

**Estratégias de reversão do efeito do 1-MCP em pera ‘Rocha’
durante o armazenamento, seu efeito na capacidade de
amadurecimento após conservação e na ocorrência de acidentes
fisiológicos**

Beatriz Silva Lopes

Dissertação para a obtenção do Grau Mestre em

Engenharia Agronómica

Orientadores: Doutora Mariana da Silva Gomes Mota
Doutor Justino Manuel Ventura Sobreiro

PRESIDENTE

Doutor Joaquim Miguel Rangel da Cunha Costa, Professor auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

VOGAIS

Doutora Elisabete Tavares Lacerda de Figueiredo Oliveira, Professora auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa;
Doutora Ana Cristina Ferreira de Oliveira Rodrigues, Professora adjunta convidada da Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico de Leiria;

Doutora Mariana da Silva Gomes Mota, Técnica superior do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

2022

Agradecimentos

A realização desta dissertação não teria sido possível sem o apoio e a influência de várias pessoas e entidades, às quais aqui deixo o meu sincero agradecimento.

Em primeiro lugar, à minha orientadora, Professora Doutora Mariana Mota. Por toda a disponibilidade, ajuda e apoio. Por me receber sempre com um sorriso e uma palavra positiva. Por nunca deixar para trás os seus alunos, o meu agradecimento.

Ao Rocha Center, em especial à Professora Doutora Ana Cristina Rodrigues e ao Professor Doutor Justino Sobreiro.

Aos meus pais e irmão, a quem eu devo tudo o que sou e tudo o que alcancei. Sem o vosso amor, apoio, paciência e, acima de tudo, exemplo eu não estaria aqui.

Às minhas queridas avós, Albertina e Emília por, de formas tão diferentes, serem um exemplo de força e resiliência. São a minha maior inspiração.

Ao Afonso, por ser o meu companheiro de todas as horas. Obrigada por caminhares sempre a meu lado.

Resumo

O 1-metilciclopropeno (1-MCP) é utilizado para a prevenção do escaldão superficial (ES) em peras 'Rocha' sujeitas a armazenamento prolongado em atmosfera controlada, porém bloqueia irreversivelmente a maturação do fruto, mesmo após a conservação quando seria desejada. Neste contexto, procurou-se com este estudo avaliar o efeito de diferentes stresses na reversão do 1-MCP, monitorizando a capacidade de amadurecimento dos frutos após a conservação e o aparecimento de acidentes fisiológicos nas diferentes modalidades de conservação.

Peras 'Rocha', colhidas em três pomares distintos da zona do Oeste foram tratadas com 1-MCP e armazenados em condições de atmosfera normal (AN) durante 40 dias seguindo-se o armazenamento em condições de atmosfera controlada (O_2 a 4 % e CO_2 a 0,5 %) até ao final do ensaio. Em janeiro foram submetidos a *stresses* de: a) temperatura, b) etileno e temperatura, c) temperatura e dióxido de carbono, d) temperatura (4°C), etileno e dióxido de carbono, e) etileno, f) etileno e dióxido de carbono, durante 15 dias. Avaliaram-se em termos físico-químicos (dureza, IR, cor, capacidade antioxidante, concentração de α – *farneseno* e trienos conjugados) os frutos no momento da saída do armazenamento e após 7 dias em condições de prateleira, analisando visualmente a presença de desordens fisiológicas como o acastanhamento interno e o escaldão superficial.

O stress induzido pela temperatura demonstrou-se determinante na reversão do efeito do 1-MCP, tanto isoladamente como combinado com os restantes *stresses*, já estes por si só demonstraram um comportamento igual às testemunhas não submetidas a nenhum *stress*, indicando uma ausência de efeito na reversão.

O 1-MCP permitiu a manutenção dos parâmetros de qualidade e a prevenção total do ES comparativamente com o regime de *ultra low oxygen* (ULO). Os *stresses* demonstraram agravar a incidência de AI, mas com baixa severidade e sem diferenças significativas entre as condições de stress, o que se reflete na ausência de diferenças significativas nos percursos dos acidentes fisiológicos. O *shelf-life* de sete dias mostrou-se suficiente e necessário para a reativação do metabolismo do fruto.

Palavras-chave: *Pyrus communis* L., 1-metilciclopropeno, atmosfera controlada, acastanhamento interno, escaldão superficial.

Abstract

The 1-methylcyclopropene (1-MCP) is used for the prevention of superficial scald (ES) in 'Rocha' pears subjected to prolonged storage in controlled atmosphere, but irreversibly blocks fruit ripening, even after conservation when it would be desired. In this context, the aim of this study was to evaluate the effect of different stresses on the reversal of 1-MCP, monitoring the fruit ripening capacity after conservation and the appearance of physiological accidents in the different conservation modalities.

'Rocha' pears, harvested from three different orchards in the West zone were treated with 1-MCP and stored under normal atmosphere (NA) conditions for 40 days followed by storage under controlled atmosphere conditions (O_2 at 4 % and CO_2 at 0.5 %) until the end of the trial. In January they were subjected to stresses of: a) temperature, b) ethylene and temperature, c) temperature and carbon dioxide, d) temperature (4°C), ethylene and carbon dioxide, e) ethylene, f) ethylene and carbon dioxide, for 15 days. The fruits were evaluated in physico-chemical terms (hardness, IR, colour, antioxidant capacity, concentration of α -farnesene and conjugated trienes) at the time of leaving storage and after 7 days under shelf conditions, visually analysing the presence of physiological disorders such as internal browning and superficial scald.

The stress induced by temperature proved to be determinant in reversing the effect of 1-MCP, both isolatedly and combined with the other stresses, since these alone showed a behaviour equal to the witnesses not subjected to any stress, indicating an absence of effect in reversion.

1-MCP allowed the maintenance of quality parameters and the total prevention of ES compared to the ultra low oxygen (ULO) regime. Stresses were shown to aggravate the incidence of AI, but with low severity and no significant differences between stress conditions, reflected in the absence of significant differences in physiological accident precursors. The shelf-life of seven days proved to be sufficient and necessary for the reactivation of the fruit metabolism.

Key words: *Pyrus communis* L., 1-methylcyclopropene, controlled atmosphere, internal browning, superficial scald.

Índice

Agradecimentos	2
Resumo	3
Abstract	4
Símbolos e abreviaturas	10
1. Introdução	11
1.1 <i>Enquadramento</i>	11
2. Revisão bibliográfica	13
2.1 <i>Pereira ‘Rocha’</i>	13
2.2 <i>Pera ‘Rocha’</i>	13
2.3 <i>Produção e comercialização</i>	14
2.4 <i>Características do fruto</i>	16
2.5 <i>Fisiologia da maturação da pera ‘Rocha’</i>	18
2.5.1 <i>Fruto climatérico</i>	18
2.5.2 <i>Etileno</i>	19
2.6 <i>Conservação de pera ‘Rocha’</i>	21
2.6.1 <i>Objetivos da conservação</i>	21
2.6.2 <i>Tecnologias de conservação</i>	22
2.6.3 <i>Problemas que surgem durante o período de conservação a longo prazo</i>	25
2.6.4 <i>Abordagens para a mitigação dos problemas surgidos no armazenamento</i>	31
3. Materiais e métodos	34
3.1 <i>Material vegetal</i>	34
3.2 <i>Tratamentos com 1-MCP e condições de armazenamento</i>	35
3.3 <i>Metodologia</i>	36
3.3.1 <i>Determinação da dureza</i>	36
3.3.2 <i>Teor de sólidos solúveis</i>	36
3.3.3 <i>Cor</i>	37
3.3.4 <i>Acastanhamentos internos</i>	37
3.3.5 <i>Escaldão</i>	38
3.3.6 <i>Acidez titulável</i>	38
3.3.6 <i>Capacidade antioxidante</i>	38
3.3.7 <i>Concentração de α-farneseno e trienos conjugados</i>	39
3.3.8 <i>Delineamento experimental</i>	39
3.4 <i>Análise estatística</i>	40
4. Resultados e discussão	40
4.1 <i>Ensaio</i>	40

4.1.1 Caracterização dos frutos à colheita	40
4.1.2 Caracterização dos frutos no pré-stress.....	43
4.1.3 Caracterização dos frutos no pós-stress	45
4.1.4 Caracterização dos frutos no final	48
4.1.5 Comparação da ocorrência de acidentes fisiológicos entre câmaras	52
<i>4.2 Comparação entre os períodos de análise</i>	<i>54</i>
4.2.1 Comparação entre colheita e pré-stress	54
4.2.2 Comparação entre pré-stress e pós-stress	55
4.2.3 Comparação entre o pós-stress e o final.....	57
4.2.4 Breve apreciação da evolução temporal dos parâmetros tonalidade, dureza e capacidade antioxidante.....	58
5. Conclusão	66
Bibliografia	68

Índice de Figuras

Figura 1- Variação da área (ha) e produção (ton) de pera 'Rocha' em Portugal (GPP, 2021) -----	14
Figura 2- Principais destinos de exportação de pera 'Rocha' em 2020 (GPP, 2021)	16
Figura 3- Pera 'Rocha' (fonte: Rocha do Oeste)-----	17
Figura 4- Variação da taxa de respiração, produção de etileno e crescimento de frutos no ciclo de vida de frutos climatéricos e não climatéricos. Adaptado de Valente et al, 2019-----	18
Figura 5- Síntese do etileno e fatores que influenciam a sua síntese e ação (adaptado de: Dias et al., 2021)-----	20
Figura 6- Efeito do controlo da temperatura e da humidade relativa na longevidade pós-colheita e na sua conjugação com tecnologias complementares em produtos frutícolas (Almeida, 2005) -----	22
Figura 7- Acastanhamento interno (A- grau de severidade 5; B- grau de severidade 3) (Gomes, 2015) -----	26
Figura 8- Sintomas de escaldão superficial em pera 'Rocha' (fonte: Autor)-----	29
Figura 9 - Desencadeamento do escaldão superficial em pera conservada a baixas temperaturas. Adaptado de: Laurie & Watkins, 2012).-----	30
Figura 10- Diagrama do espaço de cor CIE L*C*h (Konica Minolta) -----	37
Figura 11- Comparação de dureza entre o momento de análise pré-stress e o momento de análise final.-----	59
Figura 12- Comparação de dureza entre o momento de análise do pré-stress e o momento de análise final.-----	60
Figura 13- Comparação do parâmetro tonalidade da cor entre os momentos de análise pré-stress e final. -----	61
Figura 14- Incidência de escaldão superficial no momento de análise final. -----	62
Figura 15- Incidência de acastanhamentos internos no momento de análise final. -	62
Figura 16 - Evolução ao longo do estudo da tonalidade das peras por câmara, representada por h° -----	63
Figura 17 - Evolução da dureza das peras por câmara ao longo do estudo, medida em kg/ 0,5 cm2 -----	64

Figura 18 - Evolução ao longo do estudo da capacidade antioxidante das peras por câmara, medida em mg / g -----	65
---	----

Índice de Quadros

Quadro 1 - Produção de pera (ton) e produção certificada DOP (ton e %) de pera 'Rocha' entre 2010 e 2020 (GPP, 2021)	15
Quadro 2 - Composição nutricional de pera 'Rocha' (por 100g de parte edível) (Adaptado de: tabela da composição de alimentos do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge).....	17
Quadro 3 - Delineamento experimental das condições de stress por câmara	35
Quadro 4 - Delineamento experimental (d1 - dia 1; d7 - dia 7; f- frutos; TC- trienos conjugados)	39
Quadro 5 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade, entre pomares à colheita	42
Quadro 6 – Comparação, à colheita, das médias dos parâmetros de caracterização bioquímica dos frutos de três pomares em estudo.....	42
Quadro 7 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade analisados no pré-stress, a dia 1 e a dia 7.	43
Quadro 8 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos analisados no pré-stress, a dia 1 e a dia 7.	44
Quadro 9 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre pomares a dia 1 e a dia 7, tendo em conta o fator pomar, no pré-stress.....	44
Quadro 10 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos entre pomares a dia 1 e a dia 7, tendo em conta o fator pomar, no pré-stress.....	45
Quadro 11 - Comparação de médias dos parâmetros de qualidade entre dia 1 e dia 7 no pós-stress	46
Quadro 12 - Comparação de médias dos parâmetros bioquímicos entre dia 1 e dia 7 no pós-stress	46
Quadro 13 - Comparação de médias dos parâmetros de qualidade entre câmaras no pós-stress	47

Quadro 14 - Comparação de médias dos parâmetros bioquímicos entre câmaras no pós-stress	47
Quadro 15 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre pomares no pós-stress	48
Quadro 16 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos entre pomares no pós-stress	48
Quadro 17 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre câmaras no final	49
Quadro 18 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos entre câmaras no final	50
Quadro 19 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre dia 1 e dia 7 no final	50
Quadro 20 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos entre dias no final	51
Quadro 21 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre pomares no final	51
Quadro 22 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos entre pomares no final	51
Quadro 23 - Índice de incidência de escaldão superficial e índice de incidência de acastanhamento interno no pós-stress e no final.....	52
Quadro 24 - Comparação da incidência de acastanhamento interno por câmara através de testes de comparação de proporções. (ns- não significativo, s-significativo).....	53
Quadro 25 - Comparação de médias dos parâmetros de qualidade entre colheita e pré-stress.....	54
Quadro 26 - Comparação de médias dos parâmetros bioquímicos entre colheita e pré-stress.....	55
Quadro 27 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre a colheita (C0) e o pré-stress (C1 a C7)	56
Quadro 28 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre a colheita (C0) e o pré-stress (C1 a C7)	57
Quadro 29 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade no protocolo normal de 1-MCP no pós-stress e final	57

Quadro 30 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos no protocolo normal de 1-MCP no pós-stress e final	58
---	----

Símbolos e abreviaturas

AC- Atmosfera controlada

AI- Acastanhamentos internos

ACC- Ácido aminociclopropano-1-carboxílico

ACD- Atmosfera controlada diferida

ACS- ACC sintase

ATP- Adenosinatrifosfato

C_2H_4 - Etileno

C_4H_6 - 1-Metilciclopropeno

CO_2 - Dióxido de carbono

DL_{50} - Dose letal média

DOP- Denominação de Origem Protegida

DPA- Difenilamina

DPPH- 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

HR- Humidade relativa

IR- índice refratométrico

LO- *Low oxygen*

1-MCP- 1-Metilciclopropeno

MTA- 5'-metil-adenosina

O_2 - Oxigénio

Ppb- Parte por bilião

PPO- Polifenoloxidase

SAM- S-adenosil-metionina

ULO- *Ultra low oxygen*

1. Introdução

1.1 Enquadramento

A pera 'Rocha' é um produto hortofrutícola de referência em Portugal que teve o seu primeiro registo na zona de Sintra, porém reconhece-se que as suas características ímpares são potenciadas pela localização da produção atual, no Oeste de Portugal. Por essa razão foi-lhe atribuído, em 2003, a Denominação de Origem Protegida (DOP), denominação que identifica o produto como originário da região do Oeste e estabelece que as suas qualidades ou características se devem essencialmente a este meio geográfico específico, incluindo os fatores naturais e humanos do local. Desde então, a popularidade deste fruto tem aumentado muito significativamente, contando com 12 500 ha de área de produção, correspondentes a 153 000 toneladas, no ano 2019, das quais cerca de 67% têm como destino os mercados internacionais (GPP, 2021). As exportações têm tido um aumento sustentado ao longo dos anos, passando de 14 M€ em 2000 para 90 M€ em 2019.

As suas características permitem o armazenamento prolongado em atmosfera controlada (AC) até 10 meses, suprimindo as necessidades do consumidor ao longo do ano, bem como o escoamento das produções crescentes. À procura crescente deste produto acrescenta-se, cada vez mais, uma preocupação com a qualidade dos produtos hortofrutícolas ao longo da cadeia de valor, desde o produtor ao retalho, para satisfazer um consumidor sucessivamente mais exigente e informado sobre as escolhas dos seus produtos. Características como a cor da epiderme e a dureza da polpa são aspetos determinantes no momento da compra. No entanto, a ocorrência de acidentes fisiológicos, como os fenómenos de acastanhamento interno e o escaldão superficial, podem manifestar-se no decorrer da conservação ou no período de prateleira e têm vindo a ser associados às condições de armazenamento. Estes acidentes fisiológicos internos são detetados apenas no momento do consumo, o que leva à insatisfação do consumidor e posterior decréscimo do consumo de pera 'Rocha'.

A pera é um fruto climatérico, no qual as principais modificações, resultantes do amadurecimento, são reguladas pelo etileno e pelo aumento da taxa respiratória. Em alguns casos, como estratégia de conservação e de modo a permitir o prolongamento do armazenamento e a prevenção do escaldão superficial, tem-se vindo a utilizar um regulador de crescimento, o 1-metilciclopropeno (1-MCP), um antagonista do etileno, que irá bloquear os recetores de etileno ligando-se irreversivelmente a estes, impedindo os processos fisiológicos de amadurecimento dos frutos.

No entanto, as centrais fruteiras debatem-se atualmente com problemas resultantes da utilização do 1-MCP. Apesar deste tratamento permitir a utilização de atmosferas controladas (AC) com valores de O_2 de 4% e apresentar resultados favoráveis na redução do escaldão superficial (ES), impede o amadurecimento normal do fruto no tempo de prateleira e afeta a sua qualidade final, nomeadamente na produção de voláteis característicos. Estes constrangimentos resultam em perdas significativas no setor e atualmente ainda não existe um produto alternativo. A sustentabilidade da produção está assim condicionada pela capacidade de desenvolvimento de novas tecnologias de pós-colheita, bem como de estratégias de monitorização e regulação do amadurecimento da pera 'Rocha', após o tratamento com 1-MCP, para garantir a excelência deste produto na chegada ao consumidor.

Acidentes fisiológicos, como o acastanhamento interno (AI), são problemas que os produtores de pera 'Rocha' têm vindo a enfrentar no armazenamento a longo prazo. Sendo a pera 'Rocha' um produto tipicamente português, com pouca expressão na produção mundial, ainda não existem estudos que reúnam um consenso para auxiliar na otimização das práticas de conservação desta cultivar, assim como das práticas culturais. Esta questão tornou-se especialmente importante após a proibição do uso de antioxidantes pós-colheita como a difenilamina, que veio criar um novo contexto ao qual o setor nacional teve que se adaptar (Saquet et al., 2017).

Posto isto, visando contribuir para uma resposta aos acidentes fisiológicos causados pelo armazenamento prolongado e à necessidade de reverter o efeito do 1-MCP, é de interesse estudar condições de pós-colheita que permitam otimizar a conservação da pera e garantir que, após o armazenamento, se desenvolvam as características organolépticas intrínsecas, satisfazendo o consumidor quanto a este produto de referência.

Neste âmbito, esta dissertação propõe estudar a capacidade de reversão dos efeitos do 1-MCP em peras armazenadas em atmosfera controlada em diferentes modalidades, através da avaliação dos parâmetros físico-químicos e a incidência de acidentes fisiológicos. Para isto, pretende-se avaliar a firmeza, cor, índice refratométrico, capacidade antioxidante, concentração de α – farneseno e trienos conjugados, para as seguintes modalidades:

(1) Conservação com stress de temperatura; (2) conservação com stress de temperatura e etileno; (3) conservação com stress de temperatura e CO_2 ; (4) conservação com stress de temperatura, etileno e CO_2 ; (5) conservação com stress de etileno; (6) conservação com stress de etileno e CO_2 ; (7) conservação com ausência de stress e (8) conservação em ULO.

2. Revisão bibliográfica

2.1 Pereira 'Rocha'

A pereira 'Rocha' (*Pyrus communis*) é uma cultivar portuguesa e acredita-se que tenha origem em Sintra, em meados do século XIX, devendo-se o nome 'Rocha' ao detentor da propriedade onde esta foi encontrada (ANP – *Pêra Rocha n.d*). Foi obtida casualmente por semente, tem um vigor médio comparativamente com cultivares como 'Doyenné du Comice', porte ereto e ramos muito flexíveis (Sousa, 2020). É uma cultivar infértil, tendo alguma tendência para a formação do fruto após a fecundação mas com abortamento das sementes no estado inicial de desenvolvimento, necessitando de cultivares polinizadoras para obtenção de produções competitivas (Sousa, 2020). Estimativas apontam para que as necessidades de frio sejam de, aproximadamente, 550 horas abaixo de 7 °C. Muitas vezes estas necessidades não são supridas e é necessário recorrer a substâncias para quebrar a dormência. O momento da aplicação é crucial e variável consoante a acumulação de frio (Silva et al., 2005).

Os seus hábitos de frutificação são em esporões e verdascas com cinco a sete flores por corimbo. As suas flores possuem pouco néctar e, por esse motivo, são pouco atrativas para as abelhas, sendo que a maioria dos frutos são partenocárpicos, naturalmente ou induzidos.

2.2 Pera 'Rocha'

A variedade 'Rocha' tem uma boa capacidade para produzir frutos partenocárpicos. Alguns fruticultores têm explorado exageradamente esta capacidade, recorrendo a pulverizações, durante a floração, com reguladores de crescimento e outras substâncias químicas, principalmente ácido giberélico e auxinas de síntese, sendo o primeiro, catalogado como regulador de crescimento com impacto sobre a saúde pública (Sousa 2020). Os frutos sem semente são menos simétricos e mais alongados, de pior qualidade e a sua conservação é dificultada devido a uma maior suscetibilidade a acidentes fisiológicos como o acastanhamento interno. As sementes nos frutos desempenham um papel essencial no desenvolvimento dos mesmos, uma vez que sintetizam hormonas naturais (auxinas, giberelinas e diversos compostos orgânicos) que atuam na fase de divisão e multiplicação celular, na redução da queda dos frutos e no processo de diferenciação floral. Estas hormonas regulam também o crescimento da planta e do fruto, assim como a colheita.

2.3 Produção e comercialização

A pera 'Rocha' tem grande importância para Portugal, quer como símbolo cultural, quer como em valor económico. A grande maioria da produção de pera nacional (95%) assenta nesta variedade (*Pera – Centro Frutologia Compal*, n.d.), que tem vindo a ganhar destaque com a introdução de novas práticas culturais, o aumento da rentabilidade produtiva do pomar, a crescente valorização do produto e a organização do setor.

Esta cultura terá contribuído para a retirada de pomares e terrenos da pobreza e transformar a zona Oeste que é, hoje em dia, uma região de fruticultores independentes centrada num produto (Pereira, 2015). Os principais concelhos produtores são: Cadaval, Bombarral, Torres Vedras, Caldas da Rainha, Alcobaça, Óbidos e Mafra e representam 89% da produção nacional (*ANP – Pêra Rocha*, n.d.).

Na última década tem-se verificado uma estabilização da produção e respetiva área, ainda que a área com uma tendência crescente. Entre 2010 e 2020 a produção variou entre 176 764 toneladas e 131 004 toneladas. Na Figura 1 pode-se verificar os ciclos alternantes característicos desta cultura, a seguir a um ano de elevada produção segue-se uma menor colheita. A área de produção cresceu de 10 954 para os 12 504 ha entre 2010 e 2018, momento a partir do qual inverteu a tendência, diminuindo até aos 11 325 ha em 2020 (GPP, 2021).

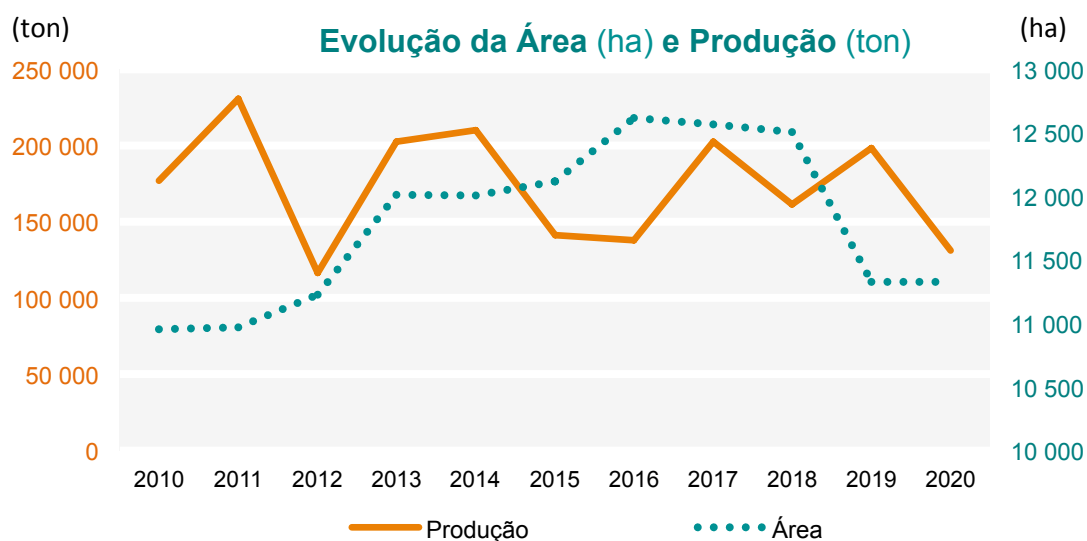


Figura 1- Variação da área (ha) e produção (ton) de pera 'Rocha' em Portugal (GPP, 2021)

A aposta do setor recai sobre a promoção da qualidade diferenciada e certificada, dando resposta à apetência dos consumidores nacionais para valorizarem as qualidades intrínsecas de produções específicas. A pera 'Rocha' é o produto agrícola com maior quota

de certificação em Portugal (Pereira, 2015). No ano de 2019 a percentagem de produção certificada DOP era de 87,1%, contrastando com os valores do início da década de 35,2% (Quadro 1).

Quadro 1 - Produção de pera (ton) e produção certificada DOP (ton e %) de pera 'Rocha' entre 2010 e 2020 (GPP, 2021)

Ano	Produção (ton)	Produção certificada DOP (ton)	% de produção certificada DOP
2010	176 764	62 185	35,2
2011	230 447	79 044	32,3
2012	116 287	88 522	76,1
2013	202 483	118 985	58,8
2014	210 009	119 541	56,9
2015	141 186	73 373	52,0
2016	137 805	80 605	58,5
2017	202 277	124 338	61,5
2018	161 353	128 235	79,5
2019	198 465	133 467	87,1
2020	131 004	-	-

Esta cultura tem também uma grande relevância no que respeita às exportações e valor acrescentado para a economia. Está entre os produtos agrícolas nacionais mais exportados, contribuindo positivamente para o saldo da balança comercial ao longo das últimas décadas. As exportações aumentaram muito relativamente ao início do milénio, tendo estabilizado na última década. Em 2020 o peso do valor das exportações foi de 90 milhões de euros, contrastando com 2000 quando representava 14 milhões de euros.

Os principais destinos comerciais, cerca de 69% das exportações, continuam a ser países da União Europeia: Reino Unido, França, Alemanha e Espanha. Ainda assim, o principal mercado individual de destino da pera 'Rocha' é o Brasil (Figura 2).

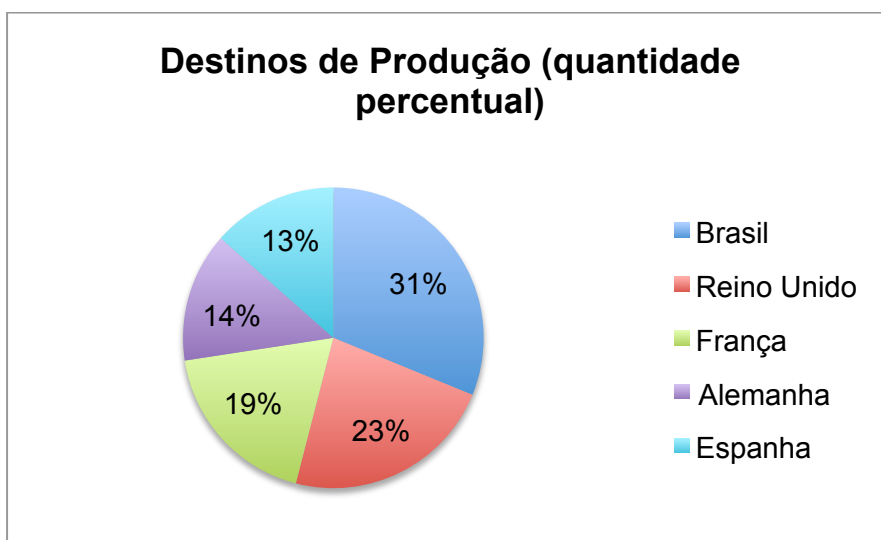


Figura 2- Principais destinos de exportação de pera 'Rocha' em 2020 (GPP, 2021)

2.4 Características do fruto

A pera 'Rocha' é um fruto de tamanho médio-pequeno, de calibres médios de 55 a 65 mm, o peso médio ronda as 130 g, tem forma redonda ovada e redonda periforme (ANP – *Pêra Rocha*, n.d.). A variação do seu formato relaciona-se com fatores genéticos e com a ausência de sementes no fruto, devido à partenocarpia característica da pera 'Rocha'. As formas mais arredondadas são características de peras bem polinizadas e as formas alongadas caracterizam as peras partenocárpicas (Capinha & Gomes, 2018). A epiderme apresenta cor amarela-esverdeada ou verde-clara, por vezes com uma mancha rosada do lado mais exposto ao sol. Possui carepa (pintas castanhas, unidas na base, dispersando-se irregularmente por toda a superfície) tendendo a concentrar-se na fase apical (Figura 3), a intensidade desta depende das condições climáticas do ano, dos tratamentos fitossanitários, da variação clonal, mas também das características do local da plantação, sendo menor em frutos produzidos em pomares com exposição a sul e boa drenagem do solo. A polpa do fruto caracteriza-se por apresentar cor branca, uma textura macia-crocante granulosa e muito sumarenta (muito dependente do estado de maturação).

A pera 'Rocha' é colhida durante o mês de agosto, mas pode ser conservada até 10 meses. É um fruto que apresenta uma boa capacidade de conservação e resistência ao manuseamento e transporte. Estas características favorecem a exportação, pois permitem que o fruto chegue ao destino mantendo a qualidade de um produto fresco (Saquet et al., 2017; ANP – *Pêra Rocha*, n.d.).



Figura 3- Pera 'Rocha' (fonte: Rocha do Oeste)

As características nutricionais da pera 'Rocha' (Quadro 2) podem variar com alguns fatores como as técnicas agrícolas usadas, a data de colheita, a conservação e o grau de maturação (Pereira, 2017) mas, de forma geral, de acordo com o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, a pera 'Rocha' é uma fonte de vitaminas A, B1, B2, E e, predominantemente, de vitamina C. É também uma fonte de fibras dietéticas e proteínas, um poderoso antioxidante com forte concentração de potássio e outros minerais como o fósforo, magnésio, cálcio e sódio. No Quadro 2 encontra-se resumida a composição nutricional média por 100 g de pera 'Rocha'.

Quadro 2 - Composição nutricional de pera 'Rocha' (por 100g de parte edível) (Adaptado de: tabela da composição de alimentos do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge)

Informações Nutricionais (valores médios por 100 g)	
Valor Energético	47 kcal
Água	85,1 g
Proteínas	0,2 g
Lípidos	0,4 g
Hidratos de Carbono	9,4 g
Fibras Alimentares	2,2 g
Vitamina C	3 g
Vitamina A	2 μ g
Magnésio	9 mg
Fósforo	10 mg

A maioria dos frutos climatéricos são colhidos antes da maturação e posteriormente amadurecidos (Dias et al., 2020). A pera, depois de colhida, continua o seu processo de amadurecimento onde se acentuam as suas qualidades sensoriais, sabor e aroma. Há um aumento da taxa respiratória e produção de etileno, aumento dos níveis de açúcar e diminuição da acidez, perda de dureza e desenvolvimento da cor, perda de compostos fenólicos e aumento dos compostos voláteis responsáveis pelo aroma. Após o pico climatérico inicia-se a fase da senescência, durante a qual ocorre a morte celular e o fruto perde as suas qualidades, tornando-se impróprio para a comercialização.

Assim, as peras que se destinam ao armazenamento mais longo devem ser colhidas num estado de maturação precoce, indesejável para consumo imediato, quando ainda se encontram bastante firmes, com baixa produção de etileno para que a conservação seja prolongada e que haja um posterior desenvolvimento das características organolépticas durante o tempo de prateleira e na chegada ao consumidor (Giovannoni, 2001, Dias et al., 2021).

2.5.2 Etileno

O etileno é um gás com massa molar de 28,05 g/mol e fórmula molecular C_2H_4 (Almeida, 2005). É uma fito hormona muito simples, mas desempenha funções fundamentais. Através da coordenação da expressão de genes regula processos como a germinação, abscisão e resposta a stresses bióticos e abióticos. Para além de que aumenta a velocidade de degradação da clorofila, induz a síntese de compostos voláteis responsáveis pelo aroma e controla assim o amadurecimento dos frutos climatéricos (Mata et al., 2018; Oetik., 1995).

2.5.2.1 Biossíntese do etileno

A rota metabólica do etileno é altamente regulada. Tem o seu início na degradação do aminoácido metionina (MET) em adenosil-metionina (SAM). O MET é obtido pelo ciclo de Yang e a sua degradação é catalisada pela SAM sintase, consumindo uma molécula de ATP.

Posteriormente dá-se a etapa limitante da taxa de formação de etileno, que consiste na clivagem de SAM pela enzima ACC sintase (ACS) formando ácido aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) e 5'-metil-tioadenosina (MTA). O ACC será oxidado em etileno na presença de O_2 , pela enzima ACC oxidase, por sua vez o MTA é reciclado em MET através do ciclo de enxofre.

A Figura 5 esquematiza esta biossíntese, incluindo os fatores que a influenciam.

Uma vez em contacto com os tecidos, o etileno liga-se a uma proteína da membrana plasmática, que funciona como recetor, formando um complexo que irá alterar a atividade de uma cadeia de transdução de sinal no citoplasma, que leva à transcrição de genes que irão sintetizar ou ativar enzimas causadoras de respostas fisiológicas (Almeida, 2005, Dias et al., 2021).

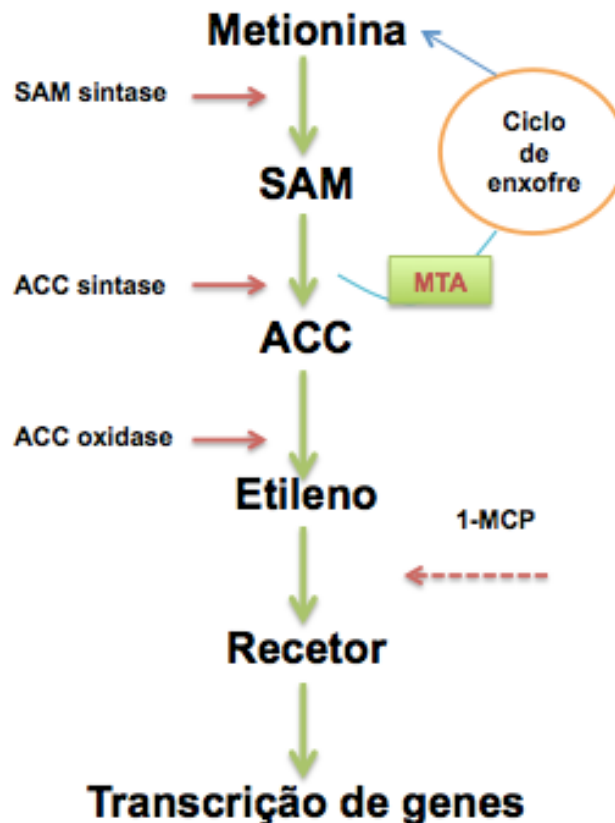


Figura 5- Síntese do etileno e fatores que influenciam a sua síntese e ação (adaptado de: Dias et al., 2021)

A ação da enzima ACC sintase depende de fatores genéticos e fatores ambientais, incluindo a temperatura e a concentração de oxigénio. Todo este ciclo de produção de etileno pode ser induzido ou inibido, uma vez que o etileno é autocatalítico. Isto é, a presença de etileno induz a produção da enzima ACC sintase que cliva a SAM e espoleta o ciclo. Este é um fator crítico, que torna o seu controlo no armazenamento crucial, uma vez que a produção de etileno, ou apenas a sua presença, induzem a sua própria produção (Pereira, 2017).

2.5.2.2 Efeitos do etileno em frutos climatéricos

O etileno exibe simultaneamente efeitos benéficos e prejudiciais no armazenamento pós-colheita de produtos frescos. Entre os efeitos, que poderão ou não ser indesejados, incluem-se: o acelerar do amadurecimento e senescência, aumento da taxa de degradação da clorofila e amolecimento de frutos, a abscisão e agravamento da incidência de acidentes fisiológicos. Poderão ser indesejados ou não uma vez que, quando controlado, o etileno é capaz de uniformizar e acelerar o amadurecimento de frutos climatéricos. Alguns frutos climatéricos são colhidos num estado de maturação fisiológica, quando apresentam o potencial para vir a desenvolver as características organoléticas pretendidas no consumo e posteriormente, num momento chave, são artificialmente amadurecidos através da exposição a etileno exógeno (Dias et al., 2021). Numa central fruteira onde o uso de empilhadoras com motores de combustão é uma constante, as concentrações deste composto podem atingir 1 a 2 ppm, 10 vezes mais do que o necessário para causar respostas fisiológicas, sendo o seu controlo muito importante (Almeida, 2005).

Tem vindo a ser demonstrado que o etileno tem também um papel fundamental na concentração de α - *farneseno* e de trienos conjugados e, por isso, está relacionado com o desenvolvimento de escaldão superficial (Isidoro, 2019).

Neste contexto, entender e gerir a síntese de etileno tem um papel fundamental na melhoria da vida útil do fruto em armazenamento pós-colheita, na manutenção da qualidade dos produtos frescos por períodos mais longos e na prevenção de grandes perdas (Pathak et al., 2017).

2.6 Conservação de pera ‘Rocha’

2.6.1 Objetivos da conservação

Testes de maturação aplicados aos frutos no período de pré-colheita e à colheita, permitem a determinação do momento ótimo da colheita e o conhecimento global das características do fruto à colheita permitindo determinar a estratégia mais adequada de conservação. A conservação de pera ‘Rocha’ deve garantir a manutenção das características físico-químicas e organoléticas, bem como sanidade do fruto até ao seu consumo. A conservação a longo prazo deve satisfazer o abastecimento do produto ao longo de todo o ano, garantindo idealmente a manutenção da dureza durante o armazenamento e o seu amadurecimento nos 7 dias de prateleira.

A extensão do período de conservação é feita através do controlo da transpiração, da taxa de respiração e da proliferação de fungos, bactérias e insetos (Capinha & Gomes, 2018). Para atingir os objetivos referidos, os sistemas de armazenamento são concebidos para

monitorizar, controlar e modificar os parâmetros de temperatura, humidade relativa do ar e composição da atmosfera (O_2 , CO_2 e C_4H_6) (Almeida, 2005)

2.6.2 Tecnologias de conservação

2.6.2.1 Temperatura e humidade relativa

Proporcionar condições ótimas de temperatura e humidade relativa é a melhor forma de garantir a qualidade dos produtos frutícolas no período pós-colheita. Todas as outras tecnologias deverão ser um complemento, pois através destas o aumento da longevidade é apenas de 25 a 40% (Figura 6) (Almeida, 2012).

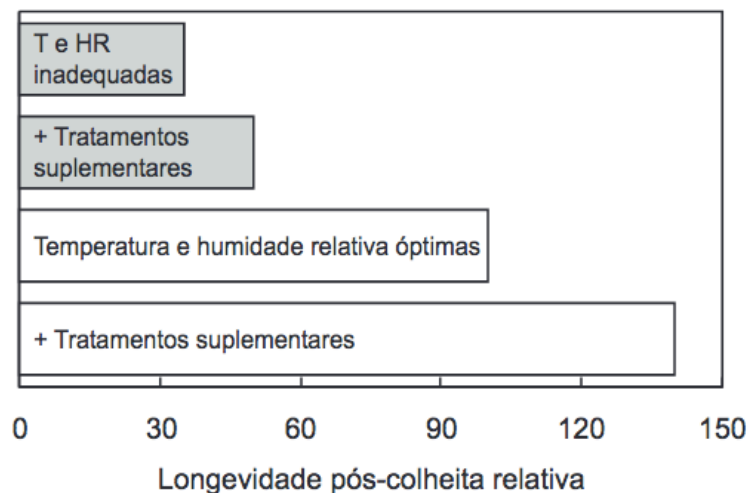


Figura 6- Efeito do controlo da temperatura e da humidade relativa na longevidade pós-colheita e na sua conjugação com tecnologias complementares em produtos frutícolas (Almeida, 2005)

A refrigeração tem um papel determinante no prolongamento da vida pós-colheita da maioria dos frutos, reduzindo a taxa de depreciação da qualidade. A redução da temperatura torna a atividade metabólica mais lenta, uma vez que a atividade enzimática não é favorável. Isto permite uma inibição indireta da respiração e da produção de etileno e, por sua vez, reduz as alterações na composição e velocidade de amadurecimento e senescência. Ainda assim, ao longo do tempo a fruta conservada apenas em frio verifica alterações na cor e na textura da polpa. A atividade microbiana, incluindo o desenvolvimento de doenças e proliferação de patógenos humanos, é também reduzida pela diminuição da taxa de produção dos microrganismos pelo efeito da refrigeração (Kan et al., 2019).

A humidade relativa (HR) do ar é também um fator determinante na manutenção da qualidade durante o armazenamento, pelo efeito que tem na perda de água com subsequente engelhamento dos frutos, no desenvolvimento de doenças associadas a HR mais elevadas e de alguns acidentes fisiológicos, devido ao rompimento das células (Almeida, 2005). Tendo em conta que 85% do peso da pera é água, a manutenção dos

níveis de HR elevados (95%), durante o armazenamento permite evitar perdas de água no fruto, reduzindo as perdas quantitativas ao nível do peso e qualitativas, evitando o enrugamento da epiderme causado pela perda de turgescência no interior das suas células (Gomes, 2015).

As condições de armazenamento recomendadas para pera 'Rocha', no que respeita a temperatura e a humidade relativa são temperaturas entre -1 a 0 °C e humidade relativa entre 93 a 95%, sendo que se tiver como complemento o tratamento com 1-MCP, as temperaturas podem variar entre -1 a 1 °C (Almeida, 2017).

2.6.2.2 Atmosfera normal

Como já tem vindo a ser referido, uma das características diferenciadoras da pera 'Rocha' é a sua grande capacidade de conservação. Com técnicas culturais adequadas, a sua conservação pode atingir os 4 meses em atmosfera normal. Porém, hoje em dia, a AN é cada vez menos usada como prática industrial devido às alterações que induz na cor e textura dos frutos.

Existem três parâmetros importantes nas câmaras frigoríficas de AN: temperatura, humidade e ventilação. Podemos também acrescentar um quarto fator importante para o sucesso da conservação, que passa pelo correto posicionamento e distribuição das paletes com os frutos ao longo da câmara, este fator irá influenciar a ventilação. A ventilação tem um papel essencial para restaurar/homogeneizar a atmosfera no interior da câmara e uniformizar o arrefecimento dos frutos armazenados, mas deve ser uma ventilação lenta para evitar a transpiração dos frutos (Deuchande, 2016). Esta meta de conservação só é garantida em condições de segurança se os parâmetros de temperatura, humidade e ventilação forem mantidos no nível ótimo para a cultura (Almeida, 2017).

2.6.2.3 Atmosfera controlada

O conceito de atmosfera controlada (AC) refere-se a uma atmosfera cuja constituição gasosa difere da do ar e é caracterizada por alterações na pressão parcial de oxigénio, pressão parcial de dióxido de carbono e o controlo da concentração de etileno na câmara de armazenamento. O abaixamento do oxigénio diminui drasticamente a taxa respiratória e o fruto mantém-se verde, sem alterações relevantes na textura da polpa. Os valores ideais variam consoante a cultivar e o estágio de maturação do fruto, mas regra geral o sistema mantém concentrações de O_2 inferiores aos 20,8% e de CO_2 superiores aos 0,03 % da atmosfera normal. Estes valores estão em constante monitorização e vão sendo ajustados à

medida que são alterados devido à atividade metabólica dos produtos (Saquet, 2017; Almeida, 2012).

Nas atmosferas controladas, em relação ao O_2 , pode distinguir-se o regime *low oxygen* (LO) com valores de oxigênio de 2%, de um regime que exige um controlo da concentração muito mais rigoroso, denominado de *ultra low oxygen* (ULO), para níveis de oxigênio inferiores a 2% (Hu et al., 2019). Condições de LO e ULO, quando combinadas com baixas temperaturas, permitem o controlo eficiente da qualidade do fruto. Este tipo de armazenamento permite baixar as atividades metabólicas e enzimáticas do fruto e a sua produção de etileno, diminuindo a degradação nutricional e de outros parâmetros de qualidade, que culmina no prolongar da vida útil do alimento (Hu et al., 2019).

A AC tem efeitos potenciais benéficos que incluem o retardar da senescência, do amadurecimento e das alterações fisiológicas que lhes estão associadas (respiração, produção de etileno, alterações na textura e composição), o aliviar de alguns acidentes fisiológicos e, também, reduzir a ocorrência e a severidade de podridões. Por outro lado, também existem potenciais efeitos negativos. Do armazenamento prolongado podem resultar condições de *stress* no fruto, que causam danos na epiderme e na polpa, como o escaldão superficial (ES) e fenómenos de acastanhamento interno (AI), amadurecimento irregular e aromas e odores desagradáveis resultantes da respiração anaeróbia (Dias et al., 2020; Almeida, 2012).

2.6.2.4 Atmosfera controlada dinâmica

Tendo em consideração que os frutos mantêm uma atividade metabólica capaz de, continuamente, alterar as concentrações de O_2 e CO_2 ao longo do armazenamento, surgiu a atmosfera dinâmica. Esta tecnologia baseia-se na regulação da composição da atmosfera em função do comportamento fisiológico da fruta. Neste sistema existe uma monitorização do metabolismo da fruta através de sensores que medem a produção de etileno ou a fluorescência das clorofilas e, posteriormente, reajusta as concentrações de O_2 e CO_2 para os níveis ótimos. Relativamente ao etileno, a AC dinâmica é combinada com equipamentos de remoção do etileno, utilizado para o armazenamento de frutos muito sensíveis ao etileno e ao escaldão, como é o caso da pera 'Rocha' (Almeida, 2005).

As condições ótimas de conservação são um compromisso entre todos os parâmetros, isto é, a temperatura deve ser baixa para minimizar a atividade metabólica, mas evitando danos por congelação, a pressão parcial de O_2 deve ser baixa para minimizar a respiração aeróbia, mas devem-se evitar fermentações. Assim como a pressão parcial de CO_2 elevada ajuda a manter a cor, mas também pode induzir desordens (Franck et al., 2007).

Para a pera a AC é um complemento útil e benéfico à refrigeração e controlo da HR, permitindo prolongar substancialmente o período de armazenamento. As recomendações sobre a conservação nesta modalidade são específicas, tanto da cultivar, como da região de produção, aproximando-se de valores de pressão parcial de O_2 de cerca de 0,5 kPa e de pressão parcial de CO_2 iguais ou inferiores a 0,6 kPa (Almeida, 2017).

Outra estratégia aplicada à pera, com bons resultados na cultivar 'Conference', é a atmosfera controlada diferida (ACD), que consiste em armazenar os frutos por um período de tempo variável entre 40 e 60 dias, em frio normal, antes de serem submetidos às condições de AC (Deuchande, 2016). Durante o armazenamento em ACD as concentrações de O_2 são gradualmente reduzidas para o nível mais baixo de tolerância do fruto (menos de 1 kPa) (Deuchande et al., 2016). Esta estratégia provoca um *stress* faseado, contribuindo para a adaptação dos frutos às condições de AC. Ao lidarem primeiro com temperaturas reduzidas e só depois com as concentrações gasosas, conseguem adaptar-se de forma mais adequada ao *stress* causado pelo armazenamento (Saquet et al., 2003). Em peras 'Conference' tem-se aplicado ACD para controlar o acastanhamento interno, com sucesso (Gomes, 2015). Porém, em pera 'Rocha' não se tem verificado uma melhoria na resistência aos fenómenos de acastanhamento interno comparativamente com o armazenamento em AC imediata (Silva et al. 2010; Almeida et al. 2015; Carvalho 2011)

2.6.3 Problemas que surgem durante o período de conservação a longo prazo

Apesar do armazenamento em atmosfera controlada permitir de um modo geral o aumento do tempo de conservação dos produtos hortofrutícolas, podem surgir um conjunto de acidentes fisiológicos, provocados pela sua exposição às condições de armazenamento. Os fatores que influenciam a incidência destes acidentes podem ser pré-colheita, tais como as características edafoclimáticas do pomar, as aplicações de tratamentos fitossanitários no pomar, o estado de maturação à colheita e também a pré-disposição genética da cultivar. Relativamente aos fatores pós-colheita que influenciam a incidência de desordens, destacam-se as condições de armazenamento, como a temperatura, os níveis da pressão parcial de CO_2 e pressão parcial de O_2 , e a duração do próprio armazenamento (Gomes, 2015).

Apesar do conhecimento dos acidentes fisiológicos, a identificação dos fatores responsáveis pelos sintomas é muito complexa, uma vez que estes acidentes estão dependentes de várias condicionantes e podem desencadear-se em simultâneo, dificultando assim a análise das causas exatas.

2.6.3.1 Acastanhamentos internos

Os acastanhamentos internos (AI) são acidentes fisiológicos pós-colheita, causados pelos desequilíbrios entre os processos oxidativos e redutores devido aos gradientes metabólicos no interior do fruto (Franck et al., 2007). Tal como referido anteriormente, representam uma grande preocupação para as centrais fruteiras, pois os sintomas não são visíveis externamente, dificultando a sua identificação e controlo e condicionando a perceção pelo consumidor (Pereira, 2017).

Surgem tipicamente durante o armazenamento prolongado em AC, mas também podem ocorrer em frutos armazenados em AN (Deuchande, 2016). Revela-se através de diversos sintomas, como o aparecimento de manchas castanhas assimétricas ou radiais, manchas castanhas secas ou cavidades secas dispostas aleatoriamente na polpa (Figura 7). Diferenciam-se dois tipos de acastanhamento, o '*core browning*' (Fig. 7A) (decomposição necrótica húmida da polpa) e o '*brown heart*' (cavidades secas na região carpelar) (Fig. 7B) (Gomes, 2015). Franck (2007) sugeriu que as cavidades são uma evolução no tempo das manchas castanhas.

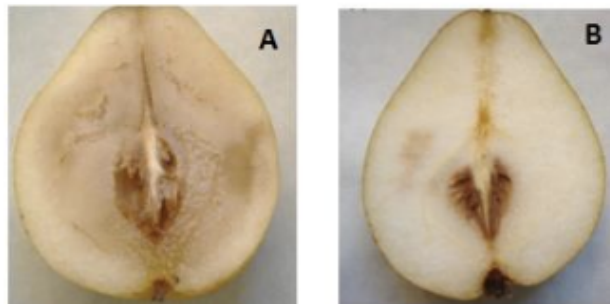


Figura 7- Acastanhamento interno (A- grau de severidade 5; B- grau de severidade 3) (Gomes, 2015)

Os acastanhamentos internos podem ter duas origens diferentes, ainda que estritamente correlacionadas. São estas, a oxidação de compostos fenólicos e a acumulação de metabolitos fermentativos tóxicos para as células (Franck et al., 2007). A sua incidência é maioritariamente relacionada com a concentração de gases na câmara de AC. Os níveis reduzidos de O_2 podem culminar em hipóxia dentro do fruto induzindo fermentações (Deuchande et al., 2016).

Os compostos fenólicos têm grande importância nas características organolépticas e qualitativas dos produtos hortofrutícolas. Afetam sabor, aroma e ainda características visuais, paralelamente têm um papel determinante nos fenómenos de AI. O acastanhamento dos tecidos ocorre devido à oxidação enzimática destes compostos fenólicos (Franck et al., 2007).

Quando a enzima polifenoloxidase (PPO) entra em contacto com o seu substrato, os compostos fenólicos, estes são hidrolisados em o-difenóis que por sua vez são oxidados em o-quinonas. As o-quinonas, compostos muito reativos, são oxidadas em pigmentos de cor castanha, denominados melaninas (Castelo-Branco, 2019, Deuchande et al., 2017). Uma vez que esta enzima se localiza maioritariamente nos plastídios, enquanto o seu substrato se encontra nos vacúolos, pressupõe-se que esta desordem possa ocorrer após o rompimento das membranas intracelulares (Gomes, 2015).

O rompimento da membrana intracelular ocorre uma vez que, no metabolismo aeróbio, se produzem espécies reativas de oxigénio que, nas condições que se fazem sentir no armazenamento em AC com teores elevados de CO_2 , geram um *stress* oxidativo capaz de causar danos nas membranas. Algumas teorias apontam para que, baixas concentrações de O_2 e elevadas de CO_2 no interior do fruto induzam o metabolismo fermentativo. Estas alterações na composição gasosa presente no interior do fruto podem resultar numa deficiência energética alterando os processos de manutenção do fruto. O sistema antioxidante não consegue combater as espécies reativas de oxigénio geradas que, uma vez acumuladas causam rompimento da membrana celular e, por consequência, o acastanhamento dos tecidos (Franck et al., 2007, Deuchande et al., 2017).

A incidência de acastanhamentos internos depende de fatores pré-colheita, tanto ambientais como de gestão do pomar. Incluem a temperatura durante o crescimento do fruto, disponibilidade de água, características do solo e da árvore, aplicação de agroquímicos, posição geográfica, entre outros. Por exemplo, peras ‘Conference’ que crescem em climas quentes são menos suscetíveis a acastanhamento interno, comparativamente com a mesma cultivar em zonas frias. Relativamente aos fatores pós-colheita que afetam a incidência dos AI, os frutos colhidos num estado de maturação mais avançado são mais suscetíveis ao AI. Relativamente à pera ‘Rocha’, verifica-se que frutos colhidos no ponto ótimo de maturação ou numa fase mais precoce apresentam menor incidência de AI e com menos severidade, que aqueles colhidos em fases mais avançadas de maturação. Existe uma correlação positiva entre o aumento dos níveis de acetaldeído e etanol nos frutos colhidos tardiamente e a ocorrência de AI (Deuchande et al., 2012). Também a duração do período e a temperatura de armazenamento, a pressão parcial de O_2 e CO_2 têm influência no seu desenvolvimento. Em pera ‘Conference’ é recomendável fazer-se um arrefecimento imediato dos frutos quando colhidos, para reduzir a atividade respiratória, mas fazer um *delay* (ACD) no armazenamento em atmosfera controlada de pelo menos três semanas. Este procedimento diminui a degradação do núcleo e a incidência de AI (Franck et al., 2007; Saquet et al., 2003). Também em pera ‘Rocha’ já foi demonstrado que o ACD monitorizada por um sensor de fluorescência de clorofila favorece a prevenção dos AI devido à manutenção do potencial antioxidante (Deuchande et al., 2017).

De forma geral, frutos maiores e mais maduros, armazenados a menores pressões parciais de O_2 e maiores pressões parciais de CO_2 , durante longos períodos a temperaturas mais elevadas, têm uma maior suscetibilidade ao AI (Franck et al., 2007; Gomes, 2015).

Ao contrário de outros acidentes fisiológicos, como o escaldão superficial, os AI aparecem no interior do fruto. Até à data, embora à escala laboratorial existam métodos não destrutivos para a deteção dos AI, utilizando por exemplo tecnologias de raio-X, ressonância magnética e reflexão espectroscópica por infravermelhos, não existe tecnologia não destrutiva disponível para a sua deteção à escala comercial (Franck et al., 2007). Também, ainda não foram desenvolvidos modelos matemáticos para esta cultivar, impossibilitando a avaliação precoce do risco do fruto desenvolver AI e a seleção das condições ideais de armazenamento (Deuchande, 2016).

Por isso, é fundamental compreender os mecanismos envolvidos no desenvolvimento do AI de forma a prever precocemente os frutos em risco da sua ocorrência. Um conhecimento mais aprofundado sobre os acidentes fisiológicos permitirá aplicar diferentes metodologias de armazenamento, e assim segregar os frutos e armazená-los em condições adequadas afim de evitar perdas económicas.

2.6.3.2 Escaldão Superficial

O escaldão superficial (ES) é um acidente fisiológico comum em maçãs e peras, ao qual a variedade 'Rocha' é suscetível. Os sintomas aparecem, normalmente, passados quatro a cinco meses de armazenamento a baixas temperaturas e caracterizam-se por superfícies acastanhadas na pele do fruto (Figura 8), que rapidamente se intensificam quando os frutos são removidos do armazenamento (Whitaker & Saftner, 2000).

A suscetibilidade a este acidente fisiológico é muito dependente da cultivar, porta-enxerto, das condições de armazenamento e do estado de maturação na fase da colheita. Frutos mais maduros apresentam menos sintomas em comparação com frutos de colheitas mais precoces (Bramlage, 1988; Avelar, 2011; Erkan e Pekmezci, 2004; Calvo e Candan, 2010).

O ES está apontado, pelos produtores, como um dos maiores acidentes causados, em maçãs e peras, pelo armazenamento no frio. Apesar da qualidade interna do fruto não ser significativamente afetada, o fruto torna-se impróprio para o mercado como produto fresco devido ao seu aspeto, perdendo valor comercial (Guerra et al., 2012).

A perda de água nas células forma zonas enrugadas, resultando numa superfície áspera ao toque (Gomes, 2015). Está amplamente evidenciado que o efeito visual do ES se deve à morte das células da hipoderme, causada por stress oxidativo e pela perda de capacidade

para eliminar espécies reativas do oxigênio (Whitaker & Saftner, 2000). A epiderme só é afetada se estivermos na presença de sintomas muito severos.



Figura 8- Sintomas de escaldão superficial em pera 'Rocha' (original do autor)

A elucidação das bases bioquímicas do ES teve poucos avanços desde as primeiras descobertas (Lurie et al, 2012). Inicialmente o α – *farneseno* era indicado como o agente causal direto do ES. Esta teoria era corroborada pela detecção de elevadas concentrações deste composto em frutos de colheitas precoces (mais suscetíveis ao ES) ou em cultivares mais sensíveis ao aparecimento de ES. No entanto, observou-se que frutos com níveis elevados de α – *farneseno* à colheita não desenvolviam obrigatoriamente sintomas de ES. Como é o caso da referência por parte de Lauri e Watkins (2012) a grandes acumulações de α – *farneseno* em maçãs Belfort, resistentes ao escaldão superficial, comparativamente com maçãs Granny Smith, suscetíveis ao ES.

Rapidamente foi estabelecida a relação entre o aparecimento de ES e, não só a síntese, mas também a oxidação do α – *farneseno*. Os produtos primários da oxidação do α – *farneseno* são os trienos conjugados, cuja decomposição gera radicais livres. Esses radicais livres são os verdadeiros agentes causais da toxicidade que induz o ES (Whitaker & Saftner, 2000). Concluiu-se que o problema não dependia da acumulação de α – *farneseno* por si só, mas também e principalmente da sua oxidação.

Tem vindo a ser demonstrado que o etileno tem um papel fundamental na concentração do α – *farneseno*, de trienos conjugados e por sua vez no desenvolvimento do ES (Lurie & Watkins, 2012). A acumulação de α – *farneseno* no fruto aumenta progressivamente

durante os primeiros dois meses de armazenamento alcançando o nível máximo depois de 2 a 3 meses de armazenamento a 0 °C, estando este pico bastante correlacionado com a produção de etileno endógeno (Isidoro, 2019).

Na Figura 9 está esquematizado o desencadear do ES e algumas formas conhecidas de controlá-lo parcialmente. O stress que ocorre no armazenamento a baixas temperaturas ativa vários processos, incluindo a síntese de α - *farneseno* e a produção de etileno. Por esta razão, inibidores da ação do etileno, como o 1-MCP, são um mecanismo para controlar o ES (Hu et al., 2019). Condições de AC (baixo O_2 e elevado CO_2) também inibem a produção de etileno (Figura 9), assim como a oxidação de α - *farneseno*.

Outra evidência de que o ES está correlacionado com processos oxidativos é o controlo parcial que os antioxidantes DPA e a etoxiquina, conferiam às peras e maçãs até à sua proibição através do combate à oxidação do α - *farneseno* e por sua vez, acumulação de trienos conjugados (Jung & Watkins, 2008).

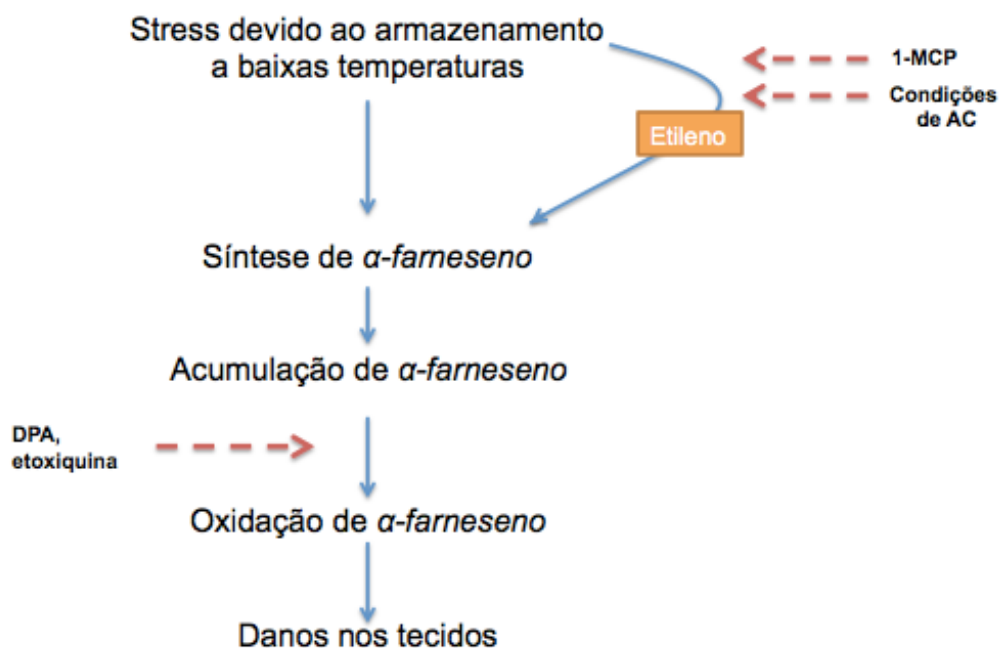


Figura 9 - Desencadear do escaldão superficial em pera conservada a baixas temperaturas. Adaptado de: Laurie & Watkins, 2012).

2.6.4 Abordagens para a mitigação dos problemas surgidos no armazenamento

2.6.4.1 1-MCP

O 1-metilciclopropeno é um ciclopropeno sintético capaz de bloquear os recetores de etileno e prevenir os seus efeitos nos tecidos das plantas por extensos períodos (Watkins et al., 2000). À temperatura e pressão padrão o 1-MCP é um gás com massa molar de 54 g/mol, de fórmula C_4H_6 . É amplamente utilizado em frutos e flores, com respostas variáveis entre eles. Os efeitos mais pronunciados dão-se em frutos de rosáceas, especialmente em maçãs, peras europeias e alguns frutos tropicais (Blankenship & Dole, 2003, Zhang et al., 2020).

O 1-MCP foi adicionado à lista de ferramentas químicas utilizadas para estender o tempo de prateleira e qualidade de frutas e vegetais no ano 2000 (Blankenship & Dole, 2003), sendo que, em Portugal, a sua introdução na indústria da pera “Rocha” surgiu como alternativa, devido às mudanças regulatórias impostas em 2013 sobre a difenilamina (DPA) e a etoxiquina. A DPA é uma eficiente substância homologada para controlo do ES e que também reduzia os acidentes internos, os danos pelo CO_2 e acastanhamentos da epiderme provocados por abrasão. Porém a falta de segurança do produto reportada em alguns estudos obrigou à sua retirada do mercado na Europa (Almeida, 2017).

O 1-MCP atua como um inibidor da ação do etileno. Tem a capacidade de se ligar irreversivelmente aos recetores de etileno diminuindo os recetores livres para o etileno. Quando ligado a estes a expressão dos genes relacionados com produção de etileno é suprimida. Desta forma, tem sido demonstrado que os tratamentos com 1-MCP têm a capacidade de atrasar o amadurecimento do fruto e o processo de senescência (Dias et al., 2021). O efeito do 1-MCP é ativado com concentrações muito reduzidas (Blankenship & Dole, 2003).

O seu modo de ação é não tóxico e é quimicamente semelhante a substâncias naturais (Blankenship & Dole, 2003). Segundo a Environmental Protection Agency (2002) o perfil de segurança e toxicidade relativamente a humanos, animais e meio ambiente é muito favorável, sendo a DL_{50} , para ratos, superior a 2.5 mg. L^{-1} .

A eficácia da aplicação depende da concentração de 1-MCP aplicada e das condições de armazenamento e a substância é sempre aplicada por fumigação. Uma das grandes vantagens deste produto relativamente a outros bloqueadores de etileno é a eficiente resposta, mesmo utilizando pequenas concentrações do composto. A sua afinidade com os recetores de etileno é dez vezes superior à afinidade dos recetores com o próprio etileno (Blankenship & Dole, 2003; Dias et al., 2021).

No que respeita à cultivar 'Rocha', têm vindo a ser testadas dosagens entre 0.1 e 1.0 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ para controlar o ES durante armazenamentos até 6 meses (Almeida, 2017; Saquet et al., 2017), contudo segundo Isidoro e Almeida (2006), para concentrações entre 0.5 e 1.0 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ o amadurecimento do fruto após a conservação é atrasado ou impedido e para concentrações mais baixas, entre 0.10 e 0.15 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ verifica-se um aumento na incidência de ES. Apesar da existência de recomendações de aplicação que padronizam o serviço a que se propõe o produto, existe ainda alguma dificuldade em estabelecer a melhor combinação nas condições de temperatura e tempo de exposição ao produto, assim como da concentração e o tempo de conservação para a obtenção dos melhores resultados (Zhang et al., 2020).

Em pera 'Rocha' o uso de 1-MCP tem como principal objetivo a prevenção do ES, tendo como efeito secundário o retardar do amadurecimento. Apesar de ser um efeito indesejado acaba por garantir uma manutenção das características de qualidade do fruto durante o período de conservação em câmara frigorífica em AC ou não. A sua aplicação acaba por alargar a vida comercial da pera no retalho, mesmo quando a cadeia de frio é quebrada (D. Almeida, 2017).

As reações concretas no fruto ao tratamento com 1-MCP, devido ao bloqueio dos recetores de etileno, são: a redução da atividade de enzimas que degradam a parede celular e a clorofila, através da supressão da expressão de genes, a manutenção da acidez, a prevenção de perdas de peso e a inibição da degradação do amido, bloqueando a formação de açúcar. Isto resulta no atraso da alteração da cor do fruto e na manutenção da rigidez e crocância da polpa. Para além dos efeitos no atraso do amadurecimento, o 1-MCP bloqueia a transcrição da enzima chave da síntese de α - *farneseno*, impedindo a formação de α - *farneseno* e trienos conjugados, que são responsáveis pelo aparecimento de escaldão superficial (Alpalhão et al., 2009; Dias et al., 2021).

Na utilização do 1-MCP devem ser tidos em conta vários aspetos, incluindo a cultivar, o seu estado de maturação, o período de tempo entre colheita e aplicação do tratamento e o número de aplicações.

2.6.4.2 Limitações da utilização do 1-MCP e estratégias de reversão deste composto

Como já foi referido, o seu uso tem como objetivo prevenir o ES, tendo como reação o bloqueio dos recetores de etileno, provocando a manutenção das características do fruto no momento da colheita (que não são as ideais para consumo) ao longo do armazenamento. Esta reação é tão eficaz e impactante nos diversos mecanismos genéticos relacionados com o amadurecimento, incluindo metabolismo de carbono, transdução de sinal de fito hormonas e biossíntese de aminoácidos, amido, açúcar e da parede celular, que resulta na ocorrência

de um fenómeno denominado *evergreen* (Dias et al., 2021). Este evento caracteriza-se por uma permanente inibição da capacidade de amadurecimento. Mesmo após o armazenamento o fruto não recupera a capacidade de amadurecimento e mantém-se “verde”, nunca atingindo o aspeto, textura e sabor desejados para o consumo (Deuchande, 2016).

Para evitar o bloqueio do amadurecimento, quando este efeito já não é desejado, o uso de 1-MCP deve ser otimizado e combinado com estratégias pós-utilização. Têm vindo a ser testadas tecnologias para induzir o amadurecimento após o tratamento com 1-MCP que se baseiam em estimular a atividade das enzimas envolvidas na produção de etileno e também recapacitar o processo de amadurecimento através da síntese de novos recetores de etileno. As estratégias mais relevantes incluem a aplicação de etileno exógeno, aumento da temperatura e a combinação destes fatores. Mais recentemente introduziu-se na discussão a adição de fito hormonas responsáveis pelo amadurecimento, como as auxinas (Dias et al., 2020). A recuperação da sensibilidade ao etileno depende maioritariamente da concentração de 1-MCP aplicada, duração do armazenamento e do estado de maturação no momento do tratamento (Calvo, 2004)

Relativamente à temperatura, muitos estudos acerca do metabolismo e transcrição demonstraram que a temperatura induz a produção de etileno, principalmente por ativar a síntese de ACC que, como já foi referido, é a enzima limitante na produção de etileno (Dias et al., 2021; Pereira, 2017). A estratégia de reversão utilizando a temperatura consiste em submeter os frutos tratados com 1-MCP a temperaturas altas, que consoante a estratégia podem variar entre 2.5° C e 38° C. A temperatura pode ser aplicada antes do tratamento com 1-MCP ou depois e o tempo da exposição é variável. Apesar de poder alcançar resultados positivos, do ponto de vista industrial, um aumento da temperatura em câmaras de armazenamento é um processo demorado e muito dispendioso (Dias et al., 2021). Em peras ‘Packhmas’ e ‘Triumph’, tratadas com 300 ppb de 1-MCP e submetidas a 17 °C durante duas semanas, observou-se que ao fim de 160 dias não se detetou produção de etileno, porém ao fim de 230 dias de armazenamento foi detetada produção de etileno (Candan et al., 2011).

A aplicação de etileno exógeno tem o objetivo de reativar o processo de amadurecimento através de processos artificiais. Consiste em colocar o fruto em contacto com etileno exógeno e, como esta hormona é autocatalítica, espera-se que se espolete a sua produção endógena. Estudos de desverdecimento, ainda que sem tratamento com 1-MCP, em citrinos e bananas demonstram que pequenas quantidades de etileno podem acelerar o amadurecimento mesmo em baixas temperaturas (Dias et al., 2021). Contudo a aplicação de etileno em pera não verifica estudos prévios. Peras ‘Packhmas’ e ‘Triumph’, tratadas com 300 ppb de 1-MCP e, simultaneamente, com 300 ppb de etileno têm um

comportamento semelhante a testemunhas não tratadas, após 160 dias e 230 dias. Isto demonstra que a aplicação de etileno simultaneamente com o 1-MCP, nestas concentrações conseguem reverter o efeito do 1-MCP (Candan et al., 2011). Um constrangimento desta técnica é a complexidade da aplicação, principalmente por fumigação (Dias et al., 2021). A presente dissertação aqui apresentada procede um estudo, levado a cabo no Rocha Center - Centro de Pós- Colheita e Tecnologia, referente à reversão do 1-MCP que incidiu na influência de eventos de alteração nas condições de conservação para o desbloqueio de peras tratadas com 1-MCP. Neste estudo prévio determinou-se que a alteração da atmosfera num momento único era suficiente para reverter o efeito do 1-MCP em detrimento de uma alteração em dois momentos ou de forma cíclica. Outro ponto estudado foi a influência dos eventos de *stress* de: temperatura, temperatura e etileno, temperatura e CO_2 e uma combinação dos três (temperatura, etileno e CO_2). Todos os *stresses* demonstraram sucesso na reversão do 1-MCP no que respeita à dureza, após uma *shelf-life* de sete dias, quando comparadas com peras tratadas com 1-MCP (sem indução de stress), que não demonstraram qualquer evolução na dureza entre o dia de saída da câmara e no final do *shelf-life*. Porém houve alguma manutenção da dureza comparativamente com as peras armazenadas em ULO sem tratamento 1-MCP. O stress que demonstrou melhores resultados e consistência entre diferentes pomares foi o de temperatura, tanto no evoluir da dureza, como na incidência e severidade de acidentes fisiológicos. Os *stresses* que incluem CO_2 , demonstraram piores resultados no que respeita aos acidentes fisiológicos. Apesar dos resultados obtidos neste estudo não terem sido ainda publicados (Rodrigues, comunicação pessoal), serviram de base ao delineamento deste estudo experimental.

3. Materiais e métodos

3.1. Material vegetal

As peras da cultivar 'Rocha' utilizadas para este estudo provêm de 3 pomares situados em zonas distintas do concelho do Bombarral e Cadaval, no Oeste de Portugal. Os pomares pertencem a diferentes produtores e, por isso, estão sujeitos a práticas culturais diferentes entre si ao longo do ano. A colheita das peras avaliadas ocorreu a 20 de agosto de 2020. Após a colheita as peras foram transportadas para as instalações do Rocha Center - Centro de Pós- Colheita e Tecnologia (Bombarral) onde foram armazenados em contentores refrigerados e com controlo de atmosfera de uma instalação piloto.

3.2. Tratamentos com 1-MCP e condições de armazenamento

Os frutos foram arrefecidos durante uma semana. Após o arrefecimento, foram sujeitos a tratamentos com 1-MCP na concentração de 312 ppb. A aplicação do SmartFresh™, uma formulação do 1-MCP, foi realizada de acordo indicações do fornecedor Agrofresh. O 1-MCP foi aplicado por fumigação. Foi colocado dentro da câmara com as peras, numa mistura de substâncias em estado sólido que, quando em contacto com o líquido ativador, promoveu a libertação da substância ativa no estado gasoso.

As câmaras foram mantidas encerradas acionando-se a ventilação para garantir a homogeneização do produto em toda a área da câmara. Após 24 horas, as câmaras foram ventiladas com ar exterior e ligado o *scrubber*.

Após o tratamento, os frutos foram colocados em atmosfera normal com 20,8% de O_2 e 0,03% de CO_2 durante 60 dias. No fim desse *delay* foi implementada uma atmosfera controlada; diminuiu-se o O_2 para 4 % e aumentou-se o CO_2 para 0,5 %, mantendo-se a temperatura de $-0,5^\circ C$. Todas as peras permaneceram nestas condições até fevereiro de 2021, momento a partir do qual, durante 15 dias, se induziram as seguintes condições de stress (Quadro 3):

- Câmara 1- Temperatura ($4^\circ C$);
- Câmara 2- Temperatura ($4^\circ C$); e etileno;
- Câmara 3- Temperatura ($4^\circ C$); e CO_2 ;
- Câmara 4- Temperatura ($4^\circ C$); etileno e CO_2 ;
- Câmara 5- Etileno;
- Câmara 6- Etileno e CO_2 ;
- Câmara 7- Controlo com 1-MCP;
- Câmara 9- Controlo com atmosfera normal.

Quadro 3 - Delineamento experimental das condições de stress por câmara

	Câmara 1	Câmara 2	Câmara 3	Câmara 4	Câmara 5	Câmara 6	Câmara 7	Câmara 9
Temperatura $^\circ C$	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5
Delay (dias)	60	60	60	60	60	60	60	0
O_2 (%)	4	4	4	4	4	4	4	2,5
CO_2 (%)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,03
1-MCP(ppb)	312	312	312	312	312	312	312	
Stress	T	T+C ₂ H ₄	T+CO ₂	T+C ₂ H ₄ + CO ₂	C ₂ H ₄	C ₂ H ₄ + CO ₂	-	-

3.3. Metodologia

Os momentos das análises foram quatro: à colheita, no pré-stress, no pós-stress e no final da conservação. Com exceção do primeiro momento de análise, as análises foram sempre realizadas em duas datas diferentes, à saída da câmara e 7 dias após a saída da câmara. Durante os 7 dias de intervalo entre as avaliações (*shelf-life*), simulou-se um ambiente de prateleira, no qual os frutos permaneceram à temperatura ambiente (cerca de 20° C).

Foram realizadas análises físicas e químicas. Relativamente às análises físicas, foram determinados a dureza da polpa (kg/ 0,5 cm²), o teor de sólidos solúveis (° Brix), a cor dos frutos e avaliou-se a incidência de acastanhamento interno e escaldão superficial. Nas análises químicas determinou-se a acidez titulável (g de ácido málico/ L sumo), avaliou-se a capacidade antioxidante (mg equivalente de ácido ascórbico/ g fruto) e quantificou-se a concentração de α-farneseno e trienos conjugados (mμ/ g de peso fresco). O delineamento experimental está descrito no Quadro 4, no ponto 3.3.8.

3.3.1 Determinação da dureza

Foram utilizados 20 frutos de cada pomar à colheita e no pré-stress e 20 frutos por pomar e por câmara no pós-stress e no final da conservação.

A dureza da polpa foi determinada recorrendo a um penetrómetro manual TR Turoni o FT 327 com uma ponteira de 8 mm de diâmetro. Na zona equatorial do fruto, em dois locais opostos, com o auxílio de um *peller*, retirou-se uma fina porção de casca e penetrou-se a polpa nesse local. Os valores de dureza da polpa correspondem à média dos dois valores de penetração em cada fruto e são expressos em kg/ 0,5 cm².

3.3.2 Teor de sólidos solúveis

Em cada data de avaliação foram utilizados 5 frutos de cada pomar à colheita e no pré-stress e 5 frutos por pomar e por câmara no pós-stress e no final da conservação.

Utilizou-se um refratómetro digital Atago Pocket PAL-1, para o qual, depois de calibrado com água, se espremeram algumas gotas de sumo de cada pera.

3.3.3 Cor

Em cada data de avaliação, foram utilizados 20 frutos de cada pomar à colheita e no pré-stress e 20 frutos por pomar e por câmara no pós-stress e no final da conservação.

Para determinação da cor utilizou-se um colorímetro CR-400 (Konica-Minolta Osaka, Japan), com o qual se obtiveram as coordenadas L, C, h. O sistema L*C*h utiliza um diagrama com coordenadas cilíndricas, onde o L indica luminosidade, o C* representa saturação e o h o ângulo de tonalidade (Figura 9).

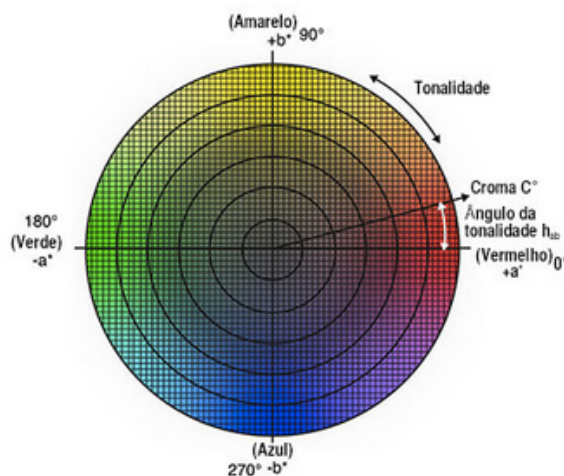


Figura 10- Diagrama do espaço de cor CIE L*a*b* (Konica Minolta)

3.3.4 Acastanhamentos internos

Em cada data de avaliação, foram utilizados 20 frutos de cada pomar no pré-stress e 20 frutos por pomar e por câmara no pós-stress e no final da conservação.

A avaliação foi feita através da observação visual após o corte equatorial dos frutos pelo método descrito por (Silva, 2006). A incidência do acastanhamento interno foi classificada num intervalo de 0 a 3, da seguinte forma: 0- não verificando qualquer sinal de AI; 1- alterações da polpa com uma área inferior a uma circunferência com 5 mm de diâmetro; 2- alterações da polpa numa área de circunferência compreendida entre 5 e 10 mm de diâmetro; 3- manchas com diâmetro entre igual ou superior a 10 mm.

Determinou-se o índice de acastanhamentos internos, pela fórmula de Silva (2006) baseada em Zerbibi et al. (2002).

$$\text{Índice AI} = \frac{1.n1 + 2.n2 + 3.n3}{3.nTot}$$

Onde n (1,2,3) são o número de frutos nas classes de severidade 1-3 e nTot o número total de frutos na amostra. O índice varia entre 0 e 1.

3.3.5 Escaldão

Em cada data de avaliação foram utilizados 20 frutos de cada pomar no pré-stress e 20 frutos por pomar e por câmara no pós-stress e no final da conservação.

À semelhança dos acastanhamentos internos, pelo método de Silva (2006) a severidade dos sintomas foi avaliada numa escala de 0 a 3, tendo em conta a área de epiderme do fruto afetada por manchas castanhas.

Sendo a classificação da severidade: 0- na ausência; 1- acastanhamento ocupa 0% a 25% na área do fruto; 2- área afetada correspondente a 25% a 50% do fruto; 3- área afetada superior a 50% da área do fruto.

Determinou-se o índice de ES, pela fórmula de Silva (2006) baseada em Wang e Dilley (2000).

$$\text{Índice ES} = \frac{1 \cdot n1 + 2 \cdot n2 + 3 \cdot n3}{3 \cdot nTot}$$

Onde n (1,2,3) são o número de frutos nas classes de severidade 1-3 e nTot o número total de frutos na amostra. O índice varia entre 0 e 1.

3.3.6 Acidez titulável

Em cada data de avaliação foram utilizados 4 frutos de cada pomar na colheita e no pré-stress e 4 frutos por pomar e por câmara no pós-stress e no final da conservação.

Para a determinação da acidez titulável, foi feita uma titulação ácido-base potenciométrica. Utilizaram-se 25 ml de sumo filtrado e titulou-se com hidróxido de sódio 0,1 N, com auxílio do potenciômetro até atingir o pH de 8,15. A acidez foi expressa em g ácido málico/L de sumo.

3.3.6 Capacidade antioxidante

Em cada data de avaliação utilizaram-se 5 frutos por pomar na colheita e no pré-stress e 5 frutos por pomar e por câmara no pós-stress e no final da conservação. Os frutos foram congelados a -80 °C e posteriormente procedeu-se à extração dos antioxidantes hidrossolúveis a partir de porções dos frutos.

A capacidade antioxidante foi determinada pelo método DPPH, que se baseia na capacidade de os antioxidantes presentes na amostra sequestrarem o radical estável DPPH. Adicionou-se o DPPH ao extrato, agitou-se durante 15 minutos e leu-se a absorvância a 515 nm.

A capacidade antioxidante é expressa na capacidade equivalente antioxidante do ácido ascórbico, e obteve-se através da reta de calibração utilizando ascorbato como padrão.

Reta de calibração: $y = -259,73x + 102,14$, $R^2 = 0,9257$.

3.3.7 Concentração de α -farneseno e trienos conjugados

Em cada data de avaliação utilizaram-se 5 frutos por pomar à colheita e no pré-stress e 5 frutos por pomar e por câmara no pós-stress e no final da conservação.

A extração e quantificação de α -farneseno e dos trienos conjugados foi efetuada segundo o método de Anet (1972), com algumas adaptações.

Extraíram-se discos da epiderme de cada um dos 5 frutos que foram pesados e colocados em hexano durante 15 minutos num agitador, de seguida filtrou-se o extrato de hexano e procedeu-se à sua análise por espectrofotometria de UV. A absorvância para o α -farneseno foi lida a 232 nm e para os trienos conjugados a 281 nm.

A concentração foi expressa em $m\mu/g$ de peso fresco.

3.3.8 Delineamento experimental

Quadro 4 - Delineamento experimental (d1 - dia 1; d7 - dia 7; f- frutos; TC- trienos conjugados)

Data	Colheita	Pré-Stress		Pós-Stress		Final	
	d1 20/08/20	d1 12/01/21	d7 19/01/21	d1 11/02/2021	d7 18/02/21	d1 20/05/21	d7 27/05/21
Análises							
Cor	20 f/ pomar	20 f/ pomar	20 f/ pomar	-	-	20 f/pomar/ câmara	20 f/pomar/ câmara
Teor De Sólidos Solúveis	5 f/ pomar	5 f/ pomar	5 f/ pomar	5 f/pomar/ câmara	5 f/pomar/ câmara	5 f/pomar/ câmara	5 f/pomar/ câmara
Dureza	20 f/ pomar	20 f/ pomar	20 f/ pomar	20 f/pomar/ câmara	20 f/pomar/ câmara	20 f/pomar/ câmara	20 f/pomar/ câmara
Acidez Titulável	4 f/ pomar	4 f/ pomar	4 f/ pomar	4 f/ pomar/ câmara	4 f/ pomar/ câmara	-	-
Acastanhamento Interno	----	20 f/ pomar	20 f/ pomar	20 f/pomar/ câmara	20 f/pomar/ câmara	20 f/pomar/ câmara	20 f/pomar/ câmara
Escaldão Superficial	----	20 f/ pomar	20 f/ pomar	20 f/pomar/ câmara	20 f/pomar/ câmara	20 f/pomar/ câmara	20 f/pomar/ câmara
Extratos	5 f/ pomar extratos (triplicado)	5 f/ pomar extratos (triplicado)	5 f/ pomar extratos (triplicado)	5 f/ pomar/ câmara) extratos (triplicado)	5 f/ pomar/ câmara) extratos (triplicado)	5 f/ pomar/ câmara) extratos (triplicado)	5 f/ pomar/ câmara) extratos (triplicado)

Capacidade Antioxidante	3 extratos/ pomar (triplicado)	3 extratos/ pomar (triplicado)	3 extratos/ pomar (triplicado)	3 extratos/ pomar/ câmara (triplicado)	3 extratos/ pomar/ câmara (triplicado)	3 extratos/ pomar/ câmara (triplicado)	3 extratos/ pomar/ câmara (triplicado)
Conc. α-farneseno e TC	epiderme 5 f/ pomar (triplicado)	epiderme 5 f/ pomar (triplicado)	epiderme 5 f/ pomar (triplicado)	epiderme 5 f/ pomar/ câmara (triplicado)	epiderme 5 f/ pomar/ câmara (triplicado)	epiderme 5 f/ pomar/ câmara (triplicado)	epiderme 5 f/ pomar/ câmara (triplicado)

3.4 Análise estatística

A caracterização dos atributos avaliados foi realizada com recurso a ferramentas de estatística, recorrendo ao software estatístico R (<https://www.r-project.org/>). Foram realizadas análises de variância (ANOVA) para testar se os fatores em estudo (pomar, data, dia, câmara) conduzem a resultados com diferenças significativas entre eles.

Os pressupostos necessários para a utilização da ANOVA (variáveis aleatórias homogêneas e independentes) foram validados. Os frutos foram colhidos dos pomares de forma aleatória, assim como foi aleatória a amostra retirada das caixas.

Quando a ANOVA revelou efeitos significativos procedeu-se aos respetivos testes de separação de médias de Tukey ($P < 0,05$).

4. Resultados e discussão

4.1 Ensaio

Neste ensaio pretendeu-se avaliar as estratégias de reversão do efeito do 1-MCP durante o armazenamento e o seu efeito na pera 'Rocha'. Para tal, monitorizou-se a evolução dos parâmetros de qualidade e dos parâmetros associados à ocorrência de acidentes fisiológicos neste fruto (dureza, acidez titulável, índice refratométrico, capacidade antioxidante, concentração de α -farneseno e de trienos conjugados) ao longo de um armazenamento prolongado, onde se induziram diferentes *stresses*.

4.1.1 Caracterização dos frutos à colheita

No dia 20 de agosto colheram-se os frutos que tinham como finalidade este ensaio, em três pomares do concelho do Bombarral e do Cadaval, procedendo-se à sua caracterização segundo os diversos parâmetros de qualidade. Os resultados obtidos para o índice refratométrico (IR) (traduzindo o teor de sólidos solúveis), acidez titulável, dureza e cor são representados no Quadro 5 e os parâmetros bioquímicos, que implicaram uma análise laboratorial mais complexa, são apresentados no Quadro 6.

Relativamente aos parâmetros de qualidade, indicativos do estado de maturação, o índice refratométrico, a acidez, a dureza e a cor (Quadro 5), procurou-se eliminar a ocorrência de diferenças significativas ao colher os frutos na mesma data, pois o objetivo seria obter uma amostra o mais homogénea possível para que estes parâmetros não tivessem influência nas respostas à conservação. Porém é de interesse aferir a existência de variabilidade na resposta à conservação entre pomares, uma vez que existe sempre a variabilidade biológica associada à cultura e ao seu desenvolvimento e aspetos que influenciam alguns destes índices de maturação, como é o caso, por exemplo, das práticas culturais. Estudos sobre a influência da rega nos parâmetros qualitativos da pera 'Rocha', demonstram que pomares não regados levam a frutos com maior ° Brix, devido a um aumento na concentração de açúcares no fruto (Felicio & Costa, 1997). Também uma maior exposição solar aumenta a concentração de sólidos solúveis, mesmo na mesma árvore, frutos posicionados nas extremidades dos ramos apresentam concentração de sólidos solúveis mais elevadas (Santos, 2009). Ao contrário de frutos provenientes de árvores com uma carga de frutos mais elevada, que terão menor IR. Estes são fatores que influenciam a qualidade dos frutos e poderão estar na base de diferenças significativas.

Deste estudo de caracterização inicial, pode concluir-se que o parâmetro IR apresenta valores significativamente diferentes entre os pomares, sendo que o pomar 1 apresenta um valor significativamente mais alto e o pomar 3 apresenta um IR significativamente mais baixo.

Quanto à cor, aqui representada pelas coordenadas L, C e h, verificam-se diferenças significativas entre os três pomares na tonalidade, sendo que o pomar 3 apresenta um valor mais elevado, indicativo de um fruto mais verde.

Relativamente ao parâmetro da acidez, este apresenta valores significativamente diferentes entre o pomar 2 e os restantes, sendo o pomar 2 a apresentar uma menor acidez.

Uma vez que o pomar 1 apresenta um IR significativamente mais elevado, uma tonalidade significativamente mais baixa, indicativo de um fruto menos verde que os restantes e que o parâmetro dureza, apesar de não ter diferenças significativas, pode ser influenciado pelo calibre do fruto, poder-se-á admitir a possibilidade do pomar 1 ter uma maturação mais avançada. Porém, o pomar com maior IR (pomar 1) não coincide com o pomar com menor acidez (pomar 2) e o IR é um parâmetro influenciado pelas características de cada pomar,

como foi referido anteriormente e, por isso, é um mau preditor do grau de maturação. Assim como a acidez pode ser influenciada por tratamentos foliares e a cor que pode ser influenciada pela exposição solar e aplicação de produtos no campo (Capinha et al, 2018; Prasad, 2015).

Segundo Castelo-Branco (2019) e Deuchande (2012), pera 'Rocha' colhida na altura ótima de maturação deverá apresentar uma dureza entre 5,5 N e 6,5 N, um conteúdo de sólidos solúveis entre 11 °Brix e 13 °Brix e uma acidez titulável entre 2 g/L de sumo e 3 g/L de sumo de ácido málico. Os valores expressos no Quadro 5 refletem um ligeiro avanço do estado da maturação nos três pomares. Como foi referido anteriormente, pera 'Rocha' colhida em estados de maturação mais avançados está mais suscetível aos acastanhamentos internos, mas por outro lado, menos suscetível ao escaldão superficial (Deuchande et al., 2012).

Quadro 5 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade, entre pomares à colheita

Pomar	IR ° Brix	Acidez g / L	Dureza kg/ 0,5 cm ² .	Cor		
				L	C	h
Pomar 1	12,54 a	2,04 a	4,87 a	67,46 a	44,63 b	105,21 b
Pomar 2	11,91 b	1,19 b	5,08 a	66,24 a	47,95 a	106,44 ab
Pomar 3	10,48 c	1,89 a	5,01 a	65,88 a	47,55 a	107,54 a

Relativamente aos parâmetros capacidade antioxidante, concentração de α - *farneseno* e trienos conjugados, parâmetros relacionados com acidentes fisiológicos, não se identificaram diferenças significativas entre as peras dos diferentes pomares, à colheita. Uma capacidade antioxidante semelhante entre os pomares, poderá ser indicativo de suscetibilidades semelhantes para o desenvolvimento de AI (Veltman *et al.*, 1999), assim como, a igualdade nas concentrações de α - *farneseno* e trienos conjugados sugere uma suscetibilidade idêntica, entre pomares, ao ES (Isidoro, 2019). Porém, é também importante referir que uma maior disponibilidade de açúcares leva a um aumento de energia para a regeneração e manutenção celular (Veltman *et al.*, 1999), podendo indicar à partida um potencial de conservação mais favorável dos frutos provenientes do pomar 1 (Quadro 5).

Quadro 6 – Comparação, à colheita, das médias dos parâmetros de caracterização bioquímica dos frutos de três pomares em estudo.

Pomar	Capacidade antioxidante mg / g	Concentração de α - <i>farneseno</i> m μ / g	Concentração de TC m μ / g
Pomar 1	0,000635 a	3,91 a	1,49 a

Pomar 2	0,000652 a	5,35 a	2,15 a
Pomar 3	0,000662 a	4,26 a	2,13 a

4.1.2 Caracterização dos frutos no pré-stress

Em janeiro de 2021, nos dias 12 (dia 1) e 19 (dia 7), após cinco meses de armazenamento, caracterizaram-se os frutos sendo os resultados obtidos apresentados nos Quadros 7 e 8. Este período de avaliação refere-se ao momento antes da indução dos respetivos *stresses* pelas diferentes câmaras.

Os sintomas de ES e AI foram avaliados neste período de análise, sendo que se retirou do armazenamento uma amostra de 20 frutos representativos de cada pomar para analisar no dia 1, onde se verificou 0 observações de sintomas de acidentes fisiológicos, para 20 frutos representativos de cada pomar analisados no dia 7, observou-se apenas um sintoma de acastanhamento interno, de grau 2, no pomar 3. Tal como referido no ponto 2.6.3.2, o ES começa a manifestar-se no quarto ou quinto mês de armazenamento a baixas temperaturas, assim podemos aferir que, até à data, o tratamento com 1-MCP demonstrou-se eficiente na prevenção do ES. Deuchande (2016) refere que as estratégias mais promissoras, até à data, para combater o AI em pera 'Rocha' são as condições de AC e o atraso na sua aplicação (*delay*), assim como o tratamento com 1-MCP, apesar de ter havido uma observação isolada de AI, não se considera significativo e podemos correlacionar com as estratégias de conservação.

Numa primeira avaliação procurou-se determinar o impacto do tempo de prateleira, à temperatura ambiente 18 ± 2 °C, na evolução dos parâmetros de qualidade e bioquímicos das peras.

Passados sete dias de prateleira, a avaliação realizada verificou que os valores de IR e dureza apresentam diferenças significativas, no sentido de um amadurecimento dos frutos. A acidez não apresentou diferenças significativas entre o dia 1 e o dia 7.

Quadro 7 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade analisados no pré-stress, a dia 1 e a dia 7.

	IR ° Brix	Acidez g / L	Dureza kg/ 0,5 <i>cm</i> ² .	Cor		
				L	C	H
Dia 1	12,17 b	1,27 a	5,58 a	69,21 a	42,09 a	100,73 a
Dia 7	13,10 a	1,39 a	4,94 b	68,80 a	41,75 a	99,59 a

Relativamente aos parâmetros bioquímicos não se verificam alterações significativas entre o primeiro dia e o sétimo como se pode verificar no Quadro 8.

Quadro 8 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos analisados no pré-stress, a dia 1 e a dia 7.

	Capacidade antioxidante mg / g	Concentração de α – farneseno m μ / g	Concentração de TC m μ / g
Dia 1	0,0014 a	3,48 a	1,20 a
Dia 7	0,0016 a	4,47 a	1,49 a

Interpretando os dados das análises do pré-stress procuramos verificar a influência das condições de armazenamento nas características dos frutos à saída da câmara e após sete dias de prateleira a 18 ± 2 °C.

A análise representada no Quadro 9 sugere que, no período de análise pré-stress, as diferenças significativas observadas entre os pomares mantêm as tendências das observações à colheita. Um IR significativamente maior no pomar 1 e também uma tonalidade menor, tanto no dia 1 como no dia 7. Por outro lado, a dureza passou a apresentar diferenças significativas, no sentido do pomar 1 ter frutos menos firmes e o pomar 2 continua a verificar uma acidez menor entre os pomares, no dia 1.

O verificado corrobora a tese que o pomar 1 possa apresentar uma maturação mais avançada logo à partida, o que leva a crer que as diferenças significativas observadas no pré-stress estão mais relacionadas com as características intrínsecas ao pomar, como a exposição solar, características do solo e até a gestão do mesmo, do que respostas diferentes à conservação consoante o pomar, já que as diferenças significativas mantêm a tendência estabelecida à colheita.

Quadro 9 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre pomares a dia 1 e a dia 7, tendo em conta o fator pomar, no pré-stress.

	Pomar	IR ° Brix	Acidez g / L	Dureza kg/ 0,5 cm ² .	Cor		
					L	C	H
Dia 1	Pomar 1	12,87 a	1,41 a	5,15 b	68,56 a	42,48 a	99,56 a
	Pomar 2	12,08 b	1,04 b	5,71 a	69,4 a	41,74 a	101,17 a
	Pomar 3	11,57 b	1,37 a	5,89 a	69,70 a	42,04 a	101,47 a
Dia 7	Pomar 1	13,91 a	1,53 a	4,63 b	70,09 a	43,64 a	99,07 a
	Pomar 2	13,01 b	1,17 a	5,00 a	68,51 a	41,63 ab	100,26 a
	Pomar 3	12,39 b	1,15 a	5,19 a	67,81 a	39,97 b	99,43 a

Relativamente aos parâmetros correlacionados com os acidentes fisiológicos, a capacidade antioxidante não apresenta diferenças significativas entre pomares em ambos os dias. Já a concentrações de α – *farneseno* e trienos conjugados começam a demonstrar diferenças significativas entre pomares ao dia 7, sendo que o pomar 3 apresenta um valor significativamente mais baixo para a concentração de α – *farneseno* que os restantes pomares como se pode verificar no Quadro 10.

Quadro 10 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos entre pomares a dia 1 e a dia 7, tendo em conta o fator pomar, no pré-stress.

	Pomar	Capacidade antioxidante mg / g	Concentração de α – <i>farneseno</i> m μ / g	Concentração de TC m μ / g
Dia 1	Pomar 1	0,0014 a	2,75 a	1,15 a
	Pomar 2	0,0014 a	3,09 a	1,29 a
	Pomar 3	0,0016 a	4,60 a	1,16 a
Dia 7	Pomar 1	0,0018 a	5,49 a	1,87 a
	Pomar 2	0,0016 a	5,38 a	1,63 ab
	Pomar 3	0,0015 a	2,54 b	0,96 b

4.1.3 Caracterização dos frutos no pós-stress

Após 15 dias, durante os quais os frutos estiveram sujeitos aos *stresses* estabelecidos no ponto 3.2, realizou-se nova caracterização segundo os parâmetros de qualidade e os parâmetros bioquímicos dos frutos, procurando identificar efeitos dos *stresses* induzidos. Numa primeira análise procurou-se determinar evoluções entre o dia 1 e o dia 7. No Quadro 11 podemos observar que o fator dia, apenas tem influência na variável dureza. Contudo, a evolução terá sido fora do expectável. A dureza, em vez de apresentar a manutenção ou uma evolução decrescente, demonstrou um aumento significativo, ainda que marginal, no dia 7. Com o amadurecimento, a permeabilidade das membranas aumenta, devido à estrutura da parede celular estar mais fraca e, por esse motivo, as membranas rompem com mais facilidade, assim o expectável será uma diminuição da dureza e não aumento (Pua & Davey, 2010). Tendo em conta a dimensão da amostra (60 frutos no dia 1 e 60 frutos no dia 7) não se atribui ao observado a possibilidade de haver falta de representatividade. Assim, apesar da falta de teses que sustentem o verificado, põe-se em hipótese haver algum tipo resposta fisiológica da pera ao tratamento com 1-MCP.

Quadro 11 - Comparação de médias dos parâmetros de qualidade entre dia 1 e dia 7 no pós-stress

Dia	IR ° Brix	Acidez g / L	Dureza kg/ 0,5 <i>cm</i> ² .
Dia 1	12,36 a	1,25 a	4,06 a
Dia 7	12,35 a	1,28 a	4,37 b

Relativamente aos aspetos bioquímicos, entre o dia 1 e o dia 7 verificam-se diferenças significativas na capacidade antioxidante e nas concentrações de α – *farneseno* e trienos conjugados (Quadro 12.). A capacidade antioxidante decresce, a concentração de α – *farneseno* aumenta, em consonância com um aumento dos produtos primários da sua oxidação, os trienos conjugados.

Neste período pós-stress, a incidência de AI e ES começam a ter mais registos, ainda que apresentando níveis de incidência, expressos pelos respetivos índices, muito reduzidos. Ainda assim é possível verificar que entre o dia 1 e o dia 7, há um agravar dos acidentes fisiológicos. Estes resultados são coerentes com a diminuição da capacidade antioxidante do fruto e o aumento a concentração de trienos conjugados.

Quadro 12 - Comparação de médias dos parâmetros bioquímicos entre dia 1 e dia 7 no pós-stress

Dia	Capacidade antioxidante mg / g	Concentração de α – <i>farneseno</i> <i>m</i> μ / g	Concentração de TC <i>m</i> μ / g	Índice de Acastanhamento Interno	Índice de Escaldão Superficial
Dia 1	0,00095 a	3,19 b	0,97 b	0,00079	0
Dia 7	0,00060 b	4,42 a	1,50 a	0,01165	0,00078

De modo a analisar a influência dos *stresses* aplicados na evolução dos frutos tratados com o 1-MCP, fez-se uma comparação entre os parâmetros de qualidade dos frutos das diferentes câmaras registados nos Quadros 13 e 14.

É visível que os diferentes *stresses*, a que os frutos estão sujeitos nas diferentes câmaras, têm influência nos parâmetros relacionados com o amadurecimento. Pois para frutos colhidos na mesma data, tratados com as mesmas concentrações de 1-MCP e sujeitos às mesmas condições de armazenamento até ao momento da indução do *stress*, apresentam diferenças significativas entre eles, ainda que por valores marginais.

Quadro 13 - Comparação de médias dos parâmetros de qualidade entre câmaras no pós-stress

Câmara	IR ° Brix	Acidez g / L	Dureza kg/ 0,5 cm ² .
1	12,31 abc	1,4 a	4,24 bc
2	12,45 ab	1,33 ab	4,11 cd
3	12,05 c	1,32 abc	4,03 d
4	12,58 a	1,19 bcd	4,14 bcd
5	12,30 abc	1,30 abcd	4,27 b
6	12,58 a	1,14 d	4,27 b
7	12,22 bc	1,16 d	4,47 a

Os parâmetros bioquímicos dos frutos não apresentam diferenças tão significativas consoante os diferentes stresses. Porém é possível destacar uma diferença significativa entre a concentração de α – *farneseno* na câmara 1, apresentando um valor significativamente maior e por sua vez, mantendo a coerência, uma concentração mais elevada de trienos conjugados, o que pode sugerir uma maior suscetibilidade a acidentes fisiológicos em frutos sujeitos ao stress induzido na câmara 1.

Quadro 14 - Comparação de médias dos parâmetros bioquímicos entre câmaras no pós-stress

Câmara	Capacidade antioxidante mg / g	Concentração de α – <i>farneseno</i> m μ / g	Concentração de TC m μ / g
1	0,00064 b	5,70 a	1,76 a
2	0,00123 a	3,44 b	1,39 ab
3	0,00058 b	2,61 b	0,94 b
4	0,00060 b	3,54 b	0,90 b
5	0,00115 a	3,42 b	1,26 ab
6	0,00061 b	4,05 b	1,22 ab
7	0,00060 b	3,90 b	1,19 ab

Também o fator pomar revela diferenças significativas entre si, o que sugere a origem das peras ter influência no modo como as mesmas reagem ao mesmo stress.

Relativamente aos parâmetros IR e dureza, as peras do pomar 1 continuam a apresentar os valores significativamente mais altos e os valores significativamente mais baixos, respetivamente. Também o pomar 2 apresenta uma acidez significativamente mais baixa. Isto sugere que as diferenças ocorrem por existirem diferenças iniciais e não devido ao pomar fornecer características que permitam à pera reagir de formas diferentes ao *stress*.

Quadro 15 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre pomares no pós-stress

Pomar	IR ° Brix	Acidez g / L	Dureza kg/ 0,5 cm ² .
Pomar 1	13,12 a	1,36 a	3,93 b
Pomar2	12,25 b	1,10 b	4,32 a
Pomar 3	11,66 c	1,34 a	4,39 a

A capacidade antioxidante não é influenciada pela origem das peras, já a concentração de α – *farneseno* é significativamente mais baixa no pomar 3, como foi verificado anteriormente. Também a concentração de trienos conjugados é significativamente inferior no pomar 3, sugerindo que, o pomar 3 continua a demonstrar uma menor suscetibilidade aos acidentes fisiológicos (Quadro 16).

Quadro 16 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos entre pomares no pós-stress

Pomar	Capacidade antioxidante mg / g	Concentração de α – <i>farneseno</i> m μ / g	Concentração de TC m μ / g
Pomar 1	0,00079 a	4,01 ab	1,37 a
Pomar2	0,00076 a	4,17 a	1,33 a
Pomar 3	0,00079 a	3,24 b	1,01 b

4.1.4 Caracterização dos frutos no final

No dia 20 de maio, retiraram-se definitivamente os frutos da conservação e fez-se uma avaliação final no dia 1 e após sete dias em condições de prateleira à temperatura ambiente. Esta avaliação procurou analisar a evolução dos parâmetros de qualidade dos frutos ao fim de 9 meses e a influência dos *stresses* nessa evolução.

Pela análise do Quadro 17 podemos concluir que para o IR se verificam algumas diferenças significativas entre câmaras, com exceção das câmaras 1, 2, 3 e 7 que não apresentam diferenças significativas entre elas. A dureza apresenta diferenças significativas entre câmaras, com exceção das câmaras 5, 6 e 7 que não variam significativamente entre si. A análise à tonalidade também verifica semelhanças entre as câmaras 5, 6 e 7, representando frutos mais verdes. Tendo em conta que a câmara 7 corresponde às peras que não foram sujeitas a qualquer stress, isto pode refletir que os stresses aplicados na câmara 5 e 6 não têm um efeito muito pronunciado na reversão do 1-MCP.

A câmara 9 é uma câmara de controlo, onde os frutos não foram tratados com 1-MCP e estiveram em condições de ULO. Na câmara 9 verificou-se um valor significativamente menor de IR, dureza e tonalidade. Isto reflete que os padrões de qualidade têm uma maior manutenção em peras tratadas com 1-MCP e que os stresses não prejudicaram a qualidade das peras, comparativamente com a testemunha não tratada.

Devido à falta de representatividade dos valores de acidez registados na fase final de avaliação, não foi possível fazer uma análise à evolução deste parâmetro.

Quadro 17 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre câmaras no final

Câmara	IR ° Brix	Dureza kg/ 0,5 cm ² .	Cor			
			L	C	H	
1	11,86 bc	4,04 bc	69.56	ab	40.87 abc	92,44 b
2	11,95 bc	3,74 d	69.82	ab	C2 41.60 ab	91,52 bc
3	11,94 bc	3,86 cd	70.53	a	41.57 ab	91,52 bc
4	12,4 a	4,17 b	68.49	bc	41.71 a	90,63 c
5	11,71 c	4,57 a	66.97	c	39.47 d	98,49 a
6	12,15 ab	4,58 a	68.16	bc	40.56 bcd	99,74 a
7	11,91 bc	4,65 a	67.42	c	40.30 cd	99,15 a
9	11,13 d	3,32 e	64.53	d	41.2 abc	86,22 d

A evolução dos parâmetros bioquímicos, mais uma vez, demonstrou menos dependência dos stresses aplicados comparando com os parâmetros de qualidade relacionados com o amadurecimento. A capacidade antioxidante não varia significativamente entre as câmaras 2, 3, 6, 7 e 9, assim como a câmara 1 e 4 não variam entre si. A concentração de α – *farneseno* é significativamente maior nas câmaras 2 e 9, já a concentração de trienos conjugados é apenas significativamente maior na câmara 9 o que se manifesta numa maior incidência de ES (Quadro 18).

Quadro 18 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos entre câmaras no final

Câmara	Capacidade antioxidante mg / g	Concentração de α – <i>farneseno</i> m μ / g	Concentração de TC m μ / g	Índice de Acastanhamento Interno (dia 7)	Índice de Escaldão Superficial (dia 7)
1	0,0017 a	3,52 c	1,31 b	0,139	0
2	0,0017 ab	5,52 a	1,92 b	0,078	0
3	0,0014 ab	4,25 abc	1,41 b	0,111	0
4	0,0017 a	3,83 bc	1,38 b	0,044	0
5	0,0014 b	3,89 bc	1,30 b	0,006	0
6	0,0016 ab	5,02 ab	1,81 b	0,050	0
7	0,0017 ab	4,12 abc	1,41 b	0,039	0
9	0,0015 ab	5,3 a	3,12 a	0,033	0,32

O estudo da influência do dia de avaliação nos valores dos parâmetros revela que existem diferenças significativas no que respeita o IR, a dureza e a tonalidade, demonstrando que os sete dias de prateleira têm uma influência significativa e positiva no amadurecimento dos frutos. O IR aumenta do dia 1 para o dia 7, a dureza diminui no decorrer do tempo de prateleira e a tonalidade também diminui, o que indica um aproximar da cor amarela (Quadro 19).

Quadro 19 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre dia 1 e dia 7 no final

Dia	IR ° Brix	Dureza kg/ 0,5 cm ² .	Cor		
			L	C	H
Dia 1	11,26 b	4,52 a	68.57 a	40.97 a	95,66 a
Dia 7	12,50 a	3,71 b	67.80 b	40.86 a	91,96 b

Relativamente aos parâmetros bioquímicos, entre o dia 1 e o dia 7 existe uma diferença significativa nos valores de capacidade antioxidante e de concentração de trienos conjugados. O facto de haver uma menor concentração de trienos conjugados, ainda que não se verifique o mesmo com a concentração de α – *farneseno*, pode explicar-se precisamente com o facto de a capacidade antioxidante ser significativamente superior no dia 1, uma vez que os trienos conjugados são os produtos primários da oxidação do α – *farneseno* Quadro 20.

Quadro 20 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos entre dias no final

Dia	Capacidade antioxidante mg / g	Concentração de α –	Concentração de TC	Acastanhamento Interno	Escaldão Superficial
		<i>farneseno</i> m μ / g	m μ / g		
Dia 1	0,0017 a	4,21 a	1,41 b	0,0472	0,0569
Dia 7	0,0015 b	4,62 a	2,01 a	0,05648	0,04348

O fator pomar continua a demonstrar diferenças significativas entre si. O pomar 1 teve valores de IR significativamente maiores, tal como no decorrer de todo o armazenamento, também na dureza o pomar 1 revelou diferenças significativas, sendo que os outros dois pomares não variam entre eles. A avaliação da cor também revela que o pomar 1 apresenta uma tonalidade mais baixa, mais uma vez mantendo-se a tendência estabelecida à colheita (Quadro 21).

Quadro 21 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre pomares no final

Pomar	IR ° Brix	Dureza kg/ 0,5 cm ² .	cor		
			L	C	H
Pomar 1	12,59 a	3,79 b	68,25 a	41.03 a	92,10 b
Pomar2	11,69 b	4,27 a	68,17 a	41.00 a	94,34 a
Pomar 3	11,35 c	4,28 a	68,13 a	40.722 a	95,00 a

A avaliação final aos parâmetros bioquímicos, e o tratamento estatístico revelaram que o fator pomar não tem influência significativa na capacidade antioxidante e nas concentrações de α – *farneseno* e de trienos conjugados (Quadro 22).

Quadro 22 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos entre pomares no final

Pomar	Capacidade antioxidante mg / g	Concentração de	Concentração de TC
		α – <i>farneseno</i> m μ / g	m μ / g
Pomar 1	0,0015 a	4,72 a	1,87 a
Pomar2	0,0016 a	4,19 a	1,64 a
Pomar 3	0,0015 a	4,33 a	1,60 a

4.1.5 Comparação da ocorrência de acidentes fisiológicos entre câmaras

Como se pode verificar no Quadro 23, a incidência de ES foi muito reduzida, para frutos tratados com 1-MCP, ao longo do armazenamento. Já o AI verificou maior incidência, especialmente passados os sete dias de prateleira à temperatura ambiente.

Quadro 23 - Índice de incidência de escaldão superficial e índice de incidência de acastanhamento interno no pós-stress e no final.

	Câmaras	Índice de incidência de Escaldão superficial		Índice de incidência de Acastanhamento interno	
		Dia 1	Dia 7	Dia 1	Dia 7
Pós-stress	C1	0	0,006	0	0,017
	C2	0	0	0	0,011
	C3	0	0	0	0,044
	C4	0	0	0	0,011
	C5	0	0	0	0,011
	C6	0	0	0	0,044
	C7	0	0	0,006	0,022
Final	C1	0	0	0,122	0,139
	C2	0	0	0,028	0,078
	C3	0	0	0,017	0,111
	C4	0	0	0	0,044
	C5	0	0	0	0,006
	C6	0	0	0,033	0,050
	C7	0	0	0,028	0,039
	C9	0,378	0,317	0,178	0,033

A comparação da ocorrência de ES e o AI, entre as diferentes câmaras, foi calculada estatisticamente recorrendo a testes de comparação de proporções, com um nível de significância de $\alpha = 0,05$ (Quadro 24). Os acidentes fisiológicos começaram a ser monitorizados a partir do período de pré-stress, porém não foram observadas ocorrências significativas.

A monitorização dos acidentes fisiológicos no pós-stress, apresenta incidências significativas ao nível do AI, no dia 1 verificou-se uma incidência insignificante na câmara 7, mas após o período de prateleira houve um agravamento da incidência de AI ainda que, os

testes de comparação de proporções, não tenham identificado diferenças significativas entre as câmaras.

A monitorização de acidentes fisiológicos nas câmaras no dia 1 do pré-stress, no que respeita o ES, não evidenciou observações, no dia 7 há apenas uma observação na câmara 1 e na câmara 5, mas não representa diferença significativa para as restantes câmaras onde não houve observações.

No período final de avaliação, no dia 1 e 7 só há escaldão nas testemunhas não tratadas, apresentado diferença significativa para as restantes câmaras em ambos os dias. Na avaliação do acastanhamento interno no dia 1, apesar de se verificar uma ausência nas câmaras 4 e 5, a comparação de proporções não identifica diferenças significativas entre as câmaras, o que sugere uma incidência de AI pequena, próxima do nulo. No dia 7 existem diferenças significativas entre as câmaras, no AI, representada no Quadro 24.

Os AI no dia 7 do final apresenta diferenças significativas entre a câmara 9 e as câmaras de 2 a 7, representadas no Quadro 24. Isto sugere que na câmara 1, as peras estiveram sujeitas a um stress que as tornou tão suscetíveis ao AI, quanto as testemunhas não tratadas. Na avaliação do pós-stress verificou-se que a câmara 1 apresentava uma capacidade antioxidantes baixa e concentrações de α -farneseno e trienos conjugados significativamente maiores, em concordância com estes resultados.

Quadro 24 - Comparação da incidência de acastanhamento interno por câmara através de testes de comparação de proporções. (ns- não significativo, s- significativo)

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C9
C1	x	s	s	s	s	s	s	s
C2		x	ns	ns	ns	ns	ns	s
C3			x	ns	ns	ns	ns	s
C4				x	ns	ns	ns	s
C5					x	ns	ns	s
C6						x	ns	s
C7							x	s
C9								x

4.2 Comparação entre os períodos de análise

4.2.1 Comparação entre colheita e pré-stress

Entre a colheita e o dia 1 do pré-stress passaram 145 dias, dos quais 40 dias foram passados em AN, após o tratamento com 1-MCP, e os restantes em AC, com o O_2 a 4 % e o CO_2 a 0,5 % a uma temperatura de $-0,5^\circ C$.

A comparação entre estes dois períodos de avaliação indica uma diferença significativa em todos os parâmetros de maturação dos frutos, tendo o IR, a tonalidade e a acidez a evolução esperada (a evolução da maturação tem associados um aumento do IR e uma diminuição da acidez e da tonalidade). Para o parâmetro da dureza, verificou-se uma evolução fora do esperado, com o pré-stress a apresentar uma dureza significativamente mais alta que o momento precedente.

É desejável que a dureza das peras não varie muito durante a conservação, pois a dureza é um aspeto valorizado que define a qualidade do fruto ao longo do armazenamento e o 1-MCP tem-se demonstrado eficiente na sua manutenção. O seu aumento não tem explicação fisiológica e não tem sido verificado noutros ensaios.

Esta diferença significativa entre a colheita e o pré-stress sugere que, apesar do tratamento com o 1-MCP, os frutos evoluíram no tempo e que não perderam a capacidade de amadurecimento (Quadro 25).

Quadro 25 - Comparação de médias dos parâmetros de qualidade entre colheita e pré-stress

	IR ° Brix	Acidez g / L	Dureza kg/ $0,5\text{ cm}^2$.	Cor		
				L	C	H
colheita	11,64 b	1,71 a	4,99 b	66,53 b	46,71 a	106,40 a
Pré-stress (Dia1)	12,17 a	1,27 b	5,58 a	69,21 a	42,09 b	100,73 b

No Quadro 26 está representada a evolução dos parâmetros bioquímicos ao longo dos primeiros 5 meses de conservação. Verifica-se que a capacidade antioxidante teve um aumento significativo, o que vai ao encontro do verificado por Isidoro (2019), que terá reportado um aumento da capacidade antioxidante, em frutos tratados com 1-MCP, nos primeiros 5 meses de conservação e posteriormente um decréscimo.

Apesar da concentração de α – *farneseno* não se ter alterado significativamente no decorrer deste período de armazenamento, a concentração de trienos conjugados apresenta

diferenças significativas. No pré-stress, a concentração de trienos conjugados é menor, provavelmente devido ao aumento da capacidade antioxidante.

Um aumento da capacidade antioxidante, a estabilização da concentração de α – *farneseno* e redução dos trienos conjugados vão de encontro à ausência de acidentes fisiológicos verificada no pré-stress.

Quadro 26 - Comparação de médias dos parâmetros bioquímicos entre colheita e pré-stress

	Capacidade antioxidante mg / g	Concentração de α – <i>farneseno</i> m μ / g	Concentração de TC m μ / g
Colheita	0,0007 b	3,48 a	1,92 a
Pré –stress (dia 1)	0,0014 a	4,47 a	1,20 b

4.2.2 Comparação entre pré-stress e pós-stress

Para a comparação entre o pré-stress e o pós-stress considerou-se que os frutos do pré-stress, uma vez que estiveram sempre nas mesmas condições de armazenamento, serão representados nos quadros por C0 (câmara 0).

Como se pode verificar no Quadro 27, relativamente ao IR, a câmara 7 não apresenta diferenças significativas para com a câmara 0. Esta é uma informação importante, pois revela que os stresses, excetuando o correspondente à câmara 3, tendencialmente desbloquearam o amadurecimento dos frutos, permitindo alguma evolução no IR. A avaliação da câmara 7 apenas difere da câmara 0 no tempo de conservação, o que confirma que frutos tratados com 1-MCP não evoluem no tempo.

Na dureza verifica-se uma diferença significativa entre a câmara 0 (pré-stress) e as restantes câmaras (pós-stress). É também visível que as câmaras 5, 6 e 7 não apresentam diferenças significativas entre si e têm uma variação menor relativamente à câmara 0, comparativamente com as restantes. Isto sugere que os stresses não são tão influentes na evolução da dureza, mas que os stresses das câmaras 5 e 6 tem um efeito menos reversível do 1-MCP que as câmaras 1, 2 e 3.

A acidez não apresentou nenhuma tendência crescente, decrescente ou no sentido da manutenção. A acidez mais baixa foi verificada no pós-stress, nas câmaras 6 e 7, mas por outro lado, as câmaras 1 e 4 apresentaram acidez significativamente maior.

Quadro 27 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre a colheita (C0) e o pré-stress (C1 a C7)

Câmara	IR ° Brix	Acidez g / L	Dureza kg/ 0,5 cm ² .
C0	12,17 ab	1,27 ab	5,58 a
C1	12,42 a	1,38 a	4,05 bc
C2	12,64 a	1,21 ab	3,83 cd
C3	11,74 b	1,34 a	3,75 d
C4	12,65 a	1,23 ab	4,05 bc
C5	12,36 a	1,23 ab	4,23 b
C6	12,36 a	1,17 b	4,24 b
C7	12, 21 ab	1,12 b	4,25 b

Relativamente aos parâmetros bioquímicos, é possível, pela comparação de médias registada no Quadro 28, aferir que existe uma redução significativa entre a capacidade antioxidante no pré-stress (câmara 0) e no pós-stress (câmaras 1,3,4,5,6 e 7). Camaras 2 e 5 não acompanharam esta tendência, conduzindo a capacidades antioxidantes mais altas que C0. Autores, como Kader e Lee (2000), Veltman et al. (2002) verificaram uma descida da concentração de ácido ascórbico ao longo da conservação em AC. Já Isidoro (2019) verificou que a capacidade antioxidante demonstra um crescimento nos primeiros 5 meses de conservação e depois uma tendência decrescente, tanto em peras tratadas com 1-MCP como com peras sem tratamento. Tal incerteza vem corroborar a tese de Davey et al. (2000) que diz não existir um comportamento definido entre o efeito da maturação e a evolução de ácido ascórbico nos frutos, acompanhando os dados obtidos neste trabalho.

Tendo em conta que a câmara 7, que não foi sujeita a qualquer stress, apresenta resultados iguais a diversos stresses, podemos concluir que a evolução da capacidade antioxidante é independente dos stresses.

Relativamente à concentração de α - *farneseno*, é verificável que a câmara 7 apresenta uma concentração significativamente maior e por sua vez uma concentração de trienos conjugados também elevada, o que pode sugerir um resultado pior no ES, porém, não se verificou.

Quadro 28 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade entre a colheita (C0) e o pré-stress (C1 a C7)

Câmara	Capacidade antioxidante mg / g	Concentração de α – farneseno m μ / g	Concentração de TC m μ / g
C0	0,0014 b	3,478 ab	1,995 ab
C1	0,0007 c	3,566 ab	0,805 ab
C2	0,0019 a	2,266 b	0,907 ab
C3	0,0006 c	4,489 ab	1,081 ab
C4	0,0006 c	2,796 ab	0,648 b
C5	0,0017 ab	3,066 ab	1,225 a
C6	0,0006 c	4,057 ab	1,125 ab
C7	0,0006 c	4,100 a	1,007 ab

4.2.3 Comparação entre o pós-stress e o final

Uma vez que o efeito dos stresses foi avaliado na comparação entre o pré-stress e o pós-stress, no ponto anterior, e que os acidentes fisiológicos entre as câmaras, ao longo do tempo, estão descritos no ponto 4.1.5, na avaliação final é importante comparar a evolução do protocolo normal de 1-MCP, correspondente à câmara 7.

Como se pode verificar pela análise do Quadro 29, a evolução do parâmetro da dureza não foi o esperado. Tal como já foi descrito anteriormente, verificou-se um aumento significativo na dureza, que não tem sido descrito. Apesar deste aumento na dureza não ser facilmente justificado, a ausência de perda de dureza é um fator positivo, uma vez que a dureza é um atributo da pera ‘Rocha’.

Quanto ao IR, verificou-se uma diminuição significativa, o que sugere um consumo energético por parte do fruto.

Quadro 29 - Comparação das médias dos parâmetros de qualidade no protocolo normal de 1-MCP no pós-stress e final

Datas	IR	Dureza
Pós-stress (câmara 7)	12,21 a	4,25 b
Final (câmara 7)	11,23 b	4,64 a

Analisando o Quadro 30 verificamos que o único parâmetro bioquímico que revelou diferenças significativas nas duas datas consideradas, foi a capacidade antioxidante. Esta foi significativamente superior no final.

Quadro 30 - Comparação das médias dos parâmetros bioquímicos no protocolo normal de 1-MCP no pós-stress e final

Datas	Capacidade antioxidante mg / g	Concentração de α - farneseno m μ / g	Concentração de TC m μ / g
Pós-stress (câmara 7)	0,0006 b	3,90 a	1,19 a
Final (câmara 7)	0,0017 a	4,12 a	1,41 a

4.2.4 Breve apreciação da evolução temporal dos parâmetros tonalidade, dureza e capacidade antioxidante

Na Figura 11 estão representados os valores da dureza no pré-stress e no dia 1 da data final de análises, nas diferentes câmaras.

Como a análise do gráfico evidencia, existe uma diferença significativa e generalizada entre o momento de análise precedente às aplicações dos *stresses* e o momento final. Contudo não se verifica uma diferença significativa entre as oito câmaras. Tal não implica uma ausência de resposta aos diferentes *stresses*, mas sim que, apesar da aplicação de *stress*, como as peras são mantidas em frio, no dia 1, a taxa metabólica é ainda muito baixa e os frutos mantêm-se como num estado de dormência.

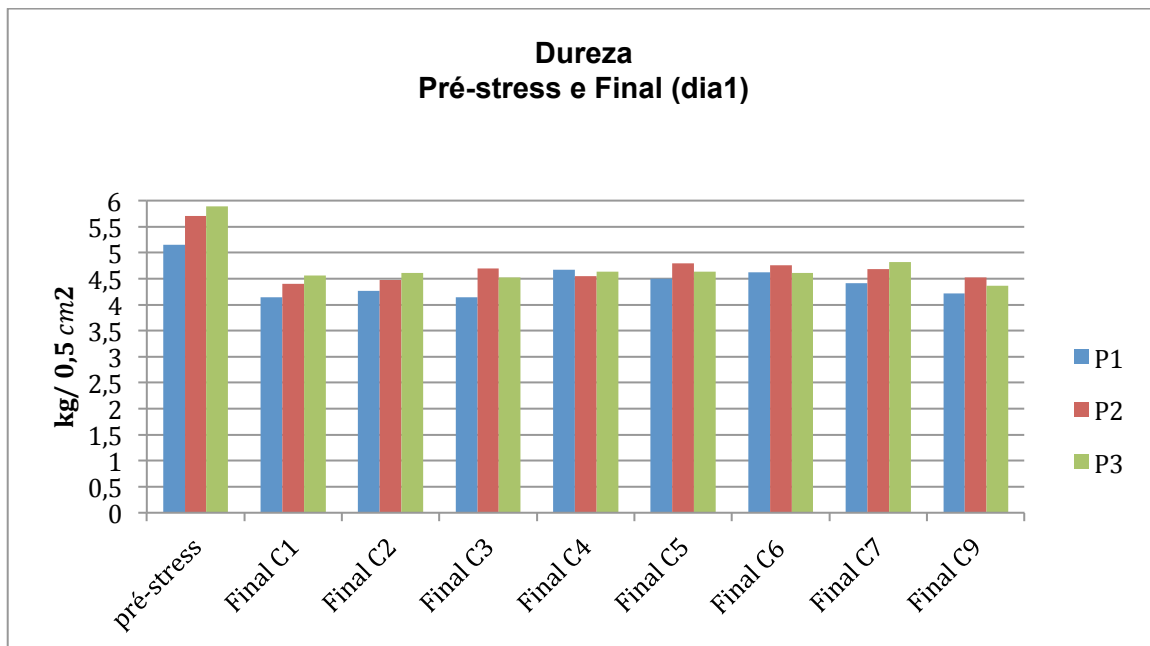


Figura 11- Comparação de dureza entre o momento de análise pré-stress e o momento de análise final.

A Figura 12 apresenta o parâmetro dureza no pré-stress e no final, no dia 7.

Os resultados sugerem uma reativação da taxa metabólica durante o período de prateleira e já evidenciam diferenças significativas entre as diferentes modalidades de *stress*.

É visível que os *stresses* induzidos nas câmaras 1, 2, 3 e 4 têm um efeito reversor do 1-MCP mais pronunciado, quando comparados com os *stresses* das câmaras 5 e 6, que apresentam valores semelhantes à ausência de *stress* da câmara 7.

Relativamente ao fator pomar, conclui-se que as peras do pomar 1 apresentam uma maior tendência para a perda de dureza e que, essa tendência, se torna mais pronunciada quando sujeitas aos *stresses*.

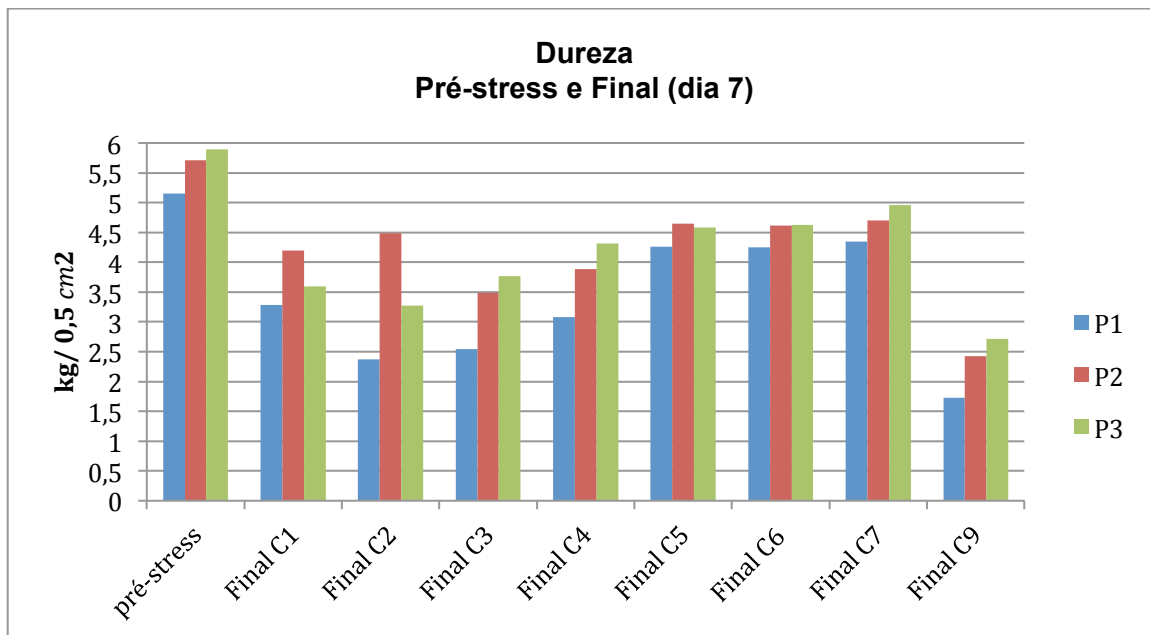


Figura 12- Comparação de dureza entre o momento de análise do pré-stress e o momento de análise final.

À semelhança do que ocorreu com o parâmetro dureza (estado de dormência) também não se verificaram alterações significativas entre as tonalidades das diferentes câmaras ao dia 1, assim sendo, procedeu-se à avaliação do dia 7.

A Figura 13 representa a evolução no tempo do parâmetro tonalidade (h), considerando a data final ao dia 7. O h do verde puro corresponde a 180° e o h do amarelo puro corresponde a 90° (Almeida et al., 2016). Assim, um valor mais elevado do parâmetro tonalidade é indicativo de um fruto com uma coloração mais esverdeada, o seu decréscimo revela uma evolução da tonalidade de verde para amarelo.

No que respeita a este parâmetro, cuja sua descida sugere uma aproximação da coloração desejada para consumo, verificamos a mesma tendência do parâmetro dureza. Tal como se pode verificar na Figura 13, os stresses induzidos nas câmaras 1, 2, 3 e 4 têm um maior efeito reversor quando comparados com os stresses das câmaras 5 e 6, que mais uma vez apresentam poucas diferenças do protocolo normal de 1-MCP seguido na câmara 7. O fator pomar demonstra ter menos influência neste parâmetro.

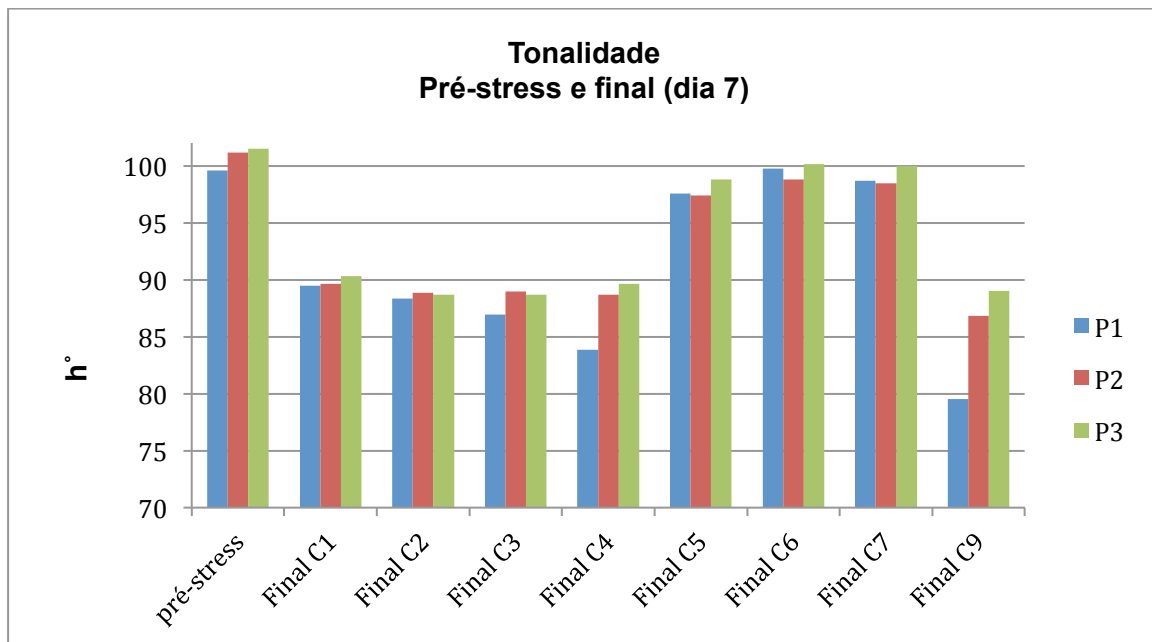


Figura 13- Comparação do parâmetro tonalidade da cor entre os momentos de análise pré-stress e final.

Relativamente aos acidentes fisiológicos no dia 7 da avaliação final, é possível verificar pela análise das Figuras 14 e 15 que estes foram relativamente controlados.

Quanto ao ES, como já era expectável, o 1-MCP teve a capacidade total de prevenir esta desordem e os *stresses* induzidos nas câmaras de 1 a 6 não prejudicaram essa capacidade. Na câmara 9, na condição de ULO verificou-se a incidência de ES e pode-se verificar que o pomar 1 tem uma menor suscetibilidade, pois não apresentou qualquer incidência, tal corrobora a tese de que frutos colhidos mais maduros têm menor suscetibilidade (Bramlage, 1988; Avelar, 2011; Erkan e Pekmezci, 2004; Calvo e Candan, 2010).

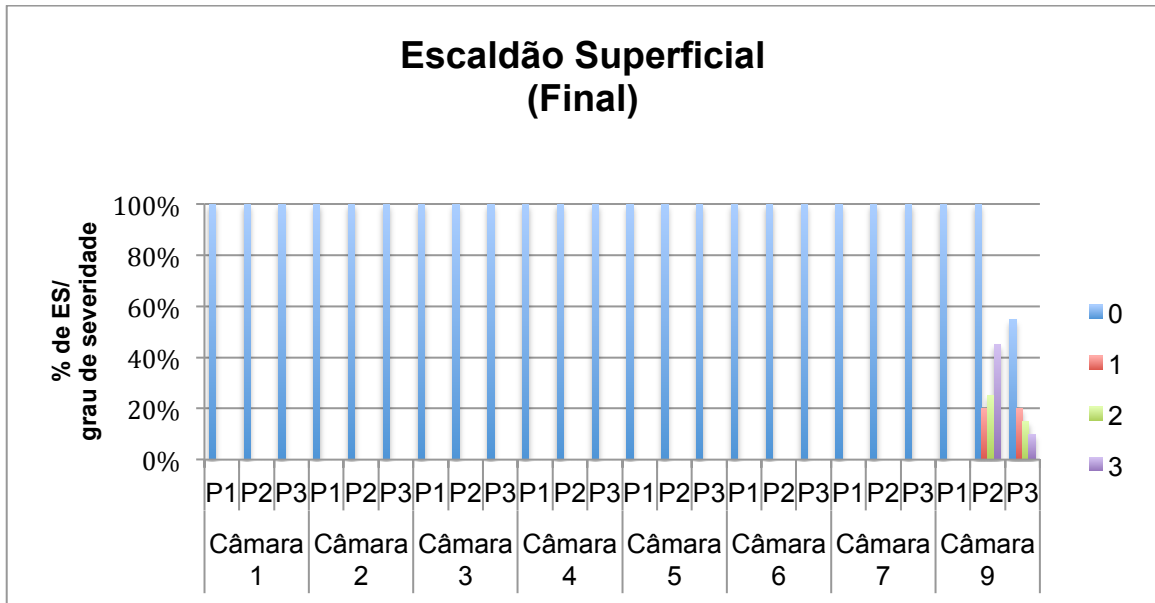


Figura 14- Incidência de escaldão superficial no momento de análise final.

Por outro lado, a incidência de AI foi mais notória, sendo que os *stresses* terão tido influência significativa no seu agravamento, comparativamente com a câmara de ULO, tal como tinha sido expresso no Quadro 24.

Relativamente ao parâmetro pomar, este verifica variabilidade na resposta. O pomar 1 apresenta maior incidência de AI, o que, mais uma vez, poderá ser explicado pelo seu estado de maturação mais avançado.

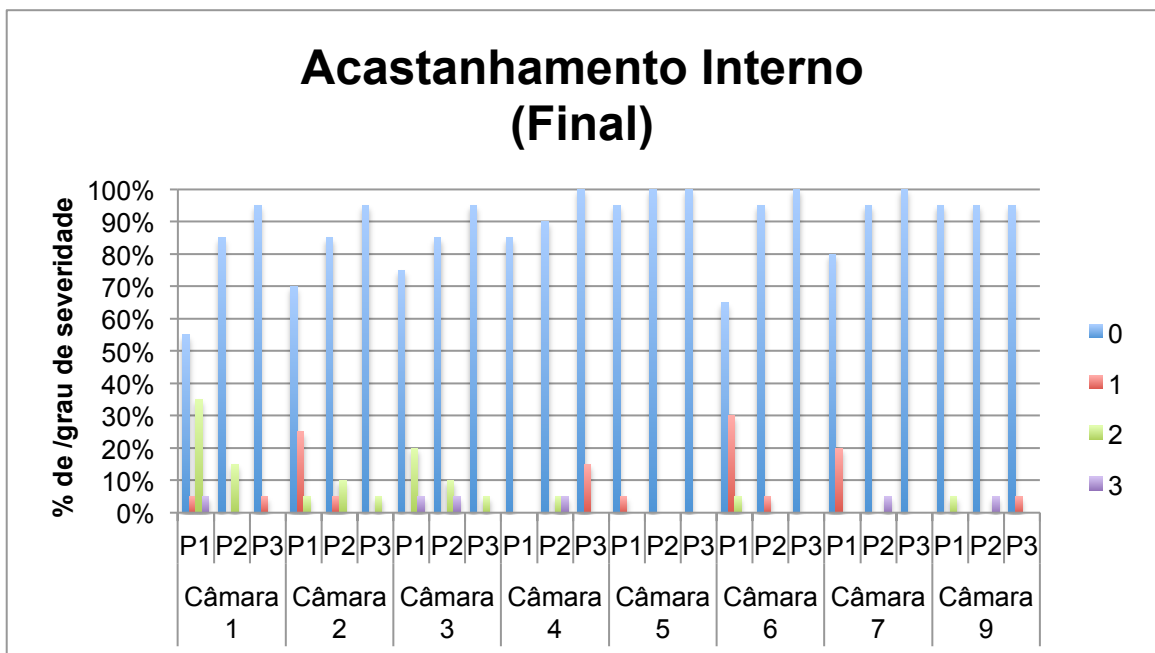


Figura 15- Incidência de acastanhamentos internos no momento de análise final.

Considerando agora os dados globalmente, desde a colheita, pela análise da Figura 16 pode verificar-se que existiu uma evolução dos frutos entre a colheita e o pré-stress. Também se verifica evolução entre o período de pré-stress e o final, sendo que é visível uma diferença na evolução ocorrida entre as câmaras 5, 6 e 7, que evoluíram menos intensamente e as câmaras 1, 2, 3 e 4 que tiveram uma evolução muito mais acentuada. Este resultado aponta para que os stresses das câmaras 1, 2, 3 e 4 foram eficientes a reiniciar o processo de amadurecimento após tratamentos com 1-MCP.

As respostas aos stresses induzidos nas câmaras 5 e 6 são muito idênticos à resposta da câmara 7, que não foi submetida a nenhum stress, sendo que a diferença entre os stresses das câmaras 1, 2, 3, e 4 (e as câmaras 5, 6 e 7) é a presença do *stress* temperatura.

Também é possível verificar que, apesar do *stress* temperatura por si só (câmara 1) apresentar um bom resultado na evolução, quando combinado com outros *stresses* (C_2H_4 , CO_2 e a combinação de ambos) tem um poder de reversão maior.

Ainda assim, comparando com o valor de tonalidade da câmara 9 (câmara de controlo sem tratamento 1-MCP e sem aplicação de *stress*) no período final de análise (Quadro 17), que apresenta um valor de $86,22^\circ$, pode concluir-se que o 1-MCP apesar de ter apresentado alguma reversão, não reverteu na totalidade, tendo até contribuído para uma manutenção da cor, o que poderá ser positivo para manter este parâmetro dentro dos padrões de preferência dos consumidores.

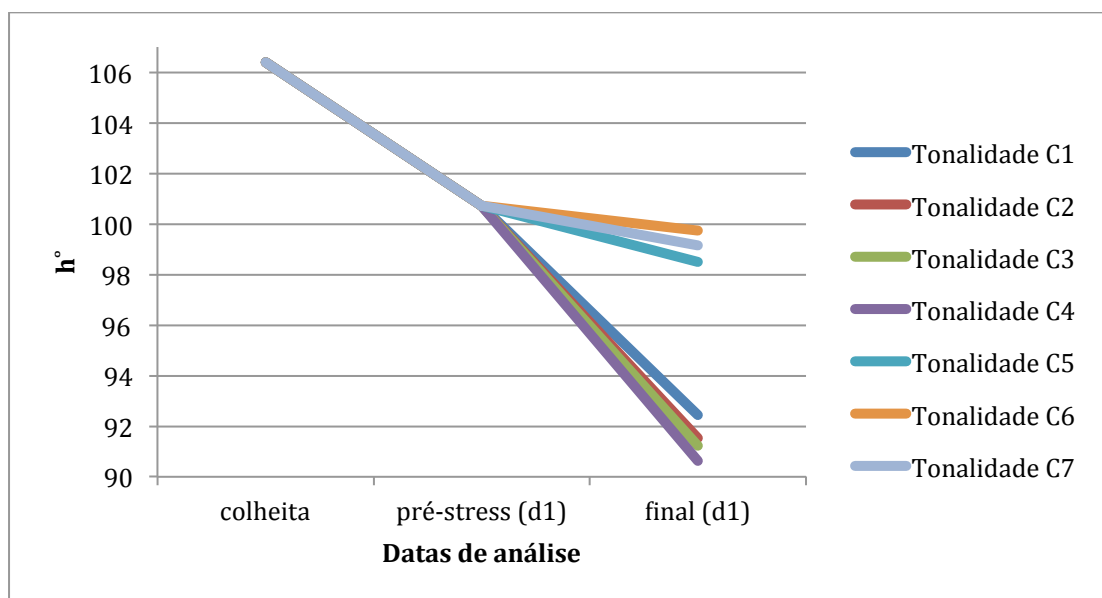


Figura 16 - Evolução ao longo do estudo da tonalidade das peras por câmara, representada por h°

Relativamente à dureza, tal como já tinha sido referido, observou-se uma evolução fora do esperado entre o momento de análise colheita e pré-stress, onde se verificou um aumento

significativo na dureza. O mesmo repetiu-se entre o momento de avaliação pós-stress e final, ainda que menos acentuadamente como se pode verificar pela inclinação da reta (Figura 17).

Entre o pré-stress e o pós-stress verifica-se uma descida dos valores da dureza em todas as câmaras, incluindo a câmara 7, que não foi sujeita a nenhum stress.

A câmara 5 revela um comportamento muito semelhante à câmara 7, tal como se tinha verificado anteriormente na análise do parâmetro tonalidade, o que corrobora a ineficiência do *stress* induzido pelo etileno em reverter o efeito do 1-MCP, por si só.

A condição de *stress* da câmara 3 revela ser a mais poderosa na reativação do amadurecimento, uma vez que apresenta uma dureza significativamente mais baixa comparativamente com as restantes câmaras, o que vai ao encontro do verificado na avaliação da evolução da cor.

Na avaliação final, as peras da câmara 9 (câmara de controlo sem tratamento 1-MCP e sem aplicação de *stress*) apresentam uma dureza de 3,32 kg/ 0,5 cm² (Quadro 17), significativamente mais baixa comparativamente com as peras tratadas com 1-MCP das restantes câmaras, o que indicia que o 1-MCP teve o efeito de manutenção da dureza que tem vindo a ser reportado nos vários estudos citados ao longo deste trabalho.

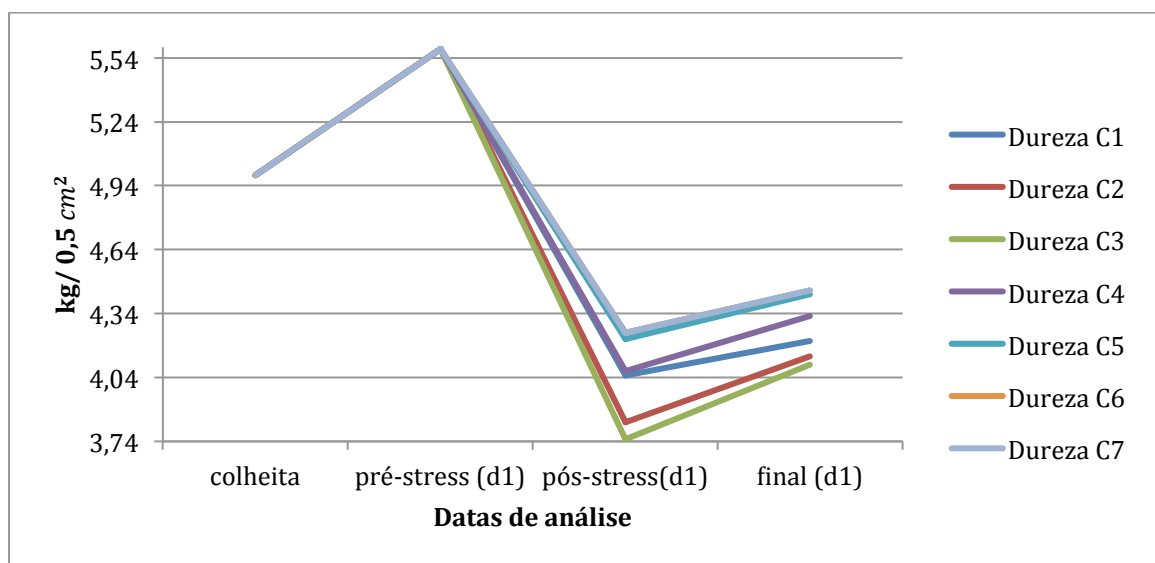


Figura 17 - Evolução da dureza das peras por câmara ao longo do estudo, medida em kg/ 0,5 cm²

Relativamente à capacidade antioxidante, verifica-se um aumento durante os primeiros 5 meses de conservação e posteriormente um declínio geral, ainda que menos acentuado nas peras das câmaras 2 e 5 (Figura 16). Esta tendência de variação crescente nos primeiros meses de conservação, decrescente e novamente crescente, da capacidade antioxidante também foi reportada em peras tratadas com 1-MCP por Isidoro (2019). É conhecido que situações de stress provocam desequilíbrios no sistema antioxidante a favor de espécies reativas de oxigénio (Isidoro, 2019) o que poderia explicar o decréscimo posterior ao período

de pré-stress. Porém a câmara 7, que não sofreu qualquer *stress* apresenta um comportamento idêntico às câmaras 1, 3, 4 e 6, contrariamente às câmaras 2 e 5 que aparentam ter sido favorecidas pelos stresses no que respeita à capacidade antioxidante, não demonstrando uma quebra tão significativa.

Relativamente à câmara 9 (câmara de controlo sem tratamento 1-MCP e sem aplicação de *stress*), a capacidade antioxidante das suas câmaras na avaliação final demonstra não ter diferença significativa para as câmaras 2, 3, 6 e 7 (Quadro 18), indicando que o tratamento com 1-MCP e os stresses não terão especial influência na capacidade antioxidante.

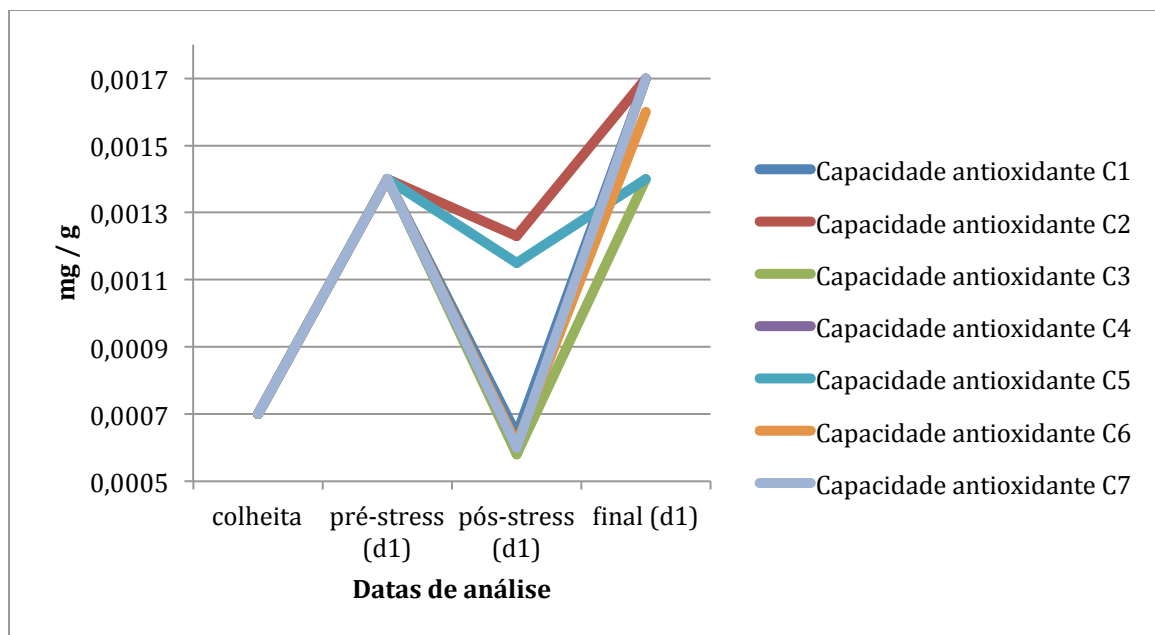


Figura 18 - Evolução ao longo do estudo da capacidade antioxidante das peras por câmara, medida em mg / g

5. Conclusão

Este trabalho teve como objetivos avaliar o efeito da aplicação de *stresses* na reversão do 1-MCP aplicado a peras 'Rocha', bem como avaliar a capacidade de amadurecimento dos frutos na *shelf-life* e ainda relacionar o aparecimento de acidentes fisiológicos com diferentes modalidades de armazenamento. Para tal, procedeu-se à análise de parâmetros chave de qualidade: dureza, índice refratométrico, cor, acidez titulável e também a determinação da capacidade antioxidante e das concentrações de α - *farneseno* e trienos conjugados. Foi também monitorizado a incidência de escaldão superficial e acastanhamento interno ao longo da conservação.

As análises incidiram sobre três pomares para aferir se eventuais condicionalismos produtivos poderiam ter influência na resposta à conservação e aos diferentes *stresses* que foram induzidos, apenas numa vertente indicativa, uma vez que não são conhecidas as práticas culturais ou as condições de cada pomar. Ao longo do tempo os pomares demonstraram diferenças significativas entre si na resposta aos diferentes *stresses*. Ainda assim a tendência estabelecida na colheita foi mantida ao longo do tempo de conservação, o que sugere que as diferenças são características intrínsecas aos frutos e não reações diferentes à conservação, como o tipo de solo, incidência solar, disposição dos frutos na árvore, práticas culturais.

No que respeita o principal objetivo do trabalho, a avaliação da evolução no tempo dos parâmetros dureza e cor, que tipicamente apresentam maior dormência aquando do tratamento com o 1-MCP, revelou sucesso na reversão do 1-MCP. O *stress* de temperatura demonstrou-se determinante uma vez que todas as peras submetidas a *stresses* de temperatura demonstraram uma reversão mais significativa do 1-MCP, sendo que este, quando combinado com CO_2 potencia o seu efeito. Já os *stresses* induzidos pelo $C_2H_4 + CO_2$ e o C_2H_4 isoladamente, demonstram não ser capazes de reverter o efeito do 1-MCP. Porém o *stress* de temperatura demonstrou agravar a incidência de acastanhamentos internos.

Ao analisar a incidência de acidentes fisiológicos podemos concluir que o 1-MCP é muito eficiente no combate ao escaldão superficial, uma vez que, no decorrer de toda a conservação, apenas se verifica escaldão superficial significativo na câmara 9, não sujeita a aplicação de 1-MCP. Quanto à prevenção dos acastanhamentos internos, não é verificável um efeito tão marcado do 1-MCP comparativamente com o ES, uma vez que existe incidência e até mais pronunciada quando comparada com a câmara em ULO.

O período de *shelf-life* de sete dias é suficiente e necessário para a reativação do metabolismo do fruto e posterior desenvolvimento de características organoléticas, potenciado pelos *stresses*.

Em conclusão é possível confirmar o que tem vindo a ser demonstrado, o 1-MCP, quando bem utilizado, pode ser uma ferramenta importante na regulação do amadurecimento e, em especial, na inibição do escaldão superficial. Conclui-se que a conservação prolongada em ACD de frutos tratados com 1-MCP confere uma maior manutenção dos parâmetros de qualidade e menor incidência de ES comparativamente com a conservação em ULO, mas que o ULO apresenta melhores resultados quanto aos AI. Ainda assim, as diferenças entre a incidência de AI nas câmaras 2 a 6 não são significativas entre si, contrariamente à câmara 1 que difere das restantes, no sentido do agravamento dos AI. Estes resultados são coerentes com a ausência de diferenças significativas entre as concentrações de α -farnesene e trienos conjugados. Ainda que se tenha verificado o agravamento da ocorrência de acastanhamentos internos, os graus de severidade foram maioritariamente baixos. A variabilidade da resposta entre pomares é existente, o que confirma que o efeito do 1-MCP está dependente do estado de maturação, assim como a susceptibilidade ao desenvolvimento de acidentes fisiológicos.

Bibliografia

- Almeida, D. (2005). *Manuseamento de Produtos Hortofrutícolas*. 1ª ed. Porto: Sociedade Portuguesa Consultoria Empresarial e Fomento da Inovação, S.A.
- Almeida, D. (2017). Novas recomendações para o armazenamento prolongado de pera ' Rocha ' produzida na região Oeste de Portugal. *Pre-Print Da Comunicação Apresentada Ao VIII Congresso Ibérico de Ciências Horticolas, Coimbra, Portugal, 7 a 10 de Junho de 2017*, 1–8. https://www.isa.ulisboa.pt/files/fl/pub/articles/2017-07/Almeida_Recomendacoes_armazenamento_pera_Rocha_Congresso_Iberico_Ciencias_Horticolas.pdf
- Almeida, D. P. F., Carvalho, R., & Dupille, E. (2016). Efficacy of 1-methylcyclopropene on the mitigation of storage disorders of "rocha" pear under normal refrigerated and controlled atmospheres. *Food Science and Technology International*, 22(5), 399–409. <https://doi.org/10.1177/1082013215610026>
- Alpalhão, A., Neto, C., Goulão, L., Clemente, J., & Henriques, J. (2009). Efeito do 1-metilciclopropeno em pêra ' Rocha ' em diferentes estados de maturação armazenadas em atmosfera normal. *Actas Portuguesas de Horticultura*, 11, 224–230.
- ANP – Pêra Rocha. (n.d.). Retrieved December 21, 2020, from <https://perarocha.pt/anp/>
- Blankenship, S. M., & Dole, J. M. (2003). 1-Methylcyclopropene: A review. *Postharvest Biology and Technology*, 28(1), 1–25. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(02\)00246-6](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00246-6)
- Candan, A. P., Calvo, G., Valle, A., Station, E., & Negro, R. (2011). *Ripening Induction of ' Packham ' s Triumph ' Pears Treated with. 0*, 731–738.
- Capinha, R., & Gomes, B. (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 . '*
- 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. *Avances En Poscosecha de Frutas y Hortalizas*, 583–588.
- Deuchande, Teresa, Carvalho, S. M. P., Giné-Bordonaba, J., Vasconcelos, M. W., & Larrigaudière, C. (2017). Transcriptional and biochemical regulation of internal browning disorder in 'Rocha' pear as affected by O2 and CO2 concentrations. *Postharvest Biology and Technology*, 132(June), 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.05.011>
- Deuchande, Teresa, Carvalho, S. M. P., Guterres, U., Fidalgo, F., Vasconcelos, M. W., Isidoro, N., & Larrigaudi, C. (2016). *LWT - Food Science and Technology Dynamic controlled atmosphere for prevention of internal browning disorders in ' Rocha ' pear*.

- 65, 725–730. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.075>
- Dias, C., Ribeiro, T., Rodrigues, A. C., Ferrante, A., Vasconcelos, M. W., & Pintado, M. (2021). Improving the ripening process after 1-MCP application: Implications and strategies. *Trends in Food Science and Technology*, 113(March), 382–396. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.012>
- Dias, C., Ribeiro, T., Rodrigues, A. C., & Vasconcelos, M. W. (2020). *Restoring ' Rocha ' pear ripening under 1-MCP evergreen effect : a comparison between normal ripening and after auxin treatment*. 143560.
- Pintado, M. L. S., (2019). *Análise de parâmetros bioquímicos para previsão precoce do acastanhamento interno de pera ' Rocha ' do Oeste . Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Agronómica*.
- Felicio, N. C., & Costa, D. V. T. A. (1997). *Influência da rega nos parâmetros produtivos e qualitativos da Pêra Cv ' Rocha .'* 188–191.
- Franck, C., Lammertyn, J., Ho, Q. T., Verboven, P., Verlinden, B., & Nicolaï, 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>
- Gomes, G. D. (2015). *Acastanhamento interno durante o armazenamento da pera ' Rocha ' : Impacto do baixo O2 e alto CO2 no metabolismo e estratégias de controlo*.
- Guerra, R., Gardé, I. V., Antunes, M. D., da Silva, J. M., Antunes, R., & Cavaco, A. M. (2012). A possibility for non-invasive diagnosis of superficial scald in “Rocha” pear based on chlorophyll a fluorescence, colorimetry, and the relation between α -farnesene and conjugated trienols. *Scientia Horticulturae*, 134, 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.11.017>
- Hu, B., Sun, D. W., Pu, H., & Wei, Q. (2019). Recent advances in detecting and regulating ethylene concentrations for shelf-life extension and maturity control of fruit: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 91(December 2018), 66–82. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.010>
- Isidoro, 2019. (2019). Escaldão Superficial. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Jung, S. K., & Watkins, C. B. (2008). Superficial scald control after delayed treatment of apple fruit with diphenylamine (DPA) and 1-methylcyclopropene (1-MCP). *Postharvest Biology and Technology*, 50(1), 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.05.006>
- Kan, C., Gao, Y., Wan, C., Chen, M., Zhao, X., Liu, S., & Chen, J. (2019). Influence of different cold storage times on quality of “Cuiguan” pear fruits during shelf life. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(12), 1–14. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14245>
- Lurie, S., & Watkins, C. B. (2012). Superficial scald, its etiology and control. *Postharvest*

- Biology and Technology*, 65, 44–60. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.11.001>
- Maria, T., & Deuchande, M. (2016). *Internal Browning Disorders of “Rocha” Pear During Long-Term Storage*.
- Mata, C. I., Van de Poel, B., Hertog, M. L. A. T. M., Tran, D., & Nicolai, B. M. (2018). Transcription analysis of the ethylene receptor and CTR genes in tomato: The effects of on and off-vine ripening and 1-MCP. *Postharvest Biology and Technology*, 140(February), 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.02.014>
- Pathak, N., Caleb, O. J., Geyer, M., Herppich, W. B., Rauh, C., & Mahajan, P. V. (2017). Photocatalytic and Photochemical Oxidation of Ethylene: Potential for Storage of Fresh Produce—a Review. *Food and Bioprocess Technology*, 10(6), 982–1001. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-1889-0>
- Pera. (n.d.).
- Pera – Centro Frutologia Compal. (n.d.). Retrieved December 21, 2020, from <https://centrofrutologiacompal.pt/pera/#em-portugal>
- Pereira, C. L. (2017). *Monitorização da conservação de pêra “Rocha”: avaliação de características de qualidade*.
- Pereira, F. A. T. L. G. (2015). *Fileira da pera Rocha - Análise do Setor no Período 2003-2013*. 71. [https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/12183/1/Francisco Pereira _ Fileira da pera Rocha Análise do Setor no Período 2003 - 2013.pdf](https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/12183/1/Francisco%20Pereira%20Fileira%20da%20pera%20Rocha%20Análise%20do%20Setor%20no%20Período%202003%20-%202013.pdf)
- Pua, E. C., & Davey, M. R. (2010). Plant developmental biology. *Plant Developmental Biology*, 1, 1–497. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-02301-9>
- Santos, P. S. (2009). *Aplicação Da Espectroscopia De Infravermelho Próximo Na Avaliação De Alguns Atributos De Qualidade Em Pêra ‘Rocha’ E Maçã ‘Gala.’* 118.
- Saquet, A. A., Streif, J., & Bangerth, F. (2003). Energy metabolism and membrane lipid alterations in relation to brown heart development in “Conference” pears during delayed controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology*, 30(2), 123–132. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(03\)00099-1](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00099-1)
- Saquet, Adriano A., Streif, J., & Almeida, D. P. F. (2017). Responses of ‘Rocha’ pear to delayed controlled atmosphere storage depend on oxygen partial pressure. *Scientia Horticulturae*, 222(May), 17–21. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.05.006>
- Saquet, Adriano Arriel. (2017). *Physiology and Biochemistry of “Rocha” Pear During Ripening and Long-Term Controlled Atmosphere Storage*.
- Silva, J. M., Barba, N. G., Barros, M. T., & Torres-Paulo, T. A. (2005). Rocha’, the pear from Portugal. *Acta Horticulturae*, 671, 219–222. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.671.29>
- Sousa, R. M., (2020). "Manual de Boas Práticas de Fruticultura". A Pereira Rocha, 3º fascículo. Frutas Legumes e Flores em parceria com o INIAV e COTR.

Watkins, C. B., Nock, J. F., & Whitaker, B. D. (2000). Responses of early, mid and late season apple cultivars to postharvest application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) under air and controlled atmosphere storage conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 19(1), 17–32. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00070-3](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00070-3)

Whitaker, B. D., & Saftner, R. A. (2000). Temperature-dependent autoxidation of conjugated trienols from apple peel yields 6-methyl-5-hepten-2-one, a volatile implicated in induction of scald. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2040–2043. <https://doi.org/10.1021/jf991107c>

Zhang, J., Ma, Y., Dong, C., Terry, L. A., Watkins, C. B., Yu, Z., & Cheng, Z. M. (Max). (2020). Meta-analysis of the effects of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on climacteric fruit ripening. *Horticulture Research*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41438-020-00405-x>

)