a bibliografia consultada os frutos do produtor C seriam os que teriam maior predisposição para a ocorrência de fenómenos de acastanhamento.

A importância da segregação de lotes com predisposição para este tipo de acidente fisiológico leva à necessidade de criar um método rápido, exato, de fácil utilização e não destrutivo que permita a comercialização de lotes com menor potencial de conservação antes da ocorrência deste tipo de desordens, que se iniciam, por norma, após algum tempo de conservação. Assim, avaliou-se a tecnologia NIR como uma opção para a diferenciação dos lotes.

Dos vários modelos desenvolvidos utilizando a tecnologia NIR o que apresentou melhores resultados foi o do cálcio, que obteve um R^2 de 0,8 e um RPD de 2,25 apresentando alguma capacidade discriminatória. No entanto, e tendo em conta os valores obtidos para os coeficientes de determinação do modelo obtido para o potássio ($R^2=0,12$) e para a relação potássio/cálcio ($R^2=0,49$), não parece ser um modelo suficientemente robusto para utilização em centrais de armazenamento uma vez que se percebe que a medição em frutos frescos pode levar a leituras imprecisas.

De forma a validar estas conclusões seria interessante efetuar um acompanhamento dos vários produtores numa próxima campanha, de forma a aumentar o número de amostras, e conseguir tirar conclusões também sobre a fertilização efetuada, as análises ao solo, às folhas e aos frutos e ocorrência de acastanhamentos internos entre várias campanhas.

Referências

- Adams, P., & Ho, L. C. (1993). Effects of environment on the uptake and distribution of calcium in tomato and on the incidence of blossom-end rot. *Plant Soil*, *154*(1), 127–132.
- Ahmad, M. S., & Siddiqui, M. W. (2015). Postharvest Quality Assurance of Fruits: Practical Approaches for Developing Countries. In *undefined*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-21197-8>
- Alarcón, A., & Gonzáles, L. (2006). Bases prácticas para optimizar la asimilación del calcio. *Fruticultura Profesional*, 49–60.
- Alexander, J., Benford, D., Boobis, A., Ceccatelli, S., Cravedi, J.-P., di Domenico, A., Doerge, D., Dogliotti, E., Edler, L., Farmer, P., Filipič, M., Fink-Gremmels, J., Fürst, P., Guerin, T., Katrine Knutsen, H., Machala, M., Mutti, A., Schlatter, J., van Leeuwen CEF Panel members, R., ... Vernazza, F. (2010). Scientific Opinion on Melamine in Food and Feed. *EFSA Journal*, *8*(4), 1573. <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2010.1573>
- Almeida, D. (2005). Managing Calcium in the Soil-Plant-Fruit System. In *CROPS: GROWTH, QUALITY AND BIOTECHNOLOGY*. /Book_Category/1000054
- Almeida, F. (2009). *Espectroscopia de Infravermelho Próximo com Transformada de Fourier (FT-NIR) na Caracterização de Farinhas para Alimentação Pueril*.
- Alpalhão, A., Neto, C., Goulão, L., Clemente, J., Henriques, J., Lourenço, I., & Oliveira, C. M. (2009). Efeito do 1-metilciclopropeno em pêra 'Rocha' em diferentes estados de maturação armazenadas em atmosfera normal. *I Simpósio Nacional de Fruticultura*, 11.
- Amano, M., Toyoda, K., Kiba, A., Inagaki, Y., Ichinose, Y., & Shiraishi, T. (2013). Plant cell walls as suppliers of potassium and sodium ions for induced resistance in pea (*Pisum sativum* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* L.). *Journal of General Plant Pathology*, *79*(1), 12–17. <https://doi.org/10.1007/s10327-012-0418-2>
- Amarante, C. V. T. do, Argenta, C., Basso, C., & Suzuki, A. (2012). Composição mineral de maçãs "Gala" e "Fuji" produzidas no Sul do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, *47*, 550–560.
- ANP. (1997). *Caderno de Especificações Pera Rocha do Oeste* (ANP).
- Aznar, Y. (2001). *Caracterización fisiológica del Bitter Pit: aspectos nutricionales, fenológicos y de diagnóstico*.
- Barbera, G., Bellini, E., Bolognesi, G., Brigati, S., Campagna, G., Cannella, C., Casa, R. D., Fideghelli, C., Laffi, F., Musacchi, S., Ntarelli, L., Nin, S., Pasini, W., Pasqualini, E., Piazza, R., Ponti, I., & Predieri, S. (2007). *Il Pero* (Bayer CropScience S.r.l., Ed.).
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). Food chemistry. In *Food Chemistry*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-69934-7>
- Boaretto, A., Muraoka, T., & Marcelli Boaretto, R. (2003). *Absorção e Translocação de Micronutrientes, aplicados via foliar, pelos citros solos e nutrição*. 24, 177–197.

- Bonora, A., Muzzi, E., Franceschini, C., Boini, A., Bortolotti, G., Bresilla, K., Perulli, G. D., Venturi, M., Manfrini, L., & Grappadelli, L. C. (2021). Preharvest Factors Affecting Quality on “abate Fetel” Pears: Study of Superficial Scald with Multivariate Statistical Approach. *Journal of Food Quality*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/9921834>
- Brackmann, A., Both, V., Weber, A., Pivotto, E., Renan, Weber Schorr, M., & Alves dos Santos, J. R. (2012). Variação da temperatura, oxigênio e CO₂ durante o armazenamento em atmosfera controlada de maçãs ‘Royal Gala.’ *Semina: Ciências Agrárias*, 33, 2247–2256. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n6p2247>
- Calbo, C., Moretti, L., & Henz, G. P. (2007). *Respiração de frutas e hortaliças*.
- Casero, T. (1995). La nutrición cálcica en frutales. *Fruticultura Profesional*, 45–55.
- Casero, T., Xucla, F., Carrasco, V., & Guinjuan, I. (1999). Dinamica de acumulación de nutrientes en manzana. In *Investigación agraria. Producción y protección vegetales* (3rd ed., Vol. 14, pp. 465–474). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/revista?codigo=731>
- Cavaco, A. M., Pinto, P., Antunes, M. D., Silva, J. M. da, & Guerra, R. (2009). ‘Rocha’ pear firmness predicted by a Vis/NIR segmented model. *Postharvest Biology and Technology*, 51(3), 311–319. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2008.08.013>
- Clarkson, D. T. (1984). Calcium transport between tissues and its distribution in the plant. *Plant, Cell & Environment*, 7(6), 449–456. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.1984.TB01435.X>
- Couto, A. (1979). Aspectos Pomológicos da Pereira “Rocha.” *Divulgação: Ministério Da Agricultura e Pescas (Portugal)*. No. 1. <https://doi.org/10.3/JQUERY-UI.JS>
- Cramer, G., Epstein, E., & Lauchli, A. (1989). Na-Ca interactions in barley seedlings: relationship to ion transport and growth. *Plant, Cell & Environment*, 12(5), 551–558. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.1989.TB02128.X>
- Deuchande, T., Fidalgo, F., Larrigaudière, C., & Almeida, D. P. F. (2012). Internal browning disorders during storage of ‘Rocha’ pear: effects of harvest maturity and CO₂ partial pressure. *X Simposio Nacional y VII Ibérico Sobre Maduración y Postcosecha*.
- Dilmaghani, M. R., Malakouti, M. J., Neilsen, G. H., & Fallahi, E. (2005). Interactive effects of potassium and calcium on K/Ca ratio and its consequences on apple fruit quality in calcareous soils of Iran. *Journal of Plant Nutrition*, 27(7), 1149–1162. <https://doi.org/10.1081/PLN-120038541>
- Domingos, A., Correia De Barros, M., & Dias, M. (2005). *MANUSEAMENTO DE PRODUTOS HORTOFRUTÍCOLAS*. www.principia.pt
- Donghai, H., Tu, R., Lu, C., Liu, X., & Wen, Z. (2006). Nondestructive detection of brown core in the Chinese pear ‘Yali’ by transmission visible–NIR spectroscopy. *Food Control*, 8(17), 604–608. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2005.03.006>
- Drake, S. R., Gix, R. D., & Coureau, C. (2007). Quality of “Anjou” pears after different types of controlled atmosphere storage. *Journal of Food Quality*, 24(1), 27–36. <https://doi.org/10.1111/J.1745-4557.2001.TB00588.X>

- Fallahi, E., Conway, W. S., Hickey, K. D., & Sams, C. E. (1997). The Role of Calcium and Nitrogen in Postharvest Quality and Disease Resistance of Apples. *HortScience*, 32, 831–835.
- FAO. (2019). *FAO | Food and Agriculture Organization of the United Nations*. <https://www.fao.org/news/archive/news-by-date/2019/en/>
- Faust, M., & Shear, C. B. (1968). Corking disorders of apples: A physiological and biochemical review. *The Botanical Review* 1968 34:4, 34(4), 441–469. <https://doi.org/10.1007/BF02859134>
- Fearn, T. (2002). Assessing Calibrations: SEP, RPD, RER and R2: <http://Dx.Doi.Org/10.1255/Nirn.689>, 13(6), 12–13. <https://doi.org/10.1255/NIRN.689>
- Ferguson, I., Volz, R., & Woolf, A. (1999). Preharvest factors affecting physiological disorders of fruit. In *Postharvest Biology and Technology* (Vol. 15).
- Fernández, V., Sotiropoulos, T., & Brown, P. H. (2013). *Foliar Fertilization: Scientific Principles and Field Practices*. <https://www.researchgate.net/publication/235609131>
- Fragata, M. G. (1989). *O Bitter pit da maçã. Acção do cálcio na prevenção desta fisiopatia e em alguns aspetos metabólicos do fruto*.
- Franck, C., Lammertyn, J., Ho, Q. T., Verboven, P., Verlinden, B., & Nicolai, B. M. (2007). Browning disorders in pear fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 43(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2006.08.008>
- Gatti, R. (1985). Importância del calcio en la calidad de las manzanas. *Revista Frutícola*. https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-PT&as_sdt=0%2C5&q=Gatti%2C+R.+%281985%29.+Import%3%A2ncia+del+calcio+en+la+calidad+de+las+manzanas+6.+Revista+Fruticola%2C+9-11.&btnG=
- Gautier, M. (1982). Le bitter-pit des pommes. In *L'arboriculture fruitière* (Vol. 335, pp. 53–58). Hachette.
- Glenn, G. M., Rom, C. R., Rasmussen, H. P., & Poovaiah, B. W. (1990). Influence of cuticular structure on the appearance of artificially waxed 'Delicious' apple fruit. *Scientia Horticulturae*, 42(4), 289–297. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(90\)90052-G](https://doi.org/10.1016/0304-4238(90)90052-G)
- Gomes, D. G., Susana Carvalho, O., Marta Vasconcelos, C., & Deuchande, T. (2015). *Acastanhamento interno durante o armazenamento da pera "Rocha": Impacto do baixo O₂ e alto CO₂ no metabolismo e estratégias de controlo*.
- Gomes, R. C. (2018). *Previsão do estado de maturação, qualidade e relação do potencial de conservação com o índice de maturação medido com o DA-meter em Pera Rocha*. https://explore.openaire.eu/search/publication?articleId=od_____1503::1299e223ae369a940394501fcb8f7787
- Graell, J., Recasens, I., & Casero, T. (1989). Relación entre calidad y contenido mineral durante la maduración de manzanas. I Starking Delicious. *Fruticultura Profesional Journal*.
- INE. (2018). *Estatísticas Agrícolas* (Instituto Nacional Estatística, Ed.). www.ine.pt
- INIAV. (2006). *Manual de Fertilização das Culturas* (Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva, Ed.). <https://www.inia.pt/divulgacao/publicacoes-bd/manual-de-fertilizacao-das-culturas>

- IPMA. (2021). *IPMA - Clima Normais*.
<https://www.ipma.pt/pt/oclima/normais.clima/?fbclid=IwAR3ojJIREwLT2Sk8ppR5ND56z0p21tNjvD7nOT7WZhgmqDbpNS2-N7C2Do>
- Jakobsen, S. T. (1993). Nutritional disorders between potassium, magnesium, calcium, and phosphorus in soil. *Plant and Soil* 154:1, 154(1), 21–28.
<https://doi.org/10.1007/BF00011066>
- James, H. J., & Jobling, J. J. (2009). Contrasting the structure and morphology of the radial and diffuse flesh browning disorders and CO₂ injury of “Cripps Pink” apples. *Postharvest Biology and Technology*, 53(1–2), 36–42.
<https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2009.02.001>
- Jordão, F., & Paulo, A. (2011). *Pera Rocha do Oeste - Quintas e Produção* (Livro do Dia, Ed.).
- Kader, A. A. (1999). Fruit maturity, ripening, and quality relationships. *Acta Horticulturae*, 485, 203–208. <https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.1999.485.27>
- Kader, A. A. (2002). *Postharvest technology of horticultural crops* (3rd ed.). University of California, Agriculture and Natural Resources.
- Kalcsits, L., van der Heijden, G., Reid, M., & Mullin, K. (2017). Calcium absorption during fruit development in ‘honeycrisp’ apple measured using ⁴⁴Ca as a stable isotope tracer. *HortScience*, 52(12), 1804–1809. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI12408-17>
- Lara, I. (2013). Bases bioquímicas y fisiológicas de la maduración. In Inmaculada VIÑAS & Inmaculada RECASENS (Eds.), *Postcosecha de pera, manzana y melocotón* (Mundi-Prensa, pp. 75–115). <https://www.researchgate.net/publication/256309452>
- Larrigaudière, C., Balenciaga, C., Giné-Bordonaba, J., & Usall, R. J. (2017). *El corazón pardo en pera: conocimientos actuales y sistemas de prevención*. .
- Larrigaudière, C., Lentheric, I., Puy, J., & Pintó, E. (2004). Biochemical characterisation of core browning and brown heart disorders in pear by multivariate analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 31(1), 29–39. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(03\)00132-7](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00132-7)
- Lombardi, S. R. B., de Moraes, D. M., & Camelatto, D. (2000). Avaliação do crescimento e da maturação pós-colheita de pêras da cultivar shinsseiki. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35(12), 2399–2405. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2000001200010>
- Loneragan, J. F., Snowball, K., & Simmons, W. J. (1968). Response of plants to calcium concentration in solution culture. *Australian Journal of Agricultural Research*, 19(6), 845–857. <https://doi.org/10.1071/AR9680845>
- Manley, M. (2014). Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging: non-destructive analysis of biological materials. *Chemical Society Reviews*, 43(24), 8200–8214.
<https://doi.org/10.1039/C4CS00062E>
- Martin, M. S. (2015). *QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE PERAS “ROCHA” ARMAZENADAS EM ATMOSFERA CONTROLADA E A RELAÇÃO DO ESCURECIMENTO DA POLPA COM A COMPOSIÇÃO MINERAL DOS FRUTOS*.
- Martins, M. M., & Empis, J. (2000). *Produtos hortofrutícolas frescos ou minimamente processados. Processamentos mínimos*. SPI.

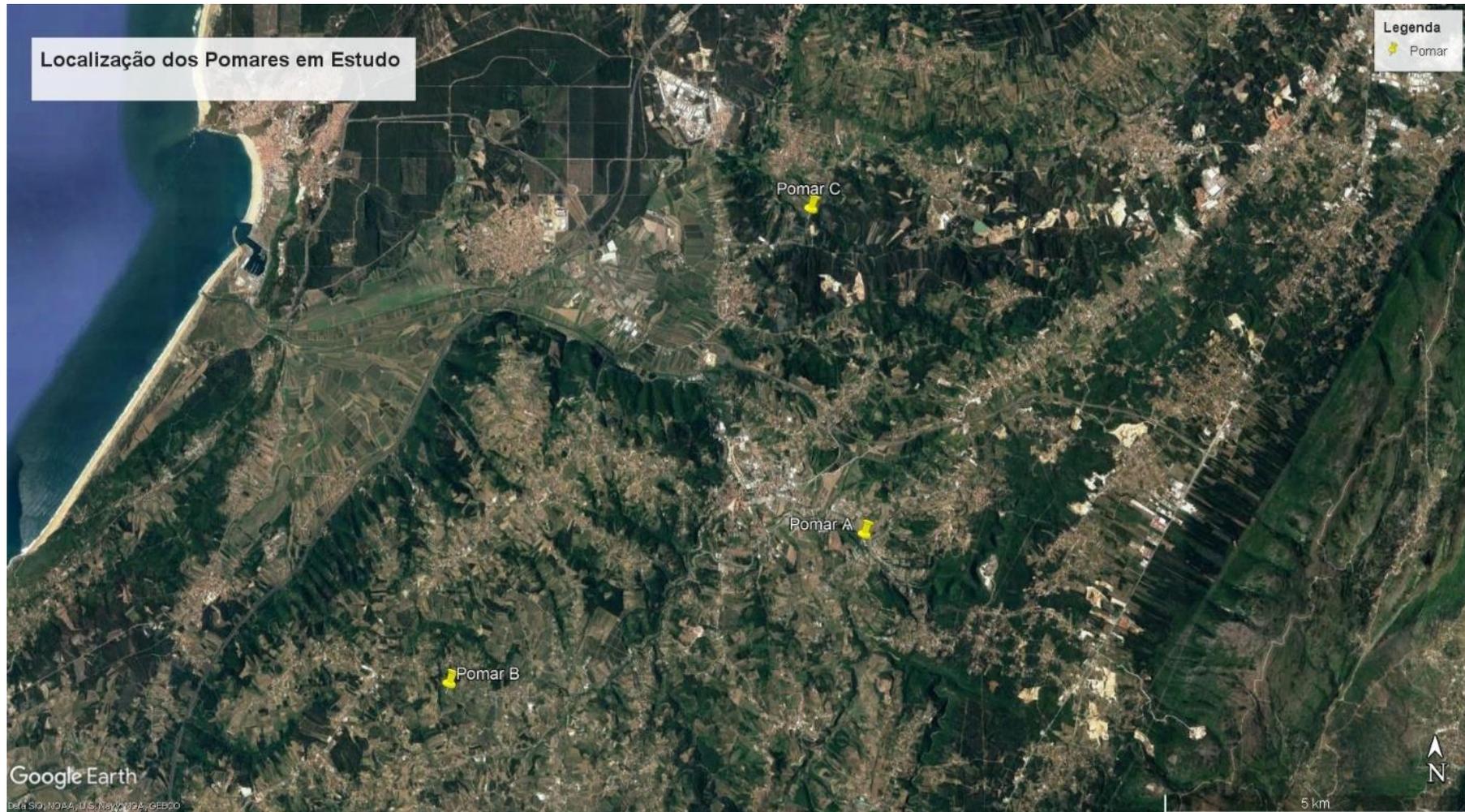
- Mengel, K., Kirkby, E. A., Kosegarten, H., & Appel, T. (2001). Principles of Plant Nutrition. In Kuwer Academic Press (Ed.), *Principles of Plant Nutrition*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-010-1009-2>
- Miqueloto, A., Vidal Talamini do Amarante, C., André Steffens, C., dos Santos, A., Miqueloto, T., & Paulo Generoso Silveira, J. (2011). Atributos fisiológicos, físico-químicos e minerais associados à ocorrência de “bitter pit” em maçãs. In *Pesq. agropec. bras* (Vol. 46, Issue 7).
- Montull, M. R. (2003). Bitter pit: el caro y viejo problema. *Fruticultura Profesional*, ISSN 1131-5660, N° Extra 139, 2003 (*Ejemplar Dedicado a: Primer Congreso Iberoamericano de Nutrición Vegetal Agrolatino*), Págs. 18-19, 139, 18–19. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=762796>
- Nachtigall, G. R. (2004). *Maçã : produção*. Embrapa Uva e Vinho.
- Næs, T., Isaksson, T., Fearn, T., & Davies, T. (2017). A user-friendly guide to Multivariate Calibration and Classification. *A User-Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification*. <https://doi.org/10.1255/978-1-906715-25-0>
- Oliveira, A. F. (2015). *Análise de produtos agroalimentares, utilizando técnicas espectrofotométricas*.
- Pereira, P. S., & Rosseau, J. A. (2001). *Manual de Estudos de Mercado e Consumidores* (Sociedade Portuguesa de Inovação, Ed.). <https://spi.pt/documents/books/hortofruticolas/Wc859e28102a89.asp>
- Pinto, Z., Miguel, P., & Morais, A. M. M. (2000). *Boas Práticas para a Conservação de Produtos Hortofrutícolas*.
- Polito, V. S. (1986). Intracellular calcium dynamics: Regulation of cell function and implications for stress tolerance. *Acta Horticulturae*, 179, 405–412. <https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.1986.179.62>
- Portela, E., & Abreu, M. M. (2018). Fixação do potássio nos solos portugueses. *Revista de Ciências Agrárias*, 41(3), 569–591. <https://doi.org/10.19084/rca18100>
- Prado, R. de M. (2008). *Nutrição de plantas* (UNESP, Ed.; 2ª edição). <http://editoraunesp.com.br/catalogo/9788539308248,nutricao-de-plantas-2-edicao>
- Pratella, G. (1996). La butteratura amara nelle mele conservate. *Revista de Fruticultura e Di Ortifloricoltura*, 6, 79–83.
- Pusittigul, I., Siriphanich, J., & Junttee, C. (2014). Role of calcium on internal browning of pineapples. *Acta Horticulturae*, 1024, 329–338. <https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.2014.1024.45>
- Raese, J. T., & Drake, S. R. (2000). Effect of calcium sprays, time of harvest, cold storage, and ripeness on fruit quality of “Anjou” pears. *Journal of Plant Nutrition*, 23(6), 843–853. <https://doi.org/10.1080/01904160009382065>
- Rouxinol, M., Rato, A. E., & Santos, A. (2015). Effect of Potassium Fertilization on Calcium Content in Cell Walls. *VIII Congress CYTASA/CESIA*. https://www.researchgate.net/publication/311695090_Effect_of_Potassium_Fertilization_on_Calcium_Content_in_Cell_Walls

- Santos, A., & Aguilar, D. (2000). *Fertilización Foliar, un respaldo importante en el rendimiento de los cultivos: Foliar Fertilization, an Important Enhancing for the Crop Yield*.
- Santos, J. Q. (2015). *Fertilização, Fundamentos agroambientais da utilização dos adubos e corretivos* (Publindústria, Ed.).
- Saquet, A. A., & Streif, J. (2006). Fermentative metabolism in “Conference” pears under various storage conditions. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *81*(5), 910–914. <https://doi.org/10.1080/14620316.2006.11512158>
- Siddiqui, M. (2017). *Preharvest Modulation of Postharvest Fruit and Vegetable Quality - 1st Edition* (Academic Press, Ed.; 1st ed.).
- Siesler, H. W., Ozaki, Y., Kawata, S., & Heise, H. M. (2002). Near-infrared spectroscopy. Principles, instruments, applications. *Journal of Chemometrics*, *16*(12), 636–638. <https://doi.org/10.1002/CEM.762>
- Silva, F., Fidalgo, F., & Almeida, D. (2009). Influência da atmosfera controlada diferida na actividade antioxidante e acastanhamentos internos da pêra ‘Rocha’. *Actas Portuguesas Da Horticultura*, *1*, 198–205.
- Silva, H., & Rodriguez, J. (1996). Desordenes Fisiologicos del fruto en pomaceas inducidos por la deficiencia de calcio - enfoque integral del problema. *Revista Fruticola*, 5–17.
- Silva, M. (1989). *Do “Bitter pit” na maçã. Esboço de análise na variedade “reineta do Canadá”, com ênfase na rega e na aplicação de cálcio*.
- Soares, J., Silva, A., & Alexandre, J. (2001). *O Livro da Pera Rocha - Volume Primeiro* (Associação Nacional de Produtores de Pera Rocha, Ed.).
- Soares, J., Silva, A., & Marques, H. (2003). *O Livro da Pera Rocha - Volume Segundo* (Associação Nacional de Produtores de Pera Rocha, Ed.).
- Streif, J., Saquet, A. A., & Xuan, H. (2003). CA-related disorders of apples and pears. *Acta Horticulturae*, *600*, 223–230. <https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.2003.600.29>
- Sutton, T. B., Walgenbach, J. F., Aldwinckle, H. S., Agnello, A. (Art), & American Phytopathological Society. (2014). *Compendium of apple and pear diseases and pests*.
- Taiz, L., Zeiger Ian Max Møller, E., & Murphy, A. (2017). *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal - 6ª Edição*.
- Thompson, J. F., Mitchell, F., Rumsey, T., Kasmire, R., & Crisosto, C. (2002). *Commercial Cooling of Fruits, Vegetables, and Flowers* (University of California, Ed.).
- Tomala, K. (1997). Predicting storage ability of ‘cortland’ apples. *Acta Horticulturae*, *448*, 67–73. <https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.1997.448.6>
- Trincherro, G. D., Sozzi, G. O., Covatta, F., & Fraschina, A. A. (2004). Inhibition of ethylene action by 1-methylcyclopropene extends postharvest life of “Bartlett” pears. *Postharvest Biology and Technology*, *32*(2), 193–204. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2003.11.009>
- Turner, N. A., Ferguson, I. B., & Sharples, R. O. (1977). Sampling and analysis for determining relationship of calcium concentration to bitter pit in apple fruit. *New Zealand Journal of*

- Agricultural Research*, 20(4), 525–532.
<https://doi.org/10.1080/00288233.1977.10427369>
- van Falcón, J. (2003). Absorción, transporte y uso de nutrientes en las plantas: el. *Suplemento de Fruticultura PROFESIONAL*. <https://agroinforma.ibercaja.es/documentos/absorcion-transporte-y-uso-de-nutrientes-en-las-plantas>
- Varenes, A. de. (2003). *Produtividade dos solos e ambiente* (Escolar Editora, Ed.). Escolar Editora.
- WAPA. (2021). *WAPA - The World Apple and Pear Association*. World Data Report.
<http://www.wapa-association.org/asp/index.asp>
- Weber, A., Brackmann, A., Anese, R. de O., Both, V., & Pavanello, E. P. (2013). Controlled atmosphere to the storage of “Maxi Gala” apples. *Revista Ciencia Agronomica*, 44(2), 294–301. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902013000200011>
- Weinbaum, S. A., Dejong, T. M., & Maki, J. (2001). Reassessment of Seed Influence on Return Bloom and Fruit Growth in “Bartlett” Pear. In *HORTSCIENCE* (Vol. 36, Issue 2).
- Werth, K. (1995). *Farbe & Qualität der Südtiroler Apfelsorten* (Vog Bozen, Ed.; 88th ed.).
<https://www.amazon.de/-/en/Kurt-Werth-Hrsg/dp/B08L515V11>
- Wills, R. B. H., McGlasson, W. B., Graham, D., & Joyce, D. (1998). *Postharvest : An Introduction to the Physiology & Handling of Fruit, Vegetables & Ornamentals* (Oxford University Press, Ed.; 4th ed.). UNSW Press.
- Wittwer, S., & Teubner, F. (1959). Foliar Absorption of Mineral Nutrients. *Annual Review of Plant Physiology*, 10, 13–30.
- Wójcik, P. (2012). QUALITY AND ‘CONFERENCE’ PEAR STORABILITY AS INFLUENCED BY PREHARVEST SPRAYS OF CALCIUM CHLORIDE. *Journal of Plant Nutrition*, 35(13), 1970–1983. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.716890>
- Wojcik, P., & Wojcik, M. (2003). Effects of boron fertilization on “Conference” pear tree vigor, nutrition, and fruit yield and storability . In Springer (Ed.), *Plant and Soil* (2nd ed., Vol. 256, pp. 413–421). <https://www.jstor.org/stable/24124261>
- Wold, S., Sjöström, M., & Eriksson, L. (2001). PLS-regression: a basic tool of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 58(2), 109–130.
[https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(01\)00155-1](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(01)00155-1)
- Yamada, Y., Wittwer, S., & Bukovac, M. (1964). Penetration of Ions through Isolated Cuticles. *Plant Physiology*.
- Yan, S., Li, L., He, L., Liang, L., & Li, X. (2013). Maturity and cooling rate affects browning, polyphenol oxidase activity and gene expression of “Yali” pears during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 39–44.
<https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2013.04.016>
- Yu, J., Niu, L., Yu, J., Liao, W., Xie, J., Lv, J., Feng, Z., Hu, L., & Dawuda, M. M. (2019). The involvement of ethylene in calcium-induced adventitious root formation in cucumber under salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5).
<https://doi.org/10.3390/ijms20051047>

Zerbini, E. P. (2002). The Quality of Pear Fruit. *Acta Horticulturae*, 596, 805–810.
<https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.2002.596.139>

ANEXO II - Imagem de Satélite



ANEXO III - Teste de Tukey entre parâmetro b e produtores

Tukey HSD test; variable b(D65) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,90913, df = 81,000*

No.	Produtor	{1}	{2}	{3}
		42,169	41,181	40,854
1	A		0,000478	0,000110
2	B	0,000478		0,385145
3	C	0,000110	0,385145	

ANEXO IV - Teste de Tukey entre firmeza e datas

Tukey HSD test; variable FirmezaEpi (N) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 24,568, df = 81,000

No.		{1}	{2}	{3}
		43,368	43,726	41,743
1	Data 1		0,957911	0,416199
2	Data 2	0,957911		0,273531
3	Data 3	0,416199	0,273531	

ANEXO V - Teste de Tukey entre firmeza e produtores

Tukey HSD test; variable FirmezaEpi (N) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 24,568, df = 81,000

No.	Produtor	{1}	{2}	{3}
		38,688	45,409	44,740
1	A		0,000111	0,000132
2	B	0,000111		0,860366
3	C	0,000132	0,860366	

ANEXO VI - Teste de Tukey entre acidez titulável, data e produtores

Tukey HSD test; variable % Acidez Titulável Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00216, df = 81,000

Cell No.	Var1	Prod utor	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}
			,3078 6	,1703 9	,1784 3	,1623 7	,1550 4	,1936 7	,1871 1	,1467 0	,1828 1
1	Data 1	A	0,000 132	0,000 132	0,000 132	0,000 132	0,000 143	0,000 135	0,000 132	0,000 132	0,000 133
2	Data 1	B	0,000 132	0,999 985	0,999 986	0,998 077	0,969 409	0,996 477	0,966 004	0,999 605	
3	Data 1	C	0,000 132	0,999 985	0,997 347	0,968 519	0,998 186	0,999 974	0,839 071	1,000 000	
4	Data 2	A	0,000 132	0,999 986	0,997 347	0,999 993	0,849 153	0,956 299	0,997 760	0,986 392	
5	Data 2	B	0,000 132	0,998 077	0,968 519	0,999 993	0,642 561	0,831 268	0,999 981	0,916 977	
6	Data 2	C	0,000 143	0,969 409	0,998 186	0,849 153	0,642 561	0,999 997	0,377 458	0,999 855	
7	Data 3	A	0,000 135	0,996 477	0,999 974	0,956 299	0,831 268	0,999 997	0,584 913	1,000 000	
8	Data 3	B	0,000 132	0,966 004	0,839 071	0,997 760	0,999 981	0,377 458	0,584 913	0,720 935	
9	Data 3	C	0,000 133	0,999 605	1,000 000	0,986 392	0,916 977	0,999 855	1,000 000	0,720 935	