



Impacto de vários tratamentos na redução do escaldão solar em maçãs ‘Gala’

Ana Margarida Gouveia de Lima Rodrigues

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Agronómica

Orientadores: Doutora Luísa Ferreira de Carvalho

Doutor Miguel António Leão de Sousa

Júri:

Presidente:

Doutora Elizabete Tavares Lacerda de Figueiredo Oliveira, Professora auxiliar, Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais:

Doutor Henrique Manuel Filipe Ribeiro, Professor auxiliar, Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

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

Doutora Luísa Cristina dos Mártires Ferreira de Carvalho, Professora auxiliar, do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa, orientadora.

A persistência é o caminho do êxito

Charlie Chaplin

Agradecimentos

Ao concluir este trabalho não posso deixar de expressar o meu sincero agradecimento a todos os que me ajudaram ao longo destes meses.

À Professora Doutora Luísa Carvalho por ter sido incansável comigo, pela disponibilidade e dedicação durante todo este processo. Obrigada pela paciência e por todos os ensinamentos.

Ao Doutor Miguel Leão não só por me ter convidado e sugerido este tema, como também por toda a partilha de conhecimentos e tempo despendido ao longo destes meses.

Aos meus colegas do INIAV: Mafalda Trindade, Alexandra Margarida e João Matias por terem disponibilizado o seu tempo para me ajudar na realização de trabalho de campo, bem como de laboratório, ao longo deste ensaio.

Aos meus amigos, Sara Barros, Susana Matias, Daniel Nascimento e todos os restantes, pelo apoio moral e por estarem sempre presentes nos momentos bons, assim como nos menos bons.

À técnica de laboratório de biotecnologia do ISA, Maria João Fernandes, bem como à professora Ana Rodrigues, agradeço toda a ajuda prestada ao longo do meu trabalho laboratorial.

Ao ISA, por todos os ensinamentos ao longo destes anos.

Ao engenheiro Rui Maia de Sousa, pela cedência da parcela para a realização deste ensaio e por ter estado sempre disponível para ajudar e com uma palavra de incentivo.

À Doutora Cláudia Sánchez e Filipa Queirós por terem sido impecáveis comigo na cedência de material de laboratório.

Às Engenheiras Élia Pimenta, Patrícia Vicente e Marta Gonçalves pela prestabilidade, simpatia e por toda ajuda dispensada tanto a nível laboratorial como de trabalho de campo.

Às colaboradoras do INIAV de Alcobaça, Nazaré e Anabela, que me fizeram sentir em casa. Agradeço todo o carinho e amizade expressos ao longo destes meses.

À minha família, em especial os meus pais, irmãos e avó, que sem eles seria impossível a realização do presente trabalho. Obrigada por acreditarem sempre em mim, e por serem o meu pilar incondicionalmente.

Agradeço ainda aos meus sogros e ao meu cunhado, por toda a compreensão, carinho e paciência durante todo este período.

Ao meu namorado Luís, agradeço todo o apoio e paciência para comigo, principalmente nas alturas mais complicadas e desafiantes. Obrigada, ainda, pela ajuda prestada nalgumas atividades do ensaio. Sem ti tudo seria mais difícil.

O meu mais sincero agradecimento a todos vós.

Resumo

O escaldão solar na fruta constitui um importante problema económico na maioria das regiões de produção de maçã, a nível mundial. As perdas por ele provocadas podem ir de 10% a 50% da produção.

Tendo isto em consideração, existe uma grande necessidade de se estudar a eficácia das diversas estratégias de prevenção do escaldão, de modo a ajudar os fruticultores no combate ao mesmo.

Sendo assim, o presente estudo foi realizado num pomar de macieira 'Gala' (*Malus domestica* Borkh), clone 'Galaxy Selecta', pertencente ao INIAV, I.P. de Alcobaça, durante a campanha de 2021. Foram testadas oito estratégias de mitigação de queimaduras solares (Eckosil, fertilização foliar, reforço hídrico, quatro protetores solares: Surround, Vegepron Sun, Agrowhite e Sunstop e uma modalidade testemunha) ao longo de toda a campanha. Foram avaliados parâmetros de produção e qualidade, assim como aspetos fisiológicos. Dentro destes últimos, analisou-se a fotossíntese líquida, fluorescência da clorofila, concentração de alguns antioxidantes não enzimáticos e expressão génica de genes que codificam proteínas de choque térmico (HSPs).

De acordo com os resultados obtidos é possível verificar que: as maiores produções normalizadas foram verificadas nas modalidades Fertilização foliar, Agrowhite e Reforço hídrico (0,751 0,661 e 0,655 kg/cm² de AST, respetivamente); frutos com °Brix mais elevado nas modalidades foram Fertilização foliar, Eckosil e Agrowhite (14,1%, 13,8% e 13,6% de TSS, respetivamente); frutos com maior pigmentação vermelha nos tratamentos com Sunstop, Fertilização Foliar e Agrowhite; Quanto à fotossíntese, valores mais baixos foram apresentados pelas modalidades Surround e Vegepron Sun, conduzindo a valores de SLA mais elevados.

De modo geral, a maioria das modalidades apresentou igual ou melhor desempenho relativamente à testemunha. Contudo, é de salientar os resultados favoráveis obtidos para o tratamento com Agrowhite, uma vez que permitiu minimizar incidência de escaldão solar à colheita, proporcionando frutos com tão ou melhor qualidade relativamente à testemunha.

Palavras-chave: *Malus domestica* Borkh., stress térmico, trocas gasosas, antioxidantes, HSP

Abstract

Fruit sunburn is a major economic problem in most apple-producing regions worldwide. Their losses can range from 10% to 50% of production.

Bearing this in mind, there is a great need to study the effectiveness of the different sunburn prevention strategies, to help fruit growers to combat it.

Therefore, the present study was carried out in an apple orchard 'Gala' (*Malus domestica* Borkh), clone 'Galaxy Selecta', belonging to INIAV, I.P. Alcobaça during the 2021 campaign. Eight sunburn mitigation strategies were tested (silicon, foliar fertilization, water reinforcement, four sunscreens: Surround WP, Vegepron Sun, Agrowhite and Sunstop and a control modality without treatments) throughout the campaign.

Production and quality parameters were obtained, as well as physiological aspects. Within these, the net photosynthesis, chlorophyll fluorescence, concentration of some non-enzymatic antioxidants and gene expression of genes coding heat shock proteins (HSPs) were analyzed.

According to the results obtained, it is possible to verify that: the highest normalized productions were verified in Foliar nutrition, Agrowhite and Water reinforcement modalities (0.751 0.661 and 0.655 kg/cm² of AST, respectively); fruits with higher °Brix in Foliar nutrition, Silicon and Agrowhite modalities (14.1%, 13.8% and 13.6% of TSS, respectively); fruits with greater red pigmentation in the treatments with Sunstop, Foliar Nutrition and Agrowhite; As for photosynthesis, lower values were presented by Surround and Vegepron Sun, leading to higher SLA values.

In general, most of the modalities presented the same or better performance compared to the control. However, it is worth mentioning the favorable results obtained for the treatment with Agrowhite, since it allowed to minimize the incidence of sunburn at harvest, providing fruits with the same or better quality compared to the control.

Keywords: *Malus domestica* Borkh., heat stress, gas exchange, antioxidants, HSP

Índice

AGRADECIMENTOS.....	III
RESUMO.....	V
ABSTRACT.....	VI
ÍNDICE DE QUADROS.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
LISTA DE SIGLAS E ACRÓNIMOS.....	XIII
INTRODUÇÃO.....	1
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
1.1. ESPÉCIE MACIEIRA.....	2
1.2. CULTIVAR 'GALA'.....	2
1.3. ESCALDÃO.....	3
1.3.1. <i>Tipos de escaldão</i>	4
1.3.2. <i>Fatores que aumentam a sensibilidade ao escaldão</i>	4
1.3.3. <i>Formas de reduzir/ evitar os danos causados pelo escaldão</i>	5
1.4. MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE DEFESA CONTRA A EXPOSIÇÃO EXCESSIVA À LUZ SOLAR.....	8
1.4.1. <i>Antioxidantes não enzimáticos</i>	10
1.4.2. <i>Proteínas de choque térmico</i>	14
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
2.1. DESCRIÇÃO DO POMAR EM ENSAIO.....	15
2.2. MODALIDADES EM ENSAIO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	16
2.3. AVALIAÇÕES EFETUADAS NAS PLANTAS.....	20
2.3.1. <i>Crescimento</i>	20
2.3.2. <i>Produção e qualidade dos frutos</i>	22
2.3.3. <i>Determinações Fisiológicas</i>	24
2.4. ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÉNICA.....	31
2.4.1. <i>Extração de RNA</i>	31
2.4.2. <i>Síntese de cDNA por transcrição reversa</i>	32
2.4.3. <i>Seleção de genes de interesse envolvidos em mecanismo de defesa</i>	32
2.4.4. <i>PCR quantitativo em tempo real</i>	33
2.4.5. <i>Análise da expressão dos genes de interesse pelo método $2^{-\Delta\Delta Cq}$</i>	34
2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS.....	34
3. RESULTADOS.....	36
3.1. PERCENTAGEM DE COBERTURA DOS PROTETORES SOLARES.....	36
3.2. ASPETOS AGRONÓMICOS.....	37
3.2.1. <i>Crescimento dos frutos</i>	37
3.2.2. <i>Determinações de produção e qualidade</i>	38
3.3. PARÂMETROS FISIOLÓGICOS.....	43
3.3.1. <i>Fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática</i>	43
3.3.2. <i>Fluorescência da clorofila</i>	45
3.3.3. <i>NPQ e q_p</i>	46
3.3.4. <i>NDVI e PRI</i>	47
3.3.5. <i>Temperatura máxima de folhas e frutos, externos e internos</i>	47
3.3.6. <i>Área foliar específica</i>	50
3.3.7. <i>Pigmentos fotossintéticos</i>	51
3.3.8. <i>Antioxidantes não enzimáticos de baixo peso molecular</i>	54
3.4. EXPRESSÃO DE SHSPS.....	61
3.5. ANÁLISE ECONÓMICA.....	61
4. DISCUSSÃO.....	63

4.1.	ASPETOS AGRONÓMICOS	63
4.2.	PARÂMETROS FISIOLÓGICOS	65
4.3.	EXPRESSÃO DE HSP	70
4.4.	ANÁLISE ECONÓMICA.....	70
4.5.	QUADRO-RESUMO	71
5.	CONCLUSÕES E PERSPETIVAS.....	72
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXOS.....		72
	ANEXO I - DADOS METEOROLÓGICOS RECOLHIDOS PELA ESTAÇÃO METEOROLÓGICA DO INIAV, I.P., DE MAIO A AGOSTO DE 2021. 72	
	ANEXO II – PRODUTOS E RESPECTIVA COMPOSIÇÃO, UTILIZADOS NA MODALIDADE FERTILIZAÇÃO FOLIAR (M4).	73
	ANEXO III - CRESCIMENTO DOS FRUTOS DAS DIFERENTES MODALIDADES DE 26 DE MAIO ATÉ À COLHEITA.	74
	ANEXO IV – PARÂMETROS DE COR DOS FRUTOS DAS DIFERENTES MODALIDADES, PELO SISTEMA SIELAB. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES REFERENTES A CADA PARÂMETRO.	74
	ANEXO V - PERCENTAGEM DOS FRUTOS QUE APRESENTARAM OS QUATRO NÍVEIS DE ESCALDÃO NAS DIFERENTES MODALIDADES. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES REFERENTES A CADA PARÂMETRO.	75
	ANEXO VI - PARÂMETROS FOTOSSINTÉTICOS MEDIDOS NO PERÍODO DA MANHÃ EM TRÊS MOMENTOS DO CICLO. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES REFERENTES A CADA PARÂMETRO NAS TRÊS DATAS DE MEDIÇÃO.	75
	ANEXO VII - PARÂMETROS FOTOSSINTÉTICOS MEDIDOS NO PERÍODO DA TARDE EM TRÊS MOMENTOS DO CICLO. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES REFERENTES A CADA PARÂMETRO NAS TRÊS DATAS DE MEDIÇÃO.	76
	ANEXO VIII - PARÂMETROS DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA MEDIDOS EM TRÊS MOMENTOS AO LONGO DA CAMPANHA. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES REFERENTES A CADA PARÂMETRO NAS TRÊS DATAS DE MEDIÇÃO.	77
	ANEXO IX - ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA REGISTADA EM 6 DATAS, PARA AS DIFERENTES MODALIDADES. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES DE SLA REFERENTES A CADA DATA.	78
	ANEXO X - CONCENTRAÇÃO DE CLOROFILAS A (CHL A), B (CHL B) E TOTAIS (CHL T), CAROTENOIDES (CAR) E ANTOCIANINAS (ANC) E RAZÕES CHL A/ CHL B E CHL T/CAR (MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO) NAS FOLHAS DAS DIFERENTES MODALIDADES EM ENSAIO A 5 DE JULHO DE 2021. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES REFERENTES A CADA PARÂMETRO.	78
	ANEXO XI - CONCENTRAÇÃO DE CLOROFILAS A (CHL A), B (CHL B) E TOTAIS (CHL T), CAROTENOIDES (CAR) E ANTOCIANINAS (ANC) E RAZÕES CHL A/ CHL B E CHL T/CAR (MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO) NAS FOLHAS DAS DIFERENTES MODALIDADES EM ENSAIO A 17 DE AGOSTO DE 2021. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES REFERENTES A CADA PARÂMETRO.	79
	ANEXO XII - CONCENTRAÇÃO DE ASCORBATO TOTAL, OXIDADO (DAsA) E REDUZIDO (AsA) (MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO) E PERCENTAGEM DE REDUÇÃO (%) NAS FOLHAS DAS DIFERENTES MODALIDADES EM ENSAIO À COLHEITA. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES REFERENTES A CADA PARÂMETRO.	79
	ANEXO XIII - CONCENTRAÇÃO DE GLUTATIONA TOTAL, OXIDADA (GSSG) E REDUZIDA (GSH) (MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO) NAS FOLHAS DAS DIFERENTES MODALIDADES EM ENSAIO EM DOIS MOMENTOS DA CAMPANHA. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES REFERENTES A CADA PARÂMETRO.	80
	ANEXO XIV - CONCENTRAÇÃO DE ASCORBATO TOTAL, OXIDADO (DAsA) E REDUZIDO (AsA) (MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO) E PERCENTAGEM DE REDUÇÃO (%) NA EPIDERME DOS FRUTOS DAS DIFERENTES MODALIDADES EM ENSAIO À COLHEITA. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES REFERENTES A CADA PARÂMETRO.	80
	ANEXO XV - CONCENTRAÇÃO DE GLUTATIONA TOTAL, OXIDADA (GSSG) E REDUZIDA (GSH) (MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO) E PERCENTAGEM DE REDUÇÃO (%) NA EPIDERME DOS FRUTOS DAS DIFERENTES MODALIDADES EM ENSAIO EM DOIS MOMENTOS DA CAMPANHA. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES REFERENTES A CADA PARÂMETRO.	81
	ANEXO XVI - CONCENTRAÇÃO DE ASCORBATO TOTAL, OXIDADO (DAsA) E REDUZIDO (AsA) (MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO) E PERCENTAGEM DE REDUÇÃO (%) NA POLPA DOS FRUTOS DAS DIFERENTES MODALIDADES EM ENSAIO À COLHEITA. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES REFERENTES A CADA PARÂMETRO.	81
	ANEXO XVII - CONCENTRAÇÃO DE GLUTATIONA TOTAL, OXIDADA (GSSG) E REDUZIDA (GSH) (MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO) NA POLPA DOS FRUTOS DAS DIFERENTES MODALIDADES EM ENSAIO EM DOIS MOMENTOS DA CAMPANHA. DESTACARAM-SE A NEGRITO OS VALORES SUPERIORES REFERENTES A CADA PARÂMETRO.	82

Índice de Quadros

Quadro 1 - Modalidades em estudo no presente trabalho.....	16
Quadro 2 - Registo dos tratamentos realizados nas diferentes modalidades em ensaio.....	19
Quadro 3 - Referência NCBI e nome dos genes monitorizados nos frutos com escaldão; sequência dos primers usados na amplificação por RT-qPCR e tamanho dos produtos amplificados.....	33
Quadro 4 - Percentagem de cobertura dos frutos proporcionada pelos quatro protetores solares.....	36
Quadro 5 - Número médio de frutos por árvore e respetiva produção por árvore, peso médio por fruto, área de secção do tronco (AST) média (2x5 árvores) e produção normalizada nas diferentes modalidades.....	38
Quadro 6 - Percentagem de frutos por calibre em cada modalidade à colheita, em amostras de 300 frutos por modalidade.....	39
Quadro 7 - Análises de qualidade dos 30 frutos colhidos por modalidade com calibre 65-75mm.....	40
Quadro 8 - Classes de calibre e respetivos preços por kg adaptados de uma central fruteira.....	62
Quadro 9 - Estimativa do valor pago pela central ao produtor, expresso em € por hectare, para as diferentes modalidades.....	62
Quadro 10 - Avaliação das diferentes modalidades relativamente à sua influência nos parâmetros fisiológicos e de qualidade analisados.....	71

Índice de figuras

Figura 1 - Localização do pomar em ensaio (A) (fonte: Google Earth); Aspeto geral do pomar de 'Gala' a 17/05/2021(B)	15
Figura 2 - Disposição das unidades experimentais causalizadas com cinco repetições correspondentes às oito modalidades em ensaio.....	17
Figura 3 - Reforço hídrico realizado nas quatro árvores de cada unidade experimental da modalidade M7, com recurso a bilhas de 20 e 30L.	18
Figura 4 - Aplicação dos tratamentos utilizando equipamento de proteção individual (A); com recurso a um pulverizador industrial Pulmic 35 (B).....	18
Figura 5 – Avaliação da percentagem de aderências dos quatro produtos protetores solares com recurso ao programa ImageJ.	20
Figura 6 - Discos de folhas com 14 cm de diâmetro para determinação do peso fresco (A); placas de petri com os mesmos discos foliares após 48 horas na estufa a 70 °C (B).	21
Figura 7 - Espaço de cor CIE *L *a *b. (Fonte: Ly et al., 2020)	23
Figura 8 - Penetrómetro de bancada (A) e refratómetro portátil digital (B) utilizados na determinação da qualidade à colheita.	23
Figura 9 - Aspeto dos frutos após teste do amido.	24
Figura 10 - Escala utilizada com os quatro níveis de escaldão: ligeiro (A), moderado (B), grave (C) e muito grave (D).	24
Figura 11 - Medição de parâmetros de fluorescência da clorofila com recurso a pinças (A) e um fluorómetro portátil (B).	26
Figura 12 - Medição dos índices de reflectância com recurso a um analisador da reflectância das folhas portátil.....	26
Figura 13 - Medição das temperaturas das folhas e frutos das diferentes modalidades com recurso à câmara térmica FLIR E6-XT.	27
Figura 14 - Maceração das folhas na presença de Tris-HCl (A); homogeneização (B) e centrifugação das amostras (C e D)	28
Figura 15 - Incubação das amostras em banho-maria a 37 °C	30
Figura 16 - Fruto, epiderme e polpa, com escaldão, congelado em nitrogénio líquido (A e B); maceração do material vegetal com almofariz e pilão na presença de nitrogénio líquido (C).	31
Figura 17 - Leitor de microplacas utilizado (A); placa de leitura de ácidos nucleicos Take 3(B).	31
Figura 18 - Sistema CFX Connect Real-Time System (Bio-rad) utilizado para a realização do PCR em tempo real.....	33

Figura 19 - Registo fotográfico da cobertura dos frutos promovida pelos quatro protetores solares.....	36
Figura 20 - Cobertura das folhas com os diferentes produtos protetores solares.	37
Figura 21 - Crescimento dos frutos desde 44 dias após plena floração até à data da colheita.	37
Figura 22 - Valores médios dos parâmetros colorimétricos a^* , b^* e $oHue$ (tonalidade), dos 40 frutos das diferentes modalidades analisados à colheita. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=3$	41
Figura 23 - Percentagem de matéria seca dos frutos à colheita nas diferentes modalidades. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=3$	42
Figura 24 - Distribuição da percentagem de frutos nos diferentes níveis escaldão, por modalidade. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$	42
Figura 25 - Fotossíntese Líquida nas diferentes modalidades em três datas distintas no período da manhã. Letras diferentes entre modalidades para a mesma data indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=5$ e pelo teste Kruskal-Wallis.	43
Figura 26 - Fotossíntese Líquida nas diferentes modalidades em três datas distintas no período da tarde. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$	44
Figura 27 - Eficiência fotoquímica máxima do PSII determinada em folhas adaptadas ao escuro (F_v/F_m) (A) e à luz (F'_v/F'_m) (B) em três períodos do ciclo nas diferentes modalidades.	45
Figura 28 - Fluorescência basal do PSII determinada em folhas adaptadas ao escuro (F_0) (A) e à luz (F'_0) (B), em três períodos do ciclo nas diferentes modalidades.	46
Figura 29 - Valores de NPQ (A) e q_p (B) registados nas diferentes modalidades a 28 de junho e 14 de agosto, e sua variação. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$	46
Figura 30 - Valores de NDVI (A) e PRI (B) registados nas diferentes modalidades a 1 e 27 de julho e a 13 de agosto. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$	47
Figura 31 – Temperaturas máximas registadas em frutos e folhas, externos e internos, à temperatura ambiente de 23 °C.	48
Figura 32 - Temperaturas registadas em frutos e folhas, externos e internos, à temperatura ambiente de 25 °C.	49

Figura 33 - Temperaturas registadas em frutos e folhas, externos e internos, à temperatura ambiente de 35 °C.	49
Figura 34 - Temperaturas registadas em frutos externos e internos, à temperatura ambiente de 30 °C.	50
Figura 35 - Evolução da área foliar específica (SLA) das diferentes modalidades ao longo do ciclo cultural.	50
Figura 36 - Concentrações de clorofila a e b nas diferentes modalidades a 5 julho e 17 agosto.	51
Figura 37 - Razão Clorofila a/ Clorofila b nas diferentes modalidades a 5 julho e 17 agosto. Letras diferentes entre modalidades para a mesma data indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$	52
Figura 38 - Concentração de carotenoides nas diferentes modalidades a 5 julho e 17 agosto, e a sua variação. Letras diferentes entre modalidades para a mesma data indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$	53
Figura 39 - Concentração de antocianinas nas diferentes modalidades a 5 julho e 17 agosto. Letras diferentes entre modalidades para a mesma data indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$	53
Figura 40 - Razão Clorofila total/ Carotenoides nas diferentes modalidades a 5 julho e 17 agosto. Letras diferentes entre modalidades para a mesma data indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$	54
Figura 41 - Concentrações de AsA (ácido ascórbico) e DAsA (desidroascórbico) nas folhas de diferentes modalidades à colheita. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$	55
Figura 42 - Concentrações de GSSG (glutathiona oxidada) e GSH (glutathiona reduzida) nas folhas de diferentes modalidades a 5 de julho e 17 de agosto. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$	55
Figura 43 - Percentagem de redução dos ascorbatos e glutathionas nas folhas das diferentes modalidades à colheita. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$	56
Figura 44 - Concentrações de AsA (ácido ascórbico) e DAsA (desidroascórbico) na epiderme de frutos nas diferentes modalidades à colheita. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$	57
Figura 45 - Concentrações de GSSG (glutathiona oxidada) e GSH (glutathiona reduzida) na epiderme de frutos nas diferentes modalidades a 5 de julho e a 17 de agosto.	58
Figura 46 - Percentagem de redução de ascorbato e glutathiona na epiderme dos frutos das diferentes modalidades à colheita.....	58

Figura 47 - Concentrações de AsA (ácido ascórbico) e DAsA (desidroascórbico) na polpa de frutos nas diferentes modalidades à colheita. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$	59
Figura 48 - Concentrações de GSSG (glutathiona oxidada) e GSH (glutathiona reduzida) na polpa de frutos nas diferentes modalidades a 5 de julho e 17 de agosto.	60
Figura 49 - Percentagem de redução de ascorbato e glutathiona na polpa dos frutos das diferentes modalidades à colheita.....	60
Figura 50 - Quantidade relativa de transcrição de genes que codificam sHSPs, nos diferentes níveis de escaldão. Letras minúsculas diferentes para o mesmo gene traduzem médias significativamente diferentes entre níveis de escaldão, pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=3$	61

Lista de siglas e acrónimos

An.....	Fotossíntese líquida ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)
a*.....	Coordenada cromática
AnC.....	Antocianinas ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ peso fresco)
ANOVA	Análise de variância
AsA.....	Ascorbato reduzido
AST.....	Área de Secção do Tronco (cm^2)
b*.....	Coordenada cromática
C*.....	Croma
Car.....	Carotenoides ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ peso fresco)
cDNA.....	Ácido desoxirribonucleico complementar
Chl.....	Clorofila ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ peso fresco)
Chl a.....	Clorofila a ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ peso fresco)
Chl b.....	Clorofila b ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ peso fresco)
Chl t.....	Clorofila total ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ peso fresco)
Cq.....	Ciclo de quantificação
DAPF.....	Dias após plena floração (dias)
DAsA.....	Ascorbato oxidado ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ peso fresco) (Ácido desidroascórbico)
DTT.....	Ditiotreitól
E.....	Transpiração ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)
EDTA.....	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ETc.....	Evapotranspiração cultural
F0.....	Fluorescência basal, com adaptação ao escuro
F'0.....	Fluorescência basal, sem adaptação ao escuro
Fm.....	Fluorescência máxima, com adaptação ao escuro
F'm.....	Fluorescência máxima, sem adaptação ao escuro
Fv.....	Fluorescência variável, com adaptação ao escuro
F'v.....	Fluorescência variável, sem adaptação ao escuro
Fv/Fm.....	Eficiência quântica máxima do PSII, com adaptação ao escuro
F'v/F'm.....	Eficiência quântica máxima do PSII, sem adaptação ao escuro
g_s	Condutância estomática ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)
GSH.....	Glutationa reduzida ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ peso fresco)
GSSG.....	Glutationa oxidada ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ peso fresco)
HSP.....	Proteínas de choque térmico (<i>Heat Shock Protein</i>)
°Hue.....	Ângulo de tonalidade (graus)
INIAV, I.P....	Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.
L*.....	Luminosidades
MDAsA.....	Monodesidroascorbato
MS.....	Matéria seca (%)

NADPH.....Nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato
NDVI.....Índice de vegetação por diferença normalizada (*Normalized Difference Vegetation Index*)
NPQ.....Extinção não fotoquímica (*Non-photochemical Quenching*)
PAR.....Radiação fotossinteticamente ativa (*Photosynthetic Active Radiation*)
PCR.....Reação em Cadeia da Polimerase
PRI.....Índice de reflectância fotoquímica (*Photochemical Reflectance Index*)
PSI.....Fotossistema I
PSII.....Fotossistema II
q_p.....Extinção fotoquímica (*Photochemical Quenching*)
RNA.....Ácido ribonucleico
ROS.....Espécies reativas de oxigénio (*Reactive Oxygen Species*)
RT-qPCR....PCR quantitativo em tempo real
SC.....Suspensão concentrada
sHSP.....Proteínas de choque térmico de baixa massa molecular
SLA.....Área Foliar Específica (cm².g⁻¹)
TSS.....Teor de sólidos solúveis (°Brix)
UV.....Radiação Ultravioleta
UV-B.....Radiação Ultravioleta B
WP.....Pó molhável

Introdução

Um dos grandes problemas vivido nos dias de hoje pelos produtores de maçã 'Gala' (*Malus domestica* Borkh.) na zona Oeste são os prejuízos provocados pelo escaldão solar dos frutos. Este acidente fisiológico consiste na lesão da epiderme causada pela exposição dos frutos a elevadas temperaturas e intensa radiação solar podendo levar ao desenvolvimento de doenças, depreciação dos frutos, quebra de produção e problemas de conservação.

Posto isto, existe uma grande necessidade de se estudar a eficácia das diversas estratégias de prevenção do escaldão, de modo a ajudar os fruticultores no combate ao mesmo, melhorando não só a qualidade como a produtividade dos pomares de maçã 'Gala'. Estas estratégias vão no sentido de evitar que a temperatura da superfície do fruto exceda determinados limites, impedindo assim a ocorrência de escaldão. Sendo assim, o objetivo da presente dissertação de mestrado é avaliar o impacto de diversos tratamentos na redução do escaldão num pomar de maçã 'Gala', a nível agronómico, fisiológico e molecular. Para tal, foi realizado um ensaio de campo em conjunto com o INIAV, I.P. de Alcobaça, que disponibilizou um dos seus campos experimentais de macieiras 'Gala' para a concretização do presente ensaio.

Foram estudadas sete técnicas diferentes para a prevenção do escaldão. Ao longo do ensaio foram realizadas medições agronómicas, fisiológicas e moleculares, para aferir a eficácia dos diferentes tratamentos e a sua influência sobre o desenvolvimento dos frutos e sobre a produção. Foram monitorizadas as trocas gasosas e indicadores não destrutivos de crescimento e de stresse (NDVI, PRI, NPQ, q_p e fluorescência da clorofila). Foram também quantificadas as concentrações de pigmentos foto-protetores, antioxidantes não enzimáticos e a expressão de genes de resposta ao stresse. À colheita foram quantificados os parâmetros agronómicos indicadores de rendimento e qualidade ($^{\circ}$ Brix, cor, dureza, teor em matéria seca, calibre e peso).

1. Revisão Bibliográfica

1.1. Espécie Macieira

A cultura da macieira (*Malus domestica* Borkh.) produz um dos frutos com maior expressão no volume de produção e consumo a nível nacional, totalizando uma área de produção atual com cerca de 14 400 ha (GGP, 2017). Em 2020, a produção de maçã apresentou um valor de 265000 t, inferior ao registado no ano de 2019, cuja produção fora historicamente elevada, correspondendo a uma diminuição de cerca 25% face à campanha de 2019 (INE, 2020). Musacchi & Serra (2018) aludem que as maçãs são muito apreciadas pelos consumidores não apenas pelo seu sabor, mas também pelas suas propriedades nutricionais devido ao seu alto teor de fenóis, vitamina C e fibra alimentar.

Esta espécie é característica de climas temperados, com folha caduca, bienal, detentora de um elevado nível de incompatibilidade gametofítica. Devido a esta última, e de acordo com Erig & Schuch (2005) para que ocorra polinização cruzada é indispensável a plantação de uma ou mais espécies compatíveis aquando da instalação do pomar. Os seus botões florais são fundamentalmente mistos, incluindo flores e folhas. As suas inflorescências, neste caso designadas de corimbos, podem conter entre 5 a 10 flores. Relativamente às suas folhas, são particularmente actinomorfas, constituídas por 5 sépalas e 5 pétalas, um pistilo composto ou vários simples e múltiplos estames (Bessey & Woods, 1894).

1.2. Cultivar 'Gala'

Originária de um dos diversos cruzamentos experimentais de maçãs realizados por James Hutton Kidd na Nova Zelândia, a cultivar 'Gala' surge no ano 1965 através polinização cruzada de 'Golden Delicious' com 'Kidd's Orange Red' (White, 1987). Esta cultivar foi, entre 2012 e 2017, uma das mais escolhidas para pomares recém-plantados a nível europeu abrangendo 14% da área destes.

A 'Gala' encontra-se inserida no grupo das cultivares temporãs, com maior poder de conservação, apesar de sofrer alguma perda de qualidade. Esta cultivar apresenta um vigor mediano e um porte semiereto, com ramificações abundantes, bem distribuídas e abertas, e rápida entrada em produção. Relativamente ao aspeto visual, a maçã 'Gala', ao pertencer ao grupo das cultivares bicolores, apresenta como

dominante a cor vermelha, com algumas estrias sobre um fundo amarelo e/ou verde. (Trillot et al., 1993).

Contudo, quando as árvores se tornam adultas, os frutos podem perder rapidamente a coloração atraente vermelha-laranja estriada, adquirindo uma coloração unicolor. Fatores como o meio ambiente, o tipo de clone, o ano e a posição relativa do fruto na árvore, fazem com que a intensidade da cor da epiderme do fruto varie. Aquando da sua maturação, a cor de fundo da epiderme do fruto evolui gradualmente de verde para uma cor branca-amarelada.

Os frutos são classificados relativamente ao seu calibre, variando entre os 65 e 80 mm de diâmetro. Nos primeiros anos de idade do pomar, os frutos apresentam um calibre médio aceitável. No entanto, este pode vir a diminuir à medida que a árvore envelhece, caso não exista promoção da frutificação em verdascas ou a monda seja insuficiente (Trillot et al., 1995).

Relativamente à qualidade gustativa, os frutos são bem adocicados, com pouca acidez e medianamente perfumados (Hampson & Kemp, 2003). A sua consistência é firme, com polpa fina, branca, sumarenta e muito crocante. No que diz respeito à colheita, é preferível fazê-la quando os frutos apresentam uma dureza entre 7 e 9 kg/cm², enquanto que o teor de sólidos solúveis (TSS) deve variar entre 12 a 14 °Brix e a acidez entre 3 a 5 g/L de sumo (Trillot et al., 1995). Nesta cultivar em questão, e segundo a ótica de Leão de Sousa (2020), a colheita deve ocorrer entre o final de julho e o final de agosto, dependendo do clima da região em que é produzida.

1.3. Escaldão

Barber & Sharpe (1971) afirmam que a queimadura solar é um dano fisiológico da maçã causado pela radiação solar excessiva. Estes danos podem minorar o rendimento do mercado diminuindo a qualidade do fruto e aumentando o refugo. Regiões subtropicais, áridas e de tipo mediterrânico são caracterizadas por verões com céu limpo, muita luz solar e elevadas temperaturas resultando num elevado risco de escaldão solar nos frutos (Smit et al., 2008).

Na verdade, as perdas anuais de produtividade devido às queimaduras solares representam uma grande perda económica para os agricultores em todo o mundo (Felicetti & Schrader, 2009).

1.3.1. Tipos de escaldão

Alguns investigadores identificam três tipos de queimaduras solares na maçã. Relativamente ao primeiro tipo, designado por escaldão necrótico, Schrader et al. (2001) consideram que este resulta da morte térmica das células presentes na epiderme do fruto. Esta degradação ocorre quando o fruto atinge temperaturas que rondam os 52 °C, gerando uma mancha necrótica no lado da maçã exposto ao sol. O segundo, e mais comum, denominado escaldão escurecido, ocorre quando a temperatura da superfície do fruto atinge 46 a 49 °C, na presença de luz solar. Este dano resulta numa mancha amarela, bronze ou acastanhada, no lado do fruto exposto ao sol. Por fim, Felicetti & Schrader (2008) caracterizam o terceiro tipo de escaldão por queimadura solar foto-oxidativa, referindo-se ao dano foto-oxidativo que ocorre durante a sua formação. Este sucede quando maçãs não aclimatadas à luz solar intensa são repentinamente expostas à luz solar, originando uma mancha branca no fruto. Esta súbita exposição pode decorrer de monda manual, da colheita seletiva ou mesmo do deslocamento de um ramo à medida que a carga de frutos aumenta.

1.3.2. Fatores que aumentam a sensibilidade ao escaldão

De acordo com Wünsche et al. (2002) características tais como, a espessura da camada epicuticular, pubescência e acumulação de compostos antioxidantes podem tornar a maçã mais suscetível aos danos solares. Posteriormente Felicetti & Schrader (2009) acrescentaram os pigmentos foto-protetores como fatores influenciadores. Porém, Brooks & Fisher (1926) salientam ainda que a variação nas condições meteorológicas, localização geográfica e tipo de solo, podem ser responsáveis por vários níveis de incidência de queimaduras solares.

De acordo com estudos realizados por Schrader et al. (2003), a ocorrência destes danos fisiológicos deve-se possivelmente ao estado nutritivo, cobertura vegetal, tamanho do fruto e teor de humidade do solo. Contudo, a suscetibilidade das maçãs ao escaldão solar não só varia com a cultivar, como também com o porta-enxerto utilizado (Parchomchuk & Meheriuk, 1996).

Mais tarde, Woolf & Ferguson (2000) constataram que as queimaduras solares são igualmente consequência do aumento do stresse hídrico. Isto é, qualquer stresse adicional à planta, não só aumenta a temperatura dos frutos, como também reduz o arrefecimento evaporativo, intensificando a incidência de queimaduras solares. No

entanto, os principais fatores que induzem todos os três tipos de queimadura solar são a radiação da luz solar e as temperaturas elevadas (Schrader et al., 2003).

1.3.3. Formas de reduzir/ evitar os danos causados pelo escaldão

Embora certos mecanismos de defesa natural forneçam algum grau de proteção aos frutos, nos últimos anos têm sido adotadas práticas culturais de modo a reduzir os danos causados pelo sol (Louw & Korsten, 2014). Existem vários produtos que podem ser aplicados, sendo um dos mais frequentemente utilizados o caulino.

1.3.3.1. Caulino

De acordo com Schrader et al. (2001), a aplicação de caulino parece ser útil para manter a temperatura do fruto abaixo do limite crítico para o início das queimaduras solares. Foi observado por Wünsche et al. (2002) que a menor incidência de frutos queimados pelo sol deve-se provavelmente à redução da temperatura da epiderme do fruto, simultaneamente com um acréscimo da luz, em particular de radiação infravermelha, e da sua dispersão dentro da copa.

O Surround® WP é um dos produtos à base de caulino presentes no mercado, formulado sob a forma de pó molhável (950 g/kg). É principalmente utilizado para proteger as culturas contra queimaduras solares provocadas por escaldão e pelo stresse térmico. Esta proteção ocorre mediante a formação de uma película de partículas minerais finas que atua como barreira física (BASF, n.d.).

Segundo Glenn et al. (2002), o Surround® WP é aplicado na copa da árvore, de modo a refletir parte da radiação solar, principalmente a UV-B. Este produto também atinge a superfície do fruto, diminuindo assim a sua temperatura.

O Surround® WP, além dos benefícios anteriormente descritos, também permite reduzir o stresse hídrico, assim como controlar algumas pragas da macieira (Sharma et al., 2018). Relativamente à sua dosagem e tempo de aplicação, Schrader et al. (2008) defendem que ambos dependem do tipo de cultura em questão.

1.3.3.2. Silício

O silício é um elemento químico que ao ser aplicado nas folhas, faz com que estas se tornem mais rígidas, com uma textura mais áspera, retardando a senescência foliar e aumentando o seu teor de clorofila (Adatia & Besford, 1986).

De acordo com Hattori et al. (2005), a aplicação de silício permite melhorar não só o crescimento como também o rendimento das plantas, especialmente sob condições de stresse. Por outro lado, Li et al. (2008) relataram que o silício também aumenta a tolerância das plantas à radiação UV-B.

Um estudo realizado por Shen et al. (2010) mostrou que a aplicação de silício reduz significativamente os danos nas membranas celulares provocados pelo stresse hídrico e elevada radiação UV-B. Para além disso, Chen et al. (2011) observaram que a aplicação de silício na cultura do arroz não só alivia o stresse hídrico das plantas, como também melhora a fotossíntese e a absorção de nutrientes minerais.

Um dos variados produtos disponíveis no mercado é o Eckosil, que consiste numa solução na forma de Ácido Ortosilícico com ação reguladora da absorção e transporte de Cálcio, Fósforo, Potássio e Magnésio. Este produto proporciona a acumulação de Silício nas paredes das células vegetais aumentando a rigidez e resistência contra doenças e pragas, reduzindo as perdas por evapotranspiração mantendo o equilíbrio hídrico mesmo em situações de elevada transpiração (Asfertglobal, n.d.).

1.3.3.3. Reforço Hídrico

Segundo Racsko & Schrader (2012), embora o calor excessivo e radiação elevada sejam os principais fatores responsáveis pelo escaldão solar, também fatores indiretos, como humidade relativa, estrutura da copa, poda e rega podem afetar a sua incidência e severidade. Barber & Sharpe (1971) concluíram ainda que o stresse hídrico agrava o desenvolvimento de queimaduras solares. Neste contexto, Van Den Ende (1999) afirma que a rega regular das culturas diminui a incidência de escaldão solar.

Mais recentemente, Makedredza et al. (2013) observaram que existe uma relação linear significativa entre o estado hídrico da planta e a incidência de queimaduras solares. Ou seja, estes autores verificaram que ocorre maior incidência de queimaduras solares quando as plantas se encontram em stresse hídrico.

1.3.3.4. Fertilização foliar

De acordo com Racskó & Schrader (2012), uma boa gestão de fertilização é também um método indireto de prevenir ou atenuar a ocorrência de escaldão solar. Racskó et al. (2005) encontraram uma relação negativa entre a aplicação de

nitrogénio e a suscetibilidade das maçãs às queimaduras solares. Observaram que este nutriente não só influenciava diretamente, através da modificação da formação da epiderme do fruto, como de forma indireta, ao permitir o desenvolvimento de uma copa mais densa. Do mesmo modo, Bakeer (2016) observou que a conjugação de nitrato de amónio com cloreto de cálcio levou a uma diminuição significativa nos danos causados por queimaduras solares em romãzeira.

1.3.3.5. Produtos à base de cálcio

O cálcio induz resistência mecânica da planta aos fatores abióticos permitindo a sua proteção contra a exposição solar e stresse hídrico.

Um dos produtos constituídos por este macronutriente é o Agrowhite®, composto por óxidos de cálcio e magnésio. Este consiste numa mistura líquida de ácidos orgânicos e cálcio que têm um efeito barreira na superfície da planta. É um produto de fácil absorção por formar uma fina película de partículas na planta e a sua aplicação permite à planta não só proteger-se contra insolação e desidratação devido às altas temperaturas, como também reduzir o ataque de pragas. Consiste num produto de aplicação foliar que abrange todo o tipo de culturas, e cuja dose pode variar entre 12 a 20 kg/ha, com intervalos de aplicação de 15 a 30 dias (Codiagro, n.d.).

No mercado encontram-se outros produtos à base de cálcio, mais especificamente sob a forma de carbonato de cálcio. Vegepron® Sun é um deles, composto por 60% de carbonato de cálcio, cuja aplicação é principalmente recomendada para corrigir deficiências de cálcio. Este produto pode ser utilizado em diversas culturas na dose 20L/1000L de água com um intervalo entre aplicações de 20 a 30 dias (UPL, n.d.).

Outro produto com esta substância ativa é o Sunstop® LG, que consiste numa suspensão concentrada (SC) contendo 20% (p/p) de carbonato de cálcio que permite proteger as culturas contra a ocorrência de distúrbios fisiológicos relacionados com temperatura e radiação solar elevadas. Esta proteção ocorre através da formação de uma película de finas partículas minerais, atuando como barreira física à radiação solar prejudicial e fazendo baixar a temperatura de forma significativa. Este tratamento deve ser utilizado de forma preventiva, sempre que se antecipem condições propícias ao escaldão solar. Tem como resultado uma menor incidência de raios infravermelhos e UV e, portanto, uma redução da temperatura da epiderme do fruto que pode ir até 5 °C. Relativamente à cultura da macieira, deve ser aplicada uma dose de 12 kg/ha com

um intervalo de aplicações entre 15 e 20 dias. Caso ocorra escorrimento do produto, deve-se proceder à repetição do tratamento (Gobbi, n.d.).

1.3.3.6. Rede de sombreamento

De acordo com Scott (1988), o objetivo inicial da utilização da rede era proteger a cultura dos danos provocados pelo granizo. Contudo, o uso de redes de polietileno de alta densidade sobre a copa das árvores reduz também a incidência de luz solar na superfície dos frutos e, conseqüentemente, a sua temperatura por meio da redução da transmissão da radiação solar direta pela rede, diminuindo assim as lesões por queimadura solar (Stampar et al., 2002). Middleton & McWaters (2002) demonstraram que a rede de sombreamento reduz os níveis de luz solar ou de radiação fotossinteticamente ativa (PAR) em 12-27%. Segundo um estudo feito por Gardner & Fletcher (1990), chegou-se à conclusão que a rede preta reduzia a radiação em 33-37% enquanto que a rede branca apenas reduzia em 4-8%. No entanto, a atenuação da radiação solar pode afetar o desenvolvimento da cor em cultivares de maçã vermelha (Widmer, 2000). Dependendo da densidade e da cor da rede, é possível alterar a intensidade consoante a composição da luz solar transmitida (Bastías & Corelli-Grappadelli, 2012). Contudo, o retorno financeiro dos pomares com rede pode não justificar os custos de produção uma vez que estes são elevados (Warner, 1997).

1.3.3.7. Painéis solares

Por outro lado, um estudo está atualmente a ser realizado por investigadores australianos pertencentes à Tatura SmartFarm na cidade de Vitória, acerca da utilização de painéis solar na mitigação do escaldão na pera. Este método tem em vista não só proteger os frutos como também gerar eletricidade, e no futuro poderá vir a ser implementado para o controlo do escaldão nos frutos (Solarquotesblog, n.d.)

1.4. Mecanismos fisiológicos de defesa contra a exposição excessiva à luz solar

Tanto as folhas como os frutos recorrem a diversos mecanismos fisiológicos e bioquímicos de modo a evitar danos causados pela exposição solar excessiva (Barber & Sharpe, 1971). No entanto, os frutos são mais suscetíveis do que as folhas não só devido ao seu tamanho, como também pelo facto de não serem capazes de exhibir

movimentos ativos em resposta ao excesso de luz solar, ao contrário das folhas (Racskó et al., 2010).

De acordo com Wünsche et al. (2004), de modo a reagirem ao stresse térmico, os frutos recorrem a um sistema de defesa complexo (pigmentos foto-protetores, enzimas antioxidantes, proteínas de choque térmico, entre outros) contra a luz solar excessiva e/ou calor radiante. Este sistema não só procede à eliminação de espécies reativas de oxigénio (ROS), como também protege as proteínas da desnaturação e degradação irreversíveis e evita alguns danos a moléculas vitais, permitindo deste modo reduzir os problemas causados pelas queimaduras solares. Porém, quando as queimaduras são mais severas, estes mecanismos de defesa acabam por afetar os frutos da maçã em variados níveis: alterando a composição do pigmento, causando alterações morfológicas e prejudicando a fotossíntese, levando à perda de qualidade dos frutos.

No que diz respeito ao escaldão do tipo foto-oxidativo, em condições de elevada radiação solar a absorção de fotões pelos pigmentos fotossintéticos é frequentemente superior à capacidade de utilização pela fotossíntese, provocando um excesso de energia de excitação (Demmig-Adams et al., 1995). Aparentemente, esse tipo de queimadura solar é causado pela alta pressão de energia de excitação e por um desequilíbrio entre a produção e a desintoxicação de ROS sob alta luz solar (Li & Cheng, 2008). Contudo, este excesso de energia de excitação das moléculas de clorofila pode ser dissipado como calor, minimizando assim o potencial de dano foto-oxidativo (Müller et al., 2001). Este processo de dissipação térmica pode eliminar pelas folhas mais de 75% dos fotões absorvidos (Demmig-Adams et al., 1996). Nenhum dano ocorre quando os sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos da epiderme são capazes de eliminar de forma eficiente as ROS que são geradas (Felicetti & Schrader, 2008).

Relativamente ao escaldão escurecido, Schrader et al., (2001) observaram que este consiste num evento subletal nas maçãs, isto é, que não conduz à alteração da integridade das membranas celulares. Repararam também que os tratamentos que diminuíram a radiação UV-B diminuíram também a incidência deste tipo de escaldão, implicando assim que o UV-B é necessário para induzir esse tipo de dano. Andrews & Johnson (1996) concluíram que o conteúdo de β -caroteno aumentou significativamente com o aumento da gravidade do dano. Posto isto, e pelo facto de os carotenoides serem pigmentos amarelos, os autores sugeriram ainda que o

amarelecimento da epiderme durante o desenvolvimento do escaldão escurecido consiste num mecanismo de proteção que permite eliminar os radicais livres.

O escaldão necrótico ocorre apenas em maçãs com exposição solar, e é provocado pelo aquecimento radiante que faz aumentar a temperatura superficial do fruto até pelo menos 52 °C (Schrader et al., 2001). O desenvolvimento deste tipo de queimaduras é induzido por stresse térmico que provoca reações biofísicas. Quando a epiderme do fruto, assim como as células corticais subjacentes, atingem uma temperatura limite, podem ocorrer danos irreversíveis em todo o mecanismo fotossintético, impedindo que este funcione normalmente (Tang et al., 2007).

Segundo Barber & Sharpe (1971) a queimadura solar intensa não só altera a cutícula, como danifica os tecidos epidérmicos e subepidérmicos, tornando as paredes celulares mais espessas. Ocorre também um aumento da quantidade de fenóis intercelulares e alteração das estruturas dos plastídios e dos tilacoides. A morte de células vegetais dos frutos que apresentam queimaduras solares também é passível de ocorrer, bem como a entrada de agentes patogénicos nos frutos através das feridas no tecido epidérmico, tornando-os não comercializável (Racskó et al., 2005).

1.4.1. Antioxidantes não enzimáticos

1.4.1.1. Acumulação de compostos e pigmentos foto-protetores

Um sintoma inconfundível do escaldão na maçã é a mudança de cor da epiderme. De acordo com Chen et al. (2008), inicialmente a epiderme da maçã apresenta uma cor esbranquiçada, tornando-se acastanhada à medida que aumenta o stresse térmico. Esta alteração da cor do fruto não só afeta de forma severa a aparência, como também diminui a sua capacidade de conservação e o seu valor económico (Wahid et al., 2007). É o conteúdo de pigmentos que determina a cor da maçã, sendo que na epiderme encontram-se principalmente clorofilas, carotenoides e antocianinas (Knee, 1972).

Relativamente às clorofilas, estas assumem um papel fundamental na fotossíntese e recentemente, o seu envolvimento nos sintomas de queimadura de frutos foi comprovado (Rustioni et al., 2014).

Quanto aos carotenoides, não só são indispensáveis para que haja a coloração de vários tipos de frutos, como também protegem as células e os tecidos contra os danos provocados pelas queimaduras solares (Merzlyak & Solovchenko, 2002).

As antocianinas são os principais pigmentos presentes nas maçãs vermelhas, sendo a sua biossíntese afetada pela luz (Lancaster & Dougall, 1992). Um estudo feito por Liu et al. (2019) mostrou que os carotenoides apresentam maior tolerância ao stresse térmico do que antocianinas e clorofilas na epiderme da maçã. Nesse trabalho, os autores verificaram que as queimaduras solares ocorreram sob condições de temperatura e intensidade luminosa elevadas, tendo a síntese de antocianinas e clorofilas da epiderme da maçã sido inibida. Nesta situação, os frutos protegeram-se aumentando o teor de carotenoides, fenóis e flavonoides (Liu et al., 2019).

De acordo com Velioglu et al. (1998), a função destes pigmentos na da maçã é de filtrar o excesso de radiação PAR e UV-B, mas também de inibição ou atraso de oxidação de outras moléculas, impedindo a iniciação ou propagação de reações em cadeia de oxidação, exercendo um papel análogo ao dos antioxidantes enzimáticos. Liu et al. (2019) observaram ainda, que nos frutos com queimadura solar, ocorreu um aumento no teor de carotenoides, enquanto os teores de antocianinas e clorofila diminuíram, mostrando que a acumulação de carotenoides tende a ser mais eficaz do que a acumulação de antocianinas e clorofila no combate às elevadas temperaturas e níveis de radiação solar.

Contrariamente aos carotenoides, presentes exclusivamente nos cloroplastos, as antocianinas (AnC) acumulam-se geralmente nos vacúolos das células epidérmicas e/ou mesófilicas, atuando deste modo como atenuantes eficientes de luz em excesso e prevenindo assim, de forma indireta, o stresse foto-oxidativo. Estes compostos atuam, portanto, como filtros bioquímicos naturais, geralmente entre os comprimentos de onda do UV e do azul originando assim uma foto-proteção eficaz contra as queimaduras solares de frutos (Neill & Gould, 2003).

De acordo com (Merzlyak et al., 2002), as antocianinas são pigmentos fotossintéticos vermelhos, roxos e azuis, que devido à sua interceção pela radiação solar protegem o sistema fotossintético da incidência excessiva de luz. Como consequência, os perfis destes compostos são extremamente alterados com a ocorrência de queimaduras solares (Felicetti & Schrader, 2008). Diversos autores (Reay & Lancaster, 2001; Merzlyak et al., 2002; Liu et al., 2019) relataram um aumento no teor de antocianinas, não só ao longo do desenvolvimento do fruto, como também

no lado iluminado do fruto após a exposição deste à luz UV-B, relativamente ao lado sombreado. No entanto, embora um aumento no conteúdo de antocianinas e carotenoides ocorra nas primeiras fases da queimadura solar, o seu decréscimo por deterioração foi observado em casos de queimaduras solares a longo prazo (Merzlyak et al., 2002; Liu et al., 2019). Contudo, a concentração deste pigmento é especialmente acentuada durante o escaldão escurecido, tendo em conta que as altas temperaturas são responsáveis pela degradação das antocianinas.

Para além disso, Rabinowitch et al. (1982) consideraram que muito provavelmente o elevado conteúdo de pigmentos foto-protetores nos frutos vermelhos está relacionado com a menor incidência de dano foto-oxidativo nestes, relativamente aos frutos de cor verde.

A atividade fotossintética das plantas está diretamente relacionada com o teor de clorofilas (Chl), sendo que este é influenciado por diversos fatores de natureza abiótica ou biótica (Taiz & Zeiger, 2010). A quantificação de clorofilas é relevante para a definição do estado fisiológico da planta, permitindo aferir sobre a eficácia de determinadas técnicas culturais no potencial fotossintético e no rendimento das fruteiras.

A clorofila está confinada nos tilacoides do cloroplasto (Hall & Rao, 1994; Taiz & Zeiger, 2010) e consiste no pigmento fotossintético mais proeminente nas plantas. É um fator importante na determinação da taxa de fotossíntese pela planta, quanto maior a concentração de clorofila, maior a taxa de fixação de dióxido de carbono, pois haverá mais centros de aprisionamento e, portanto, haverá aumento da taxa de fotossíntese e crescimento (Taiz & Zeiger, 2006).

Os carotenoides (Car) desempenham um papel indispensável na coloração de diversos tipos de frutos (Bartley & Scolnik, 1995). Contudo, estes pigmentos detêm também a capacidade de proteger as células e tecidos dos danos provocados pelas queimaduras solares (Merzlyak & Solovchenko, 2002), e estão localizados principalmente nos complexos de captação de luz (Vijay et al., 2017; Liu et al., 2019). Liu et al. (2019) observaram que, como consequência do processo de queimadura solar, ocorre um aumento do teor de carotenoides e, simultaneamente, uma diminuição dos teores de antocianinas e clorofilas nas zonas laterais ao escaldão nos frutos afetados pelo sol.

Quando os frutos se encontram expostos a altas temperaturas e radiação solar intensa, os carotenoides agem protegendo as clorofilas da foto-oxidação, a partir da

extinção dos seus estados excitados e de remoção de outras ROS (Kruk et al., 2005; Fu et al., 2019). Posto isto, podemos considerar os carotenoides como pigmentos fundamentais na proteção do aparelho fotossintético sob elevadas temperaturas e radiação solar (Fu et al., 2019). Contudo, caso exista excesso de radiação solar incidente, e conseqüentemente, um aumento da gravidade da queimadura, estes pigmentos serão severamente degradados (Merzlyak et al., 2002).

1.4.1.2. Antioxidantes não enzimáticos de baixo peso molecular

Quando ocorre foto-destruição dos pigmentos fotossintéticos, os antioxidantes esgotam-se completamente, comprometendo a defesa antioxidante das células (Rustioni et al., 2020). Espécies reativas de oxigênio formadas por foto-redução direta de O₂ no centro de reação do fotossistema I (PSI) sob condições de luz solar excessiva são detoxificados por um sistema antioxidante composto por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (Asada, 1999).

Além dos pigmentos fotossintéticos anteriormente descritos, o mecanismo antioxidante é muito complexo e inclui muitos outros mecanismos foto-protetores, incluindo antioxidantes não enzimáticos de baixo peso molecular, que são considerados compostos capazes de eliminar ROS sem se converterem num radical destrutivo. Para além disso, existem as enzimas com atividade antioxidante, que também podem interromper os processos de oxidação e que, em algumas situações, atuam em conjunto com estes antioxidantes não enzimáticos de baixo peso molecular (Noctor & Foyer, 1998).

O ascorbato é um antioxidante não enzimático que, nas plantas, se encontra presente em diferentes compartimentos: no citosol, cloroplasto, vacúolos, mitocôndrias e matriz extracelular (Horemans et al., 2000). Este possui um papel indispensável na redução dos danos causados por processos oxidativos, devido sobretudo, à sua cooperação com outros antioxidantes, como carotenoides e tocoferóis (Foyer & Noctor, 2005). Para além disso, constitui um dador de eletrões capaz de se oxidar a monodesidroascorbato (MDAsA) e desidroascorbato (DAsA) (Potters et al., 2002).

Contudo, além do seu papel como substrato enzimático, o ascorbato também reage diretamente com algumas ROS e contribui para a regeneração de certos carotenoides (Potters et al., 2002).

A glutathiona é um tripeptídeo de glutamato, cisteína e glicina e que pode existir sobretudo em duas formas: a forma reduzida (GSH), e a forma oxidada (GSSG) (Noctor & Foyer, 1998). Este antioxidante encontra-se envolvido não só no metabolismo do enxofre, como também na defesa contra o stresse oxidativo (Potters et al., 2002). Além disso, a temperatura elevada e a luz excessiva podem induzir o aumento do conteúdo de GSH nos frutos, melhorando a sua capacidade antioxidante perante este tipo de stresse (Zhang et al., 2008).

1.4.2. Proteínas de choque térmico

Os seres vivos respondem ao stresse térmico através da indução da síntese de proteínas de choque térmico (HSP) (Vierling, 1991). As HSP abrangem um diverso conjunto de proteínas que podem variar em peso molecular de 15 a 115 kDa e que se acredita que desempenham um papel importante na tolerância térmica (Howarth & Ougham, 1993). As HSP mais abundantes nas plantas superiores são conhecidas como proteínas de choque térmico de baixa massa molecular (sHSP), variando de 15 a 40 kDa (Polenta et al., 2007). As sHSP constituem o grupo mais diversificado nas plantas, tanto a nível da sua função, como da sua localização celular. Esta diversidade demonstra a adaptação evolutiva das plantas às condições de stresse (Sun et al., 2010).

2. Material e Métodos

O presente ensaio ocorreu durante a campanha 2020/2021 num pomar localizado na Quinta Nova, Alcobaça. O pomar é adulto, com cerca de 17 anos de idade e em produção. Nele pretendeu-se analisar e avaliar o impacto de vários tratamentos na redução do escaldão solar em maçã 'Gala'.

2.1. Descrição do pomar em ensaio

Este ensaio experimental foi concretizado juntamente com o INIAV I.P. - ENFVN (Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade), em Alcobaça, que cedeu um dos seus campos experimentais, localizado no pomar Quinta Nova no concelho de Alcobaça (Figura 1A).

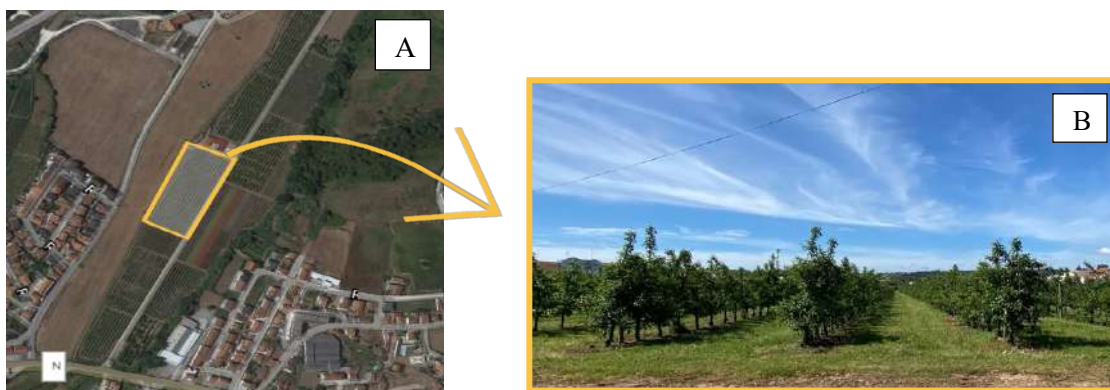


Figura 1 - Localização do pomar em ensaio (A) (fonte: Google Earth); Aspeto geral do pomar de 'Gala' a 17/05/2021(B)

Relativamente às características do pomar em questão, este é constituído por macieiras da 'Gala' clone 'Galaxy Selecta' com modo de condução em eixo central revestido e rega por gota-a-gota. Na Figura 1B é possível observar o aspeto geral deste pomar a 17 de maio de 2021. Com porta-enxerto EMLA9, as árvores foram plantadas a 22 de dezembro de 2004 num compasso de 4,5 m por 1,2 m perfazendo uma área total de 8424 m². No pomar, além da 'Gala' estão presentes duas polinizadoras distintas, 'Granny Smith' e 'Golden Reinders', perfazendo um total de 1560 árvores.

O solo do pomar apresenta enrelvamento permanente e espontâneo na entrelinha, sendo o controlo das infestantes, presentes ao longo da linha, feito através de aplicação de herbicida. Por outro lado, na entrelinha, este controlo é feito recorrendo a meios mecânicos, de modo a manter a vegetação rasteira.

Relativamente à rega, o sistema utilizado é gota-a-gota, com uma linha de rega em cada linha de plantação. Estas encontram-se instaladas a 30 cm do solo, e a distância entre dois gotejadores consecutivos é de 1 m e o seu caudal nominal é de 4L/h. O pomar apresenta um programa de rega automático, que se iniciou a 28 de junho de 2021. Este compreende uma frequência de três regas semanais, mais concretamente às terças, quintas e sábados, com a duração de duas horas e meia por período de rega.

Quanto ao clima da região onde foi implementado o ensaio, Alcobaça pertence ao tipo Csb, de acordo com a classificação climática de Köppen e Geiger, semelhante a todo o centro litoral e norte de Portugal. Este grupo apresenta climas quentes e temperados, com pluviosidade no inverno e verões quentes e secos. Esta região apresenta uma temperatura média anual de cerca 15 °C e pluviosidade média que ronda os 700 mm (CLIMATE-DATA.ORG, n.d.).

Os dados meteorológicos foram registados e cedidos pela estação meteorológica do INIAV, I.P., e estão apresentados no Anexo I. Da sua interpretação, podemos verificar que apenas em cinco dias do ano ocorreram temperaturas acima dos 30 °C, mais precisamente a 12 de junho, 10, 15 e 16 de julho e após a colheita, a 24 de agosto.

2.2. Modalidades em ensaio e delineamento experimental

Escolheram-se oito modalidades experimentais, correspondendo a cada uma os diferentes tratamentos: Surround (caulino), Agrowhite (33% óxido de cálcio), Vegepron Sun (60% carbonato de cálcio), Sunstop (20% carbonato de cálcio), Eckosil (ácido ortosilícico), Fertilização foliar, Reforço Hídrico e a testemunha (Quadro 1).

Quadro 1 - Modalidades em estudo no presente trabalho.

M1	Testemunha
M2	Sunstop (Fitossistema)
M3	Eckosil (AsfertGlobal)
M4	Fertilização Foliar (Tradecorp)
M5	Surround (BASF)
M6	Agrowhite (Codiagro)
M7	Reforço hídrico
M8	Vegepron Sun (UPL)

As árvores de cada modalidade foram escolhidas com base nas suas áreas de secção do tronco médias, tornando as modalidades mais homogêneas entre si, e permitindo normalizar a produção. Cada modalidade em ensaio foi constituída por 20 árvores (5 repetições de 4 árvores) distribuídas por cinco talhões, como representado na Figura 2. Por sua vez, cada unidade experimental foi composta por quatro árvores, servindo as duas árvores das extremidades como bordadura do tratamento, de forma a evitar a ocorrência de contaminação por parte dos tratamentos adjacentes, e permitindo resultados mais fiáveis.

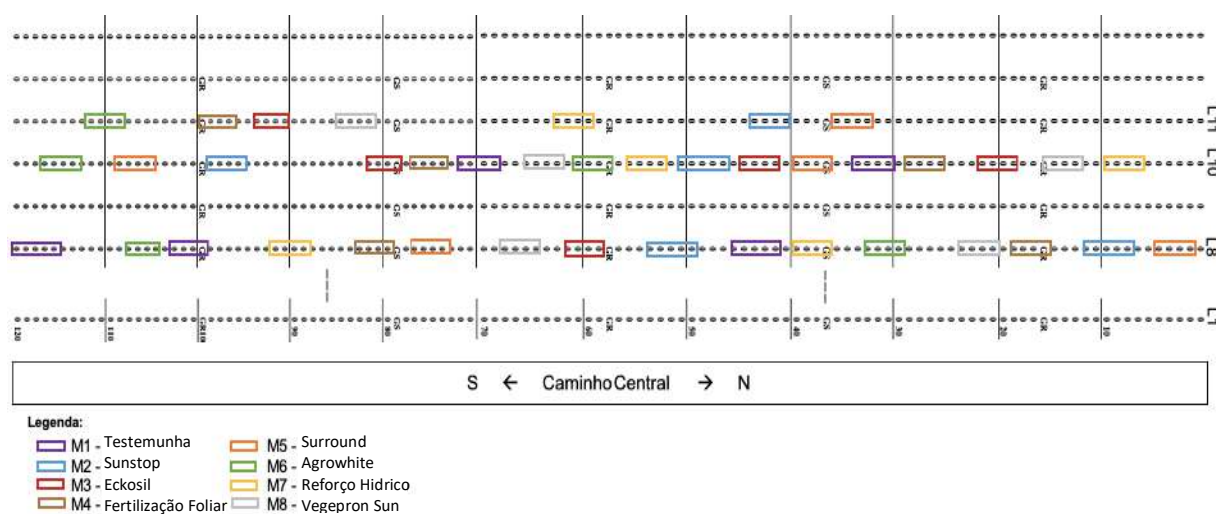


Figura 2 - Disposição das unidades experimentais causalizadas com cinco repetições correspondentes às oito modalidades em ensaio.

Na modalidade Reforço Hídrico (M7), antecipou-se o início da rega um mês relativamente à rega gota a gota convencional, adicionando-se neste período cerca de 70 a 75% da evapotranspiração cultural (ETc), através da aplicação semanal de 20 L por árvore. Aquando da ativação da rega gota-a-gota, mais precisamente a 28 de junho de 2021, passou-se a adicionar aproximadamente 30 a 35% da ETc, aplicando 10 L por árvore e suplementando a dotação fixa aplicada na rega gota-a-gota do programa de rega pré-estabelecido. Este reforço foi realizado com recurso a bilhas de 20 e 30 L, como mostra a Figura 3.



Figura 3 - Reforço hídrico realizado nas quatro árvores de cada unidade experimental da modalidade M7, com recurso a bilhas de 20 e 30 L.

Em relação à modalidade Fertilização Foliar (M4) os produtos aplicados e respetiva composição encontram-se descritos no Anexo II.

Quanto aos tratamentos, estes foram realizados utilizando um equipamento de proteção individual (figura 4A) e com recurso a um pulverizador elétrico Pulmic Industrial 35, com capacidade até 35 litros (figura 4B). A sua aplicação foi efetuada apenas em condições cujo vento se encontrava dentro dos limites regulamentados para permitir uma boa cobertura dos produtos.



Figura 4 - Aplicação dos tratamentos utilizando equipamento de proteção individual (A); com recurso a um pulverizador industrial Pulmic 35 (B)

Quanto à sua frequência, estes tratamentos foram aplicados em diferentes períodos, os quais podem ser observados no quadro 2.

Quadro 2 - Registo dos tratamentos realizados nas diferentes modalidades em ensaio.

	M3 (Eckosil)	M4 (Fertilização Foliar)	M7 (Reforço Hídrico)	Protetores Solares			
				M2 (Sunstop)	M5 (Surround)	M6 (Agrowhite)	M8 (Vegepron Sun)
28/mai	Eckosil (50 mL/100L)	Fitoalgas Green (250 mL/100L) + Aton Az (150 ml/100L) + MKP (300 g/100L) + MAP (300 g/100L)	--	--	--	--	--
01/jun	--	--	Rega (80 L/unidade experimental)	--	--	--	--
08/jun	--	--	Rega (80 L/unidade experimental)	--	--	--	--
11/jun	Eckosil (50 mL/100L)	Calfinish (2 kg/ha) + Folur (100 ml/100L)	--	--	--	--	--
15/jun	--	--	Rega (80 L/unidade experimental)	--	--	--	--
24/jun	Eckosil (50 mL/100L)	15/05/30 (500 g/100L) + Solubor (150 g/100L)	--	Sunstop (12 kg/ha)	Surround (2,5 kg/100L)	Agrowhite (5 kg/ha)	Vegepron Sun (2 L/100L)
28/jun	--	--	Rega (40 L/unidade experimental)	--	--	--	--
07/jul	Eckosil (50 mL/100L)	Radical Cálcio (2,5 kg/ha) + Fitoalgas Green (0,5 kg/ha)	--	Sunstop (12 kg/ha)	Surround (2,5 kg/100L)	Agrowhite (5 kg/ha)	Vegepron Sun (2 L/100L)
09/jul	--	--	Rega (40 L/unidade experimental)	--	--	--	--
16/jul	--	--	Rega (40 L/unidade experimental)	--	--	--	--
21/jul	Eckosil (50 mL/100L)	Fortan (3 kg/ha)	--	--	--	--	--
27/jul	--	--	Rega (40L /unidade experimental)	--	--	--	--
05/ago	--	--	Rega (40 L/unidade experimental)	--	--	--	--
09/ago	Eckosil (50 mL/100L)	Stimulus (2 L/ha) + Radical Cálcio (2,5 kg/ha)	--	--	--	--	--
13/ago	--	--	Rega (40 L/unidade experimental)	--	--	--	--

Considerou-se pertinente avaliar o grau de aderência dos quatro protetores solares aos frutos bem como a área de proteção que estes promovem. Recorreu-se ao programa ImageJ, que permitiu determinar a percentagem de cobertura promovida por cada protetor solar.

Foram previamente fotografados 6 frutos de cada uma das modalidades tratadas com protetores solares (Figura 5A) e introduzidos no programa em formato 8-bit (Figura 5B). Posto isto, definiu-se um *threshold* com os valores 106 e 255 (Figura 5C), selecionou-se a área de medição e aplicou-se a análise de partículas (Figura 5D). Por fim, obteve-se a percentagem de área de fruto coberta pelo produto (Figura 5E).

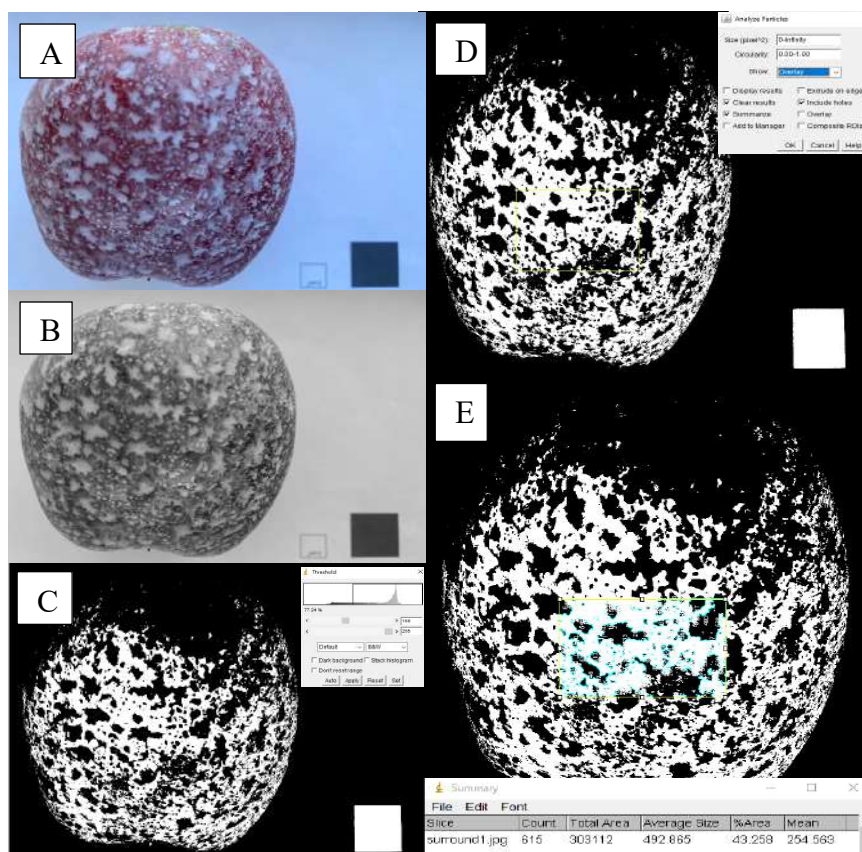


Figura 5 – Avaliação da percentagem de aderências dos quatro produtos protetores solares com recurso ao programa ImageJ.

2.3. Avaliações efetuadas nas plantas

2.3.1. Crescimento

2.3.1.1. Área de secção do tronco

No início e no final da campanha mediu-se os diâmetros dos troncos, 20 centímetros acima do ponto de enxertia. A área de secção do tronco (AST) é calculada com base na média do diâmetro máximo e mínimo dos troncos das árvores marcadas, de acordo com a seguinte expressão, tendo sido determinada para uniformizar as diferenças entre modalidades em análise e normalizar a produção (kg/cm² de AST):

$$\text{Área de secção de tronco} = \pi \cdot \left(\frac{\text{diâmetro médio}}{2} \right)^2 \text{ (cm}^2\text{)}$$

2.3.1.2. Área Foliar Específica

A área foliar específica (SLA) consiste na área foliar por unidade de peso seco. Esta encontra-se positivamente relacionada com a taxa fotossintética máxima, um

parâmetro determinante na produtividade (Reich et al., 1994) e foi calculada de acordo com a seguinte expressão:

$$\text{Área foliar específica} = \frac{\text{Área foliar da amostra}}{\text{Peso seco da amostra}} \text{ (cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}\text{)}$$

As folhas foram colhidas no terço médio do ramo das árvores marcadas, sendo apenas colhidas folhas localizadas na zona periférica do ramo (folhas exteriores), assegurando desta forma a conservação da posição relativa, idade e nível de exposição solar das mesmas. Em cada uma das modalidades procedeu-se à recolha aleatória de discos de área conhecida, com 3 repetições por modalidade. As três repetições de cada amostra eram compostas por igual número de discos (20 discos) (Figura 6A).



Figura 6 - Discos de folhas com 14 cm de diâmetro para determinação do peso fresco (A); placas de petri com os mesmos discos foliares após 48 horas na estufa a 70 °C (B).

Posteriormente à pesagem das amostras das várias repetições por modalidade para a obtenção do peso fresco, estas foram colocadas numa estufa a 70 °C onde permaneceram cerca de 48 horas, até atingirem peso constante (Eriksson et al., 2005). Passado esse tempo, pesaram-se novamente as amostras para obtenção do peso seco (Figura 6B). Optou-se pela temperatura de 70 °C e não uma mais elevada de modo a evitar a volatilização dos componentes dos tecidos em estudo (Gower et al., 1999).

2.3.1.3. Crescimento dos frutos

No início do mês de Abril, foram marcados frutos na zona periférica da copa para a monitorização semanal do seu crescimento. Para isso, marcou-se dois frutos por árvore, um do lado este e outro do lado oeste, em duas árvores de cada unidade experimental, perfazendo assim um total de 20 frutos por modalidade. O diâmetro

máximo dos mesmos foi medido no período de abril a agosto de 2021. Estas medições foram feitas com recurso a um paquímetro digital com capacidade de medição de 0 a 150 mm, e precisão de 0,01 mm (Adolf Wurth GmbH & Co. KG, Kunzelsau, Alemanha). Frutos que caíram ao longo deste período de medições foram substituídos por frutos de diâmetro semelhante.

2.3.2. Produção e qualidade dos frutos

À colheita, as maçãs foram pesadas, calibradas e foi avaliada a qualidade da produção das árvores marcadas.

Para a avaliação da qualidade, foi utilizada uma amostra aleatória de 30 frutos por modalidade, pertencentes aos calibres predominantes (65-70 e 70-75). Inicialmente foram realizadas medições de parâmetros não destrutivos, tais como cor, peso, diâmetro e altura. Relativamente à cor, caracterizada pela luminosidade (L^*), as coordenadas cromáticas a^* e b^* , ângulo de tonalidade ($^\circ\text{Hue}$) e croma (C^*) (Sistema CIELAB), esta foi determinada com um colorímetro (CR-400, Konica Minolta, Osaka, Japão). Posto isto, para obter os valores das coordenadas, recorreu-se às seguintes equações (Minolta, 1976):

$$L^* = 116 \left[\left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{\frac{1}{3}} - \frac{16}{116} \right]$$

$$a^* = 500 \left[\left(\frac{X}{X_n} \right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{\frac{1}{3}} \right]$$

$$b^* = 200 \left[\left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Z}{Z_n} \right)^{\frac{1}{3}} \right]$$

$$C^* = (a^*)^2 + (b^*)^2$$

$$^\circ\text{Hue} = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \text{ (graus)}$$

Recorreu-se ainda ao esquema de cores CIELAB, representado na Figura 7, para a interpretação dos resultados obtidos.

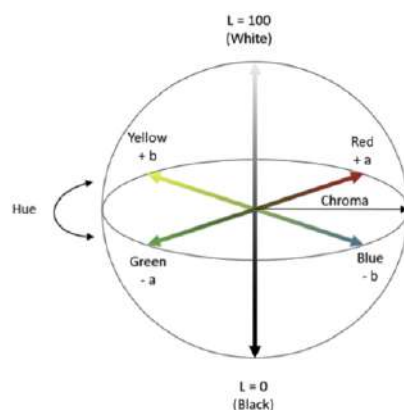


Figura 7 - Espaço de cor CIE *L *a *b. (Fonte: Ly et al., 2020)

O peso dos frutos foi determinado com recurso a uma balança digital de precisão (Mettler PE 2000) e o seu calibre através de um paquímetro digital.

A dureza média foi determinada através de um penetrómetro de bancada (Copa – informatique SA, modelo PENEFEL) (Figura 8A) com uma ponteira de 11 mm indicada para maçãs e o teor de sólidos solúveis (TSS) foi medido com um refratómetro digital portátil (*Palette* PR-100, ATAGO Co. Ltd., Japão) (Figura 8B) que, através do índice de refração, permite determinar a % de °Brix do açúcar em solução aquosa.

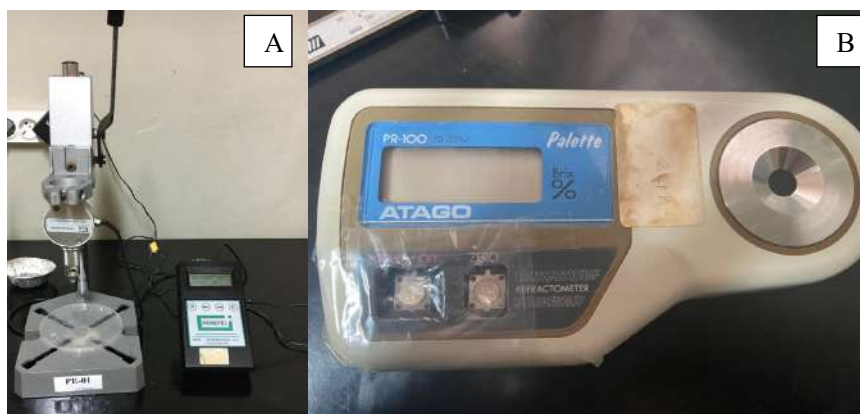


Figura 8 - Penetrómetro de bancada (A) e refratómetro portátil digital (B) utilizados na determinação da qualidade à colheita.

Realizou-se, ainda, o teste do amido, que nos permite aferir o estado de maturação do fruto. Para isso, os frutos foram cortados transversalmente na zona equatorial e imersos numa solução aquosa de iodo, durante cerca de um minuto. Passado este tempo, retirou-se o fruto e aguardou-se que o iodo reagisse com o amido presente na polpa, manifestando um padrão com tonalidades claras e escuras,

como representado na Figura 9. A interpretação dos resultados foi feita com recurso a uma escala classificada de 1 (frutos com muito amido) a 10 (frutos com pouco amido), cujo valor mais elevado diz respeito a frutos em avançado estado de maturação (CTIFL, 1995).



Figura 9 - Aspeto dos frutos após teste do amido.

A par de todas estas medições, foi também realizada uma classificação da incidência de escaldão nas diferentes modalidades, utilizando como referência a escala apresentada na Figura 10, que se encontra definida em quatro níveis de escaldão: ligeiro, moderado, grave e muito grave.

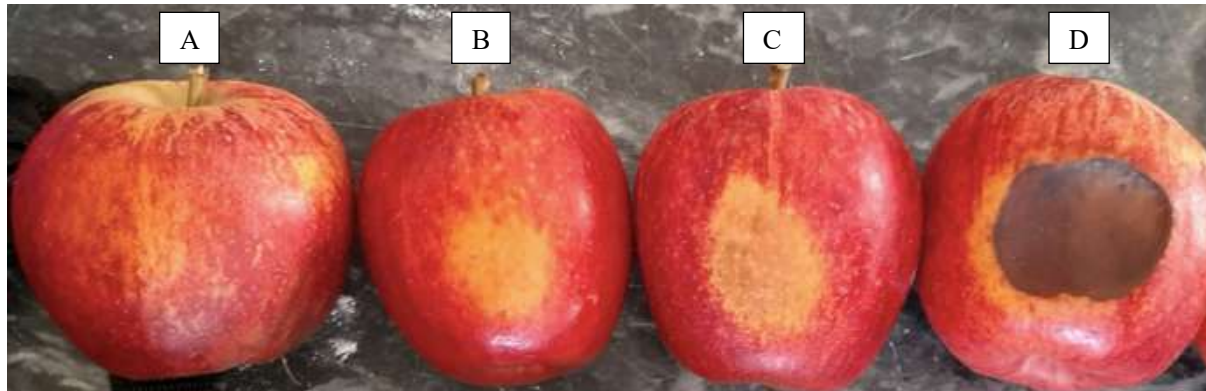


Figura 10 - Escala utilizada com os quatro níveis de escaldão: ligeiro (A), moderado (B), grave (C) e muito grave (D).

2.3.3. Determinações Fisiológicas

2.3.3.1. Fotossíntese

Relativamente aos parâmetros fisiológicos, estes foram medidos no campo em dias de céu limpo, recorrendo a um sistema portátil (ADC BioScientific LCpro T System). Foram medidas apenas folhas expostas e totalmente expandidas do terço médio do ramo e fixou-se a temperatura na câmara de medição a 25 °C. Foram avaliados os seguintes parâmetros: fotossíntese líquida (A_n), condutância estomática

(g_s), transpiração (E), e radiação fotossinteticamente ativa interceptada na câmara (PAR). Os diversos dados foram medidos três vezes durante a campanha, nos dias: 1 de julho, 27 de julho e 13 de agosto. Estas medições realizaram-se em dois períodos do dia. No período da manhã, compreendido entre as 9h e as 12h30, as medições foram efetuadas no quadrante este. Por outro lado, durante a tarde, das 15h às 17h30, estas medições realizaram-se no quadrante oeste. Mediram-se duas folhas por árvore, uma do lado este e outra do lado oeste, numa árvore por unidade experimental, totalizando desta forma cinco folhas do lado este e cinco do lado oeste em cada modalidade. Os valores foram registados apenas quando A e g_s se apresentavam estáveis.

2.3.3.2. Fluorescência da clorofila

A fluorescência da clorofila foi determinada nas mesmas datas em que se mediu fotossíntese, porém apenas no período da manhã. Os parâmetros de fluorescência da clorofila foram medidos na página superior de folhas pertencentes ao terço médio de ramos localizados na periferia da copa, num total de cinco folhas por tratamento (uma folha/árvore, cinco árvores por tratamento) com o auxílio de pinças para adaptação ao escuro (Figura 11A). Com recurso a um fluorómetro portátil (Fluormeter Pen, FP110, Photon System Instruments, CZ) registaram-se os valores da eficiência quântica máxima do fotossistema II (PSII) em folhas adaptadas ao escuro (F_v/F_m) por um período mínimo de 30 minutos, e à luz (F_v'/F_m') e a fluorescência basal (F_0) (Figura 11B). As razões F_v/F_m e F_v'/F_m' obtiveram-se a partir dos valores de fluorescência máxima (F_m e F'_m) e da fluorescência basal (F_0 e F'_0), em que F_v e F'_v correspondem à fluorescência variável obtida pela diferença entre a fluorescência máxima e basal, em folhas adaptadas ao escuro e à luz, respetivamente. Foram ainda registados valores de dois parâmetros que estão intimamente ligados à proteção dos cloroplastos contra os danos provocados pelo excesso de luz. Estes consistem nas extinções fotoquímica (q_p) e não fotoquímica (NPQ), que medem o rendimento da fluorescência da clorofila, representando uma estimativa da energia luminosa que é canalizada para a fotossíntese (q_p) e da que é dissipada (NPQ), e a sua medição também é realizada em folhas adaptadas ao escuro. Em suma, pretendeu-se averiguar a existência de stresse fisiológico nas plantas com base na avaliação do desempenho do aparelho fotossintético.



Figura 11 - Medição de parâmetros de fluorescência da clorofila com recurso a pinças (A) e um fluorómetro portátil (B).

2.3.3.3. Índices de Reflectância

Os índices de reflectância, mais concretamente NDVI (Índice de vegetação por diferença normalizada) e PRI (índice de reflectância fotoquímica), foram avaliados nas mesmas datas de medição da fluorescência da clorofila, no período da manhã. Estes parâmetros de reflectância foram medidos na página superior de folhas pertencentes ao terço médio de ramos localizados na periferia da copa, num total de cinco folhas por tratamento (uma folha/árvore, cinco árvores por tratamento). Nestas medições recorreu-se a um analisador da reflectância das folhas portátil (PolyPen, RP410, Photon System Instruments, CZ), representado na Figura 12.



Figura 12 - Medição dos índices de reflectância com recurso a um analisador da reflectância das folhas portátil.

2.3.3.4. Medição das temperaturas máximas de folhas e frutos

Efetuiu-se, ainda, a determinação das temperaturas máximas de folhas e frutos, em dias com temperaturas ambiente distintas, de forma a avaliar a eficácia das diferentes modalidades na redução das mesmas. Esta medição realizou-se com recurso a uma câmara térmica FLIR E6-XT, Flir Systems AB, Canadá com resolução 240 X 180 e faixa espectral de 7,5 a 13 μm (Figura 13). Em cada modalidade foram medidas as temperaturas máximas de cinco frutos exteriores, cinco frutos interiores, cinco folhas exteriores e cinco folhas interiores. Foram realizadas três medições em folhas e frutos, externos e internos, correspondentes às temperaturas ambiente de 23 °C, 25 °C e 35 °C (1 de julho, 28 de julho e 15 de julho, respetivamente). Contudo, realizou-se próximo da colheita (13 de agosto) outra medição complementar apenas em frutos externos e internos, com a temperatura ambiente de 30°C, uma vez que corresponde a um valor intermédio de temperatura em relação às das medições de julho.



Figura 13 - Medição das temperaturas máximas das folhas e frutos das diferentes modalidades com recurso à câmara térmica FLIR E6-XT.

2.3.3.5. Quantificação de clorofilas, antocianinas e carotenoides

Para a determinação do conteúdo em clorofila *a*, *b* e total, de carotenoides e antocianinas ($\mu\text{mol.g}^{-1}$), procedeu-se à maceração prévia com uma solução de acetona em tampão Tris-HCl a 100 mM, pH 7,8 (80:20), de amostras congeladas de folhas, localizadas no terço médio de ramos externos aleatórios dos diferentes tratamentos realizados (Figura 14A). Após homogeneizadas (Figura 14B), as soluções

foram centrifugadas à velocidade máxima durante 15 min a 10 °C numa centrífuga de bancada (Centrifuge 5424 R, Eppendorf) (Figura 14C e 14D). O sobrenadante (extrato ácido) foi transferido para um novo tubo, tendo o *pellet* sido descartado. Posto isto, quantificou-se os respetivos teores por espectrofotometria num leitor de microplacas (Sinergy HT, Biotek, Winooski, USA; software Gen5 3.05) através da leitura dos comprimentos de onda: 470, 537, 647 e 663 nm, e com recurso às seguintes equações descritas por Sims & Gamon (2002):

$$\text{Chla } (\mu\text{mol.mL}^{-1}) = 0,01373 \times A663 - 0,000897 \times A537 - 0,003046 \times A647$$

$$\text{Chlb } (\mu\text{mol.mL}^{-1}) = 0,02405 \times A647 - 0,004305 \times A537 - 0,005507 \times A663$$

$$\text{Chl } t \ (\mu\text{mol.mL}^{-1}) = \text{Chla} + \text{Chlb}$$

$$\text{Antocianinas } (\mu\text{mol.mL}^{-1}) = 0,08173 \times A537 - 0,00697 \times A647 - 0,002228 \times A663$$

$$\text{Carotenoides } (\mu\text{mol.mL}^{-1}) = (A470 - 17,1 \times \text{chl } tot - 9,479 \times \text{Antocianinas}) / 119,26$$

Posto isto, converteu-se para $\mu\text{mol Chl}$ por g de peso fresco de folha (Richardson et al., 2002).

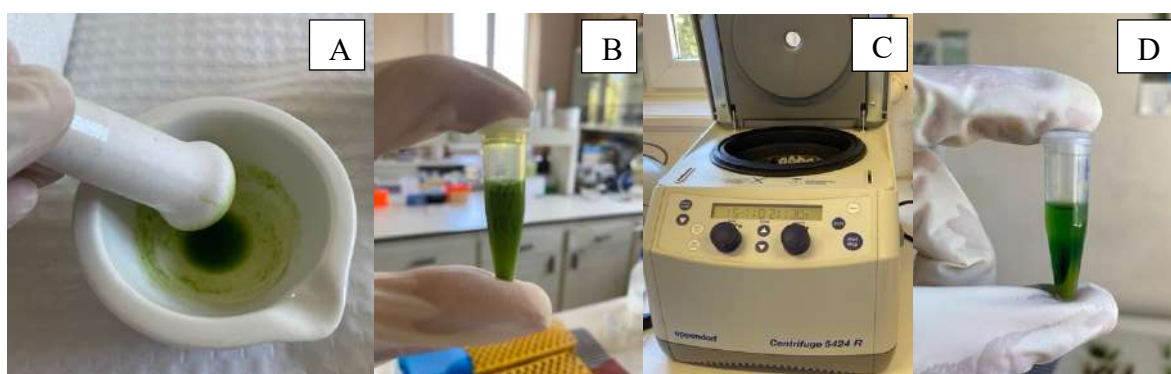


Figura 14 - Maceração das folhas na presença de Tris-HCl (A); homogeneização (B) e centrifugação das amostras (C e D)

2.3.3.6. Antioxidantes não enzimáticos

Inicialmente foram preparadas as amostras de folhas e frutos (pele e polpa) que foram colhidas em duas datas distintas, 5 julho e 17 agosto (colheita), utilizando três réplicas biológicas por modalidade. As amostras foram congeladas em nitrogénio líquido, seguido da sua maceração na presença do mesmo. De seguida, a cada réplica, adicionou-se 1 mL de ácido metafosfórico 6%, pH 2,8, contendo 1 mM EDTA e previamente arrefecido em gelo. Após homogeneizadas as soluções, estas foram centrifugadas a 27 000 g durante 15 min a 4 °C. O sobrenadante (extrato ácido) foi

transferido para um novo tubo, tendo o *pellet* sido descartado. Este extrato foi conservado a -20 °C até a sua utilização.

2.3.3.6.1. Glutaciona

As duas formas de glutaciona, a reduzida (GSH) e a oxidada (GSSG), foram analisadas colorimetricamente pelo método 2-vinilpiridina descrito por Anderson et al. (1995) usando folhas e frutos (polpa e epiderme) congelados previamente e moídos na presença de nitrogénio líquido.

Este método consiste no seguinte: para cada réplica, o volume de 6 µL de extrato ácido da amostra foi diluído em 44 µL de Na₂HPO₄ a 5%, pH 7,5. Para a quantificação de GSSG, a amostra foi incubada 1 hora a 25 °C com 2 µL de 2-vinylpiridina na *hotte*, enquanto para a quantificação de glutaciona total nada se alterou. De seguida, a cada réplica dos diferentes tratamentos, foram adicionados 50 µL de Reagente 1 (15 mM EDTA, 0,3 mM reagente de Ellman, 0,04% de albumina do soro bovino, 110 mM Na₂HPO₄.7H₂O e 40 mM NaH₂PO₄.H₂O) e 40 µL de Reagente 2 (1 mM EDTA, 50 mM imidazole, 0,02% albumina do soro bovino e 1,5 U/µL de glutaciona redutase).

A absorvância foi lida num leitor de microplacas (Bio-Tek, Synergy HT) no comprimento de onda de 412 nm. Foram primeiro lidos os brancos e, logo de seguida, adicionou-se 10 µL de NADPH (Nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato) 9,0 mM. A leitura final, também a 412 nm, foi efetuada passada 1 hora.

As concentrações de glutaciona total, de GSH e de GSSG foram expressas em micromoles por grama de massa fresca. A GSH foi determinada pela diferença entre a glutaciona total e GSSG. Foi também calculada a percentagem de redução que corresponde à percentagem de total de glutaciona presente como GSH e é definida como: $GSH / (GSH + GSSG) \times 100$.

2.3.3.6.2. Ascorbato

Para a análise dos ácidos ascórbico (AsA) e desidroascórbico (DAsA) recorreu-se a um método adaptado de Masato (1980) por Carvalho & Amâncio (2002).

Para a determinação dos ascorbatos total e reduzido (AsA) procedeu-se à neutralização de 25 µL do extrato ácido com 5 µL de trietanolamina 1,5 M. Posto isto, adicionou-se 30 µL de tampão fosfato de sódio 150 mM (pH 7,4).

Para a quantificação do ascorbato total, adicionou-se 15 μL de ditionitrosito (DTT) 10 mM, seguindo-se a sua incubação por 15 min a 25 °C de forma a reduzir o DAsA presente no extrato.

Com o intuito de remover o excesso de DTT, acrescentou-se 15 μL de N-etilmaleimida a 0,5% (p/v) e após a sua mistura, incubou-se as amostras durante 30 s a 25 °C.

Relativamente à quantificação do AsA, adicionou-se 30 μL de água destilada, de modo a igualar os volumes de ambas as amostras. Por fim, adicionou-se sucessivamente às duas amostras os seguintes reagentes: 60 μL de ácido tricloroacético a 10% (p/v), 60 μL de ácido fosfórico 44% (v/v), 60 μL de 2,2'-dipiridyl 4% (p/v) dissolvido previamente em 70% de etanol e 30 μL de FeCl_3 3% (p/v).

Depois de misturados todos os reagentes, as amostras foram incubadas a 37 °C durante 1 h em banho-maria (Figura 15).



Figura 15 - Incubação das amostras em banho-maria a 37 °C

Passado o tempo de incubação, colocou-se as amostras em microplacas de 96 poços e leu-se a absorvância a 525 nm no leitor de microplacas.

Para o cálculo da concentração de DAsA subtraiu-se a concentração de AsA do ascorbato total determinado.

Esta análise foi realizada para amostras de folhas, epiderme e polpa de frutos recolhidas em duas datas do ciclo, 5 de julho e 17 de agosto. Contudo, uma vez que os valores de julho foram demasiado baixos, considerou-se apenas para análise estatística a amostra de agosto.

2.4. Análise da expressão génica

2.4.1. Extração de RNA

O material vegetal pertencente aos diferentes níveis de escaldão dos frutos (Figura 16A e 16B) (epiderme e polpa com escaldão) foi moído com almofariz e pilão na presença de nitrogénio líquido (Figura 16C).

O RNA total foi extraído com o Kit Spectrum Plant Total RNA Kit (Sigma-Aldrich, EUA) seguindo as instruções do fabricante.

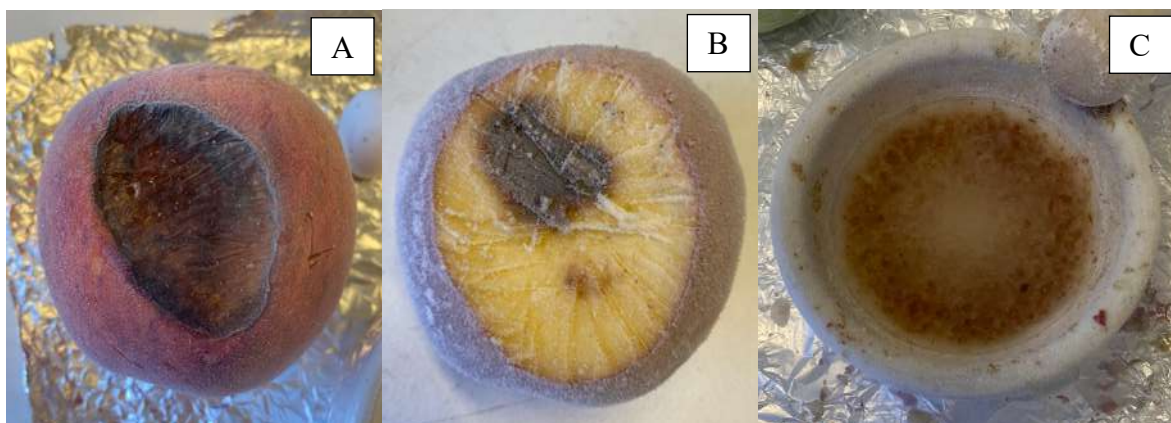


Figura 16 - Fruto, epiderme e polpa, com escaldão, congelado em nitrogénio líquido (A e B); maceração do material vegetal com almofariz e pilão na presença de nitrogénio líquido (C).

Posteriormente, as concentrações de RNA foram quantificadas e a pureza dos ácidos nucleicos de cada amostra foi avaliada por espectrofotometria utilizando um leitor de microplacas (Synergy HT, Biotek, Winooski, USA; software Gen5 3.05) (Figura 17A) com uma placa de leitura de ácidos nucleicos Take3 (Biotek, Winooski, USA) onde se colocou 2 μ L de amostra em cada alvéolo de leitura (Figura 17B).

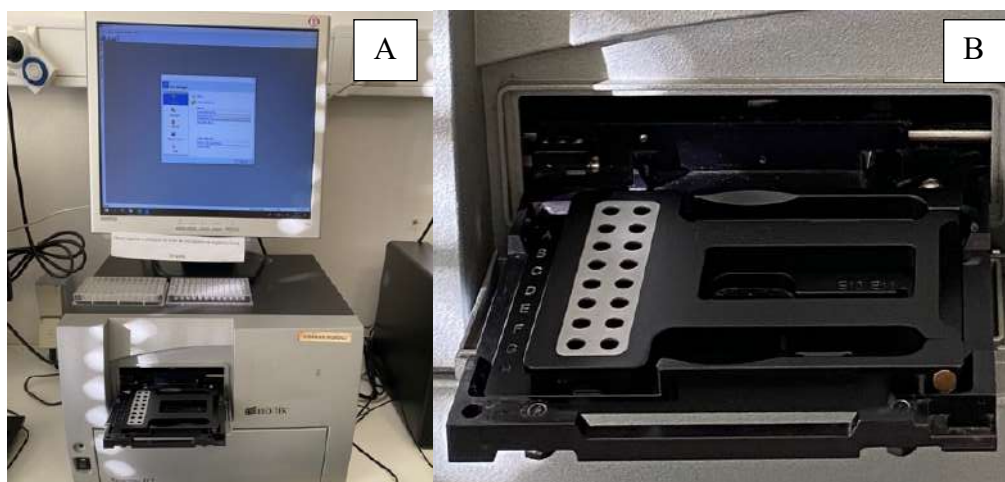


Figura 17 - Leitor de microplacas utilizado (A); placa de leitura de ácidos nucleicos Take 3(B).

Foram lidas as absorvâncias a 260 nm (para quantificação do RNA), 280 nm (para verificar a contaminação com proteínas através do rácio A_{260}/A_{280}) e 320 nm, para aferir a pureza da amostra. Apenas amostras de RNA com concentração acima de $35 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ foram usadas.

Verificou-se ainda a integridade total do RNA recorrendo-se a uma eletroforese em gel de agarose a 2%, juntamente com o marcador 1 Kb⁺ (Thermo-Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA) durante 45 min, a uma intensidade de corrente de 90 V. O gel de agarose foi visualizado num equipamento de captação de imagem (Gel Doc EZ Imager, Bio-Rad, Hercules, CA, EUA), de modo a observar as bandas de RNA ribossomal, que são indicativas da integridade do RNA extraído.

2.4.2. Síntese de cDNA por transcrição reversa

Para a obtenção do cDNA as amostras de RNA foram submetidas a uma reação de transcrição reversa (RT), após tratamento com RQ1 RNase-Free DNase (Promega, Madison, WI, EUA) utilizando *primer* oligo-dT e a enzima RevertAid Reverse Transcriptase (Thermo-Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA) de acordo com as recomendações do fabricante. A quantidade de RNA utilizado para as reações de RT-PCR foi de 1 μg . Os cDNAs obtidos foram diluídos na razão 1:10 e armazenados a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ até serem utilizados.

2.4.3. Seleção de genes de interesse envolvidos em mecanismo de defesa

Após alguma pesquisa bibliográfica, selecionaram-se genes envolvidos na resposta das plantas ao stresse abiótico, que codificam proteínas da família das *small heat shock proteins* (sHSP) a serem submetidos a estudo de expressão génica: *HSP20*, *HSP23.6*, *HSP22*, *HSP18.2A*, *HSP18.2B*, *HSP18.2C*, *HSP17.9A*, *HSP17.9B* e *HSP26.5*. As sequências dos *primers* usados em RT-qPCR, bem como o tamanho dos produtos obtidos, encontram-se no Quadro 3.

Quadro 3 - Referência NCBI e nome dos genes monitorizados nos frutos com escaldão; sequência dos primers usados na amplificação por RT-qPCR e tamanho dos produtos amplificados.

Referência NCBI	Anotação e abreviaturas	Forward Primer	Reverse Primer	bp
XM_002282480	Actin 1 (ACT1)	5' GCCTCCGATTCTCTGCTCTC 3'	5' TCACCATTCCAGTTCATTGTCAC 3'	158
AF369525	Actin 2 (ACT2)	5' TGGATTCTGATGGTGTGAGTC 3'	5' CAATTTCCCGTTCAGCAGTAGTGG 3'	167
XM_002272382	Small heat shock protein, chloroplastic HSP20 family (HSP20)	5' CCTCTGGCAACCCACAAAC 3'	5' GGTCCATTGCGTCCATCAT 3'	292
XM_002270560	Small heat shock protein 23.6 kDa, mitochondrial (HSP23.6)	5' CCGCCTCCTCTCCTCTCC 3'	5' TCTTCGCCATCATCGTAGTCG 3'	109
XM_002263340	Heat shock protein 22.0 kDa (HSP22)	5' GAGGTGAAGATAGAGGTGGACG 3'	5' GAGCACCCATTCTCAAGC 3'	192
XM_002280785	Class I heat shock protein, 18.2 kDa (HSP18.2A)	5' GAAGGAGGAAGTGAAGGTTGAG 3'	5' ACACCGTTCTCCATAGTAGCCT 3'	192
XM_002280644	Class II heat shock protein 17.9 kDa (HSP17.9A)	5' CGTCAAGGAGTACCCCAATTC 3'	5' AACTTCCCACCCCTCCTCT 3'	177
XM_002281249	Class I heat shock protein 18.2 kDa (HSP18.2B)	5' CCGTCCAAGACTTCCCATT 3'	5' CTCCTTCTCAACCTCTACCT 3'	170
XM_002280449	Class II heat shock protein 17.9 kDa (HSP17.9B)	5' TTCCTACGCCTTCATCATCG 3'	5' ACACGCCATCTTGACAAACC 3'	230
XM_002281224	Class I heat shock protein 18.2 kDa (HSP18.2C)	5' CCATTCCAGGACTTCCCATT 3'	5' CTCGGTGCCACTTGTCAATC 3'	235
XM_002267889	Small heat shock protein (HSP26.5) 26.5 kDa class I	5' AGGGCAGAGGAGACGAGAC 3'	5' ATCAGTCGGAGTCCATGTATCG 3'	109

2.4.4. PCR quantitativo em tempo real

O PCR quantitativo em tempo real (RT-qPCR) foi realizado utilizando o sistema CFX Connect Real-Time System (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA), representado na Figura 18.



Figura 18 - Sistema CFX Connect Real-Time System (Bio-rad) utilizado para a realização do PCR em tempo real.

A mistura de reação de 20 μ L era composta por 1 μ L de cDNA diluído, 1 μ L de primer (mix de forward e reverse, 10 μ M cada) e Eva Green master mix (SsoFast

EvaGreen Supermix, Bio-Rad, Hercules, CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. Posto isto, foi utilizado o programa seguinte: ativação inicial da polimerase a 95 °C durante 3 minutos seguida de 40 ciclos de 95 °C 10 s (desnaturação), 60 °C 15 s (emparelhamento) e 72 °C 25 s (extensão), seguida de uma curva de dissociação. Os produtos de PCR foram corridos em gel de agarose a 2% para garantir que havia apenas um produto amplificado do tamanho esperado. PCRs com cada par de *primers* também foram realizados em amostras sem cDNA, em duplicado.

Para comparar dados de diferentes PCRs, todos os gráficos de amplificação foram analisados com um *baseline threshold* de 140 no início da região de amplificação exponencial para obter Cq (ciclo de quantificação), e os dados obtidos foram exportados para uma pasta de trabalho MS Excel (Microsoft Inc.) para posterior análise. Para quantificação pelo método de $2^{-\Delta\Delta Cq}$ os valores de Cq foram normalizados para os valores Cq de *Act1* e *Act2*, que se apresentam estáveis em condições de stresse abiótico (Conde et al., 2018; Coito et al., 2012).

2.4.5. Análise da expressão dos genes de interesse pelo método $2^{-\Delta\Delta Cq}$

Para a análise da expressão génica através de RT-PCR recorreu-se ao método $2^{-\Delta\Delta Cq}$ (Livak & Schmittgen, 2001)(Livak & Schmittgen, 2001). Calculou-se inicialmente o ΔCq de cada amostra, subtraindo-se os valores de *threshold cycle* (Cq) dos genes de referência (*Act1* e *Act2*) aos valores de Cq de cada gene alvo. Após a determinação do ΔCq para todas as amostras, calculou-se $\Delta\Delta Cq$ subtraindo-se o ΔCq de controlo, antecipadamente escolhido como nível 1 de escação (escação ligeiro), ao ΔCq da experiência. Posto isto, calculou-se os valores de $2^{-\Delta\Delta Cq}$ para cada gene, que correspondem ao número de vezes em que a transcrição génica variou (aumentou ou diminuiu) nos diferentes níveis de escação, relativamente ao controle. De modo a facilitar a interpretação gráfica e normalizar os resultados obtidos, procedeu-se à logaritmização dos valores de $2^{-\Delta\Delta Cq}$ ($\text{Log}_2(2^{-\Delta\Delta Cq})$) que permitiu também observar melhor os valores negativos no eixo dos Y.

2.5. Análise estatística dos resultados

O tratamento dos dados obtidos foi feito com recurso ao programa de estatística RStudio 2021.09.1+372 (2009-2021 RStudio, PBC). As médias dos resultados foram

analisadas estatisticamente a um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$) através de uma análise de variância (ANOVA) a um fator. Aplicou-se ainda o teste de Tukey para avaliar a existência de diferenças significativas entre as médias das variáveis em análise. Nos casos em que os pressupostos para a realização da ANOVA não se verificaram, optou-se pela realização do teste Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn de comparações múltiplas com ajuste do valor de p pelo método de Bonferroni.

3. Resultados

Para uma melhor leitura dos resultados, consultar o Quadro 1 onde se encontram indicadas as diferentes modalidades em estudo.

3.1. Percentagem de cobertura dos protetores solares

Da determinação das percentagens de cobertura dos frutos com os 4 protetores solares, é possível verificar que a modalidade M5 proporcionou uma maior cobertura dos frutos, com cerca de 53%, podendo ser indicativo de maior proteção contra o escaldão solar (Quadro 4). Em contrapartida, M2 obteve a menor percentagem rondando os 11%.

Quadro 4 - Percentagem de cobertura dos frutos proporcionada pelos quatro protetores solares.

	% de cobertura
Surround (M5)	53,1 ± 6,42a
Vegepron Sun (M8)	32,9 ± 5,92b
Agrowhite (M6)	18,2 ± 2,18c
Sunstop (M2)	11,3 ± 2,64c

Média ± DP

Nota: Letras diferentes em coluna indicam valores significativamente diferentes pelo teste de Tukey para $p < 0,05$ e $n=6$,

Na Figura 19 encontra-se representada a cobertura promovida pelos diferentes protetores solares.



Figura 19 - Registo fotográfico da cobertura dos frutos promovida pelos quatro protetores solares.

Nas folhas, não foi possível concretizar esta medição, tendo em conta que o programa utilizado não permitiu, através do contraste, distinguir a folha do produto aplicado.

Contudo, através da observação da Figura 20 é possível observar as diferenças visuais entre modalidades.

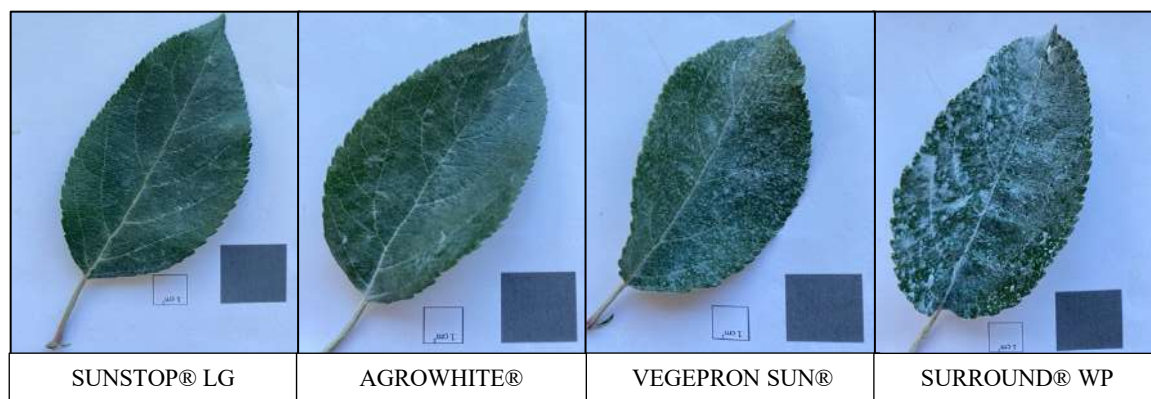


Figura 20 - Cobertura das folhas com os diferentes produtos protetores solares.

3.2. Aspectos Agronómicos

3.2.1. Crescimento dos frutos

A medição semanal dos frutos com paquímetro digital iniciou-se 44 dias após a data de plena floração e finalizou-se no dia da colheita. Estatisticamente não se evidenciaram diferenças significativas no crescimento dos frutos nas diferentes modalidades (Anexo III). Contudo, podemos observar que, na última data de medição, as modalidades que apresentaram calibres mais elevados foram M6 (72,8 mm) e M2 (72,5 mm) (Figura 21).

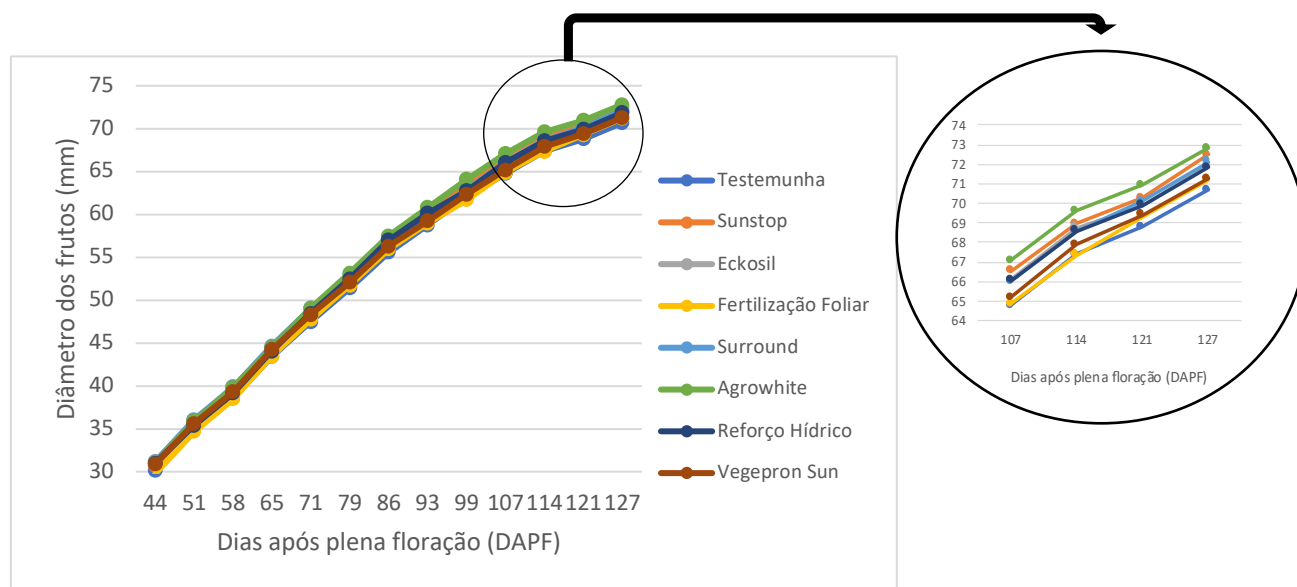


Figura 21 - Crescimento dos frutos desde 44 dias após plena floração até à data da colheita.

Simultaneamente, foram estas as modalidades que apresentaram maior crescimento dos frutos ao longo do período de medições. Em contrapartida, as modalidades que apresentaram calibre inferior foram M1 e M4 com 70,7 e 71,2 mm de diâmetro, respetivamente.

É de referir ainda que, apesar de M4 apresentar um dos calibres menores, esta foi a terceira modalidade com maior crescimento ao longo do período de medições. Por outro lado, M1 foi a modalidade com menor taxa de crescimento total, mostrando que qualquer uma das estratégias implementadas contribuiu de forma positiva para o crescimento dos frutos.

3.2.2. Determinações de produção e qualidade

3.2.2.1. Produção

Das árvores em ensaio, foi colhida apenas uma árvore por unidade experimental, isto é, cinco árvores por modalidade. Posto isto, as maçãs foram colocadas em caixas de fruta previamente marcadas e, de seguida, foi determinado o peso da produção por árvore.

As áreas de secção dos troncos (AST) das árvores em estudo foram medidas de forma a normalizar a produção em função da AST (kg/cm^2 AST) e obter um indicador complementar para análise da produção.

Da avaliação dos valores das AST de cada modalidade, e com recurso ao Quadro 5, verificámos que não foram encontradas diferenças significativas entre estas, permitindo deduzir que se encontravam todas em pé de igualdade. Contudo, a modalidade M7 registou o maior valor de AST ($33,93 \text{ cm}^2$) e, simultaneamente, foi a mais produtiva ($21,803 \text{ kg}/\text{árvore}$). Curiosamente, o terceiro valor mais elevado de produção normalizada ($0,655 \text{ kg}/\text{cm}^2$ de AST) pertenceu a esta modalidade, permitindo aferir que o reforço hídrico da planta conduz a melhores produções.

Quadro 5 - Número médio de frutos por árvore e respetiva produção por árvore, peso médio por fruto, área de secção do tronco (AST) média (2x5 árvores) e produção normalizada nas diferentes modalidades.

Modalidade	Número médio de frutos por árvore	Produção (kg/árvore)	Produtividade (t/ha)	Peso médio por fruto (kg)	AST (cm^2)	Produção Normalizada (kg/cm^2 de AST)
<i>Testemunha</i>	144,8	18,88	35,0	0,129	30,24	0,623
<i>Sunstop</i>	126,8	16,85	31,2	0,130	31,99	0,504
<i>Eckosil</i>	110,8	14,25	26,4	0,130	28,86	0,498
<i>Fertilização Foliar</i>	142,4	19,59	36,3	0,139	26,36	0,751
<i>Surround</i>	142,0	16,47	30,5	0,118	30,86	0,543
<i>Agrowhite</i>	168,0	21,65	40,1	0,128	32,53	0,661
<i>Reforço Hídrico</i>	152,6	21,80	40,4	0,142	33,98	0,655
<i>Vegepron Sun</i>	153,4	18,98	35,2	0,128	31,19	0,613

Nota: não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$

Por outro lado, a modalidade M4, apesar de apresentar menor área de secção do tronco ($26,36 \text{ cm}^2$), registou a maior produção normalizada ($0,751 \text{ kg/cm}^2$ de AST). Porém, apresentou o quarto menor número de frutos por árvore, dando a entender que a fertilização foliar das plantas permite obter frutos mais pesados.

Em relação ao peso de uma unidade de fruto, não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades. Os valores variam entre $0,118 \text{ kg}$ para M5, e $0,142 \text{ kg}$ para M7.

3.2.2.2. Distribuição por calibres

Relativamente aos calibres à colheita, a modalidade que apresentou a maior percentagem para a classe 70 – 75 foi M4, estando a menor percentagem entregue a M8 (Quadro 6). Pelo contrário, M5 foi a modalidade que apresentou uma maior percentagem de frutos nos calibres 55-60, calibres este que não são apreciados pelo mercado. De modo geral, frutos com calibres superiores a 65 mm encontram-se dentro das exigências e preferências do mercado. Tendo isto em conta, as modalidades M4 e M7 foram as que apresentaram percentagem superior de frutos com este calibre.

Quadro 6 - Percentagem de frutos por calibre em cada modalidade à colheita, em amostras de 300 frutos por modalidade.

Modalidade	>50	50 - 55	55 - 60	60 - 65	65 - 70	70 - 75	75 - 80	>80	Total >65
<i>Testemunha</i>	0,7	1,3	9,0	35,0	21,7	26,7	4,3	1,3	54,0
<i>Sunstop</i>	0,0	1,0	11,7	29,3	25,0	25,7	7,3	0,0	58,0
<i>Eckosil</i>	0,0	1,0	12,0	32,0	25,7	23,0	5,3	1,0	55,0
<i>Fertilização Foliar</i>	0,0	0,0	2,7	21,0	26,7	37,0	11,6	1,0	76,3
<i>Surround</i>	0,0	0,3	12,3	40,0	22,0	20,7	4,7	0,0	47,4
<i>Agrowhite</i>	0,7	0,7	8,7	39,7	18,7	24,0	5,3	2,2	50,2
<i>Reforço Hídrico</i>	0,0	0,7	9,0	30,0	25,0	28,0	5,7	1,6	60,3
<i>Vegepron Sun</i>	0,0	0,7	8,7	40,0	30,7	17,3	2,6	0,0	50,6

3.2.2.3. Análise de qualidade

Em cada modalidade a análise de qualidade foi efetuada a partir de 30 frutos, numa amostra composta pelos calibres mais predominantes (65-70 e 70-75 mm) das cinco árvores colhidas. Não foram verificadas diferenças significativas para a relação diâmetro/altura (Quadro 7).

Quadro 7 - Análises de qualidade dos 30 frutos colhidos por modalidade com calibre 65-75mm.

<i>Modalidade</i>	Calibre	Diâmetro/ altura	Peso (g)	°Brix	Dureza média (kg/0,5cm²)	Amido
<i>Testemunha</i>	70,21	1,050	151,86	13,20ab	7,78ab	6,75a
<i>Sunstop</i>	70,59	1,052	162,68	13,36ab	7,60ab	5,92ab
<i>Eckosil</i>	70,28	1,058	158,00	13,82ab	7,59ab	5,67ab
<i>Fertilização Foliar</i>	70,84	1,070	161,81	14,01a	7,65ab	6,00ab
<i>Surround</i>	70,71	1,067	151,11	12,83b	8,02a	4,75b
<i>Agrowhite</i>	70,32	1,037	158,17	13,64ab	7,35b	5,67ab
<i>Reforço Hídrico</i>	70,49	1,060	158,63	13,14ab	7,34b	6,58a
<i>Vegepron Sun</i>	70,39	1,037	159,68	13,25ab	7,39b	5,42ab

Nota: Letras diferentes em coluna indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=30$ e pelo teste Kruskal-Wallis.

Relativamente ao teor de sólidos solúveis (°Brix), a modalidade M4 foi a que apresentou valores significativamente mais altos com 14,01%. Em contrapartida, os frutos de M5 apresentaram o menor valor médio de sólidos solúveis (12,83%) e maior firmeza da polpa (8,02 kg/0,5 cm²). É ainda de referir que, a modalidade de reforço hídrico (M7) foi a modalidades que apresentou frutos com menor firmeza, bem como o segundo valor mais baixo de °Brix. Este último pode ser consequência de algum efeito de diluição de açúcares (sólidos solúveis), possivelmente, devido ao maior conforto hídrico da planta. Em relação ao teor em Amido, observaram-se diferenças significativas entre modalidades indicando que os frutos de M5 estariam menos maduros (maior teor de amido), estando em concordância com os valores de °Brix apresentados anteriormente. Pelo contrário, as modalidades M1 e M7 destacaram-se com frutos com teor de amido superior, indicando maturação mais avançada.

3.2.2.4. Cor

Relativamente à coloração dos frutos à colheita, observaram-se diferenças significativas entre modalidades, cujos dados se encontram no Anexo IV. As modalidades que apresentaram frutos mais avermelhados, isto é, valores mais baixos para o parâmetro °Hue, foram M2, M4, M6 e M7 (Figura 22). Pelo contrário, M5 e M1 foram as que registaram valores mais elevados para este parâmetro.

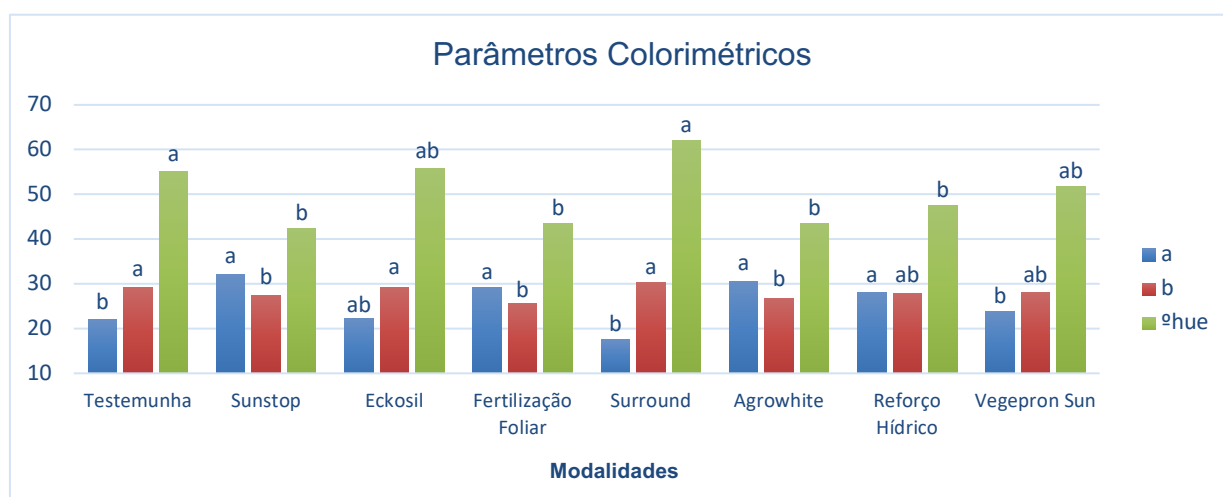


Figura 22 - Valores médios dos parâmetros colorimétricos a^* , b^* e $^{\circ}\text{Hue}$ (tonalidade), dos 40 frutos das diferentes modalidades analisados à colheita. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=3$.

As modalidades M5 e M8, cujos tratamentos cobriram mais os frutos, apresentaram valores de $^{\circ}\text{C}$ (croma) mais baixos, ou seja, menor saturação e intensidade das cores. Os frutos que apresentaram maior luminosidade, isto é, valores de $^{\circ}\text{L}$ superiores, foram os da modalidade M5. Contrariamente, M2, M6 e M4 apresentaram os valores mais baixos.

No que diz respeito aos valores das coordenadas a^* e b^* , M5 apresentou em simultâneo o menor valor de a^* e o maior de b^* , mostrando ter frutos com tons vermelho-amarelados. Apenas M2, M4 e M6, os quais apresentaram valores $^{\circ}\text{Hue}$ mais baixos, apresentaram os valores de a^* mais elevados, juntamente com os valores de b^* mais baixos, concluindo-se que estas foram as modalidades com maior presença de pigmentação vermelha na sua epiderme.

3.2.2.5. Matéria seca

De acordo com McGlone et al. (2003), elevadas percentagens de matéria seca (MS) na cultivar 'Gala' estão fortemente relacionadas com altos teores de compostos solúveis, nomeadamente açúcares.

Cerca de 80% da proporção de MS é constituída por açúcares, amido e ácidos orgânicos (Suní et al., 2000).

Relativamente à percentagem de MS nas diferentes modalidades, é possível observar que existem diferenças significativas (Figura 23). À colheita, a modalidade que apresentou maior percentagem foi M4, enquanto M5 foi a que apresentou o menor valor.

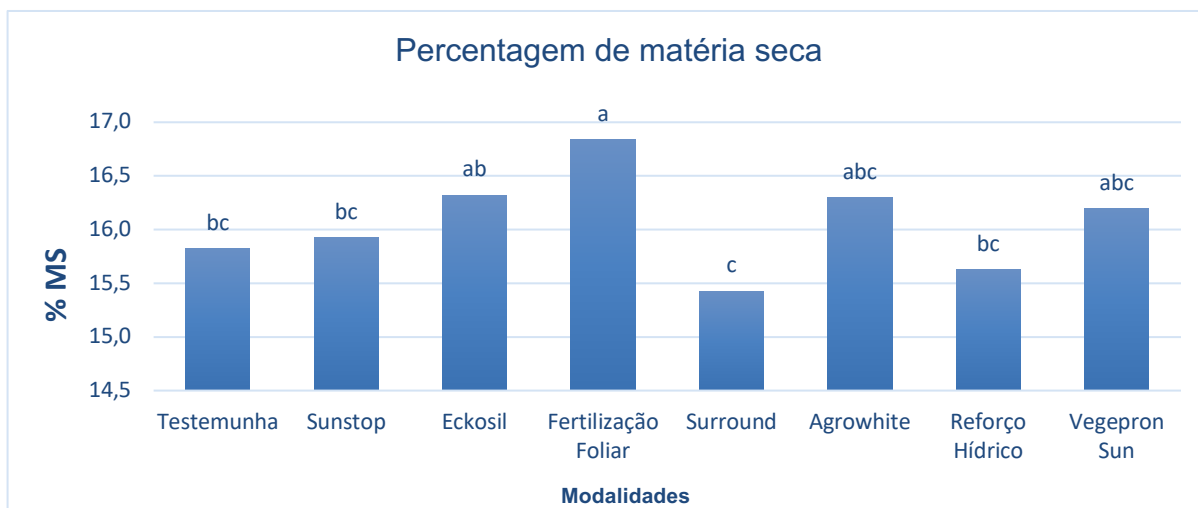


Figura 23 - Percentagem de matéria seca dos frutos à colheita nas diferentes modalidades. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=3$.

3.2.2.6. Intensidade de escaldão

No que diz respeito à percentagem de escaldão e à sua distribuição por diferentes níveis de intensidade, não foram observadas diferenças significativas entre modalidades. Contudo, podemos retirar algumas conclusões através da interpretação da Figura 24 e do Anexo V. Relativamente à maior incidência de escaldão, esta foi apresentada por M3, logo seguida por M2. Pelo contrário, M5 e M8 foram as modalidades com menor incidência de escaldão.

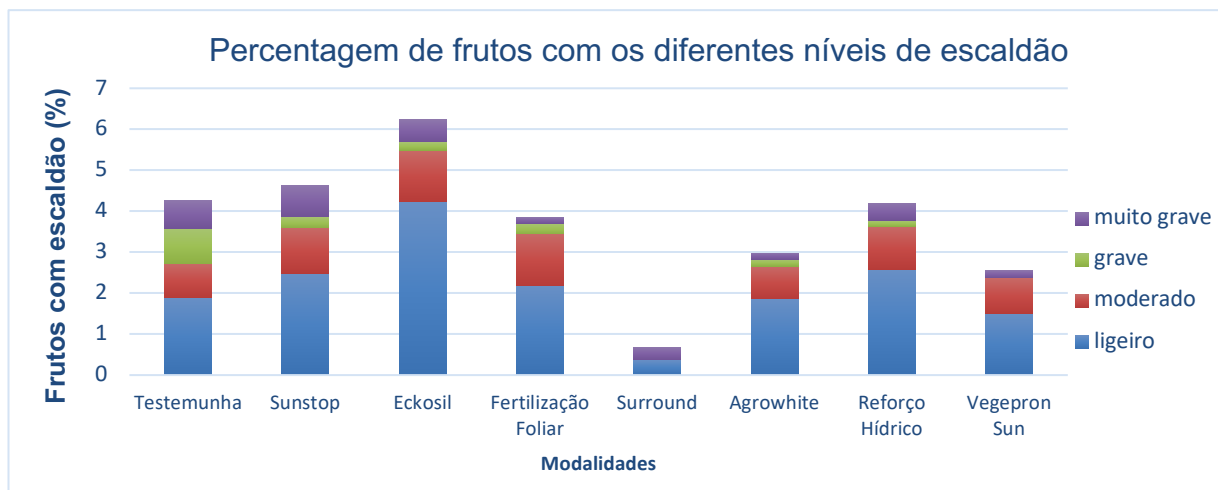


Figura 24 - Distribuição da percentagem de frutos nos diferentes níveis de escaldão, por modalidade. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$.

É de referir ainda que, no geral, o escaldão ligeiro sobressaiu-se em todas as modalidades, relativamente aos restantes níveis. Contudo, M1 mostrou ter maior incidência de escaldão grave, e M2 maior incidência de escaldão muito grave.

3.3. Parâmetros Fisiológicos

3.3.1. Fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática

Os valores médios, respetivo desvio-padrão e diferenças significativas de fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática medidos nos períodos da manhã e da tarde, constam nos Anexos VI e VII, respetivamente.

3.3.1.1. Período da manhã

Comparando a fotossíntese líquida medida no período da manhã nas diferentes datas e modalidades, apenas foram encontradas diferenças significativas nas datas 1 e 27 de julho (Figura 25).

É possível observar que, no geral, este parâmetro sofreu um aumento ao longo do tempo nas diferentes modalidades, à exceção de M6.

A 1 de julho, o maior valor registado pertenceu a M7 e o menor a M3. Já a 27 de julho, foi M4 que apresentou maior valor, enquanto M6 o valor mais baixo.

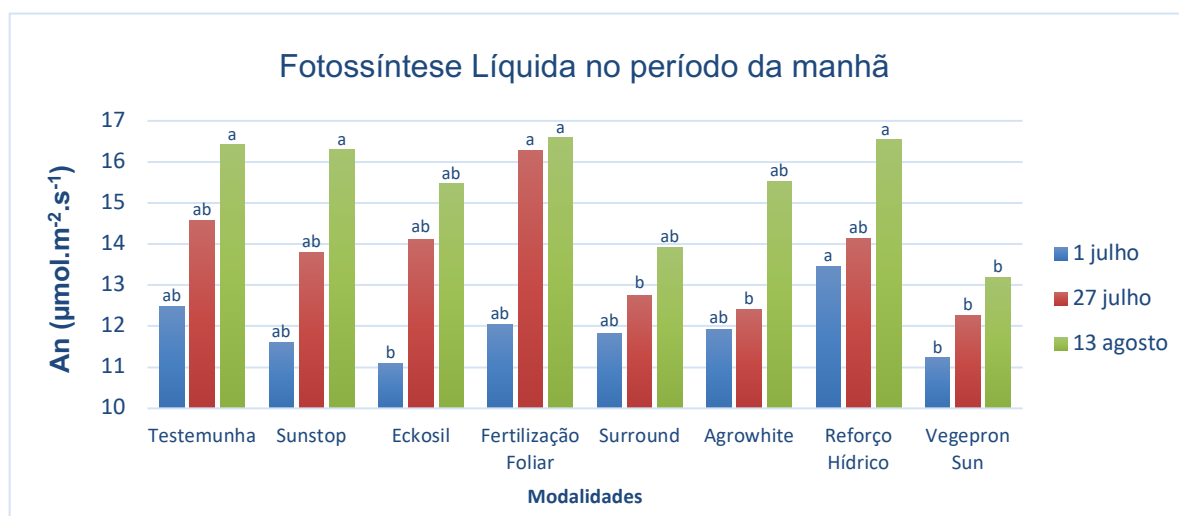


Figura 25 - Fotossíntese Líquida nas diferentes modalidades em três datas distintas no período da manhã. Letras diferentes entre modalidades para a mesma data indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=5$ e pelo teste Kruskal-Wallis.

É possível verificar ainda que, na última medição realizada, correspondente à temperatura do ar mais elevada (27 °C) comparativamente às restantes medições, as modalidades M7, M1, M2 e M4 apresentaram valores significativamente superiores em relação às modalidades M5, M6 e M8.

Relativamente à transpiração (E) não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades e o padrão foi igual para todos os tratamentos ao

longo das três datas (Anexo VI). Contudo, é possível verificar que, no geral, E foi diminuindo ao longo do tempo, à medida que a temperatura ambiente aumentou.

Relativamente à condutância estomática (g_s), também esta não apresentou valores significativamente diferentes entre modalidades. Contudo, verificou-se uma tendência decrescente ao longo do tempo, com exceção das modalidades M1 e M5. Evidenciou-se, ainda, uma grande abertura dos estomas por parte da modalidade reforço hídrico (M7) na primeira medição, que se foi perdendo com o aumento da temperatura ambiente.

3.3.1.1. Período da tarde

A fotossíntese líquida (A_n) não apresentou diferenças significativas entre modalidades, no período da tarde (Figura 26), bem como a transpiração (E) e a condutância estomática (g_s) (Anexo VII). Contudo, podemos verificar que A_n , ao contrário de E, apresentou uma tendência decrescente ao longo das três datas, e, portanto, à medida que a temperatura ambiente subiu. A 13 de agosto, data para a qual a temperatura ambiente foi maior, com cerca de 27 °C, M4 apresentou valor de A_n superior às restantes modalidades (15,28 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Porém, M5 e M8 apresentaram os valores mais baixos para este parâmetro (13,03 e 12,72 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, respetivamente), tal como foi observado para o período da manhã.

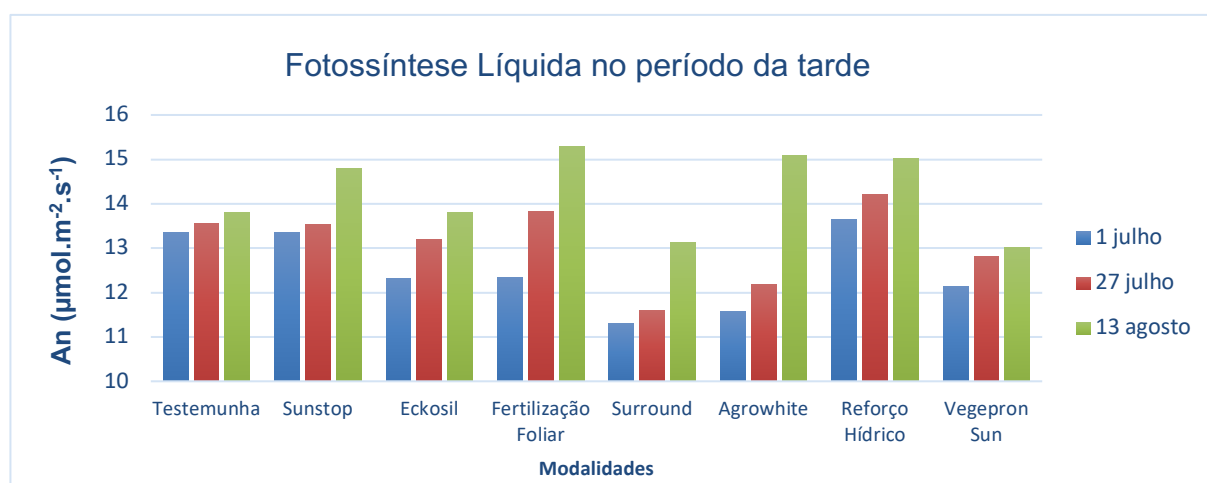


Figura 26 - Fotossíntese Líquida nas diferentes modalidades em três datas distintas no período da tarde. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$.

A g_s mostrou, de forma geral, uma diminuição ao do tempo, excetuando as modalidades M2, M3 e M5. Verificou-se também, em concordância com a medição realizada no período da manhã, que M7 apresentou valores mais elevados para este

parâmetro em todas as datas, isto é, maior abertura estomática, que foi diminuindo ao longo do tempo.

3.3.2. Fluorescência da clorofila

A fluorescência da clorofila foi utilizada com o intuito de monitorizar a eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (PSII), permitindo aferir se a integridade das membranas dos tilacoides ou o próprio aparelho fotossintético sofreram alterações. A eficiência fotoquímica do PSII constitui o principal parâmetro utilizado na avaliação de danos no sistema fotossintético permitindo, desta forma, averiguar se as plantas estiveram expostas a algum tipo de stresse (Krause & Weis, 1991).

Os valores médios, respetivo desvio-padrão e diferenças significativas dos parâmetros da fluorescência da clorofila constam no Anexo VIII.

Através da observação da Figura 27A é possível constatar que relativamente a F_v/F_m , apenas foram observadas diferenças significativas entre modalidades a 27 de julho, em que a modalidade Surround (M5) foi a que apresentou valor mais baixo para este parâmetro. Por outro lado, Sunstop (M2) e Eckosil (M3) foram as que apresentaram os valores mais elevados.

Relativamente a $F'v/F'm$, não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades.

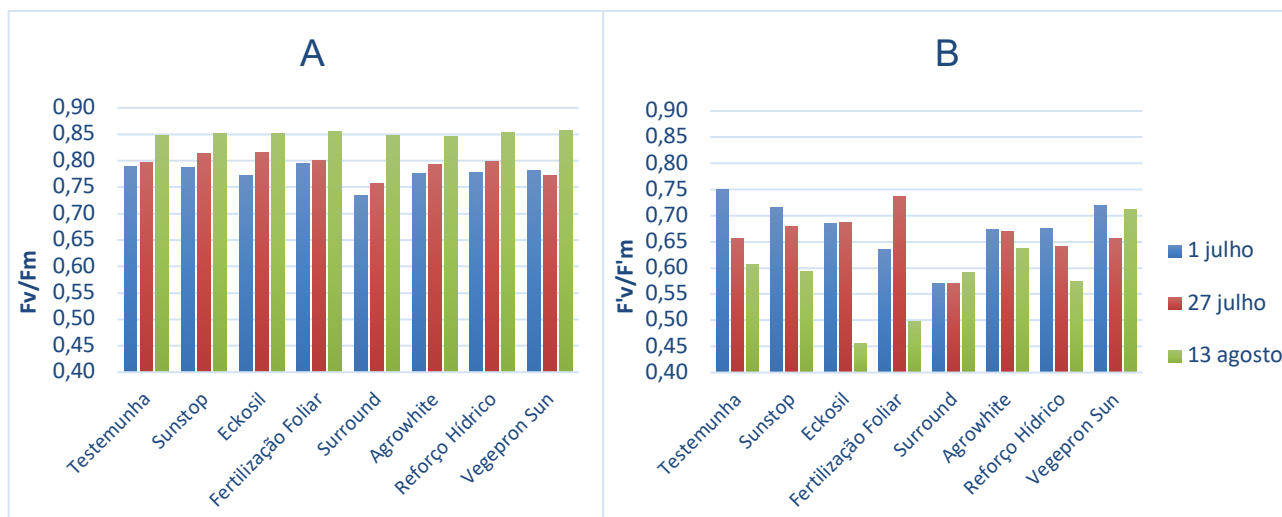


Figura 27 - Eficiência fotoquímica máxima do PSII determinada em folhas adaptadas ao escuro (F_v/F_m) (A) e à luz ($F'v/F'm$) (B) em três períodos do ciclo nas diferentes modalidades.

No que diz respeito às fluorescências basais (F'_0 e F_0), encontraram-se diferenças significativas para ambas apenas a 1 de julho. A modalidade Testemunha (M1) apresentou valor de F_0 superior e significativamente diferente de Surround (M5)

e Reforço hídrico (M7) (Figura 28A) e valor de $F'0$ significativamente superior a M7 (Figura 28B).

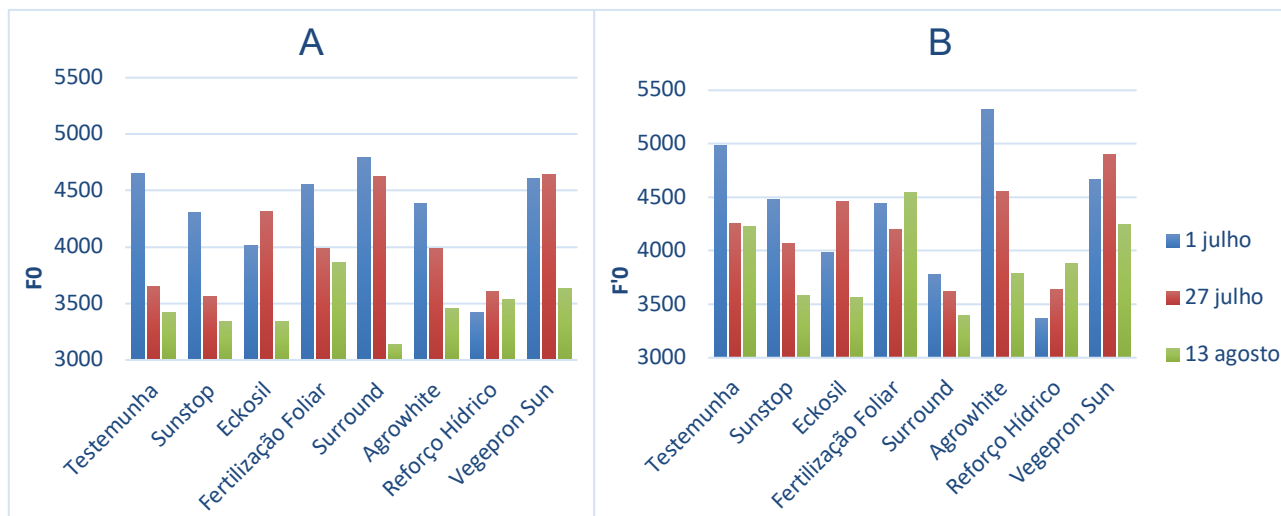


Figura 28 - Fluorescência basal do PSII determinada em folhas adaptadas ao escuro (F_0) (A) e à luz ($F'0$) (B), em três períodos do ciclo nas diferentes modalidades.

3.3.3. NPQ e q_p

Para os parâmetros NPQ (extinção não fotoquímica) e q_p (extinção fotoquímica) não foram identificadas diferenças significativas entre modalidades, tendo o maior valor de NPQ sido registado a 14 de agosto para Fertilização foliar (M4). O valor mais baixo para este parâmetro foi registado a 14 de agosto para Agrowwhite (M6) (Figura 29A).

Relativamente à extinção fotoquímica (q_p), esta apresentou valores mais elevados na modalidade Testemunha (M1) a 28 de julho (Figura 29B).

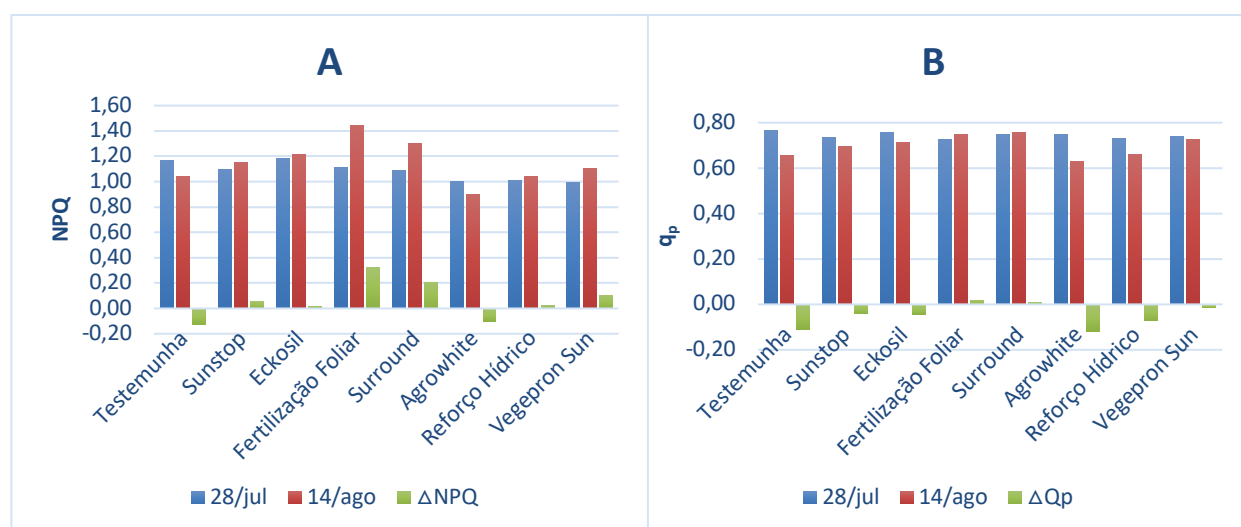


Figura 29 - Valores de NPQ (A) e q_p (B) registados nas diferentes modalidades a 28 de junho e 14 de agosto, e sua variação. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$.

3.3.4. NDVI e PRI

Foram analisados dois parâmetros de reflectância, mais concretamente o índice NDVI, utilizado comumente como indicador da vitalidade da planta e o índice PRI, correspondente ao índice de reflectância que informa acerca da eficiência do uso da luz por parte da folha. Relativamente aos índices de vegetação NDVI e PRI, não existem diferenças significativas entre modalidades. Contudo, é de mencionar que os valores mais altos de NDVI foram registados a 1 de julho, em todas as modalidades (Figura 30A).

Porém, é importante referir que as modalidades correspondentes aos tratamentos com protetores solares com maior cobertura, apresentaram valores de NDVI inferiores às restantes modalidades, e a 0,7, podendo indicar uma vegetação menos saudável.

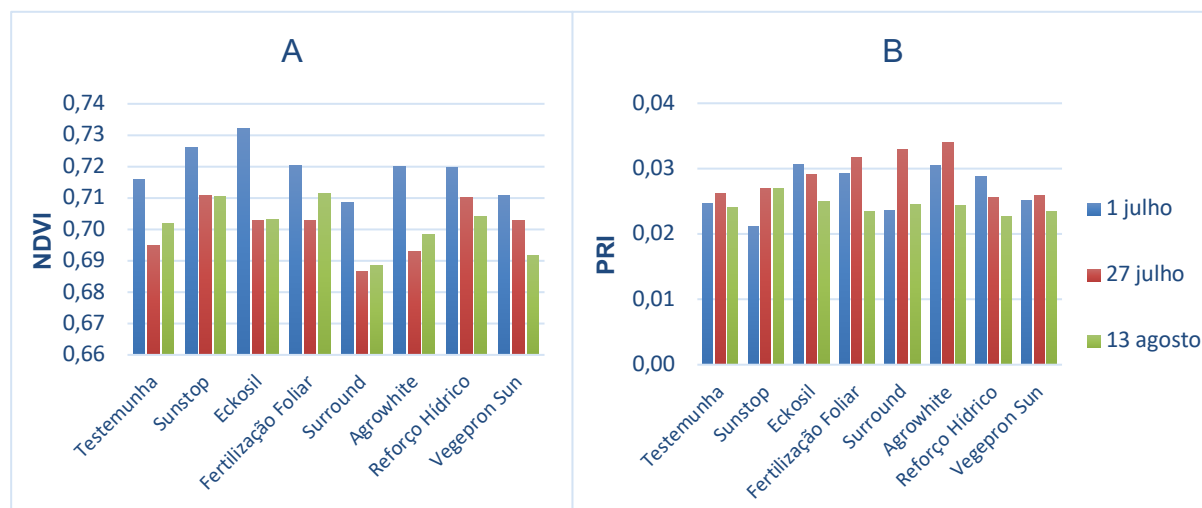


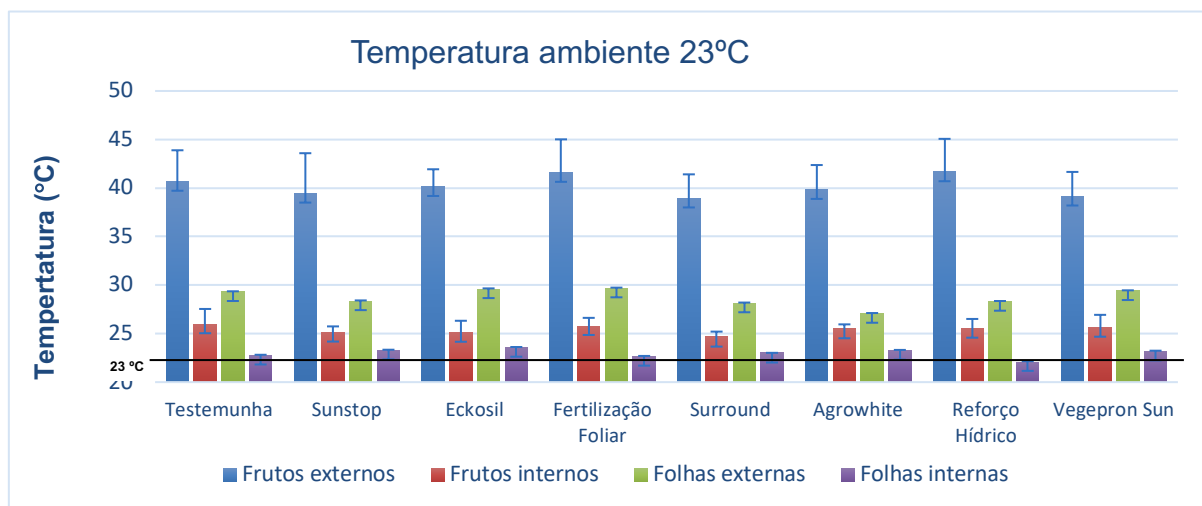
Figura 30 - Valores de NDVI (A) e PRI (B) registados nas diferentes modalidades a 1 e 27 de julho e a 13 de agosto. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$.

Relativamente ao indicador PRI, este apresentou os valores mais elevados a 27 de julho, com exceção das modalidades Eckosil (M3) e Reforço hídrico (M7) (Figura 30B). Conquanto, estes valores elevados podem ser indicadores de uma menor eficiência da luz.

3.3.5. Temperatura máxima de folhas e frutos, externos e internos

Da interpretação das Figuras 31, 32 e 33 é possível verificar que as modalidades tratadas com protetores solar registaram temperaturas máximas mais

baixas nos frutos exteriores que as restantes modalidades. Contudo, é de realçar que para a medição com temperatura ambiente superior (35 °C), a modalidade M5 registou as temperaturas mais baixas com 48,18 °C de média, demonstrando o seu potencial na proteção dos frutos contra temperaturas elevadas. Pelo contrário, a modalidade M7 não mostrou grande eficácia na redução da temperatura dos frutos exteriores.

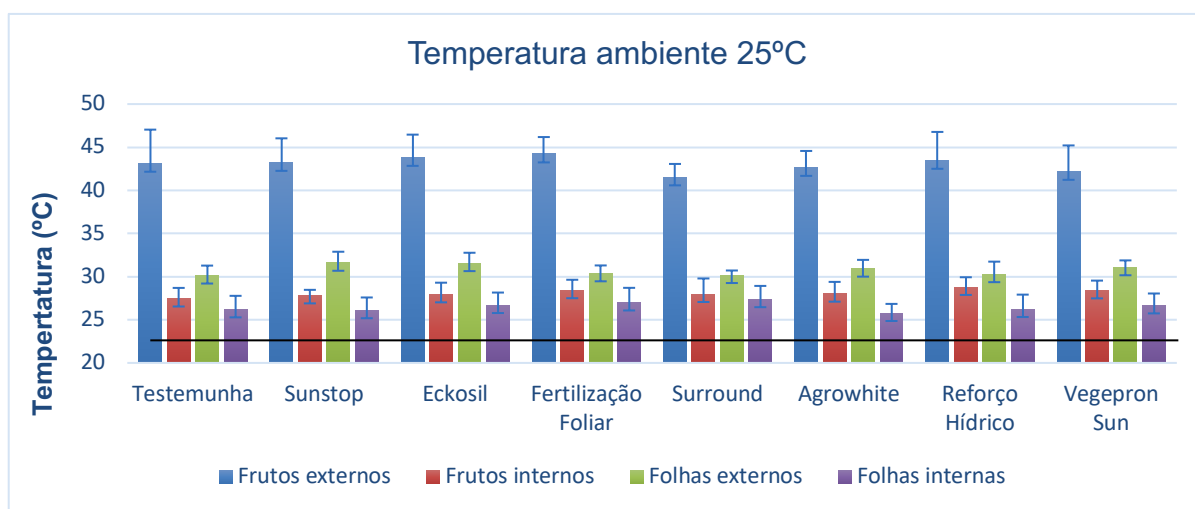


Média ± DP (N=5)

Figura 31 – Temperaturas máximas registadas em frutos e folhas, externos e internos, à temperatura ambiente de 23 °C.

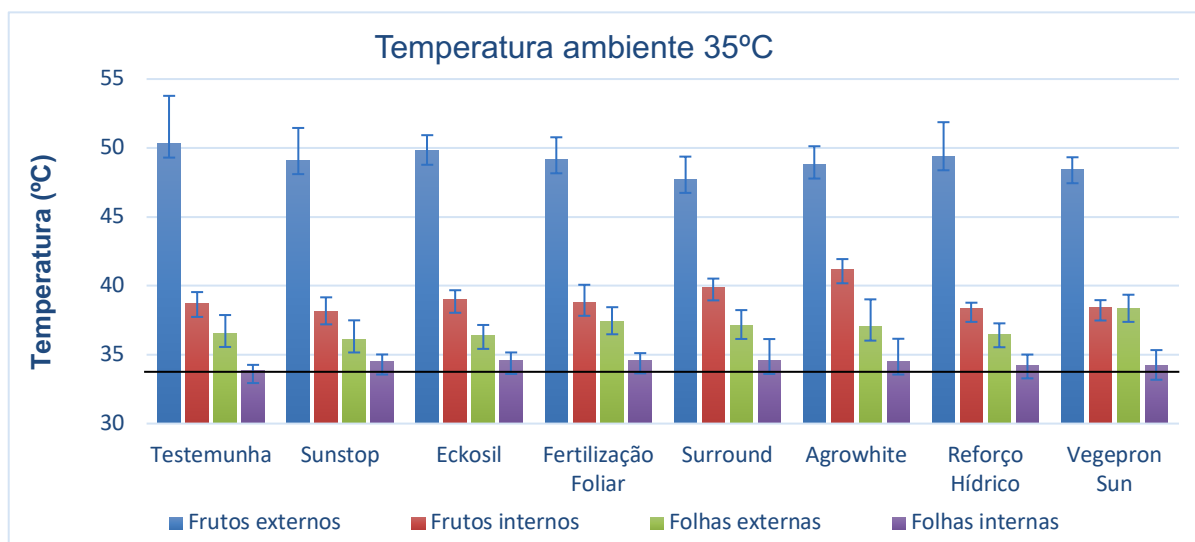
Quanto aos frutos localizados no interior da copa, não se observam diferenças acentuadas entre modalidades nas medições realizadas com temperatura ambiente de 23 e 25 °C. Porém, podemos verificar que para a temperatura ambiente de 35 °C, M5 e M6 registaram temperaturas mais elevadas dos frutos internos (39,94 e 31,18 °C).

Relativamente às folhas verifica-se que, no geral, à medida que a temperatura ambiente aumenta, diminui as diferenças entre as temperaturas das folhas externas e internas. As folhas externas apresentam temperaturas superiores a 30 °C apenas para as temperaturas ambiente de 25 e 35 °C. Quanto às folhas internas, a sua temperatura só ultrapassa os 30 °C para a temperatura ambiente de 35 °C.



Média ± DP (N=5)

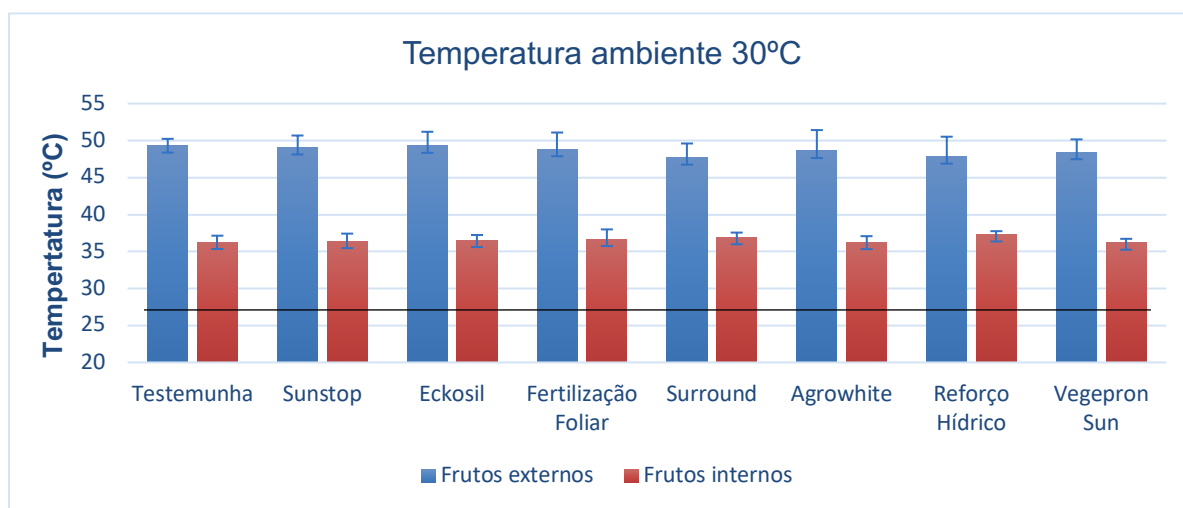
Figura 32 - Temperaturas registadas em frutos e folhas, externos e internos, à temperatura ambiente de 25 °C.



Média ± DP (N=5)

Figura 33 - Temperaturas registadas em frutos e folhas, externos e internos, à temperatura ambiente de 35 °C.

Tal como foi referido anteriormente no ponto 2.4.3.4., em jeito complementar realizou-se uma medição para a temperatura ambiente intermédia de 30 °C, apenas para os frutos exteriores e interiores. Da observação da Figura 34 verifica-se que, mais uma vez, a modalidade M5 lidera com temperatura de frutos exteriores mais baixa (47,74 °C), juntamente com as modalidades M7 e M8 (47,88 °C e 48,48 °C, respetivamente).



Média ± DP (N=5)

Figura 34 - Temperaturas registadas em frutos externos e internos, à temperatura ambiente de 30 °C.

3.3.6. Área foliar específica

Tal como foi referido anteriormente, a área foliar específica (SLA) está diretamente relacionada com a taxa fotossintética máxima (Reich et al., 1994), em que valores mais baixos de SLA correspondem a folhas mais espessas e, portanto, com maior disponibilidade de assimilados.

Através do Anexo IX, podemos observar este parâmetro foi muito variável ao longo do ciclo, nas diferentes modalidades. De forma a facilitar a interpretação dos dados, calculou-se a média das três medições realizadas na 1ª metade do ciclo vegetativo (maio a junho) e na 2ª metade do ciclo (julho a agosto).

Recorrendo à Figura 35 verifica-se que, no geral, todas as modalidades apresentaram uma diminuição de SLA ao longo do ciclo, com exceção de M5 e M7.

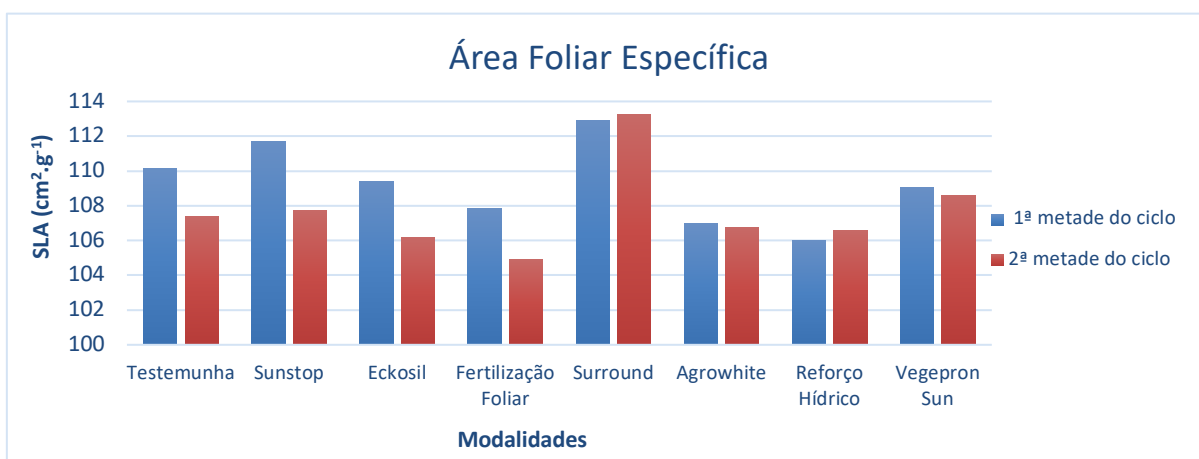


Figura 35 - Evolução da área foliar específica (SLA) das diferentes modalidades ao longo do ciclo cultural.

O valor mais baixo pertence a M4, e corresponde à segunda metade do ciclo. É ainda de salientar que, para ambas as metades do ciclo cultural, M5 foi a modalidade que apresentou valores de SLA superiores, ou seja, folhas menos espessas, possível consequência da baixa taxa fotossintética provocada pelo tratamento em questão.

Contudo, apenas foram observadas diferenças significativas entre modalidades a 19 de julho. Nesta altura do ciclo vegetativo, a modalidade M4 apresentou valor de SLA ($101,8 \text{ cm}^2.\text{g}^{-1}$) significativamente inferior a M5 ($126,4 \text{ cm}^2.\text{g}^{-1}$), o maior valor registado.

3.3.7. Pigmentos fotossintéticos

Os valores médios, respetivo desvio-padrão e diferenças significativas dos pigmentos fotossintéticos medidos a 5 de julho e 17 de agosto, constam nos Anexos X e XI, respetivamente.

3.3.7.1. Clorofila *a* e *b*

Como foi dito anteriormente, a atividade fotossintética está diretamente relacionada com o teor de clorofila nas plantas. Podemos observar que, entre 5 de julho e 17 de agosto, os teores de clorofila *a* e *b* sofreram uma diminuição (Figura 36). Contudo, verifica-se que os teores de clorofila *b* foram sempre inferiores aos de clorofila *a*.

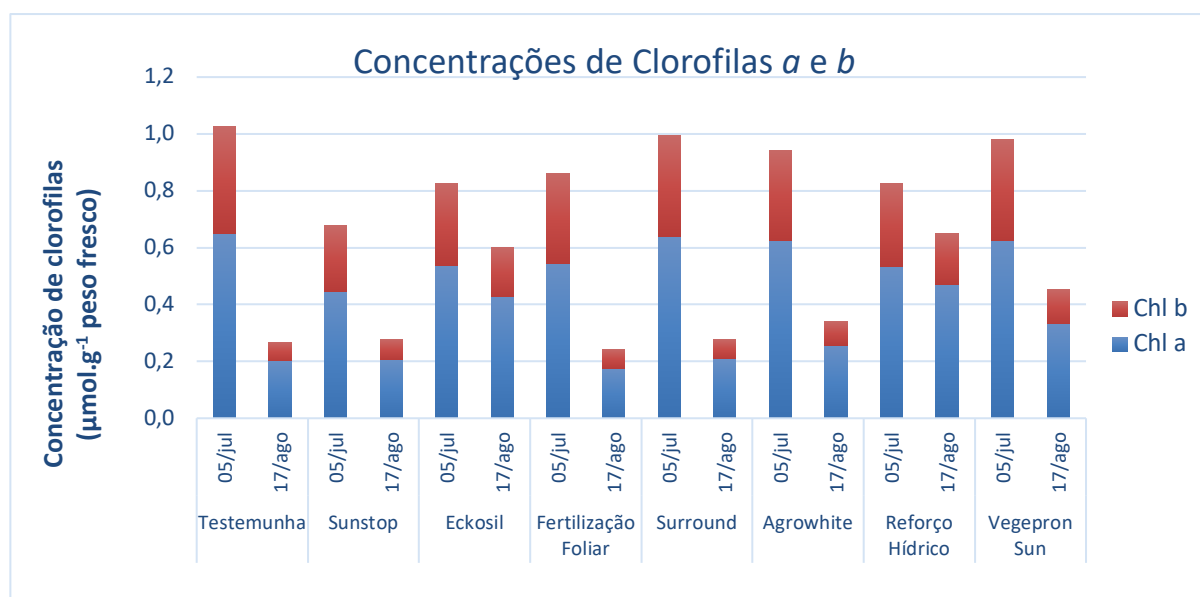


Figura 36 - Concentrações de clorofila *a* e *b* nas diferentes modalidades a 5 julho e 17 agosto.

Os valores médios do teor de clorofilas medidos para a mesma data demonstram diferenças significativas. A 5 de julho, a modalidade que apresentou valores de clorofilas *a* e *b* superiores às restantes foi M1, contrariamente a M2 que apresentou os valores mais baixos. Já a 17 de agosto, M7 mostrou ser detentora de concentrações mais elevadas para ambas as clorofilas.

3.3.7.1.1. Razão Clorofila *a*/Clorofila *b*

Relativamente à razão clorofila *a*/clorofila *b*, esta demonstra um crescimento entre as duas datas (Figura 37). Porém, apenas foram encontradas diferenças significativas para 17 de agosto, em que as modalidades M1, M2, M5 e M6 foram as que apresentaram valores superiores relativamente a M3 e M4.

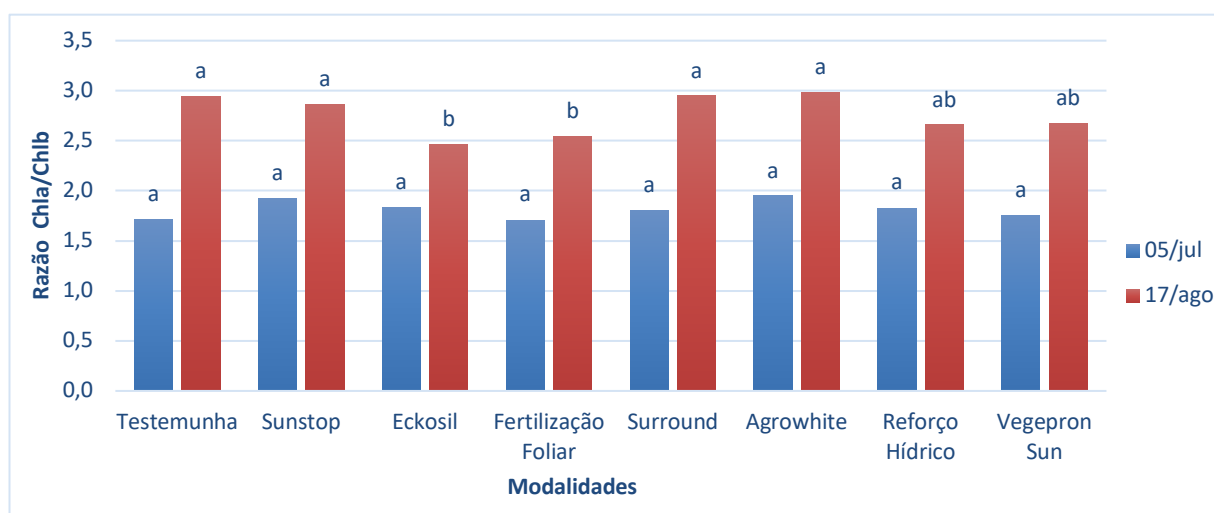


Figura 37 - Razão Clorofila *a*/ Clorofila *b* nas diferentes modalidades a 5 julho e 17 agosto. Letras diferentes entre modalidades para a mesma data indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$.

3.3.7.2. Carotenoides e Antocianinas

No que diz respeito às concentrações de carotenoides e antocianinas, foram encontradas diferenças significativas entre modalidade, para cada data de medição.

De modo geral, apenas as modalidades M2, M3, M7 e M8 sofreram um aumento das concentrações de carotenoides entre 5 de julho e 17 de agosto. Por sua vez, e relativamente às antocianinas, M1, M6 e M8 foram as únicas a registar um aumento da sua concentração, durante o mesmo período (Figura 38).

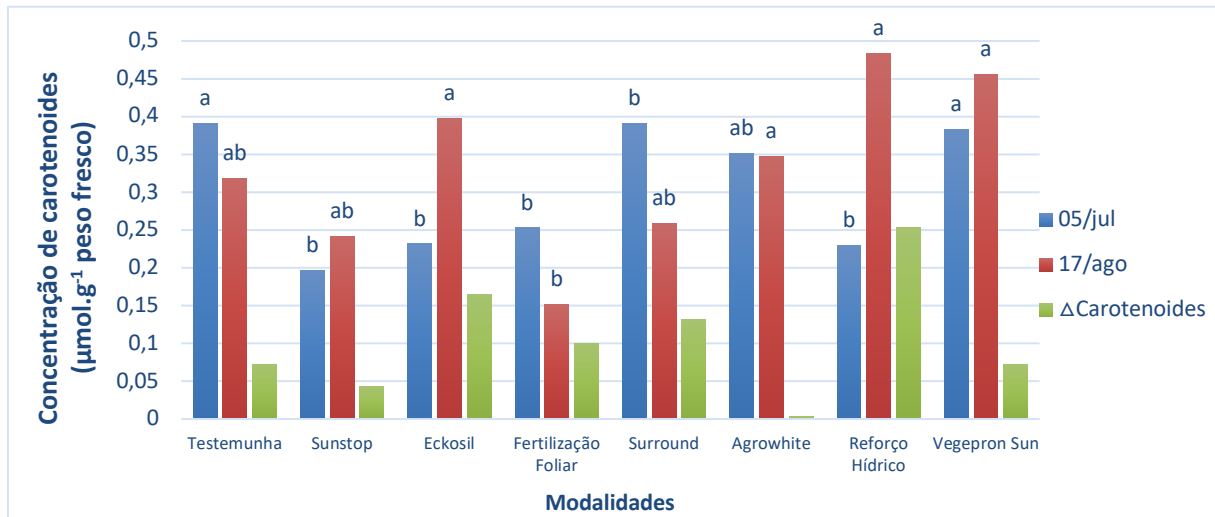


Figura 38 - Concentração de carotenoides nas diferentes modalidades a 5 julho e 17 agosto, e a sua variação. Letras diferentes entre modalidades para a mesma data indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$.

A 17 de agosto, M3, M6, M7 e M8 foram as modalidades que apresentaram concentrações de antocianinas significativamente mais elevadas em relação a M2 e M4. Por outro lado, M3, M6, M7 e M8 apresentaram também concentrações de carotenoides significativamente superiores a M4 (Figura 39).

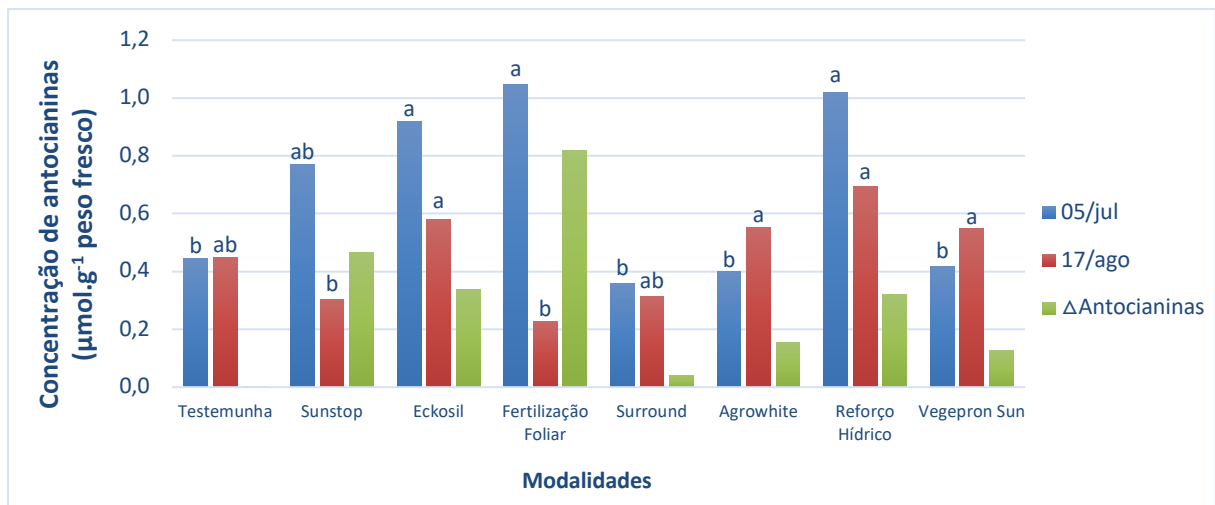


Figura 39 - Concentração de antocianinas nas diferentes modalidades a 5 julho e 17 agosto. Letras diferentes entre modalidades para a mesma data indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$.

3.3.7.2.1. Razão Clorofila total/carotenoides

No que diz respeito à razão clorofila total/carotenoides, é possível observar uma diminuição entre as duas datas de medições (Figura 40). Foram também apresentadas diferenças significativas entre modalidades, para ambas as datas. As

modalidades M2, M3, M4 e M7 apresentaram valores significativamente superiores em relação a M1, M5, M6 e M8. Por outro lado, 17 de agosto as modalidades M3, M4 e M7 mostraram valores significativamente superiores a M1, M6 e M8.

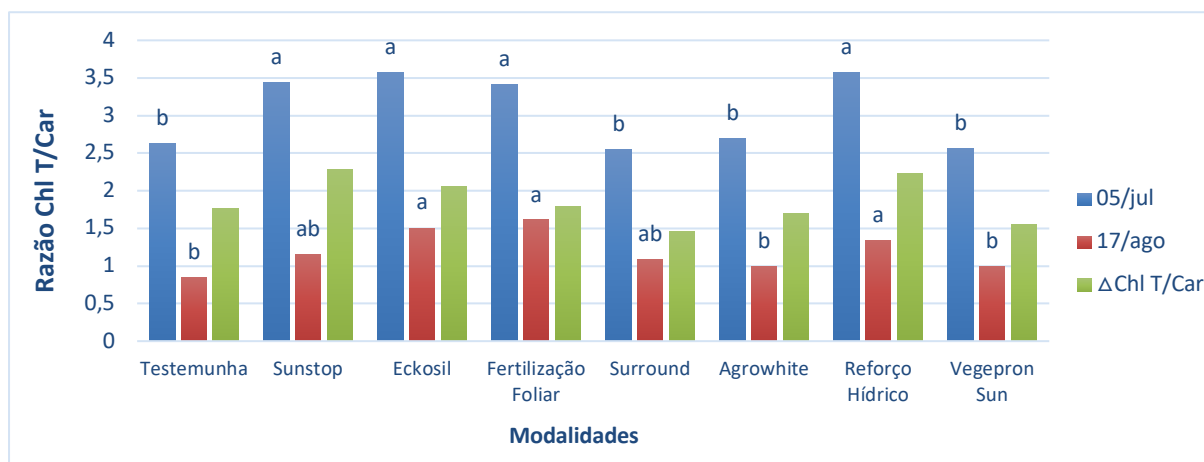


Figura 40 - Razão Clorofila total/ Carotenoides nas diferentes modalidades a 5 julho e 17 agosto. Letras diferentes entre modalidades para a mesma data indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$.

3.3.8. Antioxidantes não enzimáticos de baixo peso molecular

3.3.8.1. Nas Folhas

Os valores médios, respetivo desvio-padrão e diferenças significativas das concentrações de ascorbato total, AsA e DAsA, e glutathiona total, GSH e GSSG nas folhas, constam nos Anexos XII e XIII respetivamente.

3.3.8.1.1. Ascorbato

Apesar de não terem sido identificadas diferenças significativas dos teores de ascorbatos oxidado e reduzido, podemos retirar algumas conclusões através da análise da Figura 41. Posto isto, verifica-se que a modalidade M7 não só apresentou valores mais elevados de AsA, como de DAsA. Pelo contrário, M5 foi a modalidade cujo valor de DAsA foi inferior. Contudo, a concentração de AsA mais baixa foi apresentada por M2.

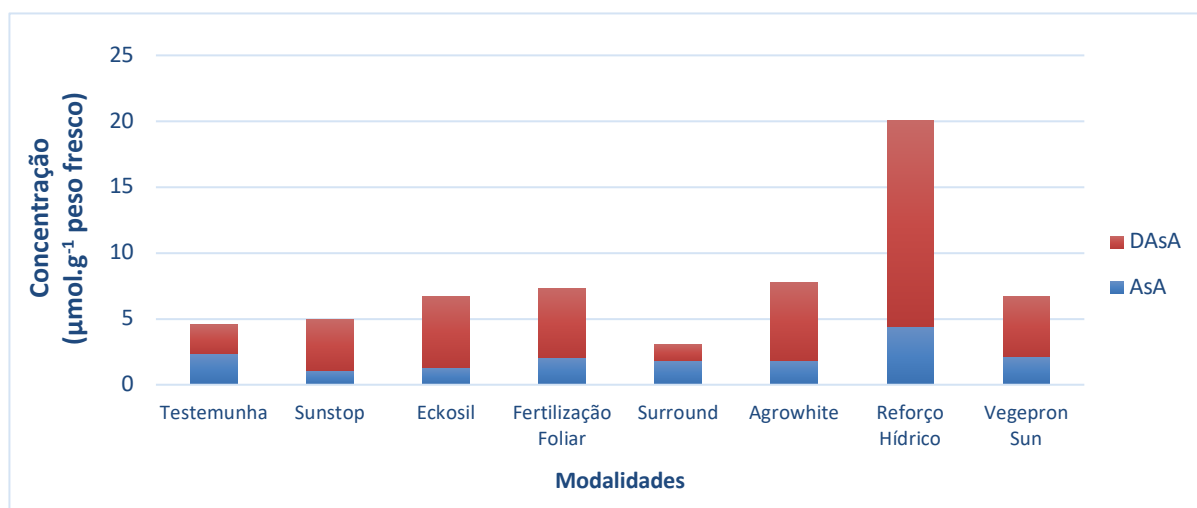


Figura 41 - Concentrações de AsA (ácido ascórbico) e DAsA (desidroascórbico) nas folhas de diferentes modalidades à colheita. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$.

3.3.8.1.2. Glutaciona

Através da Figura 42 podemos observar que, de forma generalizada, as concentrações de GSH sofreram uma diminuição entre julho e agosto. O oposto foi observado para as concentrações de GSSG, que mostraram um aumento entre as duas datas, à exceção de M4. O valor mais elevado de concentração de GSH nas folhas a 5 de julho foi apresentado por M7 (441,78 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ peso fresco). Por outro lado, foi M1 que apresentou maior concentração de GSSG (130,93 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ peso fresco).

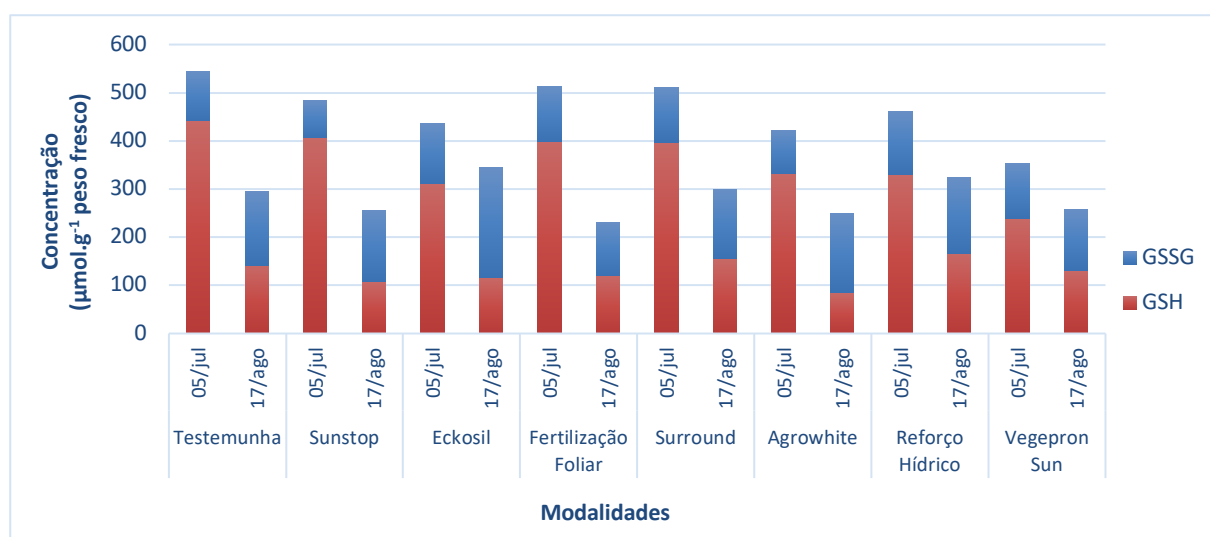


Figura 42 - Concentrações de GSSG (glutaciona oxidada) e GSH (glutaciona reduzida) nas folhas de diferentes modalidades a 5 de julho e 17 de agosto. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$.

Relativamente à medição de agosto, os valores mais elevados das concentrações de GSSG e GSH foi registado por M7 (384, 83 e 406,44 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ peso fresco, respetivamente).

Contudo, em relação às concentrações de GSH e GSSG a 5 de julho, não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades. Porém, a 17 de agosto, M3 e M7 apresentaram valores de GSSG significativamente superiores a M1, M2 e M5. No que diz respeito às concentrações de GSH as modalidades M7 e M8 registaram valores significativamente superiores a M2 e M6.

3.3.8.1.3. Percentagem de redução

Tanto a percentagem de redução de ascorbato, como de glutaciona, permitem-nos analisar a quantidade presente na sua forma reduzida (AsA e GSH, respetivamente), em relação ao seu total existente nas plantas. Estes valores tornam-se, portanto, num indicador do potencial redox nas plantas, permitindo-nos aferir acerca da eficiência na remoção de ROS (Mittler, 2002). Quanto maior a percentagem de redução, mais eficiente se torna o mecanismo de remoção de ROS.

Através da Figura 43, podemos verificar que não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para a percentagem de redução de glutacionas e ascorbatos nas folhas à colheita.

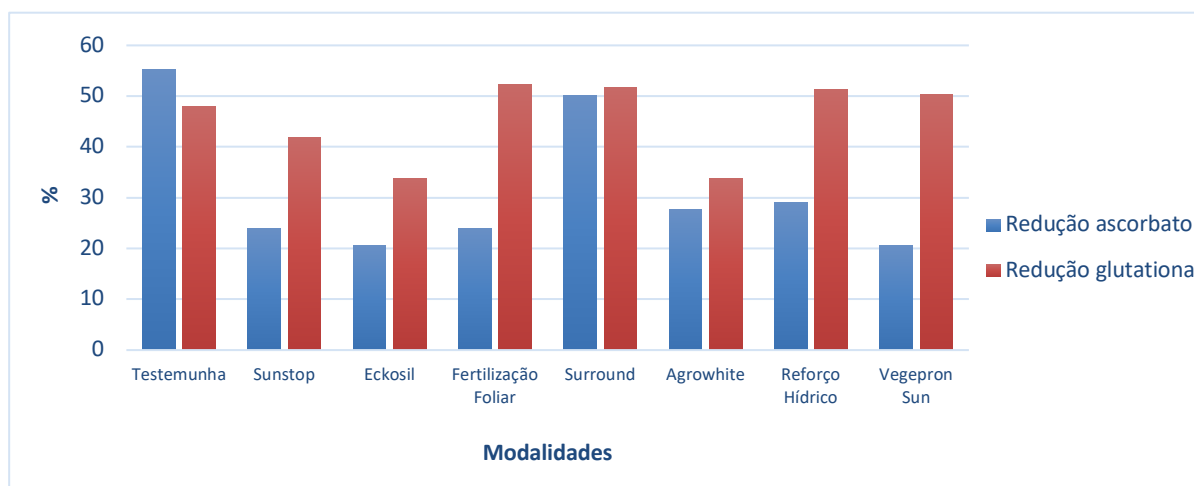


Figura 43 - Percentagem de redução dos ascorbatos e glutacionas nas folhas das diferentes modalidades à colheita. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$.

3.3.8.2. Na epiderme dos frutos

Os valores médios, respetivo desvio-padrão e diferenças significativas das concentrações de ascorbato total, AsA e DAsA, e glutaciona total, GSH e GSSG na epiderme dos frutos, constam nos Anexos XIV e XV respetivamente.

3.3.8.2.1. Ascorbato

Relativamente às concentrações de AsA e DAsA na epiderme dos frutos, e apesar de não terem sido encontradas diferenças significativas entre modalidades, algumas conclusões podem ser retiradas (Figura 44).

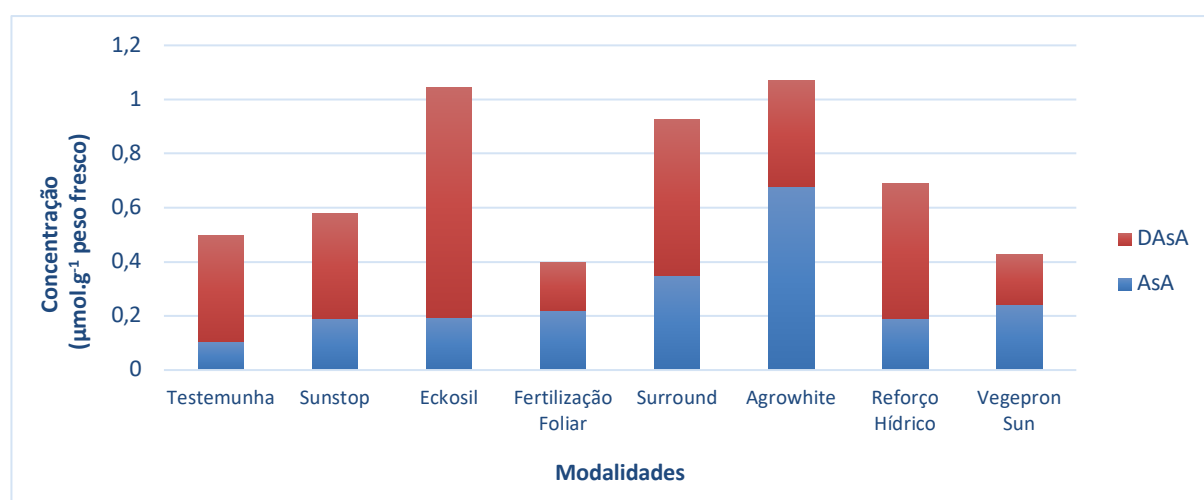


Figura 44 - Concentrações de AsA (ácido ascórbico) e DAsA (desidroascórbico) na epiderme de frutos nas diferentes modalidades à colheita. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$.

No que diz respeito aos teores de AsA, a modalidade M6 foi a que apresentou valor médio superior, em oposição a M1, cujos valor foi o mais baixo. Em relação às concentrações de DAsA, M3 foi a modalidade que registou um valor superior, enquanto o valor mais reduzido foi apresentado por M4.

3.3.8.2.2. Glutaciona

Relativamente às concentrações de glutaciona oxidada (GSSG) e reduzida (GSH) na epiderme dos frutos, foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para ambas as datas. A 5 de julho, as modalidades M8, M2 e M3 mostraram valores de GSSG significativamente superiores à modalidade testemunha. Por sua vez, e para a mesma data, apenas M3 apresentou concentrações de GSH significativamente superiores à modalidade controlo (Figura 45).

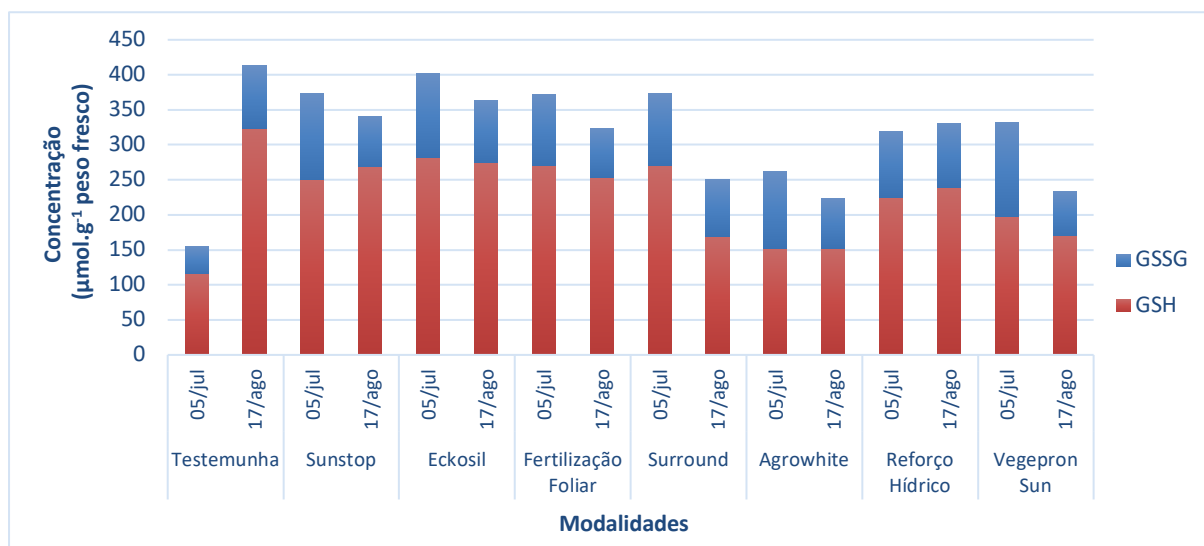


Figura 45 - Concentrações de GSSG (glutaciona oxidada) e GSH (glutaciona reduzida) na epiderme de frutos nas diferentes modalidades a 5 de julho e a 17 de agosto.

No que diz respeito às medições realizadas em agosto, as modalidades M1 e M3 apresentaram valores de GSH significativamente maiores que M5, M6 e M8. Por outro lado, apenas a modalidade M7 apresentou concentrações de GSSG significativamente superiores às de M8.

É ainda de referir que, no geral, as concentrações de GSSG tenderam a diminuir ao longo das duas datas de medição, excetuando apenas a modalidade M1. Em oposição, as concentrações de GSH sofreram, de forma generalizada, um aumento para o mesmo período, com exceção das modalidades M3, M4, M5 e M8.

3.3.8.2.1. Percentagem de redução

Apenas foram encontradas diferenças significativas entre modalidades na percentagem de redução de glutaciona na epiderme dos frutos (Figura 46).

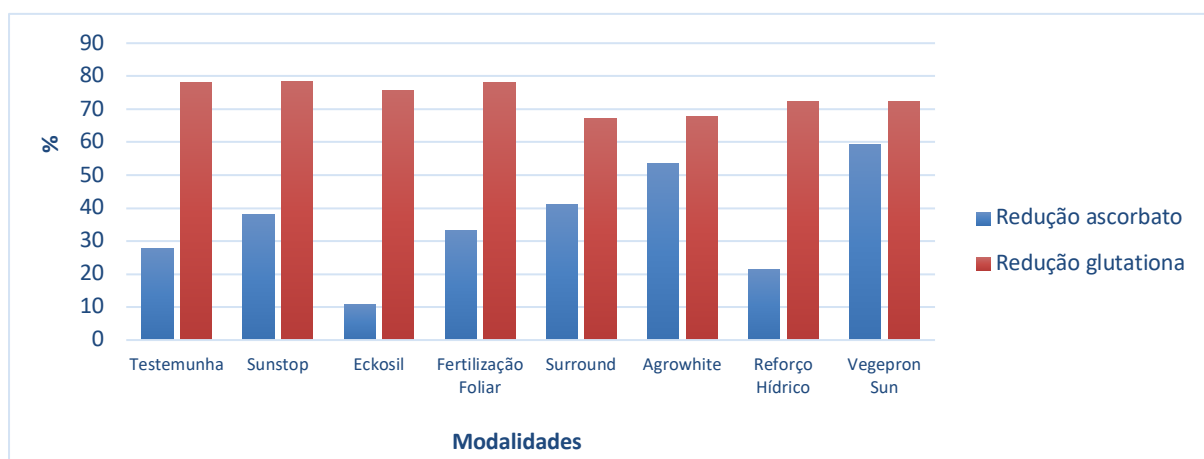


Figura 46 - Percentagem de redução de ascorbato e glutaciona na epiderme dos frutos das diferentes modalidades à colheita.

A modalidade que apresentou maior percentagem de redução de glutaciona à colheita foi M2, ao contrário de M5 e M6 que apresentaram os valores mais baixos. Por sua vez, M6 e M8 apresentaram a maior percentagem de redução de ascorbato, em oposição a M3, ao qual pertenceu o menor valor.

3.3.8.3. Na polpa dos frutos

Os valores médios, respetivo desvio-padrão e diferenças significativas das concentrações de ascorbato total, AsA e DAsA, e glutaciona total, GSH e GSSG na polpa dos frutos, constam nos Anexos XVI e XVII, respetivamente.

3.3.8.3.1. Ascorbato

As concentrações de AsA e DAsA presentes na polpa dos frutos apresentaram algumas diferenças entre modalidades, contudo estas não foram significativas. Porém, podemos retirar algumas conclusões através da interpretação da Figura 47. Observou-se que M6 foi a modalidade que apresentou maior concentração de DAsA, porém também registou o valor mais baixo de AsA. Relativamente à concentração deste último, M4 foi a modalidade com maior valor, mas com menor valor de DAsA.

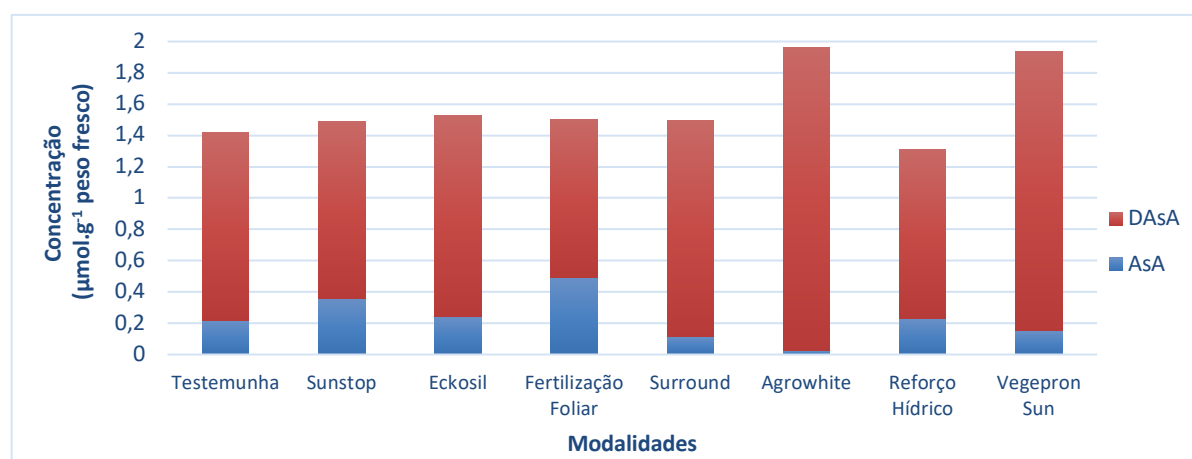


Figura 47 - Concentrações de AsA (ácido ascórbico) e DAsA (desidroascórbico) na polpa de frutos nas diferentes modalidades à colheita. Não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para $p < 0,05$.

3.3.8.3.2. Glutaciona

Para as concentrações de glutacionas, apenas foram encontradas diferenças significativas em GSH a 17 de agosto e GSH e GSSG a 5 de julho na polpa dos frutos nas diferentes modalidades. Relativamente a GSSG a 5 de julho, M3 apresentou uma

concentração significativamente superior a M2. No que diz respeito às concentrações de GSH em julho, as modalidades que apresentaram valores mais elevados e significativamente superiores a M3 foram M8 e M4. Por outro lado, em agosto M6 foi a única modalidade a apresentar valor superior e significativamente diferente a M8 (Figura 48).

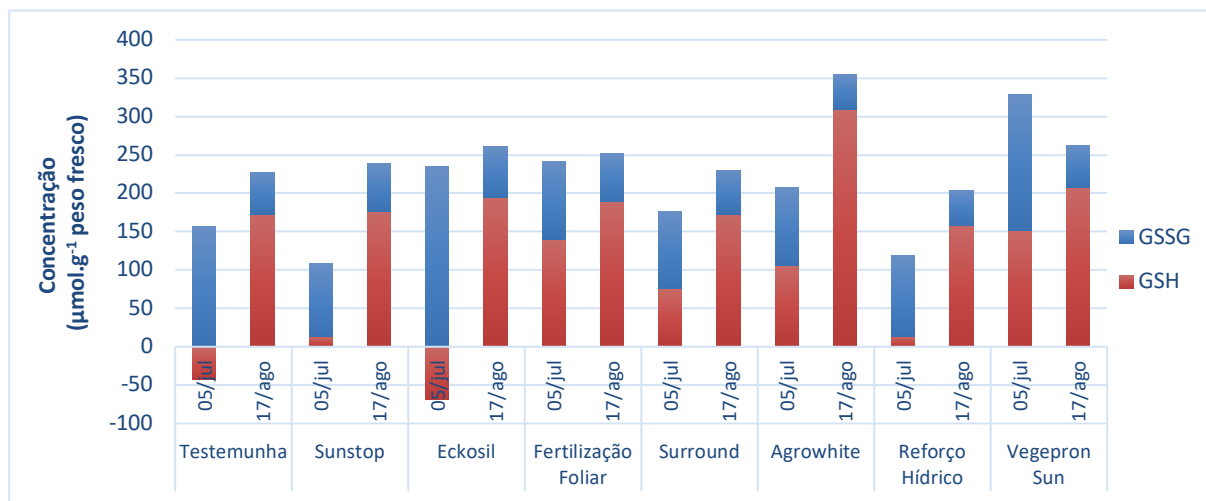


Figura 48 - Concentrações de GSSG (glutaciona oxidada) e GSH (glutaciona reduzida) na polpa de frutos nas diferentes modalidades a 5 de julho e 17 de agosto.

3.3.8.3.1. Percentagem de redução

As percentagens de redução de ascorbato e glutaciona mostraram algumas diferenças entre modalidades, apesar destas não serem significativas. Podemos observar através da Figura 49 que M6 foi a modalidade com maior percentagem de redução de glutaciona.

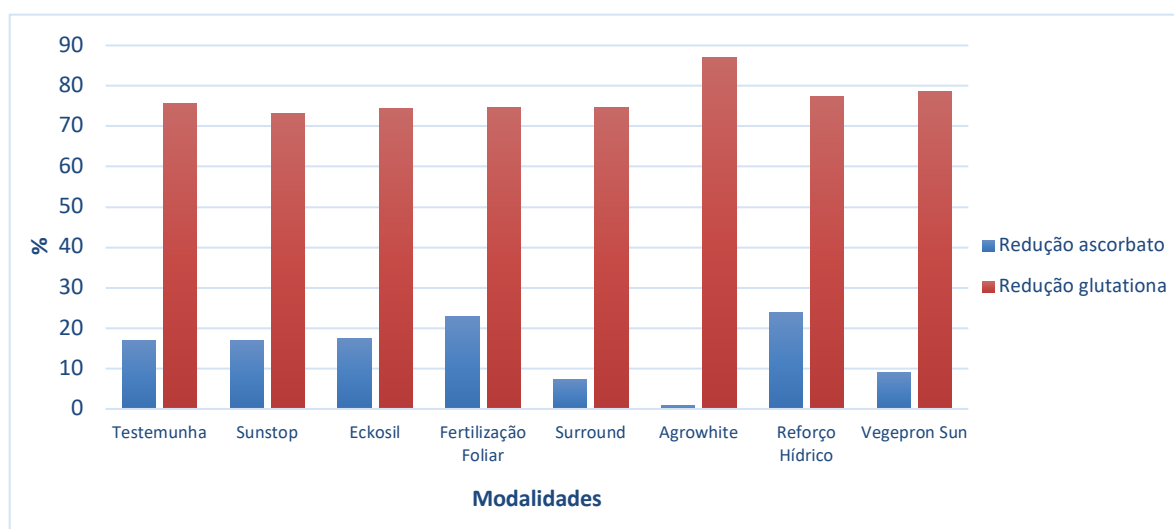


Figura 49 - Percentagem de redução de ascorbato e glutaciona na polpa dos frutos das diferentes modalidades à colheita.

Contudo, foi a que apresentou menor percentagem de redução de ascorbato. As modalidades M7 e M4, por sua vez, apresentaram os valores mais elevados para este último.

3.4. Expressão de sHSPs

Apenas foram encontradas diferenças significativas entre níveis de escaldão para os genes *HSP26A* e *HSP22*. O gene *HSP26A* apresentou um aumento de expressão para o nível de escaldão 3 (grave), enquanto *HSP22* apresentou aumento de expressão para o nível de escaldão 4 (muito grave) (Figura 50).

Contudo, e para ambos os genes, apenas foram encontradas diferenças significativas entre os níveis de escaldão 2 e 3.

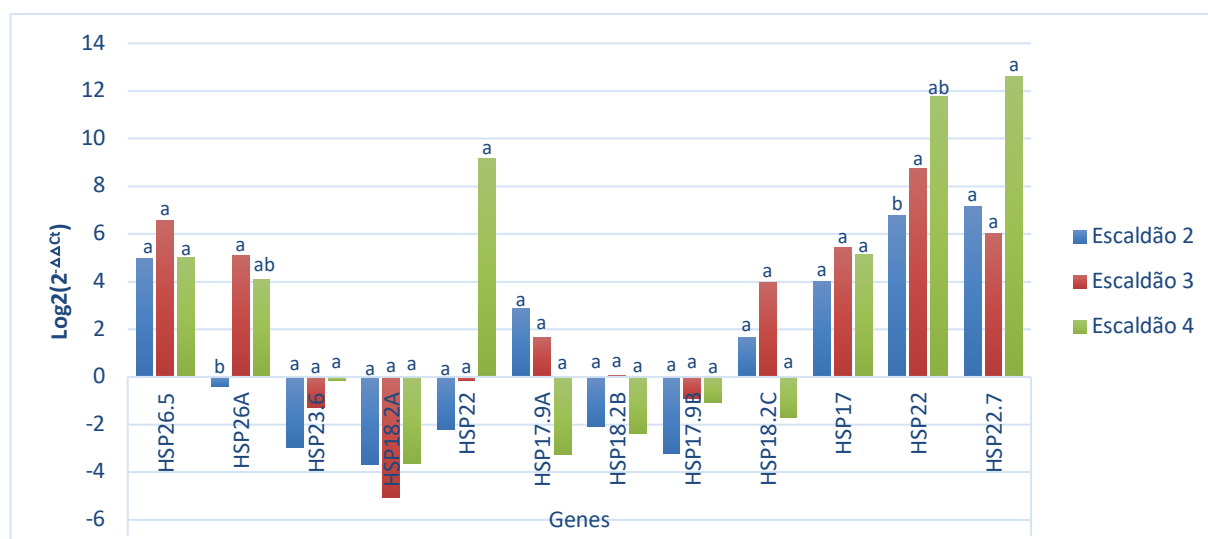


Figura 50 - Quantidade relativa de transcrição de genes que codificam sHSPs, nos diferentes níveis de escaldão. Letras minúsculas diferentes para o mesmo gene traduzem médias significativamente diferentes entre níveis de escaldão, pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=3$.

3.5. Análise Económica

Procedeu-se à estimativa do rendimento obtido pelo agricultor, tendo em conta as distribuições de calibre obtidas em cada modalidade. Para isso, utilizou-se como base os preços pagos ao agricultor por uma central fruteira da zona oeste. Uma vez que as classes de calibre desta central diferiram apenas ligeiramente do presente ensaio, procedeu-se a uma estimativa dos preços. Supôs-se que todos os frutos à

colheita se encontravam na Categoria I de qualidade. Os preços por calibre para esta categoria encontram-se no Quadro 8:

Quadro 8 - Classes de calibre e respetivos preços por kg adaptados de uma central fruteira.

Classes de calibre	Preço/kg (€)
<55	0,000
55 - 60	0,100
60 - 65	0,330
65 - 70	0,575
70 - 75	0,700
>75	0,700

Da interpretação do Quadro 9 podemos verificar que as modalidades M4 e M7 proporcionam maior retorno económico para os produtores de maçã (21 815 €/ha e 21 045 €/ha, respetivamente), tendo em conta que foram as duas modalidades que apresentaram maior percentagem de calibres acima dos 65 mm.

Quadro 9 - Estimativa do valor pago pela central ao produtor, expresso em € por hectare, para as diferentes modalidades.

Modalidade	€/ha
Testemunha	18035
Sunstop	16266
Eckosil	13270
Fertilização Foliar	21815
Surround	14784
Agrowhite	20436
Reforço Hídrico	21045
Vegepron Sun	17018

Em oposição, as modalidades que registaram rendimentos mais baixos foram M3 e M5, com apenas 13 270 e 14 784 €/ha, respetivamente.

4. Discussão

O objetivo primordial deste trabalho foi avaliar a eficácia de diferentes estratégias na redução do escaldão solar em maçãs 'Gala', bem como o seu impacto nos processos fisiológicos da planta, na sua produtividade e qualidade à colheita.

4.1. Aspetos agronómicos

Um dos vários parâmetros agronómicos avaliados foi o crescimento dos frutos ao longo do ciclo. Da sua análise verificou-se que M1 foi a modalidade com menor taxa de crescimento total, mostrando que qualquer uma das estratégias implementadas contribuiu de forma positiva para o crescimento dos frutos. Nas últimas 3 semanas de medição, observou-se um crescimento positivo dos frutos das modalidades M2 e M4, sendo possível que as suas estratégias de tratamento tenham permitido um aumento do diâmetro dos frutos. Contudo, as diferenças entre modalidades não foram significativas.

A modalidade M7 que apresentou AST superior foi também a que produziu mais, dando a entender que as suas árvores, por terem o caule mais grosso, tiveram maior potencial para ter maior crescimento vegetativo e, conseqüentemente, produzir mais. No entanto, não foram encontradas diferenças significativas entre áreas de secção do tronco, uma indicação de que as árvores se encontram equilibradas e homogéneas. Contudo, quando normalizadas as produções, a modalidade M4 evidenciou-se claramente, produzindo mais por cm² de área de secção de tronco. As modalidades M7 e M6 foram as mais produtivas, porém, apenas M7 e M4 produziram frutos de maior calibre. As modalidades M5, M6 e M8, correspondentes a 3 dos 4 protetores solares, foram as únicas que apresentaram frutos com pesos médios inferiores aos da testemunha. O mesmo foi observado em estudos realizados por diversos autores, em que a aplicação de Surround provocou uma redução do tamanho dos frutos, possivelmente devido a um aumento na quantidade de luz refletida, resultando num maior sombreamento das folhas e frutos (Glenn et al., 1999; Schupp et al., 2002). Porém, M7 distinguiu-se, permitindo concluir que esta modalidade não só origina maiores produções, como também gera frutos com maior peso e, portanto, com maiores calibres.

Passando para a análise qualitativa à produção, e relativamente ao grau °Brix, todos as modalidades apresentaram valores dentro do aceitável ($\geq 12\%$), de acordo

com as Normas Técnicas para a Produção Integrada de Pomóideas (Cavaco, 2012). Porém, a modalidade que originou frutos com maior °Brix foi M4, com valores significativamente superiores às modalidades M5 e M7. Todavia, é de destacar o baixo valor de °Brix em M7, o que pode ser consequência de algum efeito de diluição de açúcares (sólidos solúveis), possivelmente, devido ao maior conforto hídrico da planta. Das quatro modalidades tratadas com protetores solares, apenas M5 e M8 apresentaram valores de °Brix inferiores à modalidade testemunha. Este resultado pode estar diretamente relacionado com a sua estratégia destes tratamentos, uma vez que são os produtos que promovem maior cobertura dos frutos, podendo influenciar negativamente a acumulação de açúcares, tendo em conta que impedem a interceção de tanta luz no fruto e, por sua vez, a síntese de fotoassimilados. Porém, diversos autores não notaram diferenças no teor de sólidos solúveis nos frutos tratados com Surround WP (M5) (Gindaba & Wand, 2005; Glenn et al., 2001; Schupp et al., 2002).

Quanto à dureza, e segundo o documento das Normas Técnicas para a Produção Integrada de Pomóideas emitido pelo Ministério da Agricultura e a DGADR, todas as modalidades apresentaram valores de dureza ótima (7,0 e 8,0 kg/cm²) à colheita (Cavaco, 2012). Era expectável que o Surround (M5) originasse frutos mais firmes. Contudo, nas modalidades que apresentaram valores mais elevados para este parâmetro, poderia ter sido atrasada a colheita favorecendo a maturação dos frutos pela maior degradação de amido e o aumento do °Brix, minimizando as diferenças de °Brix entre modalidades.

Em relação aos parâmetros colorimétricos verificou-se que das modalidades tratadas com protetores solares, M5 e M8 originaram frutos menos vermelhos. Pelo contrário, M2 e M6 apresentam, juntamente com M4, valores de °Hue mais baixos e, conseqüentemente, frutos com maior presença de pigmentação vermelha na sua epiderme. Vários estudos verificaram falta de coloração vermelha em frutos tratados com protetores solares, mais especificamente com caulino (Surround WP) (Glenn et al., 1999; Schupp et al., 2002). Tendo em conta que a preferência dos consumidores são frutos mais vermelhos, este pode ser um fator limitante para a entrada destes no mercado. É importante salientar o facto de dois protetores solares, Sunstop (M2) e Agrowhite (M6) terem originado frutos não só mais vermelhos relativamente à testemunha, como em pé de igualdade em relação à modalidade Fertilização Foliar (M4). Este acontecimento pode estar relacionado com o facto destes dois produtos serem os que apresentam menor taxa de cobertura do fruto, e que originam frutos

com boa aceitabilidade no mercado, apesar da sua proteção contra o escaldão não ser tão eficaz.

Quanto aos valores de matéria seca, evidenciou-se que as modalidades que apresentaram teores mais elevados, foram também aquelas cujo °Brix à colheita foi superior, podendo existir alguma relação entre estes dois parâmetros. Contudo, a modalidade com maior percentagem de MS à colheita foi a fertilização foliar (M4), o que nos leva a aferir que frutos de plantas bem nutridas apresentam maior acumulação de compostos, tais como fibras e açúcares.

As modalidades tratadas com protetores solares, à exceção de M2, permitiram uma grande redução da percentagem de frutos com escaldão face às restantes modalidades, com maior eficácia promovida pelo Surround (M5), apesar de não existirem diferenças significativas entre modalidades. Contudo, é importante salientar que, de junho a agosto, período de maior calor, apenas existiram 4 dias com temperaturas superiores a 30 °C. De acordo com as Normais Climatológicas 1981-2010 (IPMA, n.d.), a média do número de dias com temperatura superior a 30 °C foi 9,8, ou seja, mais do dobro relativamente ao ano 2021. Tendo em conta os dados referidos anteriormente, é possível verificar que 2021 foi um ano atípico, cujas condições climáticas não foram favoráveis ao desenvolvimento do escaldão solar. Podemos ainda verificar que a percentagem de frutos com escaldão nas modalidades tratadas com protetores solares, apresentou uma relação inversamente proporcional ao grau de cobertura dos frutos. Isto é, quanto maior a cobertura dos frutos pelos produtos, menor incidência de escaldão solar. Por outro lado, as modalidades fertilização foliar (M4) e reforço hídrico (M7), apesar de apresentarem reduzidas diferenças na percentagem de frutos com escaldão relativamente à modalidade testemunha, a sua distribuição nos diferentes níveis de intensidade foi distinta. Ou seja, apesar de não diminuírem tanto a percentagem do escaldão solar nos frutos, permitiram reduzir a incidência nas classes de maior gravidade, uma vez que mais de metade dos frutos com escaldão solar na testemunha apresentaram níveis moderados, graves e muito graves.

4.2. Parâmetros fisiológicos

Passando para a análise do comportamento fisiológico das plantas nas diferentes modalidades, a taxa fotossintética apresentou diferenças significativas apenas no período da manhã. É de destacar que a modalidade M4 teve um acréscimo

da fotossíntese líquida mais cedo que as restantes modalidades, podendo ter sido um efeito positivo da estratégia nutricional adotada. No geral, as modalidades M5 e M8, correspondentes a dois dos quatro protetores solares, apresentaram valores inferiores de fotossíntese nas diferentes datas e em ambos os períodos. As restantes modalidades tratadas com protetores solares não apresentaram valores tão baixos possivelmente pelo facto de os produtos utilizados proporcionarem uma menor percentagem de cobertura. Os resultados obtidos vão de encontro ao estudo de outros autores que também em condições menos stressantes observaram uma diminuição da fotossíntese líquida nas macieiras tratadas com produtos à base de caulino (Glenn et al., 2001). A maioria defende que esta diminuição se deve ao efeito de sombreamento provocado pela aplicação do produto que, devido ao aumento da reflexão, reduz a luz disponível para a fotossíntese (Le Grange et al., 2004; Wünsche et al., 2004). Contrariamente, Glenn et al. (2003) observaram um aumento na fotossíntese da copa sob elevada temperatura do ar.

Relativamente aos parâmetros de fluorescência da clorofila notou-se um aumento generalizado da sua eficiência máxima do PSII em folhas adaptadas ao escuro (F_v/F_m) ao longo do período de medição. Contudo, a eficiência máxima do PSII em folhas adaptadas à luz (F'_v/F'_m) sofreu uma diminuição em quase todas as modalidades, com exceção de M5 e M8. De acordo com os valores de F_v/F_m retirados nas diferentes datas, podemos observar que existiu mais stresse no início da época de medição, que foi diminuindo com o passar do tempo. Porém, nenhuma modalidade demonstra ter sofrido grande stresse, uma vez que todas apresentam valores dentro dos limites do ótimo.

Quanto à fluorescência basal, verificou-se a mesma tendência de F_v/F_m confirmando-se a existência de maior stresse no início da época (valores de F_0 mais elevados) que, de forma generalizada, foi diminuído ao longo do tempo. Contudo, M7 parece ter menor indicação de stresse, uma vez que se manteve consistentemente com valores de F_0 mais baixos. Relativamente à fluorescência basal, M7 e M5 apresentaram valores mais baixos, com tendências diferentes que poderão estar relacionadas com o tipo de tratamento aplicado. Porém, a modalidade M5 teve um efeito mais positivo, uma vez que a sua fluorescência basal real foi diminuindo. Esta ocorrência pode ser explicada pelo facto de este tratamento impedir a entrada de tanta luz, permitindo, desta forma, reduzir o stresse oxidativo, uma vez que parte da luz é refletida antes que possa causar efeitos negativos. Na modalidade reforço hídrico (M7)

isto não se verifica, ou seja, a luz que incide é a luz que entra, aumentando assim o stresse, embora com pouca expressividade.

De acordo com Horton et al. (1996), sob condições de stresse ocorre um aumento do NPQ e, simultaneamente, uma redução de q_p . Contudo, apenas as modalidades M2, M3, M7 e M8 apresentam esta tendência. De salientar o maior aumento de NPQ evidenciado na modalidade M8, e o maior decréscimo de q_p observado em M7.

Passando para os parâmetros de reflectância, verificou-se que as modalidades M5, M6 e M8 apresentaram valores de NDVI mais baixos, podendo ser indicador de mais stresse uma vez que há menos clorofila presente. Contudo, e tendo em conta que as diferenças entre modalidades são reduzidas e sem significância, o stresse existente pode ser ínfimo. Relativamente ao PRI, as diferenças foram muito reduzidas, não havendo indicação de stresse severo. Efetivamente não era suposto este existir porque o objetivo dos tratamentos era proteger as plantas. Posto isto, observou-se que algumas das modalidades tratadas parecem ser ligeiramente mais eficientes do que a testemunha nas primeiras datas, acabando por se igualarem no final.

Quanto às temperaturas das folhas e frutos, verificou-se que todas as modalidades tratadas com protetores solar registaram temperaturas mais baixas nos frutos exteriores que as restantes modalidades. Porém, apenas as modalidades M5 e M8 mantiveram consistentemente os seus frutos abaixo dos 50 °C nos dias com temperaturas ambiente de 30 e 35 °C. Ora, tendo em conta que Schrader et al. (2001) concluíram que ocorre degradação térmica das células presentes na epiderme dos frutos quando estes atingem os 52 °C, gerando uma mancha necrótica, podemos aferir que M5 e M8 conferiram, de facto, maior proteção dos frutos contra temperaturas elevadas. O mesmo não se verificou para as restantes modalidades que, apesar de registarem na sua maioria valores médios de temperaturas abaixo dos 50 °C, apresentaram desvios-padrões mais elevados, podendo chegar a registar mais 3 °C, como foi o caso da modalidade testemunha. Por outro lado, Schrader et al. (2001) consideraram que o tipo de escaldão mais comum, nomeadamente o escaldão escurecido, ocorre quando a temperatura superficial do fruto atinge entre 46 a 49 °C. Verificou-se que, para os dias com temperatura ambiente igual ou superior a 30 °C, todas as modalidades apresentaram temperaturas dos frutos dentro deste intervalo, apesar de as modalidades tratadas com protetores solares registarem temperaturas mais baixas. É de salientar a diferença de cerca 2,5 °C entre a modalidade testemunha

e M5 na medição com temperatura ambiente a 35 °C, reforçando a eficácia do produto Surround WP na proteção da planta contra temperaturas elevadas.

Em relação às áreas foliares específicas, todas as modalidades apresentaram uma tendência semelhante ao longo do tempo. Avaliando a média dos valores obtidos na segunda metade do ciclo, concluiu-se que algumas modalidades tratadas com protetores solares, mais precisamente M5 e M8, apresentaram valores de SLA mais elevados, correspondendo a folhas menos espessas, possivelmente devido a uma menor atividade fotossintética ao longo do tempo. É ainda de referir que, estas duas modalidades correspondem aos tratamentos que promovem uma maior cobertura dos frutos, apresentando um comportamento quase típico de folhas de sombra, com maior área por unidade de peso.

Da avaliação dos teores de clorofilas nas folhas verificou-se que estes são consistentes com os valores de SLA, existindo uma diminuição generalizada na medição realizada em agosto. Na primeira data, os valores mais elevados de clorofila foram observados nas modalidades M1, M5, M6 e M8. Mais uma vez, é possível observar que as folhas dos tratamentos com protetores solares de maior cobertura têm um comportamento idêntico a folhas de sombra, uma vez que tendem a ter maior teor em clorofilas, de modo a ultrapassarem o problema de receberem menos luz. A modalidade M7, bem como M3, apresentam valores de clorofilas *a* e *b* mais estáveis no tempo, possivelmente devido às estratégias utilizadas em cada uma. Também os protetores solares M2 e M8 sofreram menor redução, apesar de superior a M7 e M3.

Na razão clorofila *a/b* observou-se um aumento generalizado, ou seja, a quantidade de clorofila *a* foi maior que a de *b* no segundo período. Este acontecimento poderá ser explicado pela menor quantidade de luz que estaria a chegar à folha em agosto, possivelmente devido a um maior índice de área foliar nesta altura do ciclo em relação ao mês de julho. Ou seja, as folhas poderão ter estado mais ensombradas, com menor quantidade de radiação acumulada a chegar até elas.

De acordo com Demmig-Adams (1998) e Demmig-Adams & Adams (1992), elevados níveis de radiação solar provocam um aumento do teor de carotenoides em folhas e frutos, associado a uma diminuição das concentrações de clorofila. Na verdade, as modalidades M2, M3, M7 e M8 aparentam ter sido sujeitas a maior stresse, uma vez que aumentaram o seu teor em carotenoides.

Davison et al. (2002) observaram que plantas mais tolerantes a temperatura e radiação elevadas apresentaram uma redução na produção de antocianinas. Posto

isto, e tendo em conta que todas as modalidades, excetuando M1, M6 e M8, sofreram uma diminuição no teor de antocianinas, podemos afirmar que a maioria dos tratamentos contribuiu para maior tolerância ao stresse térmico relativamente à modalidade testemunha.

Quanto à razão clorofila total/carotenoides, quanto mais baixa for, maior a degradação de clorofilas pelo stresse e, conseqüentemente, maior produção de carotenoides. Deste modo, quanto mais baixa for esta razão, maior indicação de que a planta esteve sujeita a stresse. As modalidades que sofreram menor redução da razão clorofila total/carotenoides foram M5, M6 e M8, muito provavelmente devido à redução do stresse provocada por estes tratamentos, que permitiram uma maior proteção da planta contra o stresse térmico.

Avaliando as concentrações de antioxidantes nas folhas, verificou-se que a modalidade M5 foi a que apresentou maior redução de ácido ascórbico, podendo significar que a planta não teve necessidade de responder ou reagir ao stresse térmico, possivelmente devido à proteção concedida pelo seu tratamento. Relativamente à glutathiona, o seu teor total foi diminuindo para o final do ciclo, o que seria expectável, tendo em conta que a glutathiona também serve de armazenamento de enxofre, e este pode estar a ser mobilizado para os frutos. Isto é, esta diminuição pode não estar relacionada com o stresse, mas sim com a fenologia e as relações *source-sink*. No geral, foram identificadas elevadas percentagens de redução de GSH, com exceção das modalidades M6 e M3 que apresentaram percentagens baixas no final do ciclo, podendo indicar algum stresse.

Na epiderme dos frutos, as quatro modalidades tratadas com protetores solares apresentaram maior percentagem de redução de ascorbato, indicando maior proteção da cultura fomentada pelos seus tratamentos. Contudo, M6 e M8 registaram os valores mais elevados. Pelo contrário, a modalidade M3 apresentou menor percentagem de redução, uma indicação de que pode estar mais exposta ao stresse. Já as percentagens de redução de glutathiona foram mais estáveis e semelhantes, dando de novo a ideia de que foi o ascorbato que respondeu mais ao stresse, enquanto a glutathiona teve maior peso no armazenamento de enxofre.

Na polpa, as modalidades que apresentaram maiores percentagens de redução de ascorbato foram M4 e M5. Porém, as modalidades tratadas com protetores solares podem ter afetado negativamente o teor de ácido ascórbico, uma vez que apresentaram percentagens de redução inferiores.

4.3. Expressão de HSP

Um elemento comum e muito típico presente no stresse térmico é a expressão de proteínas de choque térmico (*HSPs*) (Vierling, 1991), cujos níveis de expressão aumentam sob stresse. As *sHSPs* desempenham papéis estruturais na preservação da integridade das membranas celulares durante o stresse e são conhecidas por retornar aos níveis basais logo após o término do stresse aplicado (Barua et al., 2003).

A *HSP23.6* localiza-se em mitocôndrias e o gene que a codifica representou uma exceção ao padrão típico de regulação positiva de *sHSPs*. De facto, em *Triticum durum* e *Vitis vinifera* o nível de transcritos de HSP mitocondriais, ou seja, *HSP23.6*, estava diretamente relacionado com a capacidade de adquirir termotolerância (Rampino et al., 2009; Carvalho et al., 2015).

A família *HSP20* é conhecida por uma forte regulação positiva em resposta a vários stresses bióticos e abióticos (Swindell et al., 2007), pelo que os baixos níveis de regulação de *HSP17.9* em resposta a queimaduras solares foram surpreendentes.

A *HSP26.5*, localizada na mitocôndria (Desikan et al., 2001; Wang et al., 2004), é mais específica e pode fornecer algumas informações sobre a resposta específica à queimadura solar. Os seus níveis de regulação foram altos em todos os níveis de queimaduras solares.

O transcrito que codifica *HSP22*, uma *HSP* do tipo *HSP26*, teve uma resposta mais típica em todos os níveis de queimadura solar.

4.4. Análise Económica

Quanto à análise económica realizada às diferentes modalidades, verificou-se que a Fertilização Foliar e o Reforço Hídrico proporcionam maior retorno económico para os produtores de maçã (21 815 €/ha e 21 045 €/ha, respetivamente), uma vez que foram as duas modalidades que apresentaram maior percentagem de calibres acima dos 65 mm, os mais valorizados. Pelo contrário, os tratamentos com Eckosil e Surround originaram rendimentos inferiores com apenas 13 270 e 14 784 €/ha, respetivamente.

Ora, apesar de existir alguma discrepância entre produtividades, é de notar o facto da modalidade Fertilização Foliar deter o 3º valor mais elevado (36,6 t/ha) e, simultaneamente, o maior retorno económico. Este retorno económico deve-se a esta

modalidade proporcionar calibres mais valorizados economicamente demonstrando, novamente, o impacto positivo da sua estratégia de nutrição.

4.5. Quadro-resumo

Para uma melhor interpretação dos resultados, realizou-se uma avaliação global dos dados obtidos mais relevantes. Para isso, classificou-se cada parâmetro nas diferentes modalidades com valores percentuais relativamente ao valor mais elevado, sendo que quanto maior o valor, melhor o resultado. A classificação de cada modalidade encontra-se representada no Quadro 10.

Quadro 10 - Avaliação das diferentes modalidades relativamente à sua influência nos parâmetros fisiológicos e de qualidade analisados.

		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
PRODUÇÃO	<i>Peso Médio dos Frutos</i>	91	91	91	98	83	90	100	90
	<i>Produção Normalizada</i>	83	67	66	100	72	88	87	82
QUALIDADE	<i>Cor</i>	78	100	77	98	66	98	91	84
	<i>°Brix</i>	94	95	99	100	92	97	94	95
	<i>Dureza</i>	97	95	95	95	100	92	92	92
	<i>Amido</i>	100	88	84	89	70	84	97	80
	<i>Proteção escaldão</i>	97	97	95	97	100	98	96	98
	<i>% Matéria seca</i>	94	95	100	96	97	92	93	97
FISIOLOGIA	<i>Fotossíntese</i>	90	97	90	100	74	99	98	83
	<i>NDVI</i>	99	100	99	100	97	98	99	97
	<i>Baixa T°C dos frutos</i>	97	97	98	98	100	99	96	99
	Classificação total	93	93	90	97	86	94	95	91

De modo geral, a maioria das modalidades apresentou igual ou melhor desempenho relativamente à modalidade testemunha, com exceção de M3, M5 e M8. Genericamente, a modalidade M4 permitiu melhores resultados, tendo uma classificação mais elevada.

5. Conclusões e Perspetivas

A proteção das culturas contra os diferentes tipos de stress abiótico é imprescindível para alcançar produções com qualidade e, conseqüentemente, uma boa aceitabilidade do consumidor.

O clima é o principal fator determinante da produtividade agrícola, influenciando de forma direta a produção de alimentos a nível mundial. Posto isto, deverá ser dada maior consideração às alterações climáticas fruto do aquecimento global, uma realidade vivida nos dias de hoje. Aliás, de acordo com a Organização das Nações Unidas (ONU, n.d.), a última década foi a mais quente de sempre e estima-se que nos próximos anos, o nosso clima seja cada vez mais extremo. Contudo, e de acordo com as Normas Climatológicas 1981-2010 (IPMA, n.d.), constatou-se que 2021 foi um ano atípico, cujas condições climáticas não foram favoráveis ao desenvolvimento do escaudo solar. Porém, no nosso clima mediterrânico ainda se verificaram algumas tendências entre os tratamentos.

É também de extrema importância a aquisição prévia de conhecimento do clima da região onde se encontra instalada a cultura, bem como das características culturais, antes da adoção de qualquer uma das medidas preventivas.

A primeira conclusão a retirar do presente trabalho é que, indiscutivelmente, quanto maior a percentagem de cobertura instigada pelo protetor solar, maior a proteção dos frutos contra temperatura e radiação extremas. Contudo, alguns destes tratamentos podem, simultaneamente, produzir frutos com igual qualidade relativamente aos não tratados (testemunha).

De acordo com os resultados obtidos para as diferentes modalidades é possível concluir que:

- Relativamente à produção normalizada, obteve-se bons resultados para as modalidades Fertilização Foliar, Agrowhite e Reforço Hídrico (0,751; 0,661 e 0,655 kg/cm² de AST, respetivamente);
- As modalidades que proporcionaram frutos mais doces foram Fertilização Foliar, Eckosil e Agrowhite com 14,01%; 13,82% e 13,64% °Brix, respetivamente;
- Quanto à coloração dos frutos, as modalidades Sunstop, Fertilização Foliar e Agrowhite destacaram-se com maior pigmentação vermelha nos frutos.

- A modalidade Surround foi a que originou na generalidade dos casos frutos mais pequenos, menos doces (12,83% °Brix), menos vermelhos e com estado de maturação mais atrasado, podendo evidenciar a necessidade de adiar um pouco a colheita.
- As modalidades tratadas com Surround e Vegepron Sun mantiveram consistentemente os seus frutos com temperaturas inferiores à testemunha. Contudo, apresentaram valores de fotossíntese mais baixos que conduziram a valores de SLA mais elevados, correspondendo a folhas menos espessas, possivelmente devido a uma menor atividade fotossintética ao longo do tempo.

Da avaliação das quatro modalidades tratadas com protetores solares, é possível concluir que apenas Agrowhite apresentou resultados mais satisfatórios face à testemunha. Este resultado permite concluir que o tratamento com o produto Agrowhite®, não só permitiu minimizar a percentagem de frutos com escaldão solar à colheita, como também proporcionou frutos com tão ou melhor qualidade relativamente à testemunha, demonstrando ser uma boa alternativa para os produtores.

Em suma, é imperativo aprofundar o conhecimento dos mecanismos fisiológicos existentes nas culturas quando estas se encontram expostas a fatores ambientais, mais concretamente temperaturas elevadas, de modo que possam ser desenvolvidas e implementadas estratégias de mitigação mais eficazes.

Para trabalhos futuros, sugere-se a continuação do presente estudo em condições ambientais mais severas, nomeadamente temperaturas mais elevadas, de modo a conhecer a eficácia das diferentes estratégias na mitigação do escaldão solar. Seria também interessante apostar no melhoramento dos produtos para proteção solar existentes no mercado, permitindo colmatar o seu impacto negativo na qualidade da produção e nos processos fisiológicos da planta. Sugere-se, ainda, uma avaliação económica mais exaustiva, tendo em conta o custo dos produtos aplicados.

6. Referências bibliográficas

- Adatia, M. H., & Besford, R. T. (1986). The effects of silicon on cumcumber plants grown in recirculating nutrient solution. *Annals of Botany*, 58(3), 343–351.
- Anderson, M. D., Prasad, T. K., & Stewart, C. R. (1995). Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiology*, 109(4), 1247–1257. <https://doi.org/10.1104/pp.109.4.1247>
- Andrews, P. K., & Johnson, J. R. (1996). Physiology of sunburn development in apples. , 47(12), 33-36. *Good Fruit Grower*, 47(12), 33–36.
- Asada, K. (1999). The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Biology*, 50(1), 601–639. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.601>
- Asfertglobal. (n.d.). *Produtos*. Acedido a 28 de Outubro de 2021. Disponível em: <https://www.asfertglobal.com/produtos/kiplant-eckosil-pt/>
- Bakeer, S. M. (2016). Effect of ammonium nitrate fertilizer and calcium chloride foliar spray on fruit cracking and sunburn of Manfalouty pomegranate trees. *Scientia Horticulturae*, 209, 300–308. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.06.043>
- Barber, H. N., & Sharpe, P. J. H. (1971). Genetics and physiology of sunscald of fruits. *Agricultural Meteorology*, 8, 175-191. [https://doi.org/10.1016/0002-1571\(71\)90107-5](https://doi.org/10.1016/0002-1571(71)90107-5)
- Bartley, G. E., & Scolnik, P. A. (1995). Plant carotenoids: Pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. *Plant Cell*, 7(7), 1027–1038. <https://doi.org/10.2307/3870055>
- Barua, D., Downs, C. A., & Heckathorn, S. A. (2003). Variation in chloroplast small heat-shock protein function is a major determinant of variation in thermotolerance of photosynthetic electron transport among ecotypes of *Chenopodium album*. *Functional Plant Biology*, 30(10), 1071–1079. <https://doi.org/10.1071/FP03106>
- BASF. (n.d.). *As Soluções BASF fruticultura*. Acedido a 4 de Novembro de 2021. Disponível em: https://issuu.com/basfaportugal/docs/basf_fruticultura?fr=sNjYxYjEyNjY3NTY
- Bessey, C. E., & Woods, A. F. (1894). *The Botany of the Apple Tree*. Nebraska, EUA: Ulan press.
- Brooks, C., & Fisher, D. F. (1926). Some high-temperature effects in apples: contrasts in the two sides of an apple. *Journal of Agricultural Research*, 32(1), 1–11.
- Carvalho, L. C., & Amâncio, S. (2002). Antioxidant defence system in plantlets transferred from in vitro to ex vitro: Effects of increasing light intensity and CO₂ concentration. *Plant Science*, 162(1), 33–40. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00524-6](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00524-6)
- Carvalho, L. C., Coito, J. L., Colaço, S., Sangiogo, M., & Amâncio, S. (2015). Heat stress in

- grapevine: The pros and cons of acclimation. *Plant Cell and Environment*, 38(4), 777–789. <https://doi.org/10.1111/pce.12445>
- Cavaco, M. (2012). Normas Técnicas para a Produção Integrada de Pomóideas. *Dgadr*, //(Volume II).
- Chen, L. S., Li, P., & Cheng, L. (2008). Effects of high temperature coupled with high light on the balance between photooxidation and photoprotection in the sun-exposed peel of apple. *Planta*, 228(5), 745–756. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0776-3>
- Chen, W., Yao, X., Cai, K., & Chen, J. (2011). Silicon alleviates drought stress of rice plants by improving plant water status, photosynthesis and mineral nutrient absorption. *Biological Trace Element Research*, 142(1), 67–76. <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8742-x>
- CLIMATE-DATA.ORG. (n.d). *CLIMATE-DATA.ORG*. Acedido a 29 de Janeiro de 2022. Disponível em: <https://pt.climate-data.org/europa/portugal/alcobaca/alcobaca-882351/>
- Codiagro. (n.d.). *Agrowhite*. Acedido a 11 de Novembro de 2021. Disponível em: <https://www.codiagro.com/productos-de-accion-especial/agrowhite/>
- Coito, J. L., Rocheta, M., Carvalho, L., & Amâncio, S. (2012). Microarray-based uncovering reference genes for quantitative real time PCR in grapevine under abiotic stress. *BMC Research Notes*, 5, 6–9. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-220>
- Conde, A., Soares, F., Breia, R., & Gerós, H. (2018). Postharvest dehydration induces variable changes in the primary metabolism of grape berries. *Food Research International*, 105, 261–270.
- CTIFL. (1995). Le Test Amidon des Pommes pour l'aide a la décision de récolte. *Le Point Sur* N°06.
- Davison, P. A., Hunter, C. N., & Horton, P. (2002). Overexpression of β -carotene hydroxylase enhances stress tolerance in Arabidopsis. *Nature*, 418(6894), 203–206. <https://doi.org/10.1038/nature00861>
- Demmig-Adams, B., Adams, W. I., Logan, B. A., & Verhoeven, A. S. (1995). Xanthophyll cycle-dependent energy dissipation and flexible photosystem II efficiency in plants acclimated to light stress. *Functional Plant Biology*, 22(2), 249–260.
- Demmig-Adams, B. (1998). Survey of thermal energy dissipation and pigment composition in sun and shade leaves. *Plant and Cell Physiology*, 39(5), 474–482. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029394>
- Demmig-Adams, B., & Adams, W. W. I. (1992). Carotenoid composition in sun and shade leaves of plants with different life forms. *Plant, Cell & Environment*, 15(4), 411–419.
- Demmig-Adams, B., Gilmore, A. M., & W.W., A. (1996). In vivo functions of carotenoids in higher plants. *The FASEB Journal*, 10(4), 403–412. <https://doi.org/10.1096/fasebj.10.4.8647339>

- Desikan, R., A.-H.-Mackerness, S., Hancock, J. T., & Neill, S. J. (2001). Regulation of the Arabidopsis transcriptome by oxidative stress. *Plant Physiology*, 127(1), 159–172. <https://doi.org/10.1104/pp.127.1.159>
- Erig, A. C., & Schuch, M. W. (2005). Morfogênese in vitro de brotos de macieira (*Malus domestica* Borkh.) a partir de fragmentos delgados de folhas. *Ciência e Agrotecnologia*, 29(3), 575–581. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542005000300010>
- Eriksson, H., Eklundh, L., Hall, K., & Lindroth, A. (2005). Estimating LAI in deciduous forest stands. *Agricultural and Forest Meteorology*, 129(1–2), 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2004.12.003>
- Felicetti, D. A., & Schrader, L. E. (2008). Photooxidative sunburn of apples: Characterization of a third type of apple sunburn. *International Journal of Fruit Science*, 8(3), 160–172. <https://doi.org/10.1080/15538360802526472>
- Felicetti, D. A., & Schrader, L. E. (2009). Changes in pigment concentrations associated with sunburn browning of five apple cultivars. I. Chlorophylls and carotenoids. *Plant Science*, 176(1), 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.09.013>
- Foyer, C. H., & Noctor, G. (2005). Redox homeostasis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell*, 17(7), 1866–1875. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.033589>
- Fu, X., Cheng, S., Feng, C., Kang, M., Huang, B., Jiang, Y., Duan, X., Grierson, D., & Yang, Z. (2019). Lycopene cyclases determine high α - β -carotene ratio and increased carotenoids in bananas ripening at high temperatures. *Food Chemistry*, 283, 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.121>
- Gardner, R. A. W.; Fletcher, C. A. (1990). Hail protection systems for deciduous fruit trees. *Deciduous Fruit Grower*, 40(6), 206–212.
- GPP. (2017). *Informação de mercados – Produtos Vegetais GPP*. Acedido a 21 de Dezembro de 2021. Disponível em: <https://www.gpp.pt/index.php/publicacoes-gpp/publicacoes-mercados>
- Gindaba, J., & Wand, S. J. E. (2005). Comparative effects of evaporative cooling, kaolin particle film, and shade net on sunburn and fruit quality in apples. *HortScience*, 40(3), 592–596. <https://doi.org/10.21273/hortsci.40.3.592>
- Glenn, D. M., Erez, A., Puterka, G. J., & Gundrum, P. (2003). Particle films affect carbon assimilation and yield in 'Empire' apple. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(3), 356–362. <https://doi.org/10.21273/jashs.128.3.0356>
- Glenn, D. M., Prado, E., Erez, A., McFerson, J., & Puterka, G. J. (2002). A reflective, processed-kaolin particle film affects fruit temperature, radiation reflection, and solar injury in apple. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127(2), 188–193. <https://doi.org/10.21273/jashs.127.2.188>

- Glenn, D. M., Puterka, G. J., Drake, S. R., Unruh, T. R., Knight, A. L., Baherle, P., Prado, E., & Baugher, T. A. (2001). Particle film application influences apple leaf physiology, fruit yield, and fruit quality. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126(2), 175–181. <https://doi.org/10.21273/jashs.126.2.175>
- Glenn, D. M., Puterka, G. J., Vanderzwet, T., Byers, R. E., & Feldhake, C. (1999). Hydrophobic particle films: A new paradigm for suppression of arthropod pests and plant diseases. *Journal of Economic Entomology*, 92(4), 759–771. <https://doi.org/10.1093/jee/92.4.759>
- Gobbi, L. (n.d.). *Sunstop LG*. Acedido a 10 de Fevereiro de 2021. Disponível em: <https://www.lgobbi.it/en/sunstop-lg-2/>
- Gower, S. T., Kucharik, C. J., & Norman, J. M. (1999). Direct and indirect estimation of leaf area index, f(APAR), and net primary production of terrestrial ecosystems. *Remote Sensing of Environment*, 70(1), 29–51. [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(99\)00056-5](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(99)00056-5)
- Hall, D., & Rao, K. (1994). *Photosynthesis* (Cambridge University Press (ed.); 5th ed.).
- Hampson, C. R., & Kemp, H. (2003). *Apples: botany, production and uses*.
- Hattori, T., Inanaga, S., Araki, H., An, P., Morita, S., Luxová, M., & Lux, A. (2005). Application of silicon enhanced drought tolerance in Sorghum bicolor. *Physiologia Plantarum*, 123(4), 459–466. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00481.x>
- Horemans, N., H. Foyer, C., Potters, G., & Asard, H. (2000). Ascorbate function and associated transport systems in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38(7–8), 531–540. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(00\)00782-8](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(00)00782-8)
- Horton, P., Ruban, A. V., & Walters, R. G. (1996). Regulation of light harvesting in green plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47(1), 655–684. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.655>
- Howarth, C. J., & Ougham, H. J. (1993). Gene expression under temperature stress. *New Phytologist*, 125(1), 1–26. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1993.tb03862.x>
- Instituto Nacional de Estatística (INE). (2020). *Estatísticas Agrícolas*. Acedido a 26 de Outubro de 2021. Disponível em: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpu_b_boui=437147278&PUBLICACOESmodo=2
- IPMA. (n.d.). *Normais Climatológicas 1981-2010*. Acedido a 10 de Março de 2022. Disponível em: <https://www.ipma.pt/pt/oclima/normais.clima/1981-2010/>
- Knee, M. (1972). Anthocyanin, carotenoid, and chlorophyll changes in the peel of Cox's Orange Pippin apples during ripening on and off the tree. *Journal of experimental botany*, 184–196.
- Krause, G. H., & Weis, E. (1991). Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1991. 42:313-49 Copyright © 1991 by Annual Reviews Inc. All rights reserved CHLOROPHYLL FLUORESCENCE AND PHOTOSYNTHESIS. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*

42, 313–349.

- Kruk, J., Holländer-Czytko, H., Oettmeier, W., & Trebst, A. (2005). Tocopherol as singlet oxygen scavenger in photosystem II. *Journal of Plant Physiology*, *162*(7), 749–757. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.04.020>
- Lancaster, J. E., & Dougall, D. K. (1992). Regulation of skin color in apples. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *10*(6), 487–502.
- Le Grange, M., Wand, S. J. E., & Theron, K. I. (2004). Effect of kaolin applications on apple fruit quality and gas exchange of apple leaves. *Acta Horticulturae*, *636*, 545–550. <https://doi.org/DOI: 10.17660/ActaHortic.2004.636.69>
- Leão de Sousa, M. (2020). Manual de Boas Práticas de Fruticultura: A Macieira. *Frutas, Legumes e Flores*, *4*, 13.
- Li, B., Wei, A., Song, C., Li, N., & Zhang, J. (2008). Heterologous expression of the TsVP gene improves the drought resistance of maize. *Plant Biotechnology Journal*, *6*(2), 146–159. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2007.00301.x>
- Li, P., & Cheng, L. (2008). The shaded side of apple fruit becomes more sensitive to photoinhibition with fruit development. *Physiologia Plantarum*, *134*(2), 282–292. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01131.x>
- Liu, Y., Chen, N., Zuo, C., Wu, Y., Che, F., & Chen, B. (2019). The mechanism of color fading in sunburned apple peel. *Acta Physiologiae Plantarum*, *41*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2792-7>
- Livak, K., & Schmittgen, T. (2001). Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Method Related papers Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT. *Methods*, *25*(4), 402–408.
- Louw, J. P., & Korsten, L. (2014). Pathogenic *Penicillium* spp. on apple and pear. *Plant Disease*, *98*(5), 590–598. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-13-0710-RE>
- Bastías, R. M., & Corelli-Grappadelli, L. (2012). Light quality management in fruit orchards: physiological and technological aspects. *Chilean journal of agricultural research*, *72*(4), 574–581. <https://doi.org/10.4067/s0718-58392012000400018>
- Makaredza, B., Schmeisser, M., Lötze, E., & Steyn, W. J. (2013). Water stress increases sunburn in «Cripps» Pink' apple. *HortScience*, *48*(4), 444–447. <https://doi.org/10.21273/hortsci.48.4.444>
- Masato, O. (1980). An improved method for determination of L-ascorbic acid and L-dehydroascorbic acid in blood plasma. *Clinica Chimica Acta*, *103*(3), 259–268. [https://doi.org/doi: 10.1016/0009-8981\(80\)90144-8](https://doi.org/doi: 10.1016/0009-8981(80)90144-8).
- McGlone, V. A., Jordan, R. B., Seelye, R., & Clark, C. J. (2003). Dry-matter - A better predictor of the post-storage soluble solids in apples? *Postharvest Biology and Technology*, *28*(3),

- 431–435. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(02\)00207-7](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00207-7)
- Merzlyak, M. N., & Solovchenko, A. E. (2002). Photostability of pigments in ripening apple fruit: A possible photoprotective role of carotenoids during plant senescence. Em *Plant Science* (Vol. 163, Número 4, pp. 881–888). [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00241-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00241-8)
- Merzlyak, M. N., Solovchenko, A. E., & Chivkunova, O. B. (2002). Patterns of pigment changes in apple fruits during adaptation to high sunlight and sunscald development. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40, 679–684. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(02\)01408-0](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(02)01408-0)
- Middleton, S., & McWaters, A. (2002). Hail netting of apple orchards australian experience. *Compact Fruit Tree*, 35(2), 51–55.
- Minolta. (1976). *Espaço de Cor L*C*h**. Acedido a 23 de Abril de 2021. Disponível em: <https://sensing.konicaminolta.us/br/learning-center/color-measurement/color-spaces/>
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)
- Müller, P., Li, X. P., & Niyogi, K. K. (2001). Update on Photosynthesis Non-Photochemical Quenching . A Response to Excess Light Energy 1. *Plant Physiology*, 125(4), 1558–1566.
- Musacchi, S., & Serra, S. (2018). Apple fruit quality: Overview on pre-harvest factors. *Scientia Horticulturae*, 234, 409–430. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.057>
- Neill, S. O., & Gould, K. S. (2003). Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants? *Functional Plant Biology*, 30(8), 865–873. <https://doi.org/https://doi.org/10.1071/FP03118>
- Noctor, G., & Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen under Control. *Annual Review of Plant Biology*, 49(1), 249–279. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.249>
- ONU. (n.d.). *United Nations - Climate change*. Acedido a 18 de Março de 2022. Disponível em: <https://www.un.org/en/climatechange/what-is-climate-change>
- Parchomchuk, P., & Meheriuk, M. (1996). Orchard cooling with pulsed overtree irrigation to prevent solar injury and improve fruit quality of «Jonagold» apples. *HortScience*, 31(5), 802–804. <https://doi.org/10.21273/hortsci.31.5.802>
- Polenta, G. A., Calvete, J. J., & González, C. B. (2007). Isolation and characterization of the main small heat shock proteins induced in tomato pericarp by thermal treatment. *FEBS Journal*, 274(24), 6447–6455. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.06162.x>
- Potters, G., De Gara, L., Asard, H., & Horemans, N. (2002). Ascorbate and glutathione: Guardians of the cell cycle, partners in crime? *Plant Physiology and Biochemistry*, 40(6–8), 537–548. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(02\)01414-6](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(02)01414-6)
- Rabinowitch, H. D., Sklan, D., & Budowski, P. (1982). Photo-oxidative damage in the ripening tomato fruit: Protective role of superoxide dismutase. *Physiologia Plantarum*, 54(3), 369–

374. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1982.tb00273.x>
- Racsko, J., & Schrader, L. E. (2012). Sunburn of Apple Fruit: Historical Background, Recent Advances and Future Perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31(6), 455–504. <https://doi.org/10.1080/07352689.2012.696453>
- Racsó, J., Szabó, T., Nyéki, J., Soltész, M., & Nagy, P. T. (2010). Characterization of sunburn damage to apple fruits and leaves. *International Journal of Horticultural Science*, 16(4), 15–20. <https://doi.org/10.31421/ijhs/16/4/909>
- Racsó, József, Szabó, Z., & Nyéki, J. (2005). Importance of the supraoptimal radiance supply and sunburn effects on apple fruit quality. *Acta Biologica Szegediensis*, 49(1–2), 111–114.
- Rampino, P., Mita, G., Pataleo, S., De Pascali, M., Di Fonzo, N., & Perrotta, C. (2009). Acquisition of thermotolerance and HSP gene expression in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 66(2), 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.04.001>
- Reay, P. F., & Lancaster, J. E. (2001). Accumulation of anthocyanins and quercetin glycosides in «Gala» and «Royal Gala» apple fruit skin with UV-B-Visible irradiation: Modifying effects of fruit maturity, fruit side, and temperature. *Scientia Horticulturae*, 90(1–2), 57–68. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(00\)00247-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(00)00247-8)
- Reich, P. B., Walters, M. B., Ellsworth, D. S., & Uhl, C. (1994). Photosynthesis-nitrogen relations in Amazonian tree species - I. Patterns among species and communities. *Oecologia*, 97(1), 73–81. <https://doi.org/10.1007/BF00317909>
- Richardson, A. D., Duigan, S. P., & Berlyn, G. P. (2002). An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytologist*, 153(1), 185–194. <https://doi.org/10.1046/j.0028-646X.2001.00289.x>
- Rustioni, L., Fracassetti, D., Prinsi, B., Geuna, F., Ancelotti, A., Fauda, V., Tirelli, A., Espen, L., & Failla, O. (2020). Oxidations in white grape (*Vitis vinifera* L.) skins: Comparison between ripening process and photooxidative sunburn symptoms. *Plant Physiology and Biochemistry*, 150, 270–278. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.03.003>
- Rustioni, L., Rocchi, L., Guffanti, E., Cola, G., & Failla, O. (2014). Characterization of grape (*Vitis vinifera* L.) berry sunburn symptoms by reflectance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(14), 3043–3046. <https://doi.org/10.1021/jf405772f>
- Schrader, L. E., Zhang, J., & Duplaga, W. K. (2001). Two Types of Sunburn in Apple Caused by High Fruit Surface (Peel) Temperature. *Plant Health Progress*, 2(1), 3. <https://doi.org/10.1094/php-2001-1004-01-rs>
- Schrader, L., Sun, J., Zhang, J., Felicetti, D., & Tianz, J. (2008). Heat and light-induced apple skin disorders: Causes and prevention. *Acta Horticulturae*, 772(January 2008), 51–58. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.772.5>

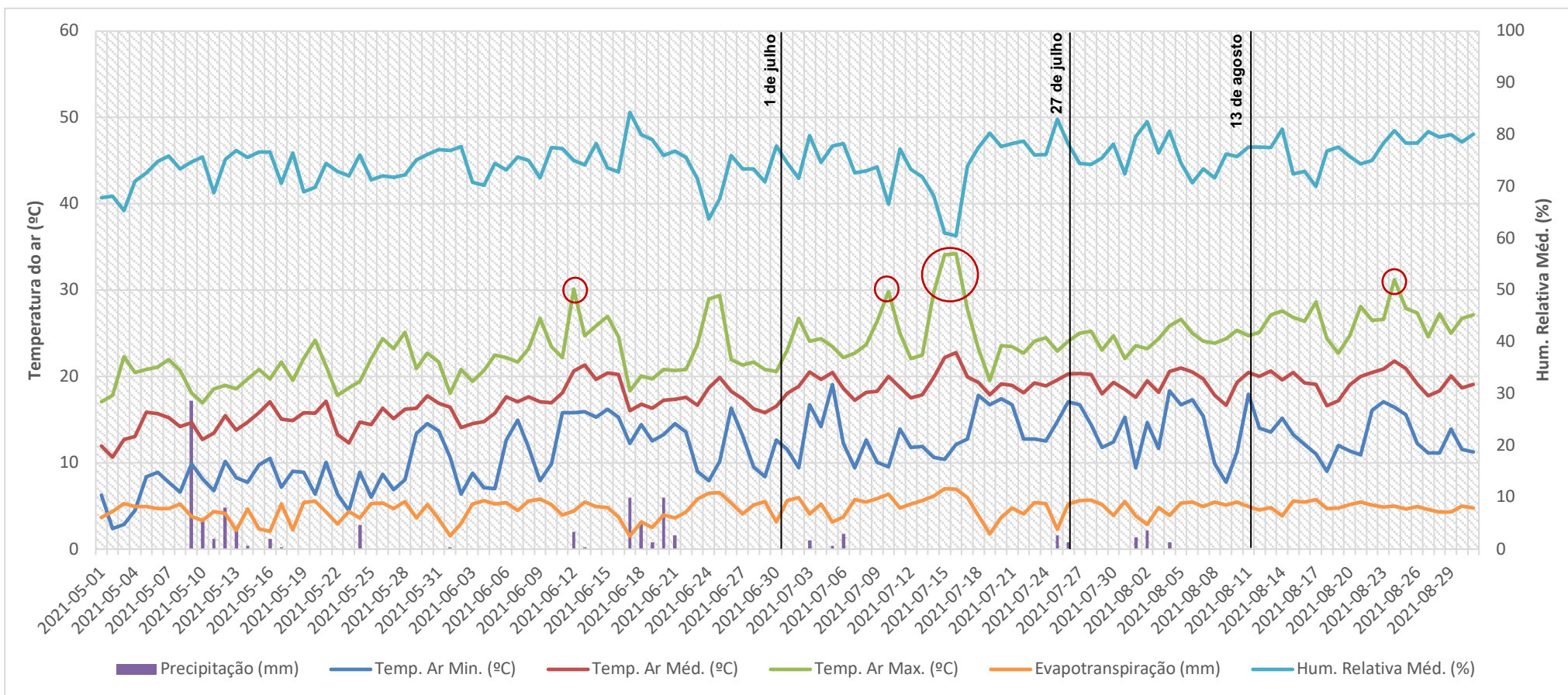
- Schrader, L., Zhang, J., & Sun, J. (2003). Environmental stresses that causes sunburn of apple. *Acta Horticulturae*, 618, 397–405.
- Schupp, J. R., Fallahi, E., & Chun, I. (2002). *Effect of particle film on fruit sunburn, maturity and quality of Fuji'andHoneycrisp'apples*. 12(March), 87–90.
- Scott, B. (1988). The use of netting for hail protection-design and management considerations for pome fruit orchards. *Acta Horticulturae* 240, 147–150.
- Sharma, R. R., Datta, S. C., & Varghese, E. (2018). Effect of Surround WP®, a kaolin-based particle film on sunburn, fruit cracking and postharvest quality of 'Kandhari' pomegranates. *Crop Protection*, 114, 18–22. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.08.009>
- Shen, X., Zhou, Y., Duan, L., Li, Z., Eneji, A. E., & Li, J. (2010). Silicon effects on photosynthesis and antioxidant parameters of soybean seedlings under drought and ultraviolet-B radiation. *Journal of Plant Physiology*, 167(15), 1248–1252. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.04.011>
- Sims, D. A., & Gamon, J. A. (2002). Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing of Environment*, 81(2–3), 337–354. [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(02\)00010-X](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(02)00010-X)
- Smit, A., Steyn, W. J., & Wand, S. J. E. (2008). Effects of shade netting on gas exchange of blushed apple cultivars. *Acta Horticulturae*, 772, 73–80. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.772.8>
- Solarquotesblog. (n.d.). *Australian Trial Protecting Pears With Solar Panels*. Acedido a 10 de novembro de 2021. Disponível em: <https://www.solarquotes.com.au/blog/solar-panels-pears-mb1844/>
- Stampar, F., Veberic, R., Zadavec, P., Hudina, M., Usenik, V., Solar, A., & Osterc, G. (2002). Yield and fruit quality of apples cv. «Jonagold» under hail protection nets. *Gartenbauwissenschaft*, 67(5), 205–210.
- Sun, J. hao, Chen, J. ye, Kuang, J. fei, Chen, W. xin, & Lu, W. jin. (2010). Expression of sHSP genes as affected by heat shock and cold acclimation in relation to chilling tolerance in plum fruit. Em *Postharvest Biology and Technology* (Vol. 55, Número 2, pp. 91–96). <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.09.001>
- Suni, M., Nyman, M., Eriksson, N. A., Björk, L., & Björck, I. (2000). Carbohydrate composition and content of organic acids in fresh and stored apples. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(10), 1538–1544. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(200008\)80:10<1538::AID-JSFA678>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/1097-0010(200008)80:10<1538::AID-JSFA678>3.0.CO;2-A)
- Swindell, W. R., Huebner, M., & Weber, A. P. (2007). Transcriptional profiling of Arabidopsis heat shock proteins and transcription factors reveals extensive overlap between heat and

- non-heat stress response pathways. *BMC Genomics*, 8, 1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-125>
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). Fisiologia vegetal. Em *Collecció «Ciències experimentals»* (4th ed., Vol. 10). Universitat Jaume I.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology* (5th ed.). Sinauer Associates Inc.
- Tang, Y., Wen, X., Lu, Q., Yang, Z., Cheng, Z., & Lu, C. (2007). Heat stress induces an aggregation of the light-harvesting complex of photosystem II in spinach plants. *Plant Physiology*, 143(2), 629–638. <https://doi.org/10.1104/pp.106.090712>
- Trillot, M., Masseron, A., & Tronel, C. (1993). *Pomme: Les variétés* (Ctifl (ed.)).
- Trillot, M., Masseron, A., Tronel, C., & Mathieu, V. (1995). *Gala* (CTIFL (ed.)).
- UPL. (n.d.). *Micronutrientes Y Fertilizantes Foliare - Vegepron Sun*. Acedido a 17 de Maio de 2021. Disponível em: <https://www.upl-ltd.com/es/Productos/vegepron-sun>
- Van Den Ende, B. (1999). *Sunburn management*. 32(1), 13–14.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113–4117. <https://doi.org/10.1021/jf9801973>
- Vierling, E. (1991). The roles of heat shock proteins in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42(1), 579–620. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.42.060191.003051>
- Vijay, P., Rakesh, P., & Madan, P. (2017). Manual of ICAR Sponsored Training Programme for Technical Staff of ICAR Institutes on “Physiological Techniques to Analyze the Impact of Climate Change on Crop Plants”. Em *Division of Plant Physiology, ICAR-Indian Agricultural Research Institute (IARI), New Delhi, India* (Número 8).
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61(3), 199–223. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.011>
- Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., & Altman, A. (2004). Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends in Plant Science*, 9(5), 244–252. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.03.006>
- Warner, G. (1997). Sunburn is a hot topic in orchards of Washington. *Good Fruit Grower*, 48(13), 22–23.
- White, A. (1987). Apple Breeding in New Zealand. *Fruit Breeding*, 224, 119–122.
- Widmer, A. (2000). Light intensity and fruit quality under hail protection nets. *Acta Horticulturae*, 421–426.
- Woolf, A. B., & Ferguson, I. B. (2000). Postharvest responses to high fruit temperatures in the field. *Postharvest Biology and Technology*, 21(1), 7–20. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00161-7](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00161-7)

- Wünsche, J. N., Bowen, J., Ferguson, I., & Woolf, A. (2004). Sunburn on apples - Causes and control mechanisms. *Acta Horticulturae*, 636. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.636.78>
- Wünsche, J. N., Bowen, J., Ferguson, I., Woolf, A., & McGhie, T. (2002). Sunburn on apples - causes and control mechanisms. *XXVI International Horticultural Congress: Key Processes in the Growth and Cropping of Deciduous Fruit and Nut Trees*, 636, 631–636.
- Zhang, J., Chen, S., Li, Y., Di, B., Zhang, J., & Liu, Y. (2008). Effect of high temperature and excessive light on glutathione content in apple peel. *Frontiers of Agriculture in China*, 2(1), 97–102. <https://doi.org/10.1007/s11703-008-0002-x>

ANEXOS

Anexo I - Dados meteorológicos recolhidos pela estação meteorológica do INIAV, I.P., de maio a Agosto de 2021.



Anexo II – Produtos e respetiva composição, utilizados na modalidade Fertilização Foliar (M4).

Produtos	Composição
<i>Fitoalgas Green (0,5 kg/ha)</i>	<i>Ascophyllum nodosum</i> : 100% sobre matéria fresca (s.m.f.) <i>Ascophyllum nodosum</i> : 16,5% (p/v) ou 15% (p/p) sobre matéria seca (s.m.s.)
<i>Aton Az (150ml/100L)</i>	Aminoácidos livres: 6% (p/v) ou 5% (p/p) Azoto (N): 4,4% (p/v) ou 3,4% (p/p) Cálcio (CaO): 1,2% (p/v) ou 1% (p/p) Boro (B): 0,1% (p/v) ou 0,09% (p/p) Ferro (Fe) quelatado com EDTA: 1,1% (p/v) ou 0,9% (p/p) Manganês (Mn): 0,8% (p/v) ou 0,7% (p/p) Molibdénio (Mo): 0,1% (p/v) ou 0,09% (p/p) Zinco (Zn): 1,3% (p/v) ou 1,1% (p/p)
<i>MKP (300 g/100L)</i>	Fósforo (P2O5): 51.8% Potássio (K2O): 34.3%
<i>MAP (300 g/100L)</i>	Azoto (N): 12% Fósforo (P2O5): 61.4%
<i>Calfinish (2 kg/ha)</i>	Cálcio (CaO): 34% (p/p) Boro (B): 0,82% (p/p) Zinco (Zn) quelatado com EDTA: 1,72% (p/p)
<i>Folur (100 ml/100L)</i>	Azoto (N) na forma ureica: 22,4% (p/v) ou 20% (p/p)
<i>15/05/30 (500 g/100L)</i>	Azoto (N) total: 15% (p/p) Azoto (N) nítrico: 8,5% (p/p) Azoto (N) amoniacal: 3,5% (p/p) Azoto (N) ureico: 3% (p/p) Fósforo (P2O5) solúvel em água: 5% (p/p) Potássio (K2O) solúvel em água: 30% (p/p) Enxofre (SO3) solúvel em água: 11,5% (p/p) Magnésio (MgO) solúvel em água: 2% (p/p) Boro (B) solúvel em água: 0,02% (p/p) Cobre (Cu) quelatado com EDTA: 0,01% (p/p) Ferro (Fe) quelatado com EDTA: 0,06% (p/p) Manganês (Mn) quelatado com EDTA: 0,04% (p/p) Molibdénio (Mo) solúvel em água: 0,003% (p/p) Zinco (Zn) quelatado com EDTA: 0,02% (p/p) Intervalo de estabilidade da fração quelatada pH 4-7
<i>Radikal (2,5 kg/ha)</i>	Azoto (N) total: 6,9% (p/p) Azoto (N) nítrico: 6,4% (p/p) Azoto (N) amoniacal: 0,5% (p/p) Fósforo (P2O5) solúvel em água: 5% (p/p) Potássio (K2O): 25,7% (p/p) Boro (B): 0,3% (p/p) Cálcio (CaO): 11,7% (p/p) Zinco (Zn): 1% (p/p)
<i>Fortan (3 kg/ha)</i>	Potássio (K2O): 30% (p/p) Magnésio (MgO): 7,5% (p/p) Ferro (Fe): 1% (p/p) Manganês (Mn): 1% (p/p) Zinco (Zn): 4% (p/p) EDTA: 6% (p/p)
<i>Stimulus (2 L/ha)</i>	<i>Ascophyllum nodosum</i> : 40% sobre matéria fresca (s.m.f.) <i>Ascophyllum nodosum</i> : 6,6% (p/v) ou 6% (p/p) sobre matéria seca (s.m.s.) Aminoácidos livres: 10,6% (p/v) ou 9,6% (p/p) Azoto (N): 4,0% (p/v) ou 3,6% (p/v) Matéria orgânica: 18,9% (p/v) ou 17,2% (p/p) Carbono orgânico: 11% (p/v) ou 10% (p/p)
<i>Solubor (150 g/100L)</i>	Boro (B): 20,5%

Anexo III - Crescimento dos frutos das diferentes modalidades de 26 de maio até à colheita.

<i>Modalidades</i>	<i>26/mai</i>	<i>02/jun</i>	<i>09/jun</i>	<i>16/jun</i>	<i>22/jun</i>	<i>30/jun</i>	<i>07/jul</i>	<i>14/jul</i>	<i>20/jul</i>	<i>28/jul</i>	<i>04/ago</i>	<i>11/ago</i>	<i>17/ago</i>
M1	30,18	34,82	38,62	43,43	47,48	51,40	55,58	58,77	62,06	64,78	67,39	68,81	70,69
M2	30,77	35,17	38,95	43,80	48,48	52,61	57,11	60,20	63,35	66,52	68,95	70,29	72,50
M3	31,20	35,94	39,93	44,54	49,09	52,87	57,14	59,82	62,64	66,10	68,74	69,89	71,91
M4	29,76	34,68	38,51	43,44	47,76	51,73	55,96	58,98	61,70	64,87	67,36	69,30	71,21
M5	31,15	36,05	39,83	44,66	49,03	52,81	57,06	59,92	62,88	66,00	68,57	70,09	72,14
M6	31,04	35,90	39,81	44,46	49,07	53,18	57,49	60,82	64,11	67,08	69,63	70,95	72,81
M7	31,00	35,38	39,17	44,06	48,48	52,49	57,00	60,16	62,75	66,03	68,57	69,91	71,85
M8	30,88	35,63	39,31	44,26	48,32	52,07	56,28	59,24	62,33	65,18	67,90	69,41	71,26

Anexo IV – Parâmetros de cor dos frutos das diferentes modalidades, pelo sistema SIELAB. Destacaram-se a negrito os valores superiores referentes a cada parâmetro.

Modalidade	Cor				
	*L	*a	*b	*C	°hue
M1	56,74±5,83a	22,10±10,98b	29,37±3,98a	39,68±3,39ab	55,19±16,40a
M2	51,30±6,60b	32,29±9,85a	27,61±3,03b	43,87±6,04a	42,45±11,56b
M3	56,15±10,25ab	22,33±16,19ab	29,43±5,45a	41,05±5,01ab	55,88±23,69ab
M4	51,71±6,53b	29,32±8,99a	25,76±2,93b	40,75±4,57ab	43,59±12,40b
M5	59,22±7,48a	17,57±11,18b	30,34±3,86a	38,78±3,70b	62,02±16,59a
M6	51,15±8,74b	30,76±11,54a	26,91±3,51b	42,74±5,21a	43,61±15,66b
M7	54,63±7,54ab	28,20±12,17a	28,09±3,68ab	42,04±5,54ab	47,52±15,92b
M8	55,18±6,91ab	23,89±10,88b	28,15±3,56ab	39,09±3,74b	51,74±16,14ab

Nota: Letras diferentes em coluna indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=40$.

Anexo V - Percentagem dos frutos que apresentaram os quatro níveis de escaldão nas diferentes modalidades. Destacaram-se a negrito os valores superiores referentes a cada parâmetro.

<i>Modalidades</i>	<i>Ligeiro</i>	<i>Moderado</i>	<i>Grave</i>	<i>Muito Grave</i>	<i>%Escaldão Total</i>
M1	1,90	0,83	0,85	0,70	4,28
M2	2,49	1,11	0,26	0,78	4,64
M3	4,24	1,25	0,20	0,56	6,26
M4	2,19	1,25	0,26	0,17	3,88
M5	0,38	0,00	0,00	0,33	0,71
M6	1,86	0,80	0,17	0,17	3,00
M7	2,59	1,04	0,15	0,44	4,22
M8	1,51	0,86	0,00	0,20	2,57

Anexo VI - Parâmetros fotossintéticos medidos no período da manhã em três momentos do ciclo. Destacaram-se a negrito os valores superiores referentes a cada parâmetro nas três datas de medição.

Modalidade	An ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)			E ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)			g_s ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)		
	01/jul	27/jul	13/ago	01/jul	27/jul	13/ago	01/jul	27/jul	13/ago
M1	12,49ab	14,58ab	16,42a	3,82a	3,87a	2,63a	0,24a	0,29a	0,21a
M2	11,61ab	13,80ab	16,31a	3,67a	3,25a	2,68a	0,28a	0,24a	0,22a
M3	11,10b	14,12ab	15,47ab	3,66a	3,39a	2,56a	0,27a	0,26a	0,21a
M4	12,06ab	16,28a	16,60a	3,85a	3,69a	2,72a	0,31a	0,28a	0,23a
M5	11,83ab	12,76b	13,94ab	3,50a	3,31a	2,56a	0,24a	0,27a	0,19a
M6	11,94ab	12,41b	15,53ab	3,94a	3,56a	2,60a	0,30a	0,25a	0,21a
M7	13,45a	14,14ab	16,55a	4,10a	3,38a	2,23a	0,38a	0,26a	0,19a
M8	11,26b	12,28b	13,19b	3,87a	3,52a	2,74a	0,27a	0,26a	0,23a

Nota: Letras diferentes em coluna indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey e Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=5$.

Anexo VII - Parâmetros fotossintéticos medidos no período da tarde em três momentos do ciclo. Destacaram-se a negrito os valores superiores referentes a cada parâmetro nas três datas de medição.

Modalidade	An ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)			E ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)			g_s ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)		
	01/jul	27/jul	13/ago	01/jul	27/jul	13/ago	01/jul	27/jul	13/ago
M1	13,36	13,56	13,80	3,33	3,02	2,40	0,25	0,20	0,18
M2	13,37	13,55	14,81	3,45	2,71	2,54	0,25	0,20	0,22
M3	12,33	13,20	13,81	3,59	2,76	2,82	0,27	0,19	0,18
M4	12,35	13,82	15,28	3,35	2,90	2,22	0,30	0,24	0,25
M5	11,31	11,61	13,13	3,29	2,94	2,58	0,25	0,21	0,22
M6	11,58	12,19	15,09	3,81	3,39	2,73	0,28	0,21	0,21
M7	13,65	14,23	15,03	3,43	3,10	2,67	0,34	0,25	0,25
M8	12,15	12,82	13,02	3,40	3,16	2,36	0,30	0,22	0,20

Anexo VIII - Parâmetros da fluorescência da clorofila medidos em três momentos ao longo da campanha. Destacaram-se a negrito os valores superiores referentes a cada parâmetro nas três datas de medição.

	<i>Modalidade</i>	<i>F'0</i>	<i>F'm</i>	<i>F'v</i>	<i>F'v/F'm</i>	<i>F0</i>	<i>Fm</i>	<i>Fv</i>	<i>Fv/Fm</i>
<i>1 julho</i>	M1	4990a	20040a	15050a	0,75a	4651a	22295a	17644a	0,79a
	M2	4480a	16058ab	11577a	0,72a	4311ab	20351a	16040a	0,79a
	M3	3990a	12867ab	8877a	0,69a	4018ab	17521a	13503a	0,77a
	M4	4442a	14640ab	10198a	0,64a	4554ab	22480a	17926a	0,79a
	M5	3786a	11073b	7286a	0,57a	4795a	18311a	13516a	0,73a
	M6	5323a	16136ab	10812a	0,67a	4387ab	19549a	15162a	0,78a
	M7	3378a	10909b	7531a	0,68a	3424b	15444a	12020a	0,78a
	M8	4667a	16581ab	11914a	0,72a	4608ab	20936a	16328a	0,78a
<i>27 julho</i>	M1	4262a	12651a	8389a	0,66a	3661a	18371a	14710a	0,80ab
	M2	4071a	13425a	9354a	0,68a	3569a	19182a	15613a	0,81a
	M3	4469a	15244a	10776a	0,69a	4317a	23583a	19266a	0,82a
	M4	4203a	17763a	13559a	0,74a	3994a	20710a	16716a	0,80ab
	M5	3623a	9801a	6177a	0,57a	4628a	19192a	14564a	0,76b
	M6	4554a	13793a	9239a	0,67a	3994a	19515a	15521a	0,79ab
	M7	3635a	11723a	8088a	0,64a	3609a	17765a	14155a	0,80ab
	M8	4904a	14923a	10019a	0,66a	4648a	20652a	16004a	0,77ab
<i>13 agosto</i>	M1	4234a	12923a	8689a	0,61a	3432a	22562a	19130a	0,85a
	M2	3593a	11695a	8102a	0,59a	3348a	22672a	19324a	0,85a
	M3	3567a	6965a	3398a	0,46a	3346a	22638a	19292a	0,85a
	M4	4544a	11184a	6640a	0,50a	3868a	26851a	22983a	0,86a
	M5	3402a	10217a	6816a	0,59a	3149a	20624a	17475a	0,85a
	M6	3793a	12175a	8383a	0,64a	3466a	22640a	19174a	0,85a
	M7	3881a	12728a	8847a	0,58a	3544a	24482a	20939a	0,85a
	M8	4245a	15852a	11607a	0,71a	3639a	25735a	22095a	0,86a

Nota: Letras diferentes em coluna indicam valores significativamente diferentes para a mesma data pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=5$.

Anexo IX - Área foliar específica registada em 6 datas, para as diferentes modalidades. Destacaram-se a negrito os valores superiores de SLA referentes a cada data.

Modalidade	Área folia específica (SLA)					
	27/mai	07/jun	21/jun	05/jul	19/jul	11/ago
M1	104,73±4,53a	120,93±2,38a	104,88±2,55a	125,55±3,34a	110,11±0,28ab	86,48±3,19a
M2	112,78±0,83a	119,80±0,47a	102,63±0,59a	127,24±1,89a	106,33±1,49ab	89,76±0,69a
M3	111,17±5,11a	115,29±4,75a	101,84±0,77a	124,53±3,05a	106,01±0,53ab	88,15±1,29a
M4	107,67±2,01a	113,29±17,28a	102,59±3,43a	123,28±4,85a	101,82±2,60b	89,68±6,93a
M5	108,21±5,42a	124,27±17,02a	106,19±2,05a	126,36±1,58a	126,36±2,75a	86,97±4,61a
M6	100,53±2,11a	116,63±7,18a	103,79±1,58a	125,87±2,58a	105,57±1,73ab	88,83±1,80a
M7	102,81±3,23a	111,45±2,31a	103,79±1,07a	122,34±1,13a	105,56±1,32ab	91,90±6,05a
M8	107,18±2,14a	116,00±4,55a	104,02±4,46a	125,84±1,19a	112,13±1,29ab	87,90±1,61a

Nota: Letras diferentes em coluna indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=3$.

Anexo X - Concentração de clorofilas a (Chl a), b (Chl b) e totais (Chl T), Carotenoides (Car) e antocianinas (AnC) e razões Chl a/ Chl b e Chl T/Car (média ± desvio-padrão) nas folhas das diferentes modalidades em ensaio a 5 de julho de 2021. Destacaram-se a negrito os valores superiores referentes a cada parâmetro.

Modalidades	Concentração de pigmentos (μmolg^{-1} de massa fresca)						
	5/jul						
	Chl a	Chl b	Chl T	Car	AnC	Chl a/Chl b	Chl T/Car
M1	0,65±0,01a	0,38±0,06a	1,03±0,07	0,44±0,06	0,45±0,08	2,94±0,24	0,85±0,29
M2	0,45±0,07b	0,23±0,03b	0,68±0,10	0,20±0,02	0,77±0,12	2,86±0,10	1,16±0,28
M3	0,54±0,04b	0,29±0,03ab	0,83±0,07	0,23±0,01	0,92±0,10	2,46±0,08	1,51±0,21
M4	0,55±0,12ab	0,32±0,08ab	0,86±0,20	0,25±0,08	1,05±0,21	2,54±0,10	1,61±0,60
M5	0,64±0,02a	0,36±0,04a	1,00±0,06	0,39±0,03	0,36±0,09	2,95±0,19	1,08±0,16
M6	0,62±0,02a	0,32±0,03ab	0,94±0,05	0,35±0,02	0,40±0,10	2,99±0,15	0,99±0,08
M7	0,53±0,05b	0,29±0,03ab	0,82±0,07	0,23±0,02	1,02±0,08	2,66±0,05	1,34±0,15
M8	0,63±0,04a	0,36±0,08a	0,98±0,12	0,38±0,02	0,42±0,09	2,67±0,35	1,00±0,27

Nota: Letras diferentes entre modalidades para a mesma data indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$.

Anexo XI - Concentração de clorofilas a (Chl a), b (Chl b) e totais (Chl T), Carotenoides (Car) e antocianinas (AnC) e razões Chl a/ Chl b e Chl T/Car (média ± desvio-padrão) nas folhas das diferentes modalidades em ensaio a 17 de agosto de 2021. Destacaram-se a negrito os valores superiores referentes a cada parâmetro.

Modalidades	Concentração de pigmentos ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca)						
	17/ago						
	Chl a	Chl b	Chl T	Car	AnC	Chl a/Chl b	Chl T/Car
M1	0,20±0,05ab	0,07±0,02b	0,27±0,07	0,32±0,07	0,45±0,10	1,72±0,15	2,31±0,04
M2	0,21±0,08ab	0,07±0,03b	0,28±0,11	0,24±0,07	0,31±0,08	1,93±0,12	3,44±0,15
M3	0,43±0,19a	0,17±0,10ab	0,60±0,29	0,40±0,12	0,58±0,23	1,84±0,27	3,58±0,26
M4	0,18±0,03b	0,07±0,01b	0,25±0,04	0,15±0,02	0,23±0,02	1,71±0,07	3,42±0,05
M5	0,21±0,04ab	0,07±0,01b	0,28±0,05	0,26±0,04	0,32±0,04	1,80±0,09	2,55±0,03
M6	0,26±0,10ab	0,09±0,03ab	0,34±0,14	0,35±0,07	0,56±0,20	1,95±0,05	2,69±0,20
OM7	0,47±0,18a	0,18±0,06a	0,65±0,25	0,48±0,22	0,70±0,26	1,83±0,08	3,58±0,11
M8	0,33±0,03ab	0,12±0,01ab	0,46±0,04	0,46±0,03	0,55±0,06	1,76±0,04	2,57±0,03

Nota: Letras diferentes entre modalidades para a mesma data indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$.

Anexo XII - Concentração de ascorbato total, oxidado (DAsA) e reduzido (AsA) (média ± desvio-padrão) e percentagem de redução (%) nas folhas das diferentes modalidades em ensaio à colheita. Destacaram-se a negrito os valores superiores referentes a cada parâmetro.

Modalidade	Concentração de ascorbato ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca)			
	17/ago			
	Total	AsA	DAsA	%Redução
M1	4,51±4,27	2,36±1,72	2,20±3,18	55,3
M2	4,86±2,40	1,09±1,09	3,89±2,57	24,1
M3	6,73±4,74	1,33±1,48	5,44±4,09	20,7
M4	7,20±4,98	2,10±2,51	5,26±3,45	24,1
M5	3,13±0,85	1,80±1,70	1,33±0,99	50,1
M6	7,81±5,41	1,85±2,20	5,95±5,90	27,7
M7	19,47±22,01	4,44±6,42	15,59±24,40	29,2
M8	6,79±3,79	2,14±2,95	4,65±1,01	20,8

Nota: Letras diferentes em coluna indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$.

Anexo XIII - Concentração de glutatona total, oxidada (GSSG) e reduzida (GSH) (média \pm desvio-padrão) nas folhas das diferentes modalidades em ensaio em dois momentos da campanha. Destacaram-se a negrito os valores superiores referentes a cada parâmetro.

Modalidade	Concentração de glutatona ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca)							
	05/jul				17/ago			
	Total	GSSG	GSH	%Redução	Total	GSSG	GSH	%Redução
M1	493,70\pm87,47	103,84 \pm 31,02	441,78\pm83,24	80,9	219,48 \pm 47,77	154,57 \pm 63,30b	142,19 \pm 49,01ab	48,7
M2	380,83 \pm 183,81	59,75 \pm 53,30	350,95 \pm 194,02	75,6	182,72 \pm 45,38	149,98 \pm 47,87b	107,73 \pm 40,68b	41,6
M3	374,19 \pm 118,87	126,94 \pm 75,77	310,72 \pm 130,69	70,1	332,91 \pm 45,22	328,92 \pm 58,10a	168,45 \pm 39,88ab	33,9
M4	457,31 \pm 128,85	116,05 \pm 26,19	399,29 \pm 118,73	76,9	291,65 \pm 117,73	182,84 \pm 157,42ab	200,23 \pm 94,61ab	62,2
M5	455,19 \pm 142,84	115,26 \pm 30,28	397,56 \pm 138,22	76,3	207,25 \pm 35,51	132,01 \pm 83,48b	141,25 \pm 33,66ab	56,3
M6	377,91 \pm 38,89	92,42 \pm 21,92	331,70 \pm 41,52	78,1	223,04 \pm 49,75	220,32 \pm 61,03ab	112,88 \pm 33,21b	341
M7	396,23 \pm 81,18	130,93\pm50,58	330,77 \pm 69,49	72,0	598,86\pm149,15	384,83\pm99,03a	406,44\pm121,01a	51,1
M8	296,91 \pm 53,90	114,46 \pm 30,46	239,68 \pm 50,84	67,5	397,53 \pm 69,42	262,36 \pm 86,34ab	266,35 \pm 58,13a	51,0

Nota: Letras diferentes em coluna indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$.

Anexo XIV - Concentração de ascorbato total, oxidado (DAsA) e reduzido (AsA) (média \pm desvio-padrão) e percentagem de redução (%) na epiderme dos frutos das diferentes modalidades em ensaio à colheita. Destacaram-se a negrito os valores superiores referentes a cada parâmetro.

Modalidade	Concentração de ascorbato ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca)			
	17/ago			
	Total	AsA	DAsA	%Redução
M1	0,40 \pm 0,34	0,10 \pm 0,16	0,40 \pm 0,41	28,1
M2	0,43 \pm 0,42	0,19 \pm 0,26	0,39 \pm 0,43	38,1
M3	0,77 \pm 0,85	0,20 \pm 0,30	0,85 \pm 0,40	11,1
M4	0,08 \pm 0,14	0,22 \pm 0,37	0,18 \pm 0,19	33,3
M5	0,82 \pm 0,51	0,35 \pm 0,31	0,58\pm0,47	41,1
M6	1,03\pm0,50	0,68\pm0,63	0,39 \pm 0,30	53,5
M7	0,53 \pm 0,39	0,19 \pm 0,28	0,50 \pm 0,16	21,6
M8	0,32 \pm 0,27	0,24 \pm 0,33	0,19 \pm 0,27	59,2

Anexo XV - Concentração de glutatona total, oxidada (GSSG) e reduzida (GSH) (média ± desvio-padrão) e percentagem de redução (%) na epiderme dos frutos das diferentes modalidades em ensaio em dois momentos da campanha. Destacaram-se a negrito os valores superiores referentes a cada parâmetro.

Modalidade	Concentração de glutatona ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca)							
	05/jul				17/ago			
	Total	GSSG	GSH	%Redução	Total	GSSG	GSH	%Redução
M1	135,83±70,69	40,09±9,27b	115,78±70,00b	69,7	368,55±48,37	90,82±14,64ab	323,14±49,77a	77,8
M2	312,33±104,07	124,75±21,15a	249,95±107,86ab	62,4	305,39±83,15	73,71±13,59ab	268,54±82,63ab	77,6
M3	342,44±56,13	120,45±47,38a	282,21±49,78a	70,8	319,39±50,13	88,83±24,45ab	274,97±46,32a	75,7
M4	321,67±54,33	103,05±29,64ab	270,14±49,52ab	72,4	289,30±70,01	70,81±13,63ab	253,89±70,69ab	77,5
M5	321,83±34,44	103,65±39,90ab	270,01±44,73ab	72,3	210,32±21,31	82,03±8,88ab	169,30±17,83b	67,3
M6	207,24±74,73	111,40±44,43ab	151,54±74,55ab	55,7	188,09±8,67	72,04±8,65ab	152,07±12,21b	67,8
M7	272,65±68,80	94,62±25,00ab	225,34±66,07ab	69,2	285,44±30,07	91,42±14,02a	239,72±32,41ab	72,2
M8	265,58±69,62	134,77±20,48a	198,20±71,67ab	57,5	202,19±27,45	64,49±7,16b	169,94±26,92b	72,3

Nota: Letras diferentes em coluna indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$.

Anexo XVI - Concentração de ascorbato total, oxidado (DAsA) e reduzido (AsA) (média ± desvio-padrão) e percentagem de redução (%) na polpa dos frutos das diferentes modalidades em ensaio à colheita. Destacaram-se a negrito os valores superiores referentes a cada parâmetro.

Modalidade	Concentração de ascorbato ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca)			
	17/ago			
	Total	AsA	DAsA	%Redução
M1	1,26±0,37	0,22±0,26	1,21±0,53	17,1
M2	1,22±0,40	0,35±0,86	1,14±0,72	17,0
M3	1,41±0,94	0,24±0,35	1,29±0,93	17,7
M4	1,32±0,82	0,49±0,99	1,02±0,64	23,0
M5	1,22±0,47	0,12±0,29	1,38±0,61	7,5
M6	1,65±1,19	0,03±0,06	1,94±1,09	0,8
M7	1,11±1,13	0,23±0,40	1,08±0,78	24,0
M8	1,64±0,56	0,15±0,30	1,79±0,63	9,0

Anexo XVII - Concentração de glutatona total, oxidada (GSSG) e reduzida (GSH) (média ± desvio-padrão) na polpa dos frutos das diferentes modalidades em ensaio em dois momentos da campanha. Destacaram-se a negrito os valores superiores referentes a cada parâmetro.

Modalidade	Concentração de glutatona (μmolg^{-1} de massa fresca)							
	05/jul				17/ago			
	Total	GSSG	GSH	%Redução	Total	GSSG	GSH	%Redução
M1	35,73±5,91	157,97±100,36ab	-43,25±48,59ab	-31,3	200,42±56,16	55,51±8,46	172,66±56,38ab	74,6
M2	61,45±72,72	97,15±30,57b	12,88±74,02ab	-5,6	207,95±34,04	64,23±36,47	175,84±46,60ab	73,0
M3	49,34±22,93	235,50±81,76a	-68,41±53,76b	-39,3	227,62±47,03	66,89±11,23	194,18±47,52ab	73,7
M4	191,27±141,82	102,28±26,38ab	140,13±137,71a	40,6	220,96±34,88	63,86±20,83	189,04±36,63ab	74,6
M5	126,37±125,38	101,07±25,97ab	75,83±127,29ab	22,6	201,58±17,49	58,36±10,22	172,41±17,49ab	74,7
M6	156,57±163,78	101,83±21,45ab	105,65±158,37ab	23,2	331,92±34,67	53,42±12,91	305,20±29,63a	85,3
M7	66,82±27,36	105,84±37,17ab	13,90±36,55ab	10,3	181,88±34,67	46,47±12,91	158,65±29,63b	77,7
M8	240,40±173,76	176,78±30,32ab	152,01±172,78a	32,6	235,10±21,07	56,34±22,69	206,93±27,07ab	78,6

Nota: Letras diferentes em coluna indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis para $p < 0,05$ e $n=6$.