

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
Agroindustrial



Tese

**Causas da redução da firmeza de polpa e de alterações
na epiderme em caqui 'Fuyu'**

Edson Luiz de Souza

Pelotas, junho de 2010

EDSON LUIZ DE SOUZA

Engenheiro Agrônomo

Causas da redução da firmeza de polpa e de alterações na epiderme em caqui 'Fuyu'

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Ciência e Tecnologia Agroindustrial).

Comitê de orientação:

Prof. Dr. Cesar Valmor Rombaldi

Pesq. Dr. Luiz Carlos Argenta

Pesq.^a Dr.^a Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza

Pelotas, junho de 2010

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

S729c Souza, Edson Luiz de

Causas da redução da firmeza de polpa e de alterações na epiderme em caqui 'Fuyu' / Edson Luiz de Souza; orientador Cesar Valmor Rombaldi; Luiz Carlos Argenta e Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza.- Pelotas,2010.-111f. ; il. Tese (Doutorado) –Programa de Pós-Graduação em Ciência e tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2010.

1.caqui 'fuyu' 2.estrias 3.danos por frio
4.Armazenamento 5.distúrbios 6.amolecimento
I.Rombaldi, Cesar Valmor(orientador) II .Argenta, Luiz Carlos III.Valdebenito-Sanhueza, Rosa Maria IV.Título.

CDD 634.65

Banca examinadora:

PROF. DR. CESAR VALMOR ROMBALDI – ORIENTADOR

PROF. DR. LEONARDO NORA

PROF. DR. MARCELO BARBOSA MALGARIM

PESQ. DR. CARLOS AUGUSTO POSSER SILVEIRA

PESQ. DR. JOÃO PETERSON PEREIRA GARDIN

Agradecimentos

Ao professor Cesar Valmor Rombaldi, Luiz Carlos Argenta e Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza, pela orientação, confiança, oportunidade e companheirismo na realização desse trabalho.

Aos colegas da Epagri, em especial de Videira e Caçador, do Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças/Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e Embrapa, pelo apoio na execução dos experimentos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, pelos conhecimentos e experiência em ciência transmitidos.

A equipe de trabalho, pela ajuda, convívio e companheirismo durante a execução dos experimentos e elaboração dos artigos.

Aos produtores rurais e armazenadores que gentilmente cederam os frutos analisados nos experimentos.

A Rinaldi Astec pelo apoio recebido.

Aos membros da Banca Examinadora, pela participação e sugestões para melhoria do trabalho.

Finalmente, aos meus familiares, Nair, André, Fernando e Karine, pela paciência, carinho, incentivo e amor em todos os momentos.

Meus sinceros agradecimentos

Resumo

SOUZA, EDSON LUIZ DE. **CAUSAS DA REDUÇÃO DA FIRMEZA DE POLPA E DE ALTERAÇÕES NA EPIDERME EM CAQUI 'FUYU'**, 2010. 111f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas.

Dentre os problemas mais frequentemente citados pelos armazenadores de caquis 'Fuyu', destacam-se a ocorrência de distúrbios fisiológicos como o escurecimento epidérmico, a degenerescência e a redução da firmeza de polpa. Porém, ainda não se tem disponível a quantificação desses problemas, tampouco as causas, ou medidas preventivas. Nesse contexto, durante o período de 2007 a 2010 foi conduzido um conjunto de experimentos de modo a: 1) realizar diagnóstico, ao menos parcial, da qualidade dos caquis dessa cultivar produzidos nos estados de SC, PR e RS; 2) avaliar respostas tecnológicas à aplicação de nitrogênio (N) na pré-colheita, prática comumente empregada para aumentar produtividade; 3) monitorar a evolução do acúmulo de açúcares correlacionando-a com a região de produção e ocorrência de fissuras epidérmicas; e, 4) estudar o efeito da aclimação dos frutos antes do armazenamento refrigerado como meio de se induzir maior tolerância ao frio. Desse conjunto de experimentos observou-se que efetivamente há significativa ocorrência de distúrbios fisiológicos em caquis; 'Fuyu', mas a causa exata não foi posta em evidência. Provavelmente trata-se de uma resposta multifatorial, resultante de desequilíbrio da nutrição mineral, condições do clima e manejo da planta. No que tange à suplementação de nitrogênio, verificou-se que esse macronutriente contribui para o aumento do número de frutos por planta e a produtividade, sem comprometer a qualidade geral, exceto a coloração que se mantém menos alaranjada e a diminuição da firmeza de polpa em doses mais elevadas. Quando se compararam frutos de caqui 'Fuyu' de pomares com altitudes distintas, verificou-se que aqueles provenientes de maiores altitudes acumulam maiores teores de açúcares, e inclusive sorbitol, detectando-se maior incidência de fissuras na epiderme. Finalmente, demonstrou-se que a aclimação de caquis a 23 ± 3 °C por dois dias antes do armazenamento refrigerado estimula um maior acúmulo de transcritos de genes putativos de HSPs citosólicos, mitocondriais, cloroplásticos e do sistema de transporte endomembranário, maior acúmulo de expansinas e enzimas envolvidas na solubilização da parede celular, resultando numa adequada evolução da maturação após a estocagem refrigerada. Esses resultados trazem uma significativa contribuição para o conhecimento tecnológico, tendo em vista que se trata de um tratamento pré-armazenamento, facilmente aplicável pelos produtores e armazenadores de caquis.

Palavras-chave: armazenamento, distúrbios, danos por frio, estrias, amolecimento.

Abstract

SOUZA, EDSON LUIZ DE. **CAUSES OF FLESH SOFTENING AND EPIDERMIS DAMAGES IN 'FUYU' PERSIMMON, 2010. 111f. Thesis (Doctor Degree in Agroindustrial Science and Technology). Universidade Federal de Pelotas.**

Among the most common problems mentioned by traders of 'Fuyu' persimmon, are physiological disorders, such as epidermal browning, degeneracy and pulp firmness reduction. But we still do not have available a quantification of these problems, either the causes or preventive measures. In this context, during the 2007-2010 period was carried out a series of experiments in order to: 1) perform diagnosis, at least in part, of persimmons quality of this cultivar produced in the states of SC, PR, RS; 2) assess technological responses by applying nitrogen (N) at pre-harvest, a practice commonly employed to increase productivity, 3) monitor changes in sugar accumulation and its correlation with the production region and the occurrence of skin cracks and 4) study the acclimation effect of fruits before cold storage as a means to induce increased tolerance to cold. Of this set of experiments we observed that indeed there are significant physiological disorders in 'Fuyu' persimmons, but the exact cause was not put in evidence. Probably, this is a multifactorial response resulting from the mineral nutrition, weather conditions and plant management. Regarding N supplementation, it was found that this macronutrient contributes to the increasing on number of fruits per plant and productivity, without compromising the overall quality, except the color that remains less orange and the decrease in pulp firmness at higher doses. When compared to fruit 'Fuyu' persimmon orchards with different altitudes, it was found that those from higher altitudes accumulate higher concentrations of sugars, including sorbitol, detecting a higher incidence of skin cracks. Finally, it was shown that the persimmons acclimation at 23 ± 3 °C for two days before the cold storage stimulates a higher accumulation of putative genes transcripts of HSPs cytosolic, mitochondrial, chloroplastic and of endomembranes transport system, higher accumulation of expansins and enzymes involved in cell wall solubilization, resulting in an appropriate evolution of ripening after refrigerated storage. These results bring a significant contribution to the technological knowledge in order that it is a treatment pre-storage, easily applied by producers and hosts of persimmons.

Keywords: storage, disorder, chilling injury, skin crack, softening.

Lista de Figuras

- Figura 1. Artigo 3** - Evolution of total soluble solids (TSS) in Fuyu persimmon fruit during ripening on the tree in orchards H and L. Forty two (42) day before the fully ripe stage (0 day) corresponded to the first effective sampling, performed on 15th March 2008 and 15th April 2008, in orchards L (about 300 m altitude) and H (about 900 m altitude), respectively.....77
- Figura 2. Artigo 3** - Evolution of total soluble sugars in Fuyu persimmon fruit during ripening on the tree in orchards H and L. Forty two (42) day before the fully ripe stage (FRS) corresponded to the first effective sampling, performed on 15th March 2008 and 15th April 2008, in orchards L (about 300 m altitude) and H (about 900 m altitude), respectively.....78
- Figura 3. Artigo 3** - Occurrence of skin cracks (%) in Fuyu persimmon fruit during ripening on the tree in orchards L and H. Forty two (42) day before the fully ripe stage corresponded to the first effective sampling, performed on 15th March 2008 and 15th April 2008, in orchards L (about 300 m altitude) and H (about 900 m altitude), respectively.....79
- Figura 4. Artigo 3** - Evolution of total soluble solids (TSS), sucrose, glucose, fructose and sorbitol in the flesh of Fuyu persimmon under surfaces with or without skin cracks. The fruit was harvested from orchard H (about 900 m altitude), forty two (42) day before the fully ripe stage (FRS).....80
- Figura 1. Artigo 4** - Flesh firmness (FF), soluble solid (SS) content, ethylene production and ascorbic acid (AA) content in 'Fuyu' persimmon under three different treatments: T1- 23 ± 3 °C and RH of 85 ± 5% for 12 days (0: harvest; 2; 4; 6; 8; 10; 12 days); T2- 1 ± 1 °C and RH of 85 ± 5% for 30 days, followed by storage at 23 ± 3 °C and RH of 85 ± 5% for two days; T3- 23 ± 3 °C and RH of 85 ± 5% for two days followed by the same conditions of T2 for 30 days.....100
- Figura 2. Artigo 4** - Variation of enzyme activity for endo-1,4-β-glucanase (endo-1,4-β-gluc), pectin-methyl-esterase (PME), polygalacturonase (PG) and β-galactosidase (β-gal) in 'Fuyu' persimmon under three different treatments: T1- 23 ± 3 °C and RH of 85 ± 5% for 12 days (0: harvest; 2; 4; 6; 8; 10; 12 days); T2- 1 ± 1 °C and RH of 85 ± 5% for 30 days, followed by storage at 23 ± 3 °C and RH of 85 ± 5% for two days; T3- 23 ± 3 °C and RH of 85 ± 5% for two days followed by the same conditions of T2 for 30 days.....101
- Figura 3. Artigo 4** - Immunodetection of expansins in 'Fuyu' persimmons during ripening at room temperature (T1) (1: harvest; 2; 3; 6; 4; 8; 5: 10 days), after cold storage (T2) (1: removal from cold chamber; 2: 0.5; 3: 1; 4: 1.5; 5: 2 days) and after acclimatization followed by CS (T3), (1: removal from cold chamber; 2: 0.5; 3: 1; 4: 1.5; 5: 2 days).....102
- Figura 4. Artigo 4** - Relative mRNA accumulation in 'Fuyu' persimmon fruits as a function of ripening time at room temperature (T1) after harvest, after cold storage (T2) and after acclimatization followed by CS (T3).....103

Lista de Tabelas

- Tabela 1. Artigo 1** - Firmeza da polpa (FP), teores de sólidos solúveis (SST), índice de cor da epiderme (cor), massa e número de sementes na colheita, média (\bar{x}) das três regiões (RS, SC, PR), desvio padrão (s), média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm s$), valor máximo (Máx) e mínimo (Min) de caquis 'Fuyu' do Sul do Brasil, anos 2007 e 2008.....39
- Tabela 2. Artigo 1** - Teores médios de minerais na polpa fresca de frutos, média (\bar{x}) das três regiões (RS, SC, PR), desvio padrão (s), média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm s$), valor máximo (Máx) e mínimo (Min) de caquis 'Fuyu' do Sul do Brasil, anos 2007 e 2008.....40
- Tabela 3. Artigo 1** - Teores médios de minerais nas folhas, média (μ) das três regiões (RS, SC, PR), desvio padrão (s), média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm s$), valor máximo (Máx) e mínimo (Min) de caquis 'Fuyu' do Sul do Brasil, anos 2007 e 2008.....41
- Tabela 4. Artigo 1** - Firmeza da polpa (FP), teores de sólidos solúveis (SST), índice de cor da epiderme e porcentagem de frutos afetados pelo sintoma de translucidez, podridão, Pintas Pretas Grandes (PPG) e Pintas Pretas Pequenas (PPP) após a armazenagem, média (μ) das três regiões (RS, SC, PR), desvio padrão (s), média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm s$), valor máximo (Máx) e mínimo (Min) de caquis 'Fuyu' do Sul do Brasil, anos 2007 e 2008.....42
- Tabela 5. Artigo 1** - Coeficientes de correlação de Pearson para firmeza de polpa (FP), cor da epiderme (cor), sólidos solúveis (SST), número de sementes (SEM), massa, nitrogênio na folha (N_F), potássio na folha (K_F), cálcio na folha (Ca_F), boro na folha (B_F), cobre folha (Cu_F), nitrogênio na polpa (N_P), potássio na polpa (K_P), translucidez (TRA), podridões (POD), estrias, pintas pretas grandes (PPG) e pintas pretas pequenas (PPP) na colheita (C) e após o armazenamento (PA) em caqui 'Fuyu', da região Sul do Brasil, anos 2007 e 2008.....43
- Tabela 6. Artigo 1** - Precipitação, temperatura média compensada, temperatura máxima média, temperatura mínima média, umidade relativa do ar, latitude e altitude média nos pomares de três regiões do sul do Brasil, nos três meses que antecedem a colheita de caqui 'Fuyu', anos 2007 e 2008.....44
- Tabela 1. Artigo 2** - Precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar (UR) do mês de abril e porcentagem de frutos afetados com 'estrias', podridões, pintas pretas grandes (PPG) e pintas pretas pequenas (PPP), em pomar de caquizeiro 'Fuyu', no município de Rio das Antas, SC, considerando diferentes anos, independentemente das doses de nitrogênio.....58
- Tabela 2. Artigo 2** - Média de frutos recém formados (FRF), porcentagem média do índice de queda prematura de frutos (IQP), produtividade, massa média e porcentagem de frutos moles na colheita, em função das diferentes doses de nitrogênio ($kg\ ha^{-1}$) aplicadas, nos diferentes anos, em pomar comercial de caquizeiro 'Fuyu', no município de Rio das Antas, SC.....59

Tabela 3. Artigo 2 - Firmeza da polpa (FP), teores de sólidos solúveis (SST) e índice de cor da epiderme na colheita e após o armazenamento (45+7 dias) de frutos de caqui 'Fuyu', nos diferentes anos e doses de adubação nitrogenada ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), em pomar comercial no município de Rio das Antas, SC.....60

Tabela 4. Artigo 2 - Porcentagem de frutos de caquis 'Fuyu' afetados por estrias, podridões, pintas pretas grandes (PPG), pintas pretas pequenas (PPP), porcentagem de frutos não firmes e translúcidos, após o armazenamento, nos diferentes anos e doses de adubação nitrogenada (kg ha^{-1}), em pomar comercial no município de Rio das Antas, SC61

Tabela 5. Artigo 2 - Teores médios de minerais na polpa fresca de frutos de caquis 'Fuyu' em diferentes anos e doses de adubação nitrogenada (kg ha^{-1}), em pomar comercial no município de Rio das Antas, SC.....62

Tabela 6. Artigo 2 - Teores de minerais nas folhas de caquizeiro 'Fuyu' em diferentes anos e doses de adubação nitrogenada (kg ha^{-1}), de um pomar comercial no município de Rio das Antas, SC.....63

Sumário

Resumo.....	v
Abstract.....	vi
Lista de Figuras.....	vii
Lista de Tabelas.....	viii
1. Introdução Geral.....	11
Artigo 1: Diagnóstico da qualidade e teores minerais de caquis ‘Fuyu’ produzidos no Sul do Brasil.	18
Resumo	20
Abstract.....	22
Introdução.....	23
Material e Métodos	24
Resultados e Discussão	27
Referências Bibliográficas	34
Artigo 2: Efeitos da adição de nitrogênio no solo sobre a produtividade e qualidade dos frutos de caqui na colheita e após a armazenagem.	45
Resumo	46
Abstract.....	47
Material e Métodos	48
Resultados e Discussão	50
Conclusões.....	54
Referências bibliográficas.....	54
Artigo 3: Skin cracks occurrence in persimmon (<i>Diospyros kaki</i> Thunb.) ‘Fuyu’ produced at different altitudes.	64
Abstract.....	66
Resumo	67
Introduction.....	67
Material and Methods	69
Results and Discussion	71
References	74
Artigo 4: Enzymatic activity, accumulation of proteins and softening of persimmon (<i>Diospyros kaki</i> Thunb.) flesh as a function of pre-cooling acclimatization.....	81
Abstract.....	84
1. Introduction	85
2. Material and Methods	86
3. Results.....	91
4. Discussion	93
References	96
2. Considerações finais	104
3. Referências Bibliográficas	106

1. Introdução Geral

O gênero *Diospyros* pertence a família das Ebenáceas e tem mais de 2000 espécies no mundo, mas as de interesse comercial para produção de frutos são pertencentes a *D. kaki*, *D. lotus* e *D. virginiana*, sendo a *D. kaki* a de maior destaque (Iglesia Gonzalez & Sotes Ruiz, 1985).

No Brasil a sua produção tem aumentado nos últimos anos. Comparada com as demais fruteiras, a produção de caqui foi a que mais cresceu no período de 1991 a 2005 no Brasil (Fioravanço & Paiva, 2007).

Com base nos dados da FAO, no ano de 2007, o Brasil foi o quarto maior produtor mundial de caqui com 159,8 mil t, ficando atrás da China, Coréia do Sul e Japão e com a segunda maior produtividade (19,8 t/ha), ficando atrás da Eslovênia (20 t/ha), mas superior a tradicionais países produtores, como Nova Zelândia, Coréia do Sul, Japão, Austrália e China.

Os principais estados produtores do país são São Paulo com 88,2 mil t, seguido pelo Rio Grande do Sul com 30,2 mil t e Paraná com 22,3 mil t (IBGE, 2008).

O caquizeiro se adaptou a diversas condições climáticas, como em clima temperado, subtropical (Kitagawa & Glucina, 1984) e tropical (Mowat et al., 1995). A cultura se adapta à pequena propriedade, devido a sua alta produtividade, menor demanda por tecnologias de produção e menor uso de agrotóxicos, comparada a outras fruteiras de clima temperado. Entre as diversas cultivares de *D. kaki* plantadas no Sul do Brasil, 'Fuyu' e 'Kioto' são as principais. A cultivar Fuyu produz somente flores femininas, frutos de tamanho grande e firmes, podendo ou não apresentar sementes, com polpa não adstringente e de coloração amarelada no início da maturação e alaranjada quando bem madura (Matos, 1993; Fioravanço & Paiva, 2007). O fato de o caqui 'Fuyu' poder ser consumido ainda firme e crocante favorece o seu manuseio, transporte e comercialização.

O crescimento em diâmetro do fruto segue uma curva sigmóide dupla típica, composta de duas fases de crescimento rápido, a fase I e III, separados por um período de crescimento lento (fase II) (Kitagawa & Glucina, 1984; Zheng et al., 1990; Sugiura et al., 1991; Candir et al., 2009). O estágio I está associado aos processos de divisão e diferenciação celular, com duração de 60 a 100 dias, o estágio II, com

pouca atividade metabólica, com duração de 20 a 40 dias e o estágio III, com duração de 40 a 50 dias, onde ocorrem os processos de alongação e maturação celular (Mowat & George, 1994).

Mudanças gradativas da coloração da casca dos frutos de verde para vermelho, redução da firmeza da polpa e aumento no teor de sólidos solúveis totais (SST) ocorrem com o avanço da maturação (Krammes et al., 2007) e o maior aumento de SST ocorre no último mês antes da colheita, durante o estágio III, quando pronunciadas mudanças na cor da epiderme e amaciamento dos frutos são observadas (Candir et al., 2009).

A firmeza de polpa é um fator de qualidade em frutos para o consumo *in natura*, pois indica a tolerância do fruto ao transporte e manuseio durante a colheita e comercialização. Contudo, o mecanismo pelo qual os frutos amolecem não é completamente entendido. Tem sido sugerido que decréscimos na firmeza de polpa durante o amadurecimento de frutos são devido a alterações nas características dos polissacarídeos da lamela média da parede celular, cujos principais componentes são as substâncias pécticas (Batisse et al., 1994).

A parede celular é composta de microfibrilas de celulose inseridas em uma matriz de polissacarídeos (Carpita & Gibeaut, 1993), sendo as microfibrilas rígidas e inextensíveis, unidas através de redes coesivas de hemicelulose, pectinas e glicoproteínas estruturais. A pectina forma uma fase gel hidratada na qual está implantada a rede celulose-hemicelulose.

As principais proteínas envolvidas com o metabolismo e solubilização de macromoléculas da parede celular são expansinas, endo-1,4- β -glucanase (endo-1,4- β -gluc), β -galactosidase (β -gal), pectil-metil-esterase (PME) e poligalacturonase (PG) (Nakamura et al., 2003; Brummell, 2006).

As expansinas são proteínas capazes de afrouxar a parede celular, pois promovem o rompimento das ligações não-covalentes presentes na interface celulose-hemicelulose (Cosgrove, 1998). Elas facilitam a ruptura de pontes de hidrogênio entre celulose, pectinas e xiloglucanos na parede celular, favorecendo a ação de enzimas desesterificadoras ou hidrolíticas dessas moléculas (Barata-Soares et al., 2004). A expressão das expansinas relacionadas ao amadurecimento de frutos é regulada pelo etileno (Rose et al., 1997). Brummell & Harpster (2001) citam que a ação conjunta de expansinas com endo-1,4- β -glucanase provavelmente

contribui para o amolecimento de frutos, causando uma ruptura reversível de pontes de hidrogênio entre miofibras de celulose e xiloglucanos, o que em seguida favoreceria a solubilização desses polissacarídeos.

Segundo Smith et al. (1998), as β -Gal removem galactoses de cadeias de ramnogalacturanos, reduzindo a capacidade de interação dessas cadeias com outros polissacarídeos adjacentes, aumentando a solubilidade e diminuindo a firmeza de polpa.

Acredita-se que as PMEes estejam relacionadas com a desmetilesterificação dos homogalacturonanos (HGAs), já que esse processo é concomitante com o aumento da atividade dessas enzimas, que hidrolisam o grupamento metiléster da posição C-6 dos resíduos de HGAs das pectinas, formando pectinas com menor grau de metilação (Fischer & Bennett, 1991; Brummell & Harpster, 2001). Essas enzimas determinam, possivelmente, quais pectinas são suscetíveis ao ataque das PGs, que são as mais eficientes na degradação de pectinas desmetilesterificadas (Koch & Nevins, 1989). A atividade das PMEes é detectada durante todas as fases do desenvolvimento dos frutos, sendo picos observados quando os frutos são ainda pequenos e imaturos e logo ao início do processo de amadurecimento (Harriman et al., 1991).

As PGs são enzimas que catalisam a clivagem das ligações α -(1-4), podendo atuar de forma exo e endo, onde as exo-PGs removem unidades simples de ácido galacturônico somente das terminações não-redutoras dos HGAs e as endo-PGs clivam esse polímero de maneira aleatória (Brummell & Harpster, 2001).

O principal fitormônio envolvido na regulação do amadurecimento e senescência dos frutos é o etileno, podendo ser produzido em quase todas as partes dos vegetais superiores, sendo mais leve que o ar e facilmente liberado dos tecidos, se difundindo como gás através dos espaços intercelulares para o seu exterior (Taiz & Zeiger, 2009).

Os pesquisadores Yang & Hoffman (1984) comprovaram a rota de biossíntese do etileno tendo como precursor inicial a metionina. Hoje, a rota de biossíntese desse hidrocarboneto é conhecida com riqueza de detalhes, com identificação e isolamento das enzimas-chave, possibilitando a caracterização genética e a análise em nível molecular, dos acontecimentos do amadurecimento.

Sua via de biossíntese compreende a conversão da S-adenosil-metionina (SAM) em ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC) sob a ação da ACC

sintase, e a conversão do ACC em etileno, CO₂ e HCN (ácido cianídrico), pela ACC oxidase. O ACC, precursor imediato do etileno, pode ser malonilado, sob a ação da enzima N-malonil transferase (NMT), e ser então transportado para os vacúolos (Kende, 1993).

Segundo Taiz & Zeiger (2009), ao ligar-se a molécula receptora, o etileno promove ativação de um comando para o amadurecimento e ocasiona a degradação da clorofila, amido, açúcares, ácidos e pectinas, a síntese de pigmentos, produtos voláteis e ácido abscísico, além de polimerizar fenóis. O amadurecimento é controlado pelo etileno, pois é responsável pela estimulação de genes que codificam para proteínas que transformam a composição dos tecidos. Mas, o etileno não coordena todas as vias de amadurecimento já que existem vias dependentes e independentes do etileno.

O caquizeiro é uma espécie sensível ao etileno e por esse motivo a diminuição da produção desse hormônio faz com que se consiga prolongar a vida de prateleira do fruto, podendo ser obtido através da inibição da sua síntese e/ou da sua ação.

Uma das moléculas mais eficientes na inibição da síntese de etileno é a AVG (aminoetoxivinilglicina), que age ligando-se de forma reversível a enzima 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) sintase (Huai et al., 2001).

Na inibição da ação do etileno, substâncias que se ligam aos receptores nos sítios específicos das células bloqueiam a ação desse fitormônio. Os ciclopropenos, olefinas altamente efetivas, têm-se mostrado eficientes como antagonistas do etileno, com vantagem de apresentarem difusão mais lenta que o etileno para fora dos tecidos (Taiz & Zeiger, 2009). Mais promissor no controle do amadurecimento de frutos, hortaliças e flores, o 1-metilciclopropeno (1-MCP) age através da ligação, de forma irreversível, ao sítio receptor do etileno, inibindo assim, o seu estímulo fisiológico. O 1-MCP tem a habilidade de se ligar no mesmo sítio ativo do etileno, porém, sendo incapaz de promover as respostas fisiológicas desencadeadas por ele. O seu efeito protetor prolonga-se por um período e depois o tecido recupera sua sensibilidade ao etileno, amadurecendo normalmente (Feng et al., 2004).

Essas técnicas, aliadas ao armazenamento refrigerado, se tornam interessantes no aumento da conservabilidade dos frutos, tendo em vista que a colheita de caqui 'Fuyu' no sul do Brasil, normalmente ocorre num período

relativamente curto, durante os meses de março a maio, causando excesso de oferta, diminuindo os preços e afetando a rentabilidade do produtor.

Para amenizar o problema são sugeridas diversas medidas, como o uso de técnicas adequadas de armazenagem (Rombaldi et al., 2004), resultando em redução das pressões sazonais da oferta desses frutos, a antecipação da colheita (por exemplo, o uso de quebra de dormência, ou plantio de variedades mais precoces), o aumento da exportação e armazenamento de parte da produção visando estender o período de comercialização ou viabilizar o transporte marítimo ao hemisfério norte.

O frio é utilizado no controle da maturação e conservação da qualidade pós-colheita de caqui 'Fuyu' (Beede, 1983; Kitagawa & Glucina, 1984), sendo recomendadas três alternativas: a) armazenamento em ar refrigerado (AR) (Brackmann et al., 1997); b) armazenamento em atmosfera modificada (AM) (Ben-Aire & Zutkhi, 1992; Park & Lee, 2008); e, c) armazenamento em atmosfera controlada (AC) (Brackmann et al., 2006).

Com o emprego de AR, com temperaturas de 0 a 1 °C, o período seguro de armazenamento de caquis 'Fuyu' é inferior a 20 dias, pois ocorrem danos pelo frio (Rinaldi et al., 2001; Brackmann et al., 2006). Por isso, de maneira geral, não se recomenda o AR, pois praticamente a totalidade dos frutos apresenta degenerescência 1 a 2 dias após a retirada da câmara fria (George et al., 1997; Brackmann et al., 2006).

A aplicação de atmosfera modificada (AM) aumenta o potencial de conservação da qualidade pós-colheita de caqui 'Fuyu' (Maotani et al., 1982; MacRae, 1987; Ben-Arie & Zutkhi, 1992; Ferri et al., 2004), principalmente quando complementada com tratamento de adsorção de etileno (KMnO₄) (Neves et al., 2006) ou de inibição da ação do etileno com o uso do 1-metilciclopropeno (1-MCP), pois retardam o amolecimento da polpa dos frutos (Krammes et al., 2007; Girardi et al., 2003; Kim & Lee, 2005).

Ferri et al. (2007), trabalhando com caqui 'Fuyu', confirmou a superioridade da AC na conservação dos frutos, prolongando o período seguro de estocagem, em média, de sete dias em relação à AM, com adsorção de etileno, 14 dias em relação à AM, sem adsorção do etileno e, 28 a 49 dias em relação à AR a 10 ± 2 °C. A dificuldade do uso comercial de AC na cultura do caquizeiro se deve a alta capacidade volumétrica das câmaras existentes nas regiões produtoras de maçã,

fazendo com que na abertura das câmaras os frutos devam ser comercializados em poucos dias. Uma alternativa seria o uso de câmaras de menor capacidade, se não fosse o maior custo de construção, manutenção e operação do sistema.

A conservação da qualidade dos frutos após a colheita é limitada pela sua susceptibilidade a danos por frio e de outras desordens fisiológicas (por exemplo, o escurecimento da epiderme) e patológicas (podridões) (MacRae, 1987; Sargent et al., 1993; Bem-Arie & Zutkhi, 1992). As desordens fisiológicas se acentuam quando os caquis são removidos das câmaras frias e mantidos em condições ambientais com temperaturas mais elevadas, acima de 15°C (Woolf et al., 1997).

Outro dano por frio é a alteração de textura é provocada por danos pelo frio e é caracterizada pela perda da firmeza de polpa e por degenerescência interna generalizada, comumente resultando em frutos aguados ou translúcidos (Crisosto et al., 2008; Krammes et al., 2006). A perda de firmeza prematura não pode ser confundida com o amolecimento causado naturalmente pelo amadurecimento do fruto, já que não existem limites claros para diferenciá-los (Redpath et al., 2009).

As sintomatologias de escurecimento que têm sido detectadas em caquis, segundo Argenta (2006) são: 1) Pontos pretos (<2 mm) alinhados, formando feixes de linhas pontilhadas (estrias); 2) Manchas pretas levemente deprimidas (3 a 10 mm), distribuídas por toda a superfície dos frutos (pintas pretas grandes); 3) Manchas pretas pequenas (2 a 5 mm), não deprimidas, que ocorrem principalmente na região próxima ao cálice (pintas pretas pequenas); 4) Manchas escuras (chocolate) abaixo da epiderme, que pode se estender ao interior da polpa e aparecer externamente como uma escaldadura superficial.

As tentativas de armazenamento em câmaras frias têm gerado resultados variáveis, estando a qualidade da fruta estocada e a vida de prateleira relacionada com as condições de campo ocorridas em cada safra - efeito de ano e manejo de pomar (Argenta et al., 2009). Gonçalves et al. (2004) buscaram verificar se o escurecimento estava relacionado com a variabilidade genética e comprovaram a existência de variabilidade nos pomares, mas não foi verificada correlação com a ocorrência desses escurecimentos. Os mesmos autores verificaram que as estrias foram mais frequentes em frutos de pomares localizados em regiões com maior amplitude térmica e colhidos no estágio de maturação mais avançado, podendo os resultados estarem relacionados com a alta concentração de açúcares na epiderme,

aumentando a pressão osmótica numa fase em que a expansão de células já é limitada.

Mesmo com os avanços, é frequente a reclamatória dos produtores de que há variação de resposta a esses meios de armazenamento dependendo da safra, da região e do pomar, presumindo-se que as condições meteorológicas distintas em cada região, assim como o desequilíbrio mineral no solo/planta/fruto possam afetar a suscetibilidade para a ocorrência desses distúrbios. O desequilíbrio mineral pode ser exemplificado pelo uso da adubação nitrogenada com o intuito de aumentar a produtividade e o incremento do tamanho dos frutos, podendo prejudicar a qualidade pós-colheita, como a redução da firmeza de polpa, aumento do escurecimento de epiderme (Lee et al., 1993; Lee et al., 2003) e danos patológicos (Peres et al., 1995; Miller, 1989).

Com base na problemática descrita e nos dados disponíveis na literatura, acredita-se que os distúrbios fisiológicos são oriundos de causas múltiplas. Estudou-se alguns desses aspectos para disponibilizar informações para definição de procedimentos que proporcionem redução na ocorrência de amolecimento e escurecimento de epiderme de caquis cv. Fuyu.

Nesse contexto, quatro temáticas foram estudadas, sendo os resultados apresentados através dos respectivos artigos científicos:

Artigo 1: Diagnóstico da qualidade e teores minerais de caquis 'Fuyu' produzidos no Sul do Brasil;

Artigo 2: Efeitos da adição de nitrogênio no solo sobre a produtividade e qualidade dos frutos de caqui na colheita e após a armazenagem;

Artigo 3: Skin cracks occurrence in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) 'Fuyu' produced at different altitudes;

Artigo 4: Enzymatic activity, accumulation of proteins and softening of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) flesh as a function of pre-cooling acclimatization.

**Artigo 1: Diagnóstico da qualidade e teores minerais de caquis 'Fuyu'
produzidos no Sul do Brasil.**

15/5/2010

IHC Abstracts submission



28th International Horticultural Congress
Lisboa Congress Centre | August 22–27, 2010



IHC 2010

28th International Horticultural Congress Welcome, Mr. Edson Luiz De Souza Logout

Home

Presenting Author

Certification

Submit a abstract

My abstracts

My profile

Terms of use

Help

ABSTRACT

Abstract

Preferred form of presentation Poster

Keywords harvest, chilling, regions

Abstract submitted to At Large

Category S02 - Postharvest

Authors Souza, E. L.¹, Argenta, L. C.², Rombaldi, C. V.³, Amarante, C. V. T.⁴, Souza, A. L. K.⁵
1 - Epagri - Estação Experimental De Videira -Sc, Mailbox 21, 89 560 000, Videira, Santa Catarina, Brazil, 2 - Epagri - Estação Experimental De Caçador -Sc, Mailbox 591, Brazil, 3 - Universidade Federal De Pelotas -Rs, Mailbox 354, Brazil, 4 - Universidade Do Estado De Santa Catarina, Cav -Lages-sc, Brazil, 5 - Universidade Federal De Pelotas -Faem -Rs, Mail Box 354, Brazil

Title Diagnose of Fruit Quality and Mineral Contents of 'Fuyu' Persimmon Produced in Southern Brazil

Abstract This study was carried out to characterize fruit quality and mineral contents of 'Fuyu' persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.) produced in Southern Brazil, in 2007 and 2008. Additionally, leaves harvested in the summer were assessed for mineral content. Fruits were harvested at commercial maturity from 65 commercial orchards, and assessed in terms of quality after 45 days of storage under modified atmosphere (at 0±0.8oC), followed by seven days of shelf life (at 23oC). Fruits were treated with 1-MCP before storage to prevent chilling injury. At harvest, fruits had fresh mass of 223±42 g, soluble solids content (SSC) of 14.8±0.9 %, flesh firmness of 60.9±5.8 N and skin color index of 4.2±0.8 (on a 3.5 to 8.0 scale). The contents of N, P, K, Ca, and Mg in the fruit (mg.kg⁻¹ of fresh mass) were of 685±86, 291±86, 1611±195, 109±18, and 68±8, respectively. The contents of P, K, Ca, Mg, Mn and B in the leaves were similar to the values previously reported for different production areas, while the contents of Zn were lower, and N, Fe and Cu were higher. There was a negative correlation between fruit size and flesh firmness and Ca content, as well as between fruit SSC and N content in the leaves. The incidence of fruits with black groove disorder (lined black dots along the skin) varied from 15% to 59% in 68.3% of the orchards. There was not significant correlation between incidence of black groove disorder and fruit size, flesh firmness, skin color or SSC. However, the incidence of this disorder had a positive correlation with leaves N content. Fruit also exhibit a moderate incidence of black spot disorder on the skin (an average incidence of 11.5%), which had a positive correlation with fruit skin color index and flesh K content.

AHT - Abstract Handling Tool

Disclaimer

Diagnóstico da qualidade e teores minerais de caquis 'Fuyu' produzidos no Sul do Brasil

¹Edson Luiz de Souza, ²Luiz Carlos Argenta, ³Valmor Cesar Rombaldi, ⁴Cassandro Vidal Talamini do Amarante, ⁵André Luiz Kulkamp de Souza.

¹Epagri -Estação Experimental de Videira, Caixa Postal 21, CEP 89 560 000, Videira, SC. E-mail edsonluiz@epagri.sc.gov.br.

²Epagri -Estação Experimental de Caçador -SC, Caixa Postal 591.

³Universidade Federal de Pelotas RS, Caixa Postal 354.

⁴Universidade do Estado de Santa Catarina, CAV -Lages-SC.

⁵Universidade Federal de Pelotas -FAEM -RS, Caixa Postal 354.

Resumo

O presente estudo foi conduzido para caracterizar aspectos da qualidade e composição química mineral de caquis 'Fuyu' (*Diospyros kaki* L.) produzidos em pomares do sul do Brasil. Adicionalmente, caracterizou-se a composição química mineral das folhas colhidas no verão. Os frutos foram colhidos em 65 pomares comerciais, em 2007 e 2008, no período de colheita comercial de cada região e analisados na colheita e após 45 dias de armazenamento a $0\pm 0,8$ °C, sob atmosfera modificada, mais 7 dias a 22 ± 1 °C sob atmosfera do ar. Os frutos foram tratados com 1-MCP antes da armazenagem para prevenir danos por frio. Na colheita, os frutos apresentaram massa de 223 ± 42 g, teores de sólidos solúveis totais (SST) de $14,8\pm 0,9\%$, firmeza da polpa de $60,9\pm 5,8$ N e cor da epiderme de $4,2\pm 0,8$ (escala de 3,5 a 8). A concentração ($\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ de matéria fresca) de minerais na polpa foram de 685 ± 86 para N, 291 ± 86 para P, 1611 ± 195 para K, 109 ± 18

para Ca e 68 ± 8 para Mg. Os teores minerais de P, K, Ca, Mg, Mn e B nas folhas foram semelhantes aos relatados em estudos anteriores em diferentes regiões de produção, exceção feita ao zinco, que estava abaixo e ao nitrogênio, ferro e cobre, que estavam acima. A massa dos frutos se correlacionou negativamente com a firmeza da polpa e com a concentração de Ca, enquanto o teor de SST se correlacionou negativamente com o teor de N nas folhas. A incidência de frutos com o distúrbio 'estrias' variou de 15 a 59% em 68,3% dos pomares estudados. A incidência de frutos com estrias não se correlacionou com o tamanho, firmeza, coloração, nem com o teor de SST, mas se correlacionou positivamente com o teor de N nas folhas. Pintas Pretas Pequenas ocorreram em 11,5% dos frutos (média de todos pomares), correlacionando-se positivamente com a coloração da epiderme na colheita, estrias e teor de K na polpa.

Palavras-chave: colheita, danos por frio, regiões.

Diagnose of fruit quality and mineral contents of 'Fuyu' persimmon produced in Southern Brazil

Abstract

This study was carried out to characterize fruit quality and mineral contents of 'Fuyu' persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.) produced in Southern Brazil, in 2007 and 2008. Additionally, leaves harvested in the summer were assessed for mineral content. Fruits were harvested at commercial maturity from 65 commercial orchards, and assessed in terms of quality after 45 days of storage under modified atmosphere (at $0\pm 0,8$ °C), followed by seven days of shelf life (at 23 °C). Fruits were treated with 1-MCP before storage to prevent chilling injury. At harvest, fruits had fresh mass of 223 ± 42 g, total soluble solids content (TSS) of $14,8\pm 0,9\%$, flesh firmness of 60.9 ± 5.8 N and skin color index of $4,2\pm 0,8$ (on a 3,5 to 8 scale). The contents of N, P, K, Ca, and Mg in the fruit ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ of fresh mass) were of 685 ± 86 , 291 ± 86 , 1611 ± 195 , 109 ± 18 , and 68 ± 8 , respectively. The contents of P, K, Ca, Mg, Mn and B in the leaves were similar to the values previously reported for different production areas, while the contents of Zn were lower, and N, Fe and Cu were higher. There was a negative correlation between fruit weight and flesh firmness and Ca content, as well as between fruit TSS and N content in the leaves. The incidence of fruits with black groove disorder (lined black dots along the skin) varied from 15% to 59% in 68,3% of the orchards. There was not significant correlation between incidence of black groove disorder and fruit weight, flesh firmness, skin color or TSS. However, the incidence of this disorder had a positive correlation with leaves N content. Fruit also exhibit a moderate incidence of black spot disorder on the skin (an average incidence of 11,5%), which had a positive correlation with fruit skin color index, black groove and flesh K content.

KeyWords: harvest, chilling injury, regions.

Introdução

O caquizeiro é uma fruteira tipicamente subtropical que se adapta a diversas condições de clima e solo, inclusive das regiões de clima temperado (Kitagawa & Glucina, 1984).

Em 2007, o Brasil foi o quarto maior produtor mundial de caqui (159,8 mil t), ficando atrás da China (2333 mil t), Coréia do Sul (395,6 mil t) e Japão (244,8 mil t) e apresentam a segunda maior produtividade (19,8 t/ha) (FAO, 2009).

Os principais estados produtores no país no ano de 2008 foram São Paulo com 88,2 mil t, seguido pelo Rio Grande do Sul com 30,2 mil t e Paraná com 22,3 mil t (IBGE, 2009).

As principais cultivares plantadas no Sul do Brasil são Fuyu e Kioto. A cultivar Fuyu produz somente flores femininas, frutos de tamanho grande e firmes, podendo ou não apresentar sementes, com polpa não adstringente e de coloração amarelada no início da maturação e alaranjada quando bem madura (Matos, 1993; Fioravanço & Paiva, 2007).

A colheita no Brasil se concentra nos meses de março a maio e é característica para cada cultivar, variando segundo as condições de clima e as práticas culturais locais. Neste período há excesso de oferta, diminuindo os preços e afetando a rentabilidade do produtor. Esse fato evidencia a necessidade de se estender o período de oferta e comercialização após a colheita pelo uso de técnicas adequadas de armazenagem (Rombaldi et al., 2004).

A conservação da qualidade de caquis após a colheita é limitada pela sua susceptibilidade a danos por frio e de outras desordens fisiológicas e patológicas (MacRae, 1987; Sargent et al., 1993; Bem-Arie & Zutkhi, 1992). O desenvolvimento de manchas ou pintas pretas e de ‘estrias’ sobre a casca são os principais distúrbios que

depreciam a qualidade de caquis após a armazenagem quando se previne o desenvolvimento de danos por frio pela combinação de atmosfera modificada e inibição da ação do etileno com o uso de 1-MCP (Argenta et al., 2009). Mesmo com esses avanços, é frequente a reclamatória dos produtores de que há variação de respostas a esses meios de armazenamento e dependendo da safra, da região e do pomar, presumindo-se que as condições meteorológicas (por ex: precipitação e umidade relativa do ar (UR) distintas em cada região, assim como o desequilíbrio mineral no solo/planta/fruto possam afetar a suscetibilidade para a ocorrência desses distúrbios.

Um dos métodos usados para prognosticar a susceptibilidade de frutos ao desenvolvimento de distúrbios fisiológicos é a análise dos teores minerais das folhas e na polpa dos frutos (Johnson et al., 1987), podendo também indicar o vigor ou equilíbrio da planta, além de auxiliarem na recomendação de adubação para o pomar.

Nesse contexto, conduziu-se uma avaliação descritivo-experimental ampla, visando caracterizar aspectos de qualidade e os teores minerais de caquis ‘Fuyu’ produzidos em pomares comerciais do Sul do Brasil. Adicionalmente determinaram-se os teores minerais nas folhas e as possíveis correlações entre os teores minerais ou qualidade dos caquis na colheita e o desenvolvimento de distúrbios após o armazenamento em atmosfera modificada refrigerada, sob ação de 1-MCP.

Material e Métodos

Frutos de caquis ‘Fuyu’ maduro-firmes foram colhidos nos anos de 2007 e 2008, em 65 pomares comerciais de três regiões: 1) Encosta Superior do Nordeste do Rio Grande do Sul (34 pomares), 2) Meio Oeste de Santa Catarina (23 pomares) e 3) Região Metropolitana de Curitiba no Paraná (8 pomares). Os frutos foram colhidos no período de colheita comercial de cada região: 27 a 30 de março no Paraná (PR), 31 de março a 28 de abril, em Santa Catarina (SC) e 28 de abril a 20 de maio no Rio Grande do Sul

(RS). Uma amostra de 20 frutos de tamanho médio, representativo do pomar, foi destinada a análise na colheita e três amostras de 20 frutos foram embaladas em bolsa de polietileno de baixa densidade de 0,04 mm de espessura (de cada parede) e acondicionados em caixa plástica. A seguir, ainda com as bolsas abertas os frutos foram expostos a $0,6 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ de 1-MCP (EthyBlocTM, AgroFresh, Inc) por 12 horas, na temperatura ambiente ($\sim 18^\circ\text{C}$), em uma câmara metálica hermética, conforme descrito por Argenta et al. (2009). A seguir, todas as bolsas foram vedadas com uso de barbante de algodão para indução da atmosfera modificada (AM) e armazenadas em câmara por 45 dias a $0 \pm 0,8^\circ\text{C}$ e umidade relativa $77 \pm 7\%$. Após o período de armazenagem refrigerada, os frutos foram mantidos por 7 dias sob atmosfera do ar (AA) a $22 \pm 1^\circ\text{C}$, simulando dias de prateleira em ambiente desprovido de etileno.

A concentração de minerais nas folhas e nos frutos foi determinada conforme descrito por Basso et al. (1986). Os teores minerais foram determinados para folhas amostradas na primeira quinzena de fevereiro, através da coleta de 100 folhas completas e normais, de ramos da parte mediana de brotação do ano, com frutos, de 20 plantas representativas de cada pomar, escolhidas ao acaso. A análise mineral da polpa fresca dos frutos, conforme descrito por Suzuki & Argenta (1994), foi feita com vinte frutos por amostra, retirando-se uma fatia na forma de cunha com epiderme, de 1 cm de largura. Uma vez retirada, a amostra da polpa fresca foi triturada com um multiprocessador. Para a digestão foi retirada uma amostra homogênea de $\pm 5,0$ g para os tubos de digestão e a massa exata foi anotada para posterior cálculo de teores. A digestão foi realizada utilizando-se água oxigenada + ácido sulfúrico ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4$), segundo metodologia descrita por Tedesco et al. (1995) para tecidos de planta, adaptada para a análise de polpa fresca do fruto de macieira e caqui. Os teores de nitrogênio (N) foram determinados por Semi-Micro-Kjeldahl, os teores de potássio (K), cálcio (Ca) e

magnésio (Mg) por Espectrofotometria de Absorção Atômica e os teores de fósforo (P) determinados colorimetricamente pelo método do Vanádio-Molibdato de Amônia.

Foi realizada análise da qualidade dos frutos na colheita e após a armazenagem (45+7 dias), conforme descrito previamente por Krammes et al. (2006), onde avaliou-se a massa (polpa fresca) a coloração da epiderme, firmeza de polpa (FP) e teor de sólidos solúveis totais (SST). A cor foi medida na região equatorial do fruto, local onde era predominante, sendo feito leitura com auxílio da tabela japonesa de escala de cores, com índices de 3,5; 4; 5; 6; 7; e 8, onde 3,5 é amarelo, considerados frutos imaturos e 8 é vermelho-alaranjado, para frutos maduros (Yamazaki & Suzuki, 1980). Para determinar a FP e SST foram utilizados penetrômetro eletrônico e refratômetro digital, respectivamente. A quantificação de estrias, translucidez, podridões, pintas pretas pequenas e pintas pretas grandes foi realizada através de análise subjetiva de cada fruto, sendo a incidência desses distúrbios expressa em porcentagem dos frutos afetados com o sintoma.

Foram levantados nas três regiões em estudo a latitude e altitude média, além dos dados climáticos (precipitação, temperatura e umidade relativa) médios mensais durante os três últimos meses que antecederam a colheita em cada região nas safras 2006/2007 e 2007/2008 (Tabela 6).

Para cada variável foram calculadas as médias, a distribuição normal e o intervalo de um desvio padrão acima e abaixo da média, onde se encontram 68,3% das observações. Determinou-se a média de cada atributo de qualidade e teor mineral para cada pomar e para cada região. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) através do programa estatístico SAS (SAS Institute, Inc., 1992). Foram testados os índices de correlação de Pearson entre as variáveis, sendo considerados a probabilidade de 0,05 e 0,01.

Resultados e Discussão

A firmeza média dos frutos na colheita foi de 60,9 N, onde 68,3% das amostras estudadas apresentaram teores médios entre 55,6 e 66,7 N (considerando o valor do desvio padrão) (Tabela 1), valores semelhantes aos encontrados por Lyon et al. (1992), no Sul da Geórgia e Mason et al. (1989), em duas diferentes regiões da Nova Zelândia. Na colheita, os frutos dos pomares da região RS tiveram menor FP e os do PR maior, mas passaram a ter as mesmas condições quando analisadas depois do armazenamento (Tabela 4).

O teor médio de SST na colheita foi de 14,8%, variando entre 13,8 a 15,7% (Tabela 1), sendo menores que os encontrados no Japão (Kitagawa & Glucina, 1984) e na Flórida (Miller, 1989; Lyon et al., 1992) mas, maiores que os estudados na Nova Zelândia e Austrália (Mowat et al., 1997). Entretanto, Mason et al. (1992) afirmam que caquis 'Fuyu' na Nova Zelândia tem pouca cor e 12-14% de SST e ainda podem apresentar algum sabor adstringente, problema que não foi detectado nos caquis deste experimento.

Pela análise de correlação verificou-se que ela é negativa entre os teores de N nas folhas e o teor de SST nos frutos na colheita (Tabela 5). Isso era esperado, pois segundo George et al. (2003), elevados teores de N nas folhas, acima de 25 g.Kg⁻¹, resultam em frutos com menor teor de SST. Para esses autores o ideal situa-se entre 18 e 22 g.Kg⁻¹, sendo que a maioria das amostras avaliadas nesse trabalho apresentaram teores de N nas folhas entre 22,6 e 52,7 g.Kg⁻¹ (Tabela 3), indicando que os pomares apresentam-se provavelmente com vigor acima do recomendado por esse autor. Não ocorreu correlação entre SST na colheita com estrias, como encontrado por Iwanami et al. (2002).

O índice de cor de epiderme dos frutos teve média de 4,2 na colheita e 4,8 após o armazenamento (Tabela 1 e 4). Empregando a mesma escala de cores da tabela japonesa, Lyon et al. (1992), identificaram em caqui 'Fuyu' no sul da Geórgia índice médio de 4,1. Kitagawa & Glucina (1984) afirmam que geralmente o caqui 'Fuyu' é colhido no Japão com índice de cor 6, sendo que no Sul do Brasil não se atinge esse índice devido a colheita iniciar-se mais cedo para abastecer o mercado e não é tão tardia em função do risco de geadas no outono. Já o índice de cor da epiderme na colheita se correlacionou negativamente com incidência de translucidez, enquanto que a cor após o armazenamento se correlacionou negativamente com o teor de N nas folhas e positivamente com podridão e massa (Tabela 5). Da mesma forma, Krammes et al. (2005) concluiu que a aparência do dano por frio (translucidez) é mais evidente em frutos colhidos precocemente (menor índice de cor), embora o desenvolvimento de dano por frio (amolecimento da polpa) não seja afetado significativamente pelo ponto de colheita. Com relação a correlação com N nas folhas, Choi et al. (2009) afirma que a cor da epiderme pode melhorar com o menor suprimento de N durante o desenvolvimento dos frutos.

A massa média dos frutos nos 65 pomares foi de 223 g, com variação para a maioria dos frutos de 193,9 a 253,4 g (Tabela 1). Miller (1989) na Flórida, Mowat et al. (1997) na Nova Zelândia e Austrália e Kitagawa & Glucina (1984) no Japão encontraram valores semelhantes. A massa teve correlação inversamente proporcional aos teores de cálcio na polpa e FP na colheita (Tabela 5). Frutos com maior tamanho podem ter os seus componentes minerais mais diluídos, como o cálcio, afetando diretamente a firmeza dos frutos. Frutos das regiões RS e PR apresentaram maior massa que os de SC, provavelmente devido a condições climáticas, solo e manejo do pomar.

O número de sementes médio encontrado foi de 0,7 por fruto, variando de 0 a 1,7 (Tabela 1). Não foi encontrada correlação entre massa e número de sementes nos frutos, como descrito por Mason et al. (1989) na Nova Zelândia, comparando diferentes pomares, que relacionaram a maior massa dos frutos à presença de sementes. Nissen et al. (2003), num estudo em vários pomares em diferentes regiões na Austrália, afirmaram que frutos polinizados foram mais firmes, maiores e o pomar com maior produtividade. Ocorreu correlação negativa entre o número de sementes e FP na colheita (Tabela 5), ocorrendo também menor FP na colheita da região RS e SC e maior número de sementes dos frutos (Tabela 1). Frutos da região RS tiveram maior número de sementes, seguido por SC e PR, explicado pela preferência dos produtores dessa região em plantar polinizadoras para aumentar o índice de frutificação efetiva.

A concentração de minerais na polpa em mg.Kg^{-1} de matéria fresca (MF) foram de $684,8 \pm 86,2$ para o N, $291 \pm 86,1$ para o P, $1.611,43 \pm 194,9$ para o K, $108,6 \pm 17,7$ para o Ca e 68 ± 8 para o Mg (Tabela 2), resultados semelhantes aos encontrados por Takahashi et al. (2008) no estado do Paraná e no Japão por Sato et al. (1956). O N da polpa apresentou correlação positiva com potássio na polpa (Tabela 5). George et al. (2003) afirmam que o N e K são considerados moduladores chaves da produtividade do caquizeiro, e em baixas ou altas doses anuais de N, interfere na frutificação efetiva e queda natural dos frutos, diminuindo o número total de frutos por planta. A região RS teve na polpa menores teores de Ca e maiores de N e K, provavelmente devido a aplicação de maiores quantidades de fertilizantes pelos produtores. A região do PR teve os maiores teores na polpa de P e Mg, podendo estar relacionados com aplicação desses minerais no solo.

A composição mineral média das folhas dos 65 pomares em g.Kg^{-1} de matéria seca (MS) foi de 37,6 de N, 1,2 de P, 19,6 de K, 26 de Ca e 4,6 de Mg (Tabela 3),

valores semelhantes aos encontrados no Brasil (Takahashi et al., 2008), no Japão (Sato et al., 1954), em Taiwan (Wen-Lung & Yun-Ming, 2002) e na Turquia (Kaplan et al., 1997), exceção feita aos teores de N e Ca que estavam acima. De acordo com o Manual de Adubação e Calagem (Comissão de Fertilidade do Solo – RS/SC, 2006), os teores de N nas folhas acima de 28 g.kg⁻¹ de MS são considerados excessivos, e os teores médios encontrados foram ainda mais altos (PR: 40,5; SC: 35,9 e RS: 38,6) (Figura 1). O maior teor N, pode ser devido ao alto teor de matéria orgânica do solo (dados não determinados) e a aplicação de adubos nitrogenados pelos produtores, já o Ca pode estar relacionado a calagem feita nessas áreas e as inúmeras aplicações via folhar, comum nessas regiões. Os teores de Mg se encontram acima do mínimo recomendado (2,2 g.Kg⁻¹ de MS) por Kitagawa & Glucina (1984) para que não ocorram sintomas de deficiência desse nutriente. George et al. (2003) relatam que a relação Ca/K (determinados um mês antes da colheita) acima de 1,2 minimiza perdas com amolecimento dos frutos e os pomares estudados apresentaram relação média acima desse valor.

Os teores de K nas folhas (g.Kg⁻¹ de MS) foram de 21,7 (PR), 19,8 (SC) e 18,5 (RS) e a firmeza de polpa na colheita (Newtons) foi de 63,3 (PR), 61,8 (SC) e 59,2 (RS) (Tabela 1 e 3), demonstrando comportamento semelhante, onde a região RS teve os menores teores desse nutriente na folha e firmeza na colheita. Segundo o Manual de Adubação e Calagem, teores de K nas folhas menores de 20 mg.Kg⁻¹ (MS) são considerados abaixo do normal indicando que esse nutriente pode não estar sendo manejado adequadamente, já que principalmente nas regiões RS e SC, os valores médios encontram-se abaixo da faixa adequada. Esse nutriente pode ser lixiviado facilmente, causando perdas elevadas além de desequilíbrio em relação a outros elementos, como o Ca e Mg. Em pomares de caquizeiros muito vigorosos é

recomendado reduzir a adubação nitrogenada e aumentar a adubação de K. Foi observada correlação positiva entre teor de Ca na polpa com FP na colheita (Tabela 5). Ferri et al. (2002) observou efeito significativo de aplicação de cálcio na manutenção da FP em caquis 'Fuyu' armazenados 80 dias em AM refrigerada.

Os teores médios dos micronutrientes encontrados nas folhas em mg.Kg^{-1} de MS foram de 142,4 de Fe, 879,8 de Mn, 33 de Zn, 19 de Cu e 110,5 de B (Tabela 3), valores dentro dos padrões aceitáveis, de acordo com Wen-Lung & Yun-Ming (2002), exceção feita aos teores inferiores aos recomendados de Zn (49-89) encontrados na região de SC (20,5). Os teores de Mn encontrados foram acima dos mínimos recomendados por Kitagawa & Glucina (1984), abaixo dos quais (30 mg.Kg^{-1}) aparecem sintomas de deficiência nas folhas. Entre as diferentes regiões, os teores mais elevados de Fe encontrados em SC (189,7), comparados ao RS (96,4) e PR (107,7) podem ser devido a características intrínsecas do solo, como o maior teor de argila e origem basáltica desses solos (Júnior et al., 2004). Na região do PR os teores de B e Ca foram menores que os das demais regiões, mas dentro do intervalo citado como ideal por Wen-Lung & Yun-Ming (2002).

A incidência de frutos com translucidez após o armazenamento foi de 4,3%, com pomares atingindo até 42% dos frutos afetados com esse sintoma (Tabela 4). A incidência e a severidade dos danos por frio em caquis 'Fuyu' variam muito entre anos, indicando efeito do clima sobre a sensibilidade dos frutos a esse dano (MacRae, 1987). A porcentagem de frutos com translucidez foi maior na região do PR, seguido de SC e RS (Tabela 4), podendo ter relação com o comprimento do dia, ou menores temperaturas, devido a diferentes latitudes dessas regiões (Tabela 6). Ocorreu correlação inversamente proporcional da translucidez com a firmeza após o armazenamento.

O Ca na folha apresentou correlação diretamente proporcional com manchas pretas grandes e podridões (Tabela 5). O dano pelo frio durante o armazenamento refrigerado provoca alteração da estrutura da parede celular, tornando o fruto mais susceptível a incidência de manchas pretas grandes e podridões.

Aproximadamente 37% dos frutos apresentaram o distúrbio caracterizado como estrias. Considerando o desvio padrão, a incidência de frutos com estrias variou de 15 a 59% em 68,3% dos pomares estudados. A incidência de frutos com estrias não se correlacionou com o tamanho, firmeza, coloração, nem com o teor de SST, mas se correlacionou positivamente com o teor de N nas folhas (Tabela 5). Os índices de correlação indicam que frutos com estrias também desenvolveram pintas pretas pequenas. A incidência de estrias foi maior nos frutos dos pomares do PR, colhidos aproximadamente 34 a 54 dias antes do RS. Ferri et al. (2008) verificaram maior ocorrência de estrias em caquis provenientes de pomares cultivados com maior altitude, nos quais a colheita se realiza mais tardiamente, já nesse estudo a região com maior percentual de frutas com esse distúrbio (PR) teve a colheita mais precoce. A precipitação média mensal dos últimos três meses antes da colheita foi maior na região do PR (Tabela 6), o que pode ter contribuído para aumentar a porcentagem de frutos afetados. George et al. (1997) relaciona as estrias ao frio noturno e umidade no período de outono. Gonçalves et al. (2004) não constataram correlação de estrias com agrupamentos filogenéticos, atribuindo o problema, provavelmente, a condições climáticas e nutricionais, ao invés da cultivar.

Após o armazenamento, a incidência média de Pintas Pretas Grandes foi de 2,5% dos frutos, sendo que em um dos pomares a incidência de frutos com esse distúrbio foi de 46,7% (Tabela 4).

As Pintas Pretas Pequenas ocorreram em 11,5% dos frutos, com pomares atingindo até 70% (Tabela 4). Embora, aparentemente as pintas pretas sejam causadas por microorganismos patogênicos (Prusk et al., 1997) é possível que tanto o desenvolvimento das pintas pretas quanto das ‘estrias’ esteja relacionado a fatores micro-climáticos e/ou de manejo de pomares (Argenta, 2006). Esse distúrbio correlacionou-se positivamente com a coloração da epiderme na colheita e teor de K na polpa (Tabela 5).

Quanto às podridões após o armazenamento, em média, 9,3 % dos frutos apresentaram esse sintoma, com pomares com até 44% dos frutos afetados (Tabela 4). Ocorreu correlação diretamente proporcional entre podridões com a cor da epiderme após o armazenamento, translucidez e manchas pretas grandes e inversamente proporcional com a firmeza de polpa após o armazenamento. A região do PR apresentou maior porcentagem de frutos com podridão, podendo ser explicado pela maior precipitação e temperatura ocorrida nos três meses antes da colheita (Tabela 6).

Ao serem comparadas as principais variáveis analisadas por ocasião da colheita e após o armazenamento, verifica-se que, de modo geral, houve pouca evolução em termos de maturação, ou seja, a redução da firmeza de polpa e o aumento do teor de SST foram relativamente pequenos (Tabela 1 e 4). Isso indica que o sistema de armazenamento provavelmente reduziu significativamente o metabolismo, evitando a evolução da maturação. Os dados, no entanto, confirmam estudos anteriores demonstrando que o uso de AM refrigerada e 1-MCP não são suficientes para prevenção de ocorrência de alguns distúrbios da epiderme como estrias e manchas pretas (Argenta et al., 2009).

Em resumo, os resultados do presente estudo demonstram que o caqui ‘Fuyu’ produzido no Sul do Brasil se caracteriza pela boa qualidade em termos de tamanho,

coloração, teor de SST e concentração de minerais. Esses atributos de qualidade são semelhantes ou superiores aos de outros países produtores, exceto o Japão. No entanto, frutos produzidos no Sul do Brasil desenvolvem distúrbios na epiderme após a colheita caracterizados por estrias e pintas pretas. Nesse estudo, verificou-se que a incidência de estrias e pintas pretas é maior em pomares com maiores teores de N na folha e maior teor de K na polpa dos frutos respectivamente. Maior precipitação pluviométrica nos três meses antes da colheita resultaram em maior percentual de frutos afetados com estrias e podridões.

Referências Bibliográficas

ARGENTA, L. C. Descrição dos principais distúrbios em caqui 'Fuyu' após a armazenagem refrigerada. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 19, p. 49-52, 2006.

ARGENTA, L.C.; VIEIRA, M.J.; SCOLARO, A.M.T. Conservação da qualidade de caqui 'Fuyu' em ambiente refrigerado pela combinação de 1-MCP e atmosfera modificada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 323-333, 2009.

BASSO, C.; WILMS, F.W.W.; SUZUKI, A. Fertilidade do solo e nutrição da macieira. In: Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária S/A. **Manual da cultura da macieira**. Florianópolis, EMPASC-DID, 1986. p.236-265.

BEN-ARIE, R.; ZUTKHI, Y. Extending the storage life of 'Fuyu' persimmon by modified-atmosphere packing. **HortScience**, Alexandria, v.27, n.7, p.811-813, 1992.

CHOI, S.T.; AHN, G.H.; LEE, Y.C.; KANG, S.M. Effect of different autumnal nitrogen application dates on fruit characteristics and storage reserves of 'Fuyu' persimmon. **Horticulture Environment and Biotechnology**, v.49, N.1, p.25-29, 2008.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Recomendação de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 3 ed. Passo Fundo: SBCS- Núcleo Regional Sul; EMBRAPA-CNPT, 2004. 223p.

FAO. FAOSTAT: Production-crops. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>> Acesso em: 10 nov, 2009.

FERRI, V.C.; ROMBALDI, C.V; SILVA, J.A.; PEGORARO, C.; NORA, L.; ANTUNES, P.L.; GIRARDI, C.L.; TIBOLA, C.S. Boron and calcium sprayed on 'Fuyu' persimmon tree prevent skin cracks, groove and browning of fruit during cold storage. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2146-2150, 2008.

FERRI, V.C.; RINALDI, M.M.; LUCHETTA, L.; ROMBALDI, C.V. Qualidade de caquis Fuyu tratados com cálcio em pré-colheita e armazenados sob atmosfera modificada. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, vol.24, n. 2, p. 385-388, 2002.

FIORAVANÇO, J.C.; PAIVA, M.C. Cultura do caquizeiro no Brasil e no Rio Grande do Sul: situação, potencialidade e entraves para o seu desenvolvimento. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.37, n.4, p. 43-51, 2007.

GEORGE, A.P.; MOWAT, A.D.; COLLINS, R.J. Factors affecting blemishing of persimmon in New Zealand and Australia. **Acta Horticulturae**, Chang Mai City, v. 436, p. 171-178, 1997.

GEORGE, A.P.; NISSEN, R.J.; BROADLEY, R.H.; COLLINS, R.J. Improving the nutritional management of non-astringent persimmon in subtropical Australia. **Acta Horticulturae**, Queensland, v. 601, p. 131-138, 2003.

GONÇALVES, E.D.; TREVISAN, R.; SILVA, J.A.; ROMBALDI, C.V. Estudo da variabilidade genética e escurecimento epidérmico em caqui 'Fuyu' (*Diospyrus kaki*) após armazenamento refrigerado. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, vol. 26, n. 3, p. 555-557, 2004

IBGE. Lavouras permanentes. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 21 fev. 2009.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br>>. Acesso em 21 jan. 2010.

IWANAMI, H.; YAMADA, M.; SATO, A. A great increase of soluble solids concentration by shallow concentric skin cracks in Japanese persimmon. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 94, Issues 3-4, p. 251-256, 2002.

JOHNSON, D.S.; MARKS, M.J.; PEARSON, K. Storage quality of Cox's Orange pipin apples in relation to fruit mineral composition during development. **The Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.62, p.17-25, 1987.

JÚNIOR, A.V.I.; KLAMT, E.; NASCIMENTO, P.C. Composição da fase sólida mineral do solo. In: MEURER, E.J. Fundamentos de química do solo, 2. ed. Porto Alegre: Genesis, 2004. p.35-70.

KAPLANKIRAN, M.; DEMIRKESER, T.H.; TOPLU, C. Leaf nutrient content of some persimmon varieties under subtropical conditions in turkey. **Acta Horticulturae**, Adana, v. 441, p. 295-298, 1997.

KITAGAWA, H.; GLUCINA, P.G. **Persimmon culture in New Zealand**. Wellington: SIPC- Science Information Publishing Center, 1984. 74p.

KRAMMES, J.G.; ARGENTA, L.C.; VIEIRA, M.J. Influences of 1-methylcyclopropene on quality of persimmon fruit cv. Fuyu after cold storage. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 727, p. 513-518, 2006.

KRAMMES, J.G.; ARGENTA, L.C.; VIEIRA, M.J. Controle da maturação e conservação da qualidade pós-colheita de caqui 'Fuyu' pelo manejo do etileno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 360-365, 2005.

LYON, B.G; SENTER, S.D.; PAYNE, J.A. Quality characteristics of oriental persimmons (*Diospyros kaki* L. cv. Fuyu) grown in the Southeastern United States. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n. 3, p. 693-695,1992.

MACRAE, E.A. Development of chilling injury in New Zealand grown 'Fuyu' persimmon during storage. **New Zealand Journal of Experimental Agriculture**, Wellington, v.15, p. 333-344, 1987.

MASON, K.A.; GLUCINA, P.G.; MACRAE, E.A. Maturation and chilling sensitivity of 'Fuyu' persimmon fruit in New Zealand. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Wellington, v. 17, p. 251-257, 1989.

MASON, K.A.; GLUCINA, P.G.; MANSON, P.J. Covering Fuyu persimmon. **The Orchardist** – Mt Albert Research Centre, Auckland, Austrália, p. 40-41, 1992

MATOS, C.S. A cultura do caqui no meio-oeste catarinense: situação, potencial e perspectivas. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 6, n. 2, p. 38-41, 1993.

MILLER, E.P. Performance of non-astringent persimmons (*Disopyros kaki* L) in Florida. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**. University of Florida, v. 102, p. 199-202, 1989.

MOWAT, A.D.; GEORGE, A.P.; COLLINS, R.J. Macro-climatic effects on fruit development and maturity of non-astringent persimmon (*Diospyros kaki* L. cv fuyu). **Acta Horticulturae**, Chang Mai City, v. 436, p. 195-202, 1997.

NISSEN, R.J.; GEORGE, A.P.; BROADLEY, R.H.; COLLINS, R.J.. A survey of cultivars and management practices in Australian persimmon orchards. **Acta Horticulturae**, Queensland, v. 601, p. 179-187, 2003.

PRUSKY, D.; PEREZ, A.; ZUTKHI, Y. Effect of modified atmosphere for control of black spot, caused by *Alternaria alternata*, on stored persimmon fruits. **Phytopathology**, Palo Alto, v. 87, n. 2, p. 203-208, 1997.

ROMBALDI, C.V.; FERRI, V.C.; RINALDI, M.M.; SILVA, J.A.; LUCHETTA, L.; MARINI, L.; Ácido giberélico no retardamento da maturação de caquis cultivar Fuyu. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 001-005, 2004.

SARGENT, S.A.; CROCKER, T.E.; ZOELLNER, J. Storage characteristics 'Fuyu' persimmons. **Proceedings of the Florida State Society for Horticultural Science**, Tallahassee, v. 106, p. 131-134, 1993.

SAS Institute. **Doing more with SAS/ASSIST software**. Version 6. Cary: SAS Institute, 1992. 368p.

SATO, K.; ISHIHARA, M.; HARADA, R. Amounts of nutrients absorbed by persimmon trees. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 24, p. 217-221, 1956.

SATO, K.; ISHIHARA, M.; HARADA, R. Studies on the leaf analysis of fruit trees (II). **Nogyo gizitsu kenkyusho hokou**, E3, p. 169-186, 1954.

SUZUKI, A.; ARGENTA, L.C. Teores minerais na polpa das cvs. Gala e Golden Delicious e Fuji. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n. 1, p. 92-104, 1994.

TAKAHASHI, H.W.; OKUMURA, R.S.; FONSECA, I.C.B; TAKAHASHI, A.; SABINO, L.M.; IANCKIEVICZ, A. Concentração de macronutrientes nos ramos frutíferos ao longo do desenvolvimento do caquizeiro. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2008, Vitória - ES. **Anais do XX CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**, 2008.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p.

WEN-LUNG, L.; YUN-MING, H. Studies on the Fertilization of Sweet Persimmon in Taiwan, 2002. **Electronic Theses and Dissertations System**. Disponível em: <http://etds.ncl.edu.tw/theabs/english_site/detail_result_eng.jsp>. Acesso em: 11 jan, 2010.

YAMAZZAKI, T.; SUZUKY, K. Colour charts: Useful guide to evaluate fruit maturity. I. Colorimetric specifications of colour charts for Japanese pear, apple, peach, grape, persimmon and citrus fruits. **Bulletin of the Fruit Tree Research Station**, n. 7, p. 19-44, 1980.

Tabela 1. Firmeza da polpa (FP), teores de sólidos solúveis (SST), índice de cor da epiderme (cor), massa e número de sementes na colheita, média (\bar{x}) das três regiões (RS, SC, PR), desvio padrão (s), média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm s$), valor máximo (Máx) e mínimo (Min) de caquis ‘Fuyu’ do Sul do Brasil, anos 2007 e 2008

	FP (N)	SST %	Cor	Massa (g)	Sementes (n°)
RS	59,2b	14,6 a	4,5a	229,1a	1,2a
SC	61,8b	15,0 a	3,8b	210,3b	0,4b
PR	63,3a	14,4 a	4,0ab	225,9a	0,1c
\bar{x}^Z	60,9	14,8	4,2	223,2	0,7
s^Z	5,8	0,9	0,8	42,4	1,3
$\bar{x} \pm s^{*Z}$	55 a 66,7	13,8 a 15,7	3,4 a 5	180,2 a 265,6	0 a 1,7
Máx^Z	82,3	16,5	6	277.1	3,7
Mín^Z	47,6	12,1	2	165.5	0

^Z medidas determinadas a partir das médias de cada pomar desconsiderando a região.

* Previsto com base no desvio padrão quando houve distribuição normal significativa das médias de pomares.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Tabela 2. Teores médios de minerais na polpa fresca de frutos, média (\bar{x}) das três regiões (RS, SC, PR), desvio padrão (s), média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm s$), valor máximo (Máx) e mínimo (Mín) de caquis ‘Fuyu’ do Sul do Brasil, anos 2007 e 2008

	N	P	K	Ca	Mg
	mg.Kg ⁻¹ de polpa fresca (ppm)				
RS	719,0 a	293,0b	1682,3 a	103,2b	69,0 b
SC	644,0 b	275,0b	1554,5 b	115,6 a	66,0 c
PR	645,5 b	341,4 a	1556,3 b	115,1 a	72,0 a
\bar{x}^Z	684,8	291	1611,4	108,6	68,1
s^Z	86,2	86,4	194,9	17,7	7,6
$\bar{x} \pm s^*Z$	598,6 a 771	204,6 a 377,3	1425,4 a 1815,2	90,9 a 126,3	60,5 a 75,8
Máx^Z	921,0	440,3	2056,7	173,0	82,7
Mín^Z	481,7	120,7	1191,3	71,9	51,5

^Z medidas determinadas a partir das médias de cada pomar desconsiderando a região.

* Previsto com base no desvio padrão quando houve distribuição normal significativa das médias de pomares.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Tabela 3. Teores médios de minerais nas folhas, média (μ) das três regiões (RS, SC, PR), desvio padrão (s), média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm s$), valor máximo (Máx) e mínimo (Mín) de caquis ‘Fuyu’ do Sul do Brasil, anos 2007 e 2008

	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B
	g. Kg ⁻¹ de matéria seca					mg.Kg ⁻¹ de matéria seca				
RS	38,6a	1,2b	18,5a	28,0a	4,7a	96,4b	473,0b	40,5ab	18,9a	124,0a
SC	35,9a	1,2b	19,8a	27,3a	4,5a	189,7a	1292,0a	20,5b	20,4a	109,9a
PR	40,5a	1,3a	21,7a	19,1a	4,8a	107,7b	588,0b	52,8a	15,5a	80,3b
\bar{x}^Z	37,6	1,2	19,6	26,2	4,6	142,4	879,8	33,0	19,0	110,5
s^Z	15,1	0,1	4,1	7,4	0,6	81,0	651,0	31,9	10,3	25,7
$\bar{x} \pm s^{*Z}$	22,6 a	1,1 a	15,5 a	18,8 a	4,1 a	61,4 a	228,8 a	1,1 a	8,8 a	84,8 a
	52,7	1,3	23,7	33,7	5,2	223,3	1530,8	64,8	29,3	136,1
Máx^Z	58,4	1,4	27,2	41,0	5,9	509,0	2604,0	150,0	49,8	158,0
Mín^Z	16,3	0,1	10,5	10,8	3,1	72,0	135,0	13,0	5,0	32,0

^Z medidas determinadas a partir das médias de cada pomar desconsiderando a região.

* Previsto com base no desvio padrão quando houve distribuição normal significativa das médias de pomares.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Tabela 4. Firmeza da polpa (FP), teores de sólidos solúveis (SST), índice de cor da epiderme e porcentagem de frutos afetados pelo sintoma de translucidez, podridão, Pintas Pretas Grandes (PPG) e Pintas Pretas Pequenas (PPP) após a armazenagem, média (μ) das três regiões (RS, SC, PR), desvio padrão (s), média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm s$), valor máximo (Máx) e mínimo (Min) de caquis ‘Fuyu’ do Sul do Brasil, anos 2007 e 2008

	FP	SST	Cor	Trans- lucidez	Estrias	Podre	PPG	PPP
	(N)	(%)		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
RS	56,9a	14,9b	4,8b	1,6b	36,9ab	8,1b	0,3a	14,2a
SC	56,5a	15,1a	4,6c	5,6ab	31,4b	8,4b	4,6a	8,7a
PR	55,0a	14,2c	5,2a	11,3a	52,2a	16,3a	5,9a	8,3a
\bar{x}^Z	56,5	14,9	4,8	4,3	36,8	9,3	2,5	11,5
s^Z	7,6	0,9	0,8	8,3	21,8	8,7	8,8	15,5
$\bar{x} \pm s^{*Z}$	48,9 a	14,0 a	4,0 a	0 a	15,0 a	0,6 a	0 a	0 a
	64,1	15,8	5,5	12,5	58,6	17,9	11,3	27,1
Máx^Z	17,1	16,8	7,1	42,0	81,4	44,1	46,7	70,0
Mín^Z	4,9	13,3	3,8	0	0	0	0	0

^Z medidas determinadas a partir das médias de cada pomar desconsiderando a região.

* Previsto com base no desvio padrão quando houve distribuição normal significativa das médias de pomares.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Tabela 5. Coeficientes de correlação de Pearson para firmeza de polpa (FP), cor da epiderme (cor), sólidos solúveis (SST), número de sementes (SEM), massa, nitrogênio na folha (N_F), potássio na folha (K_F), cálcio na folha (Ca_F), boro na folha (B_F), cobre folha (Cu_F), nitrogênio na polpa (N_P), potássio na polpa (K_P), transparência (TRA), podridões (POD), estrias, pintas pretas grandes (PPG) e pintas pretas pequenas (PPP) na colheita (C) e após o armazenamento (PA) em caqui 'Fuyu', da região Sul do Brasil, anos 2007 e 2008

	Colheita											Após o armazenamento										
	FP	Cor	SST	SEM	Massa	N _F	K _F	Ca _F	B _F	Cu _F	N _P	K _P	Cap	FP	Cor	SST	TRA	POD	Estrias	PPG	PPP	
FP C	1																					
Cor C	-0,45 ^{**}	1																				
SST C	-0,03 ^{NS}	0,35 ^{**}	1																			
NDS	-0,52 [*]	0,34 ^{NS}	-0,27 ^{NS}	1																		
Massa	-0,32 [*]	0,44 ^{**}	-0,01 ^{NS}	0,48 ^{NS}	1																	
N _F	0,39 [*]	-0,05 ^{NS}	-0,33 [*]	-0,37 ^{NS}	0,01 ^{NS}	1																
K _F	0,13 ^{NS}	-0,27 ^{NS}	-0,12 ^{NS}	-0,49 ^{NS}	-0,11 ^{NS}	-0,36 [*]	1															
Ca _F	-0,02 ^{NS}	0,28 ^{NS}	0,55 ^{NS}	0,61 [*]	0,05 ^{NS}	0,46 ^{**}	-0,31 ^{NS}	1														
B _F	-0,11 ^{NS}	0,30 ^{NS}	-0,15 ^{NS}	0,24 ^{NS}	0,27 ^{NS}	0,29 ^{NS}	-0,27 ^{NS}	0,67 ^{**}	1													
Cu _F	0,05 ^{NS}	0,07 ^{NS}	-0,35 [*]	-0,09 ^{NS}	0,04 ^{NS}	0,7 ^{**}	-0,18 ^{NS}	0,43 ^{**}	0,28 ^{NS}	1												
N _P	-0,01 ^{NS}	0,20 ^{NS}	-0,19 ^{NS}	-0,18 ^{NS}	-0,24 ^{NS}	0,04 ^{NS}	0,26 ^{NS}	0,19 ^{NS}	0,03 ^{NS}	0,15 ^{NS}	1											
K _P	0,09 ^{NS}	0,01 ^{NS}	-0,20 ^{NS}	-0,38 ^{NS}	-0,28 ^{NS}	0,49 ^{**}	0,14 ^{NS}	0,24 ^{NS}	0,09 ^{NS}	0,62 ^{**}	0,52 ^{**}	1										
Cap	0,37 ^{**}	-0,21 ^{NS}	0,12 ^{NS}	-0,39 ^{NS}	-0,49 ^{**}	0,38 [*]	-0,27 ^{NS}	0,25 ^{NS}	0,13 ^{NS}	0,2 ^{NS}	-0,12 ^{NS}	-0,03 ^{NS}	1									
FP PA	0,52 ^{**}	-0,42 ^{**}	-0,15 ^{NS}	-0,21 ^{NS}	-0,28 ^{NS}	0,51 ^{**}	-0,01 ^{NS}	-0,08 ^{NS}	-0,06 ^{NS}	0,2 ^{NS}	0,1 ^{NS}	0,19 ^{NS}	0,1 ^{NS}	1								
Cor PA	-0,26 [*]	0,40 ^{**}	0,15 ^{NS}	0,56 [*]	0,36 [*]	-0,52 ^{**}	0,13 ^{NS}	-0,29 ^{NS}	-0,02 ^{NS}	-0,41 ^{**}	0,03 ^{NS}	-0,27 [*]	-0,41 ^{**}	-0,38 ^{**}	1							
SST PA	0,07 ^{NS}	0,23 ^{NS}	0,68 ^{**}	-0,21 ^{NS}	-0,12 ^{NS}	-0,08 ^{NS}	0,1 ^{NS}	0,1 ^{NS}	0,03 ^{NS}	0,26 ^{NS}	0,14 ^{NS}	-0,27 [*]	0,03 ^{NS}	-0,03 ^{NS}	-0,05 ^{NS}	1						
TRA PA	0,04 ^{NS}	-0,20 ^{NS}	0,06 ^{NS}	-0,04 ^{NS}	-0,01 ^{NS}	-0,54 ^{**}	0,14 ^{NS}	-0,42 ^{**}	-0,28 ^{NS}	-0,58 ^{**}	-0,04 ^{NS}	-0,33 [*]	-0,04 ^{NS}	-0,28 [*]	0,45 ^{**}	-0,1 ^{NS}	1					
POD PA	-0,16 ^{NS}	0,15 ^{NS}	-0,03 ^{NS}	0,12 ^{NS}	0,1 ^{NS}	-0,35 [*]	0,06 ^{NS}	-0,26 ^{NS}	-0,01 ^{NS}	-0,36 [*]	-0,25 ^{NS}	-0,33 [*]	-0,09 ^{NS}	-0,41 ^{**}	0,37 ^{**}	-0,22 ^{NS}	0,28 [*]	1				
Estrias PA	0,14 ^{NS}	-0,03 ^{NS}	-0,34 ^{NS}	0,03 ^{NS}	0,2 ^{NS}	0,38 [*]	0,14 ^{NS}	0,07 ^{NS}	0,19 ^{NS}	0,15 ^{NS}	0,06 ^{NS}	0,12 ^{NS}	-0,02 ^{NS}	0,1 ^{NS}	-0,23 ^{NS}	-0,18 ^{NS}	-0,06 ^{NS}	0,22 ^{NS}	1			
PPG PA	0,02 ^{NS}	0,1 ^{NS}	-0,21 ^{NS}	-0,08 ^{NS}	-0,15 ^{NS}	-0,25 ^{NS}	0,01 ^{NS}	-0,17 ^{NS}	0,07 ^{NS}	-0,33 [*]	-0,14 ^{NS}	-0,11 ^{NS}	-0,07 ^{NS}	-0,33 ^{**}	0,18 ^{NS}	-0,2 ^{NS}	0,42 ^{**}	0,32 ^{**}	0,1 ^{NS}	1		
PPP PA	-0,03 ^{NS}	0,24 [*]	-0,16 ^{NS}	0,05 ^{NS}	0,02 ^{NS}	0,16 ^{NS}	0,01 ^{NS}	0,2 ^{NS}	0,29 ^{NS}	0,17 ^{NS}	0,22 ^{NS}	0,32 [*]	-0,14 ^{NS}	-0,06 ^{NS}	-0,06 ^{NS}	-0,15 ^{NS}	-0,1 ^{NS}	0,11 ^{NS}	0,41 ^{**}	0,19 ^{NS}	1	

*: coeficiente de correlação com prob > 0,05

** : coeficiente de correlação com prob > 0,01

NS – coeficiente de correlação não significativo

Tabela 6. Precipitação, temperatura média compensada, temperatura máxima média, temperatura mínima média, umidade relativa do ar, latitude e altitude média nos pomares de três regiões do sul do Brasil, nos três meses que antecedem a colheita de caqui ‘Fuyu’, anos 2007 e 2008

Regiões	Precipitação	Temp. média compensada	Temp. Max. média	Temp. mín. média	UR do ar	Latitude média	Altitude média
	(mm)	(°C)	(°C)	(°C)	(%)		(m)
PR	181.8	21.0	26.9	17.3	76.2	S 25°40’	936
SC	174.4	19.0	24.8	15.1	78.5	S 27°00’	915
RS	129.9	17.1	22.2	13.6	76.8	S 29°08’	806

*Dados de clima: Fonte INMET, 2010.

Artigo 2: Efeitos da adição de nitrogênio no solo sobre a produtividade e qualidade dos frutos de caqui na colheita e após a armazenagem.

Efeitos da adição de nitrogênio no solo sobre a produtividade e qualidade dos frutos de caqui na colheita e após a armazenagem

Edson Luiz de Souza¹, Luiz Carlos Argenta², André Luiz Kulkamp de Souza³, Cesar Valmor Rombaldi⁴

Resumo

Com objetivo de avaliar as respostas de caquizeiros ‘Fuyu’ submetidos a diferentes doses de nitrogênio (N), relacionados a aspectos produtivos e de qualidade pós-colheita, durante as safras 2007, 2008 e 2009 em um pomar comercial adulto, localizado no município de Rio das Antas - SC, foi aplicado 0 – 30 – 60 – 120 – 180 kg.ha⁻¹ de N. Na pré-colheita determinou-se o número de frutos por planta, o índice de queda prematura de frutos, a produtividade e porcentagem de frutos moles por ocasião da colheita. Os frutos foram colhidos quando se encontravam no ponto de maturação comercial e as amostras a serem armazenadas foram expostas ao 1-MCP, embaladas em bolsa de polietileno e armazenadas 45 dias a 0±0,8 °C e umidade relativa de 77±7%. As análises foram feitas logo após a colheita e sete dias depois do período de armazenagem refrigerada, onde mensurou-se a coloração da casca, a firmeza de polpa, o teor de sólidos solúveis totais, a firmeza subjetiva, a incidência de estrias, translucidez, podridões, pintas pretas grandes e pintas pretas pequenas. Adicionalmente foi realizada a análise mineral da polpa e da folha. Foi constatado que a adubação nitrogenada é necessária para o desenvolvimento dos frutos e aumento da produtividade, mas em doses muito altas pode comprometer a firmeza de polpa.

Palavras-chave: escurecimento, distúrbios fisiológicos, amolecimento, firmeza, adubação.

¹ M.Sc., Eng° Agr°, pesquisador Epagri e doutorando UFPel/PPGCTA, Cx. Postal 21, CEP 89560000, Videira-SC. Autor para correspondência. E-mail: edsonluiz@epagri.sc.gov.br.

² Dr., Eng° Agr°, pesquisador Epagri, Caçador-SC. E-mail: argenta@epagri.sc.gov.br.

³ Eng° Agr°, mestrando PPA, concentração Fruticultura de Clima Temperado, FAEM/UFPel, Pelotas-RS. E-mail: andreluizks@yahoo.com.br.

⁴ Dr., Eng° Agr°, professor titular do PPGCTA/FAEM/UFPEL, Pelotas-RS, CEP 96010-900. E-mail: cesarvrf@ufpel.edu.br.

Effects of adding nitrogen in the soil on the yield and quality of persimmon fruit at harvest and after storage

Abstract

Aiming to evaluate the responses of 'Fuyu' persimmon under different levels of nitrogen (N), aspects related to production and post-harvest quality, during the growing seasons 2007, 2008 and 2009 in an adult commercial orchard, located in the municipality of Rio das Antas - SC was applied 00 - 30 - 60 - 120 - 180 kg ha⁻¹ of N. In pre-harvest we determined the number of fruits per plant, the rate of fruit premature dropping, yield and percentage of soft fruit during harvest. The fruits were harvested when they were at the commercial maturity point, and the samples to be stored were exposed to 1-MCP, packed in polyethylene bag and stored 45 days at 0 ± 0.8 ° C and relative humidity of $77 \pm 7\%$. Analyses were done immediately after harvest and seven days after the period of refrigerated storage, where it was measured the bark color, flesh firmness, content of total soluble solids, subjective firmness, the incidence of skin cracks, translucency, rot, large black spots and small black spots. Additionally was performed mineral analysis of the pulp and leaf. It was found that nitrogen fertilization is required for fruit development and productivity increased, but at very high doses may undermine the flesh firmness.

Keywords: browning, physiological disorders, softening, firmness, fertilization.

Introdução

A cultura do caquizeiro no Brasil ocupa uma área de 8.837 hectares, com uma produção de 173.297 toneladas (IBGE, 2008). A cultivar Fuyu é a mais plantada (JOÃO et al., 2002) em função da boa aceitação dos frutos que se caracterizam pelo sabor adocicado, sem adstringência, com polpa sem sementes e epiderme amarelo-avermelhada (FERRI et al., 2002). Com o crescimento da área cultivada e da produção, existe maior demanda de conhecimento a respeito da cultura, incluindo aspectos relacionados à nutrição, manejo da planta, assim como estudo das causas e medidas preventivas para distúrbios fisiológicos na pré e pós-colheita.

São poucas as informações sobre a adubação nitrogenada do caquizeiro no Sul do Brasil e, como consequência, tornam-se parâmetros os relatos informais de experiências e observações dos produtores (COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO - RS/SC, 2004) e, em muitas vezes, adotam-se práticas de adubação sem a devida validação técnico-científica, baseando-se apenas em especulações e interesses comerciais (FREIRE & MATTOS, 2003). Um dos casos mais frequentes é o uso da adubação nitrogenada com o intuito de aumentar-se a produtividade, especialmente pelo incremento do tamanho dos frutos.

O nitrogênio é considerado macroelemento chave da produtividade do caquizeiro (TANAKA & AOKI, 1996), pois pode interferir no vigor da planta, na floração (OSHIRO & ANMA, 1998), no pegamento e queda prematura de frutos (GEORGE et al., 2003), na coloração da epiderme (CHOI et al., 2008), no teor dos sólidos solúveis totais (WEN-LUNG & YUN-MING, 2002), na firmeza da polpa e no tamanho dos frutos (PARK, 2002). Além disso, há citações de que a disponibilidade de N pode afetar a qualidade pós-colheita, principalmente no que se refere à suscetibilidade a distúrbios fisiológicos (LEE et al., 1993; LEE et al., 2003) e danos patológicos (PERES et al., 1995; MILLER, 1989). Nesse contexto, avaliaram-se as respostas de caquizeiros cultivados sob diferentes níveis de nitrogênio no que concerne ao índice de frutificação e à qualidade dos frutos na colheita e após o armazenamento. Esse objetivo foi definido baseando-se na hipótese de que com o incremento da disponibilização de N efetivamente se obtenha maior produtividade, mas isso afetará negativamente a qualidade pós-colheita.

Material e Métodos

O experimento foi realizado durante as safras 2007, 2008 e 2009, em um pomar comercial de caquizeiro cv Fuyu, com 12 anos de idade em 2007, localizado no município de Rio das Antas - SC (26° 55' 16,1" S, 51° 05' 56,9" W - altitude de 832 m). O pomar foi conduzido na forma de vaso, apresentando o espaçamento de 6 x 4 m, não havendo plantas polinizadoras. O solo possui 2,9 % de matéria orgânica, 52% de argila, 5,2 de pH em água, 24 mg.dm⁻³ de P, 176 mg.dm⁻³ de K e 8,9 mmol dm⁻³ de Ca. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de quatro plantas, para cada tratamento. Foi respeitada a distância mínima de duas plantas como bordadura entre cada parcela.

Foram aplicadas doses anuais de nitrogênio (0 – 30 – 60 – 120 – 180 kg.ha⁻¹ de N), parceladas em 3 aplicações, sempre nas primeiras semanas de outubro, novembro e

dezembro, sendo o nitrato de amônio a fonte utilizada. Nas safras 2005 e 2006 foram aplicadas essas mesmas doses de N e nas mesmas épocas, com o objetivo de simular uma condição de pomares previamente manejados com essas doses.

Foram avaliados por planta, antes da colheita, o número de frutos recém formados (FRF) e o índice de queda prematura de frutos (IQP), obtido pela relação da contagem do número de frutos por planta 15 dias e 70 após a floração. Com esses dados calculou-se em cada tratamento a porcentagem de queda natural de frutos. Adicionalmente foi avaliada a massa, a produtividade ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) e a porcentagem de frutos moles por ocasião da colheita.

Em 23/04/2007, 22/04/2008 e 06/05/2009, quando os frutos se encontravam no ponto de maturação comercial, foram colhidos 80 frutos de tamanho médio representativos de cada tratamento e separados aleatoriamente em amostras de 20 frutos, sendo uma amostra destinada à análise na colheita e três ao armazenamento. Os frutos foram embalados em bolsa de polietileno de baixa densidade de 0,04 mm de espessura (de cada parede) e acondicionados em caixas plásticas. Com as bolsas ainda abertas, os frutos foram expostos a $0,6 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ de 1-MCP (EthylBlocTM, AgroFresh, Inc) por 12 horas, a temperatura ambiente ($\sim 18^\circ\text{C}$), em uma câmara metálica hermética, conforme descrito por ARGENTA et al. (2009). A seguir, as bolsas foram vedadas com uso de barbante de algodão para indução da atmosfera modificada (AM) e armazenadas em câmara por 45 dias a $0\pm 0,8^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $77 \pm 7\%$.

As análises dos frutos foram feitas logo após a colheita e sete dias depois do período de armazenagem refrigerada, com os frutos mantidos sob atmosfera do ar (AA) a $22\pm 1^\circ\text{C}$, simulando dias de prateleira em ambiente desprovido de etileno, onde mensurou-se a coloração da casca, a firmeza de polpa (FP) e o teor de sólidos solúveis totais (SST). Após o armazenamento, também foram avaliadas a firmeza subjetiva (pelo toque dos dedos) e a incidência dos seguintes distúrbios: estrias, translucidez, podridões, pintas pretas grandes (PPG) e pintas pretas pequenas (PPP). Adicionalmente foi realizada a análise mineral da polpa e da folha.

A cor da epiderme foi medida na região equatorial do fruto, local onde era predominante, sendo realizada com auxílio da tabela japonesa de escala de cores, com índices variando de 3,5 a 8, onde 3,5 é amarelo, considerados frutos imaturos e 8 é vermelho-alaranjado, para frutos maduros (YAMAZZAKI & SUZUKY, 1980). Para determinar a FP foi utilizado penetrômetro eletrônico com ponteira de 8 mm. O teor de SST

foi determinado com o uso de refratômetro digital e os dados expressos em porcentagem. A ocorrência de estrias, translucidez, podridões, pintas pretas grandes e pequenas, foram quantificadas por avaliação visual, sendo a incidência desses distúrbios expressa como porcentagem dos frutos afetados com o sintoma. O amolecimento foi determinado através do toque dos dedos e expresso em porcentagem de frutos não firmes.

A análise mineral da polpa fresca dos frutos, conforme descrito por SUZUKI & ARGENTA (1994), foi realizada com vinte frutos por amostra, retirando-se uma fatia na forma de cunha com casca, de 1 cm de largura. Uma vez retirada, a amostra da polpa fresca foi triturada com um multiprocessador. Para a digestão foi utilizada a metodologia descrita por TEDESCO et al. (1995) para tecidos de plantas, adaptada para a análise de polpa fresca do fruto de macieira e caquizeiro. Os teores de N foram determinados por destilação com auxílio de destilador Semi-Micro-Kjeldahl, os teores de potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) por espectrofotometria de absorção atômica e os teores de fósforo (P) determinados colorimetricamente pelo método do vanádio-molibdato de amônia. Os teores minerais das folhas foram determinados conforme descrito por BASSO et al. (1986), amostradas na primeira quinzena de fevereiro, através da coleta de 100 folhas por repetição, de ramos com frutos e tamanho de brotação média, escolhidas ao acaso.

Nos três anos em estudo foram coletadas na estação meteorológica mais próxima, localizada no município de Videira - SC (27° 01' 27,5" S, 51° 08' 52,6" W - altitude de 750 m), a precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar do mês de abril.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) através do programa estatístico SAS (SAS INSTITUTE, INC., 1992).

Resultados e Discussão

As aplicações de N em cada ano de avaliação proporcionaram aumento de FRF por planta (Tabela 2), corroborando com os dados obtidos em caquizeiros da cultivar Jiro no Japão, por OSHIRO & ANMA (1998). Nos anos de 2007, 2008 e 2009, o tratamento que apresentou menor número de FRF foi o controle, aumentando com os níveis de N. A produtividade em 2007 apresentou o mesmo comportamento dos FRF, devido tanto ao IQP, como a massa média dos frutos não diferiram estatisticamente entre si. (Tabela 1).

No ano de 2008, tanto o IQP, quanto a massa média dos frutos e a produtividade por hectare não apresentaram diferenças significativas. No entanto, nesse ano foram observadas

as maiores produtividades entre os anos estudados, inclusive no tratamento testemunha. Outros fatores não considerados podem estar interferindo, com destaque para a alternância de produção.

Considerando o ano de 2009, o IQP dos frutos respondeu positivamente às maiores dosagens de N e a produtividade nesse ano foi menor nas plantas testemunha, reforçando a necessidade de adubação nitrogenada na cultura.

Nas safras 2007 e 2009, a aplicação de N contribuiu para o aumento do número médio de frutos recém formados e para a produtividade, desde que usada uma dose mínima de 30 kg de N, não necessitando 180 kg.ha⁻¹. Em 2008, o N contribuiu para o aumento de frutos recém formados usando doses de 30 kg.ha⁻¹, mas para produtividade não houve efeito. De modo geral a aplicação de N foi positiva para esses aspectos, mas isso não é constante entre safras, o que pode ter sido afetado por outros fatores não estudados nesse experimento.

A porcentagem de frutos moles não diferiu estatisticamente entre as diferentes dosagens de N (Tabela 1), entretanto, esperava-se que com o aumento do aporte de N pudesse haver aumento do número médio de frutos moles na colheita, problema frequentemente mencionado pelos produtores, fato que não foi detectado no experimento. Esses resultados indicam que há contribuição do aporte suplementar de N, o que pode ser explicado, em parte, pelo teor relativamente baixo de matéria orgânica no solo (2,9%), havendo necessidade de complementação com esse macronutriente.

Embora se tenha emitido a hipótese de que a suplementação de N pudesse aumentar a produtividade, mas comprometendo a qualidade pós-colheita, isso não foi observado na integralidade. Houve sim efeito positivo do N no incremento em produtividade, porém a firmeza de polpa na colheita e após o armazenamento refrigerado em AM foi afetada pela aplicação de N em doses específicas (Tabela 3), já que considerando a média dos três anos, os níveis intermediários de N tiveram os melhores resultados. A maior firmeza foi obtida com o nível de 60 kg, seguidos de 30 kg de N e controle, sendo menor nos maiores níveis (120 e 180 kg). Esses resultados indicam a necessidade de aporte de N para o desenvolvimento dos frutos, mas não muito alto, podendo comprometer a firmeza de polpa. CHITARRA & CHITARRA (2005) afirmam que em frutas, o nitrogênio em excesso reduz a firmeza, possivelmente pelo maior crescimento, com efeito na diluição de minerais nos tecidos. Após o armazenamento (45+7 dias), considerando a média dos três anos, a dose de

60 kg de N proporcionou FP maior que os demais, confirmando a superioridade obtida por ocasião da colheita. Portanto, a deficiência ou o excesso de N afetaram negativamente essa variável, indicando a necessidade de, em cada pomar, manter-se o monitoramento da fertilidade do solo, de modo a quantificar-se a dose de N a ser aportado.

Quanto a avaliação da variável firmeza subjetiva (frutos não firmes), considerando a média dos 3 anos (dados não apresentados), não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 4), mas analisando-se os anos separadamente, em 2008 o nível de 60 kg de N foi superior aos demais, seguido do nível de 30 kg, confirmando os resultados obtidos pela firmeza de polpa realizada com o penetrômetro.

Em relação aos teores de SST na colheita (Tabela 3), na média dos três anos não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos, mas considerando os anos separadamente, os maiores teores de SST foram obtidos nos frutos sem aplicação de adubos nitrogenados e os menores com o maior nível concordando com dados obtidos por Wen-Lung & Yun-Ming (2002), que afirmaram que o aumento da aplicação de fertilizante nitrogenado acarreta a diminuição do teor de SST.

Considerando a média da cor da epiderme na colheita dos três anos, o aumento dos níveis de N fez com que houvesse diminuição da cor, sendo o controle o melhor tratamento (Tabela 3). Após o armazenamento, o tratamento sem aplicação de N manteve o maior índice de cor que os demais, que não diferiram estatisticamente entre si. Resultados semelhantes foram encontrados por AGUSTÍ et al. (2004) e CHOI et al. (2008), onde relatam que a aplicação de N antes da colheita pode inibir a coloração de caqui e o grau de inibição é dependente da época de aplicação. O fato de ter havido menor evolução da coloração alaranjado-avermelhada em caquis provenientes de áreas com as maiores doses de N pode ser explicada pela ação desse macronutriente reduzindo a velocidade de transição dos cloroplastos em cromoplastos, como foi proposto por BARSAN et al. (2010).

Os resultados dos distúrbios fisiológicos e patológicos são apresentados na Tabela 4.

A aplicação de N não influenciou a incidência de estrias, contrariando LEE et al. (1993) que afirmaram que a susceptibilidade ao escurecimento do fruto pareceu ser aumentada por fatores de pomar tais como índices elevados de N. A ocorrência de estrias pode estar relacionada com fatores climáticos (GONÇALVES et al., 2004) ocorridos próximos ao período de colheita, como a precipitação e umidade relativa (GEORGE et al., 1997; ARGENTA, 2006). Analisando a ocorrência de estrias, bem como podridões e PPG,

independentemente das doses de N aplicadas, percebe-se que os menores percentuais de frutos afetados com esses sintomas ocorreram no ano com a menor precipitação e umidade relativa (2009), comparando-se o mês da colheita (abril) em cada ano (Tabela 1).

Os índices de podridões após o armazenamento não diferiram significativamente entre si em cada ano de avaliação, demonstrando que as diferentes doses de N, não tiveram efeito sobre a incidência de podridões em caquis 'Fuyu', nas condições do experimento (Tabela 4). Em estudos com outras culturas, demonstrou-se o contrário, como por exemplo na macieira, onde a aplicação excessiva de nitrogênio aumentou a suscetibilidade dos frutos a podridões durante a armazenagem (JOHNSON et al., 1987; BRAMLAGE et al., 1980). De acordo com MARSCHNER (1995), quando o suprimento de nitrogênio está alto, ocorre uma alta demanda de carbono da fotossíntese, comprometendo a síntese dos metabólitos secundários, além de ocorrer a diminuição na produção de compostos fenólicos (fungistáticos) e de lignina nas folhas, reduzindo a resistência aos patógenos obrigatórios.

Não houve efeito de doses de N sobre a incidência de frutos com PPG e com as PPP, não apresentando diferenças significativas entre os tratamentos nos três anos de avaliação, demonstrando não haver relação com níveis de adubação nitrogenada, possivelmente por esses distúrbios serem causados por fungos (PRUSKI et al., 1997).

A translucidez apresentou diferença significativa entre os tratamentos apenas no ano de 2008, onde o tratamento sem aplicação de N teve a menor porcentagem de frutos afetados com esse sintoma, seguidos dos níveis 30, 60 e 120 Kg de N, que não diferiram entre si. Na dose de 180 Kg de N foi encontrada maior porcentagem de frutos afetados por translucidez, provavelmente os maiores níveis de N tornaram os frutos mais sensíveis a esse distúrbio. Em maçãs, EDGERTON (1957) e WAY (1954) relatam que aplicação de N pode aumentar os danos por frio.

Na tentativa de relacionar a aplicação das diferentes doses de N com a composição mineral desse elemento na polpa e uma possível mudança na composição dos demais minerais, se fez a análise mineral da polpa fresca dos frutos (Tabela 5). O teor de N na polpa não variou significativamente entre os tratamentos e com a variação das doses de N não foi encontrada relação com os demais minerais avaliados.

O conteúdo médio de N das folhas, no ano de 2007 variou com o aumento das doses de N, sendo encontrado no controle os menores teores, já os maiores nas doses de 120 e 180 Kg de N/ha (Tabela 6). Nos demais anos não ocorreram diferenças significativas entre os

tratamentos. O K teve os maiores teores no tratamento controle e foi diminuindo com o aumento da dose de N. O Ca é um cátion envolvido na melhora da conservabilidade de caqui (FERRI et al., 2002) e não foi verificada a sua diminuição tanto na folha como na polpa com o aumento das dosagens de N.

Conclusões

De modo geral a aplicação de N foi positiva para as variáveis número de frutos recém formados e produtividade, desde que usada uma dose de no mínimo 30 kg de N/ha, sendo que doses muito altas a partir de 120 kg de N/ha pode diminuir a firmeza de polpa e coloração da epiderme. A adubação nitrogenada não influenciou a ocorrência de podridões e estrias após o armazenamento.

Referências bibliográficas

AGUSTÍ, M. et al. Calcium nitrate delays climacteric of persimmon fruit. **Annals of Applied Biology**, v.144, p.65-69, 2004.

ARGENTA, L.C. Descrição dos principais distúrbios em caqui 'Fuyu' após a armazenagem refrigerada. **Revista da Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 19, p. 49-52, 2006.

ARGENTA, L.C.; VIEIRA, M.J.; SCOLARO, A.M.T. Conservação da qualidade de caqui 'Fuyu' em ambiente refrigerado pela combinação de 1-mcp e atmosfera modificada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 323-333, 2009.

BARSAN, C. et al. Characteristics of the tomato chromoplast revealed by proteomic analysis. **Journal of Experimental Botany**, p. 1-19, 2010.

BASSO, C.; WILMS, F.W.W.; SUZUKI, A. Fertilidade do solo e nutrição da macieira. In: Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária S/A. **Manual da cultura da macieira**. Florianópolis, EMPASC-DID, 1986. p.236-265.

BRAMLAGE, W.J.; DRAKE, M.; LORD, W.J. The influence of mineral nutrition on the quality and storage performance of pome fruits grown in Northern America. In: ATKINSON, D.; JACKSON, J. E.; SHARPLES, R. O.; WALLER, W. M. **Mineral nutrition of fruit trees**. Butterworths, 1980, p. 29-39.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças - fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 2. ed., 2005. 781p.

CHOI, S.T. et al. Effect of different autumnal nitrogen application dates on fruit characteristics and storage reserves of 'Fuyu' persimmon. **Horticulture Environment and Biotechnology**, v.49, p.25-29, 2008.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Recomendação de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 3 ed. Passo Fundo: SBCS- Núcleo Regional Sul; EMBRAPA-CNPT, 2004. 223p.

EDGERTON, L.J. Effect of nitrogen fertilization on cold hardiness of apple trees. **Proc. American Society for Horticultural Science**, v.70, p.40-45, 1957.

FERRI, V.C. et al. Qualidade de caquis Fuyu tratados com cálcio em pré-colheita e armazenados sob atmosfera modificada. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p.385-388, 2002.

FREIRE, C.J.S.; MATTOS, M.L.T. **Adubação e correção do solo**. Pelotas: EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, 2003. p. 60-70.

GEORGE, A.P.; MOWAT, A.D.; COLLINS, R.J. Factors affecting blemishing of persimmon in New Zealand and Australia. **Acta Horticulturae**, Chang Mai City, v.436, p. 171-178, 1997.

GEORGE, A.P. et al. Improving the nutritional management of non-astringent persimmon in subtropical Australia. **Acta Horticulturae**, Queensland, v. 601, p. 131-138, 2003.

GONÇALVES, E.D. et al. Estudo da variabilidade genética e escurecimento epidérmico em caqui "Fuyu" (*Diospyrus kaki*) após armazenamento refrigerado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.3, p.555-557, 2004.

IBGE. Lavouras permanentes. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 21 fev. 2009.

JOÃO, P.L. et al. **Levantamento da Fruticultura Comercial do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: EMATER/RS–ASCAR, 2002. (Série Realidade Rural, 28).

JOHNSON, D.S.; MARKS, M.J.; PEARSON, K. Storage quality of Cox's Orange pipin apples in relation to fruit mineral composition during development. **The Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.62, p.17-25, 1987.

LEE, S.K.; SHIN, I.S.; PARK, Y.M. Factors involved in skin browning of non-astringent 'Fuyu' persimmon. **Acta Horticulturae**, v.343, p.300-303, 1993.

LEE, Y. et al. Effects of low oxygen and high carbon dioxide concentrations on modified atmosphere-related disorder of 'Fuyu' persimmon fruit. **Acta Horticulturae**, v.601, p.171-176, 2003.

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 2. ed.. San Diego: Academic Press, 1995. 889 p.

MILLER, E.P. Performance of non-adstringente persimmons (*Disopyros kaki* L) in Florida. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, University of Florida, v.102, p.199-202, 1989.

OSHIRO, A.; ANMA S. Relationship between the Number of Flowers and the Nutrient Status of Japanese Persimmon (*Diospyros Kaki* L.) Tree 'Maekawa Jiro'. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v.67, n.6, p.890-896, 1998.

PARK, S.J. Effect of irrigation and N levels on fruit quality and nutrient distribution in 'Fuyu' persimmon tree parts during the final stages of fruit growth. **Journal of the Korean Society for Horticultural Science**, v.43, p.321-325, 2002.

PEREZ, A. et al. Prevention of Black Spot Disease in Persimmon Fruit by Gibberellic Acid and Iprodione Treatments. **The American Phytopathological Society**. DOI: 10.1094/Phyto-v.85, n2, p.221-225, 1995.

PRUSKY, D.; PEREZ, A.; ZUTKHI, Y. Effect of modified atmosphere for control of black spot, caused by *Alternaria alternata*, on stored persimmon fruits. **Phytopathology**, Palo Alto, v.87, n.2, p.203-208, 1997.

SAS Institute. **Doing more with SAS/ASSIST software**. Version 6. Cary: SAS Institute, 1992. 368p.

SUZUKI, A.; ARGENTA, L.C. Teores minerais na polpa das cvs. Gala e Golden Delicious e Fuji. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n. 1, p. 92-104, 1994.

TANAKA, K.; AOKI, M., Effects of irrigation and nitrogen fertilizer application in summer on the fruiting of 'Fuyu' kaki (*Diospyros Kaki*. Linn. f.). **Bulletin of the Aichi-Ken Agricultural Research Center**, v.6, p.9-18, 1969.

TEDESCO, M.J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p.

WAY, R.D. The effect of some cultural practices and size of crop on the subsequent winter hardiness of apple trees. **Proc. American Society for Horticultural Science**, v.63, p.163-166, 1954.

WEN-LUNG, L.; YUN-MING, H. **Studies on the Fertilization of Sweet Persimmon in Taiwan**, 2002. Eletronic Theses and Dissertations System. Disponível em:<http://etds.ncl.edu.tw/theabs/english_site/detail_result_eng.jsp>. Acesso em: 11 jan, 2010.

YAMAZZAKI, T.; SUZUKY, K. Colour charts: Useful guide to evaluate fruit maturity. I. Colorimetric specifications of colour charts for Japanese pear, apple, peach, grape, persimmon and citrus fruits. **Bulletin of the Fruit Tree Research Station**, n. 7, p. 19-44, 1980.

Tabela 1. Precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar (UR) do mês de abril e porcentagem de frutos afetados com ‘estrias’, podridões, pintas pretas grandes (PPG) e pintas pretas pequenas (PPP), em pomar de caquizeiro ‘Fuyu’, no município de Rio das Antas, SC, considerando diferentes anos, independentemente das doses de nitrogênio

Ano	Precipitação	UR	Estrias	Podridões	PPG	PPP
	mm	%	% de frutos afetadas			
2007	217,3	82	45,0 a	3,3 b	0,0 b	9,3 a
2008	207,8	85	58,1 a	18,3 a	4,4 a	14,1 a
2009	28,2	73	25,3 b	9,0 b	0,0 b	11,6 a

Fonte: Epagri, médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Tabela 2. Média de frutos recém formados (FRF), porcentagem média do índice de queda prematura de frutos (IQP), produtividade, massa média e porcentagem de frutos moles na colheita, em função das diferentes doses de nitrogênio (kg ha^{-1}) aplicadas, nos diferentes anos, em pomar comercial de caquizeiro ‘Fuyu’, no município de Rio das Antas, SC

Doses	FRF	IQP	Massa	Produtividade	Moles
N	nº/planta	%/planta	g/fruto	kg.ha^{-1}	%/planta
2007					
0	103 b	22,6 a	235,7 a	8.299 b	9,2 a
30	196 ab	29,0 a	249,6 a	13.677 ab	8,3 a
60	184 ab	33,5 a	264,5 a	13.494 ab	10,2 a
120	166 ab	35,4 a	273,3 a	12.223 ab	9,2 a
180	235 a	35,9 a	280,6 a	17.627 a	10,2 a
DMS	111,7	16,6	47,9	6.194,3	7,5
2008					
0	555 b	59,7 a	217,1 a	26.428 a	6,7 a
30	745 a	58,5 a	228,7 a	30.992 a	5,5 a
60	788 a	58,4 a	240,4 a	29.673 a	5,6 a
120	727 a	61,7 a	282,1 a	32.752 a	6,8 a
180	755 a	52,6 a	283,4 a	34.132 a	7,2 a
DMS	166,9	13,9	69,3	12.433	3,3
2009					
0	105 b	12,7 b	229,8 a	10.170 b	8,3 a
30	191 ab	16,5 ab	248,8 a	15.280 a	8,2 a
60	153 ab	22,8 ab	257,3 a	12.253 ab	9,8 a
120	195 a	20,4 ab	266,1 a	17.729 a	12,6 a
180	194 a	24,8 a	273,9 a	15.648 ab	11,2 a
DMS	88,1	11,5	47,2	7.077,7	8,3

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Tabela 3. Firmeza da polpa (FP), teores de sólidos solúveis (SST) e índice de cor da epiderme na colheita e após o armazenamento (45+7 dias) de frutos de caqui ‘Fuyu’, nos diferentes anos e doses de adubação nitrogenada ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), em pomar comercial no município de Rio das Antas, SC

Doses N	Colheita - FP (lb)				45+7dias - FP (lb)			
	2007	2008	2009	3 anos	2007	2008	2009	3 anos
0	13,7 a	13,6 ab	12,3 b	13,0 ab	10,2 b	8,8 b	13,1 a	10,6 b
30	13,8 a	12,4 b	13,3 ab	13,1 ab	12,3 a	8,9 b	12,7 a	11,2 b
60	13,1 a	14,6 a	13,5 a	13,8 a	12,4 a	12,7 a	12,9 a	12,7 a
120	13,4 a	12,8 ab	11,2 c	12,3 b	10,9 ab	9,4 b	11,6 a	10,7 b
180	12,7 a	13,5 ab	11,8 bc	12,7 b	9,8 b	9,1 b	12,0 a	10,2 b
DMS	1,59	1,95	1,72	1,08	1,65	2,31	1,96	1,19
	Colheita - SST (%)				45+7 dias - SST (%)			
0	16,1 a	14,9 a	17,1 a	16,0 a	16,2 a	14,2 a	17,5 a	15,8 a
30	15,5 ab	14,5 a	16,3 c	15,4 a	15,8 ab	14,5 a	17,1 a	15,6 a
60	15,6 ab	14,9 a	16,5 b	15,7 a	15,6 b	14,5 a	16,8 a	15,5 a
120	14,9 bc	15 a	16,9 ab	15,6 a	15,3 bc	14,4 a	17,3 a	15,3 a
180	14,6 c	14,6 a	15,9 c	15,0 a	15,2 c	14,4 a	16,8 a	15,2 a
DMS	0,77	1,21	0,5	1,16	0,59	0,64	1,14	0,96
	Colheita - Cor de Epiderme				45+7 dias - Cor de Epiderme			
0	4,2 a	4,1 a	4,9 a	4,5 a	5,6 a	4,8 a	6,2 a	5,5 a
30	3,9 a	4,1 b	4,9 a	4,3 ab	5,8 a	4,4 a	5,6 b	5,2 ab
60	4,3 a	3,8 b	4,9 ab	4,3 ab	5,7 a	4,4 a	5,7 b	5,3 ab
120	3,9 a	3,8 ab	4,5 bc	4,1 b	5,6 a	4,8 a	5,8 ab	5,4 ab
180	4,3 a	3,8 b	4,4 c	4,1 b	5,9 a	4,7 a	5,4 b	5,3 b
DMS	0,49	0,03	0,39	0,29	0,29	0,44	0,4	0,28

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Tabela 4. Porcentagem de frutos de caquis ‘Fuyu’ afetados por estrias, podridões, pintas pretas grandes (PPG), pintas pretas pequenas (PPP), porcentagem de frutos não firmes e translúcidos, após o armazenamento, nos diferentes anos e doses de adubação nitrogenada (kg ha^{-1}), em pomar comercial no município de Rio das Antas, SC

Doses N	Estrias 2007	Estrias 2008	Estrias 2009	Podre 2007	Podre 2008	Podre 2009
0	60,0 a	69,3 a	24,5 a	6,7 a	24,0 a	17,8 a
30	30,1 a	50,0 a	21,3 a	0 a	18,3 a	8,3 a
60	26,7 a	62,1 a	30,8 a	3,3 a	7,2 a	4,3 a
120	56,7 a	52,0 a	16,1 a	5,0 a	15,3 a	5,9 a
180	51,7 a	57 a	33,9 a	1,7 a	26,8 a	8,6 a
DMS	64,1	32,8	18,0	10,4	20,0	24,5
	PPG 2007	PPG 2008	PPG 2009	PPP 2007	PPP 2008	PPP 2009
0	0 a	9,8 a	0 a	15,0 a	5,8 b	8,7 a
30	0 a	0 a	0 a	3,4 a	15,0 ab	6,4 a
60	0 a	3,6 a	0 a	1,7 a	10,7 ab	21,0 a
120	0 a	8,7 a	0 a	13,3 a	20,8 a	15,7 a
180	0 a	0 a	0 a	13,3 a	12,3 ab	6,5 a
DMS	0	17,5	0	43,5	22,1	21,0
	Não Firmes 2007	Não Firmes 2008	Não Firmes 2009	Trans-lúcidos 2007	Trans-lúcidos 2008	Trans-lúcidos 2009
0	21,7 a	31,2 a	4,2 a	8,3 a	11,5 b	2,01 a
30	3,3 a	26,7 ab	2,1 a	5,1 a	21,7 ab	0 a
60	8,3 a	3,6 b	2,2 a	8,3 a	21,5 ab	0 a
120	13,3 a	36,0 a	5,9 a	1,7 a	27,5 ab	0 a
180	16,7 a	35,8 a	8,6 a	8,3 a	37,4 a	0 a
DMS	35,9	25,3	7,2	16,7	20,9	4,3

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Tabela 5. Teores médios de minerais na polpa fresca de frutos de caquis ‘Fuyu’ em diferentes anos e doses de adubação nitrogenada (kg ha^{-1}), em pomar comercial no município de Rio das Antas, SC

Ano	Doses N	mg.Kg ⁻¹ de polpa fresca (ppm)				
		N	P	K	Ca	
2007	0	624,0 a	225,7 a	1646,7 a	121,0 a	
	30	650,7 a	198,0 ab	1550,3 a	131,7 a	
	60	603,7 a	226,0 a	1507,3 a	119,3 a	
	120	539,0 a	178,0 b	1641,3 a	117,7 a	
	180	614,7 a	155,3 b	1531,3 a	116,0 a	
2008	0	638,0 a	367,3 b	1457,3 a	110,0 a	
	30	634,3 a	323,3 c	1398,0 a	102,3 a	
	60	700,3 a	352,3 bc	1383,3 a	73,0 a	
	120	654,0 a	390,7 a	1500,3 a	100,3 a	
	180	690,3 a	345,0 bc	1377,3 a	107,0 a	
2009	0	690,0 a	213,3 a	1610,7 a	104,0 a	
	30	750,3 a	144,7 b	992,3 a	89,7 a	
	60	709,3 a	205,7 a	1478,0 a	114,3 a	
	120	633,7 a	175,3 ab	1731,7 a	93,3 a	
	180	652,7 a	178,3 ab	1002,0 a	99,3 a	

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Tabela 6. Teores de minerais nas folhas de caquizeiro ‘Fuyu’ em diferentes anos e doses de adubação nitrogenada (kg ha^{-1}), de um pomar comercial no município de Rio das Antas, SC

Ano	Doses N	g.Kg ⁻¹ de matéria seca			
		N	P	K	Ca
2007	0	19,9 b	1,2 a	27,1 a	19,7 a
	30	21,7 ab	1,3 a	22,4 ab	18,3 a
	60	22,6 ab	1,2 a	19,1 b	17,6 a
	120	23,7 a	1,4 a	22,3 ab	20,1 a
	180	24,0 a	1,3 a	21,2 ab	20,6 a
2008	0	26,8 a	1,2 a	23,1 a	21,7 a
	30	28,0 a	1,3 a	22,8 a	20,5 a
	60	26,1 a	1,3 a	23,2 a	22,6 a
	120	27,2 a	1,3 a	22,4 a	24,0 a
	180	28,8 a	1,3 a	21,0 a	21,3 a
2009	0	33,5 a	1,2 a	22,3 a	21,0 a
	30	28,7 a	1,1 a	16,7 b	18,1 a
	60	35,7 a	1,1 a	16,8 b	20,7 a
	120	28,7 a	1,1 a	14,7 b	19,8 a
	180	29,6 a	1,1 a	14,7 b	21,3 a

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Artigo 3: Skin cracks occurrence in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) 'Fuyu' produced at different altitudes.

**Skin cracks occurrence in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) ‘Fuyu’ produced at
different altitudes**

Valdecir Carlos Ferri¹, Edson Luiz de Souza^{2*}, Luiz Carlos Argenta³, Leonardo Nora¹,
Jorge Adolfo da Silva¹, Eduardo Purgatto⁴ and Cesar Valmor Rombaldi¹

¹ Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial (DCTA), Caixa Postal 354, Pelotas, CEP 96010-900, RS, Brasil.

^{2*} Epagri, Estação Experimental de Videira, Caixa Postal 21, Videira, CEP 89560-000, SC, Brasil. E-mail edsonluiz@epagri.sc.gov.br.

³ Epagri, Estação Experimental de Caçador, Caixa Postal 591, CEP 89500-000, Caçador-SC, Brasil.

⁴ Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Butantã, São Paulo, CEP 05508-000, SP, Brasil.

Skin cracks occurrence in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) ‘Fuyu’ produced at different altitudes

Abstract

Skin cracks compromises the marketability of Fuyu persimmon. The cause(s) of this problem remains unknown. Our hypothesis is that persimmon tree at higher altitude produces fruit with higher soluble solids content, therefore more susceptible to occurrence of skin cracks. In order to test this hypothesis, accumulation of total soluble solids (TSS), glucose, fructose, sucrose and sorbitol in the fruit during ripening on the tree were evaluated in two orchards in southern Brazil: orchard H, at high altitude (about 900 m) and orchard L, at low altitude (about 300 m). The accumulation of soluble solids and the occurrence of skin cracks were higher in the fruit from orchard H and the accumulation of soluble solids and sorbitol in the regions of the fruit affected by skin cracks was higher than in the regions unaffected by skin cracks. These results confirm our hypothesis and suggest that over accumulation of soluble solids in the fruit contributes to occurrence of skin cracks. Interestingly, sorbitol was detected only in fruit from orchard H.

Keywords: postharvest injuries, ripening, sorbitol, sugar, altitude.

Ocorrência de estrias em caqui (*Diospyros kaki* Thunb.) 'Fuyu' produzido em diferentes altitudes

Resumo

Estrias comprometem a comercialização do caqui 'Fuyu'. As causas desses problemas ainda são desconhecidas. Nossa hipótese é que caquizeiros em maior altitude produzem frutos com maiores teor de sólidos solúveis totais, portanto, mais susceptíveis a ocorrência de estrias. Para testar essa hipótese, o acúmulo de sólidos solúveis totais, glicose, frutose, sacarose e sorbitol nos frutos durante a maturação da planta foram avaliados em dois pomares no sul do Brasil: pomar H, em alta altitude (aproximadamente 900 m) e pomar L, em baixa altitude (aproximadamente 300m). O acúmulo de sólidos solúveis totais e a ocorrência de estrias foram maiores nos frutos oriundos do pomar H e o acúmulo de sólidos solúveis totais e sorbitol em regiões do fruto afetadas por estrias foi maior que nas regiões não afetadas. Esses resultados confirmam a hipótese estabelecida e sugerem que o maior acúmulo de sólidos solúveis totais na fruta contribuem para a ocorrência de estrias. Curiosamente, o sorbitol só foi detectado nos frutos do pomar H.

Palavras-chave: injúrias pós-colheita, amadurecimento, sorbitol, açúcar, altitude.

Introduction

In Brazil, the persimmon variety most cultivated is Fuyu, which is harvest in Southern Brazil from April to June (Ferri et al., 2004a; Krammes, 2004). Cold storage (CS) of fruit, at 0 ± 1 °C and relative humidity from 92 to 95 %, is commonly employed to extend postharvest preservation up to 30 days (Girardi et al., 2003; Ferri et al., 2004a; Ferri et al., 2004b). If persimmon is stored for longer periods, a significant reduction in

flesh firmness and occurrence of skin browning associated or not with skin cracks, usually occur (Brackmann et al., 1999; Argenta, 2006). Fruit storage under modified atmosphere (MA) or controlled atmosphere (CA), associated with ethylene control, either through the removal of ethylene and/or inhibition of ethylene action by 1-MCP, contributes to extend the postharvest preservation up to 60-85 days (Brackmann et al., 1999; Gonçalves et al., 2004; Krammes, 2004; Salvador et al., 2004).

However, the mentioned approaches to extend the preservation period of Fuyu persimmon do not prevent the occurrence of skin browning and/or skin cracks, the most significant pre and postharvest injuries in this fruit (Ferri et al., 2004b; Krammes, 2004). A number of browning symptoms have been detected and described by Argenta (2006) in fruit stored under cold storage, amongst which: 1) skin scalding, frequently detected in fruit stored under CS and MA; 2) partially necrotic dark stains distributed throughout the entire fruit surface, observed in late harvest or after CS; 3) skin cracks, mainly located at the top of the fruit; 4) skin cracks at variable regions of the fruit, which are commonly present in persimmon harvested in more advanced ripening stages. Gonçalves et al. (2004) evaluated the correlation between genetic variability of Fuyu persimmon and occurrence of skin cracks. These authors verified the existence of genetic variability in orchards, but they could not verify correlation with the incidence of skin cracks. They verified that skin cracks were more frequent in fruit from orchards located at regions with higher thermal amplitude (the difference of temperature between day and night) and soil with boron deficiency. They also verified that skin cracks were more intense in fruit harvested in more advanced ripening stages, in which skin cracks were sometimes detected at the top and sometimes in other regions of the fruit.

The skin cracks and subsequent browning affects the fruit skin only, not the flesh, unless saprophyte fungus develops (Gonçalves et al., 2004). The flesh, under regions affected by browning, presents excellent taste and flavour. Therefore it represents an aesthetic problem only, but sufficient to compromise the commercialization of Fuyu persimmon, as already reported by Iwanami et al. (2002).

The occurrence of skin cracks, at least in part, may results from high concentration of sugars in the skin, increasing the osmotic pressure in a stage in which the cell expansion is already limited. According to Iwanami et al. (2002), this could lead to a cellular decompartmentalization, cell disruption and skin cracks, facilitating the oxidation of phenolic compounds with consequent browning.

In this study we evaluated whether accumulation of soluble solids in the fruit correlates to the occurrence of skin cracks.

Material and Methods

Persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) cv. Fuyu was harvested from two orchards, at high (H) and low (L) altitude, localized in Caçador-SC-Brazil (26°47' South - 51°01' West, about 900 m altitude) and Canguçu-RS-Brazil (31°24' South - 52°39' West, about 300 m altitude), respectively. In the region of orchard H the thermal amplitude and relative humidity are higher than in the region of orchard L. In orchard H, in comparison to orchard L, the flowering starts later, the ripening cycle is longer and the fully ripe stage (FRS) of the fruit is reached about 30 days later.

In each orchard a homogeneous area of 0.25 ha was delimited and three sets of five plants were randomly selected into this area. In the year of 2008 the fruit samples were harvested at seven day interval, starting on 15th March and 15th April, until the

fruit reached the FRS, assumed to have occurred on 27th May and 26th June, in orchards L and H respectively. Fruit harvested before 42 day from the FRS was not considered for analysis. Ten fruit were harvested from each plant, totalising one hundred and fifty fruit per sample. From each sample, thirty six fruit, visually unaffected by other agents (insect, disease, birds, mechanical damage, etc.), were randomly selected for analysis.

The content of TSS was analysed in the fruit harvested 42, 35, 28, 21, 14, and 7 day before the FRS and also in the day the FRS was reached (0 day). The content of glucose, fructose, sucrose and sorbitol was analyzed in the fruit harvested 42, 28, and 14 day before the FRS and also in the day the FRS was reached (0 day). From each sampled fruit, four portions of 2 cm³ of flesh were taken from equidistant positions around the equatorial region. The portions were pooled, homogenized and analysed.

Fruit from orchard H was also analysed for the content of TSS, glucose, fructose, sucrose and sorbitol in two distinct regions of the same fruit, affected and unaffected by skin cracks, respectively. Two portions of 2 cm³ of flesh were taken, one from the region affected by skin cracks and another from the adjacent region unaffected by skin cracks. Considering that accumulation of photoassimilates is not uniform in all portions of the fruit, the samples from the portions with cracks and without cracks were excised from equivalent region of the fruit. In other words, if cracks were located at the top of the fruit, the sample was excised from under this region and another sample from under the adjacent region without skin cracks and also at the top of the fruit. The portions were homogenized and analysed separately.

The TSS was measured using a manual refractometer. Glucose, fructose, sucrose and sorbitol were identified and quantified by HPLC, according to the method described by Wu et al. (2005)

The skin cracks were evaluated according to the method described by Argenta (2006). Skin cracks shorter than 5 mm were not considered.

A completely randomized full factorial experimental design was used. ANOVA was performed using the F test with a 5% significance level. Duncan's test ($p < 0.05$) and polynomial regression analysis were performed.

Results and Discussion

The content of TSS in the fruit on the tree in orchards H and L increased from 13.3% to 19.4% and 15.3%, respectively, in 42 days, until the fruit reached the fully ripe stage (FRS) (Figure 1).

The higher concentration of TSS in the fruit from orchard H was probably due to the higher thermal amplitude and to the 30 day longer ripening cycle of the fruit in this orchard. According to Yamada & Kobayashi (1999) and Wu et al. (2005), the synthesis and translocation of photoassimilates under the mentioned conditions is stimulated.

The concentration of individual soluble sugars in the fruit from orchard H was never lower than in the fruit from orchard L, except the concentration of sucrose at 14 and 0 day before the FRS (Figure 2). The sucrose concentration in Fuyu persimmon fruit usually reaches the maximum at 28 day before the FRS, which is the period recommended for the harvest (Ferri et al., 2004b).

Although no report concerning the presence of sorbitol in Fuyu persimmon was found in literature, except for transgenic material transformed to induce the synthesis of this carbohydrate (Gao et al., 2001), the presence of this sugar-alcohol was detected in the fruit from orchard H. Sorbitol is known as an important photoassimilate produced in leaves, especially in fully expanded ones, which is transported to growing tissues,

young leaves, woody tissues and fruit of species from genera *Rubus*, *Prunus*, *Pyrus*, *Eriobotrya* and *Malus*. Moreover, sorbitol has been reported to be a protective osmotic agent of vegetative tissues (Gao et al., 2001). However, when in excess, it may cause physiological disorders in the fruit, as it occurs in apple (Yamada & Kobayashi, 1999). On the other hand, it has also been reported that sorbitol may act as a translocation facilitating agent for cations such as calcium (Ca) and boron (B) through the phloem of plants (Brown & Hu, 1996; Gao et al., 2001).

The incidence of fruit affected by skin cracks increased from 2% and 3% (35 day before the FRS) to 55% and 9% at harvest stage (14 day before the FRS) in orchards H and L, respectively (Figure 3). The 6-fold higher incidence of skin cracks in fruit from orchard H at harvest stage was probably due to over accumulation of TSS. This problem has been widely discussed in Brazil (Brackmann et al., 1999; Ferri et al., 2004b; Gonçalves et al., 2004; Argenta, 2006), as well as in other countries (Iwanami et al., 2002), but remains unsolved.

The accumulation of TSS during fruit ripening contributes on the sweet taste and to increase shelf life (Iwanami et al., 2002) of Fuyu persimmon. In general, the persimmon fruit has a long ripening period, around 45 day (Krammes, 2004). During this period the fruit do not change in size, but its content of TSS increases significantly and the bioconversion of sucrose into monosaccharides occurs. Therefore, an increase in the osmotic pressure in the cells is expected.

Over accumulation of TSS occurred in the flesh under the skin with cracks (Figure 4) suggesting that increases in the osmotic pressure in the cells caused skin cracks.

The higher concentration of TSS associated with higher incidence of skin cracks in fruit from orchard H corroborate the hypothesis that increased accumulation of TSS during the ripening of Fuyu persimmon increases the osmotic pressure and causes the rupture of skin cells (skin cracks) and hence browning.

Many authors (Brackmann et al., 1999; Girardi et al., 2003; Ferri et al., 2004a; Ferri et al., 2004b; Gonçalves et al., 2004; Krammes, 2004; Salvador et al., 2004; Argenta, 2006) have reported that later harvest results in fruit with higher concentration of TSS, but frequently with more physiological disturbs, especially skin browning, developed from microfissures such as cracks in the skin. Therefore, where the climatic conditions favour the occurrence of skin cracks, the harvest of fruit at less advanced ripening stages is strongly recommended to avoid this fruit disorder.

The detection of sorbitol only in the fruit affected by skin cracks opens the perspective for future works, such as application of Ca and/or B. These cations might contribute to prevent the occurrence of skin cracks as they seem to play an important role in the maintenance of the structure and functionality of cell walls and membranes (Brown & Hu, 1996; Ferri, 2000). However, Ca and B do not translocate easily in the plant, except via xylem through mass flow, limiting attempts to increase their concentration in the fruit. Studies conducted by Brown and Hu (1996) indicate that in sorbitol-synthesizing plants, this sugar-alcohol may act as carrier of Ca and B through the phloem. Therefore, the concentration of Ca and B might be increased easier in the fruit of persimmon plants that accumulate sorbitol, such those from orchard H in the present study. Ferri et al. (2008) observed that Ca and B sprayed on Fuyu persimmon trees in Farroupilha, RS, Brazil, in a orchard similar to orchard H, in terms of altitude (about 800 m), climatic conditions, and occurrence of skin cracks; contributed to

prevent skin cracks, therefore corroborating the hypothesis above. In other species (e.g. apple, strawberry, tomato, etc.) this strategy is widely employed in the attempt of incrementing the Ca and/or B concentration in order to prevent postharvest physiological disorders (Wojcik, 2002; Dong et al., 2004; Singh et al., 2007).

In conclusion, fruit produced at high altitude have greater concentration of soluble solids, glucose and fructose than fruit produced at low altitude and this probably resulted in differences in occurrence of skin cracks. The sorbitol was detected only in fruit from orchard of the high altitude.

Acknowledgments

The authors acknowledge MEC-CAPES, MCT-CNPq, MAPA, Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado do RS and EPAGRI for the financial aid and fellowships.

References

- ARGENTA L.C. Descrição dos principais distúrbios em caqui 'Fuyu' após a armazenagem refrigerada. **Revista Agropecuária Catarinense**, v.19, p.49-52, 2006.
- BRACKMANN A.; STEFFENS C.A.; MAZARO S.M. Armazenamento de caqui (*Diospyrus kaki*, L.), cv. Fuyu, em condições de atmosfera modificada e controlada. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.24, p.42-46, 1999.
- BROWN P.; HU H. Phloem mobility of boron is species dependent: Evidence for phloem mobility in sorbitol-rich species. **Annals of Botany**, v.77, p.497-506, 1996.
- DONG C.X.; ZHOU J.M.; FAN X.H.; WANG H.Y.; DUAN Z.Q.; TANG C. Application methods of calcium supplements affect nutrient levels and calcium forms in mature tomato fruits. **Journal of Plant Nutrition**, v.27, p.1443-1455, 2004.

- FERRI V.C.; RINALDI M.M.; DANIELI R.; LUCHETTA L.; ROMBALDI C.V. Cold storage conservation of kakis (*Diospyrus kaki*, L.) cv. Fuyu, in modified atmosphere. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, p.111-115, 2004a.
- FERRI V.C.; RINALDI M.M.; SILVA J.A.; LUCHETTA L.; MARINI L.; ROMBALDI C.V. Ácido giberélico no retardamento da maturação de caquis (*Diospyrus kaki*, L.), cultivar Fuyu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, p.1-5, 2004b.
- FERRI V.C.; ROMBALDI C.V.; SILVA J.A.; PEGORARO C.; NORA L.; ANTUNES P.L.; GIRARDI C.L.; TIBOLA C.S. Boron and calcium sprayed on 'Fuyu' persimmon tree prevent skin cracks, groove and browning of fruit during cold storage. **Ciência Rural**, v.38, p.2146-2150, 2008.
- GAO M.; TAO R.; MIURA K.; DANDEKAR A.M.; SUGIURA A. Transformation of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) with apple cDNA encoding NADP-dependent sorbitol-6-phosphate dehydrogenase. **Plant Science**, v.160, p.837-845, 2001.
- GIRARDI C.L.; PARUSSOLO A.; DANIELI R.; CORRENT A.R.; ROMBALDI C.V. Conservação de caqui (*Diospyrus kaki*, L.), cv. Fuyu, pela aplicação de 1-metilciclopropano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, p.53-55, 2003.
- GONÇALVES E.D.; TREVISAN R.; SILVA J.A.; ROMBALDI C.V. Estudo da variabilidade genética e escurecimento epidérmico em caqui 'Fuyu' (*Diospyrus kaki*) após armazenamento refrigerado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, p.555-557, 2004.
- IWANAMI H.; YAMADA M.; SATO A. A great increase of soluble solids concentration by shallow concentric skin cracks in Japanese persimmon. **Scientia Horticulturae**, v.94, p.251-256, 2002.
- SALVADOR A.; ARNAL L.; MONTERDE A.; CUQUERELLA J. Reduction of chilling injury symptoms in persimmon fruit cv. 'Rojo Brillante' by 1-MCP. **Postharvest Biology and Technology**, v.33, p.285-291, 2004.
- SINGH R.; SHARMA R.R.; TYAGI S.K. Pre-harvest foliar application of calcium and boron influences physiological disorders, fruit yield and quality of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). **Scientia Horticulturae**, v.112, p.215-220, 2007.
- WOJCIK P. Yield and "jonagold" apple fruit quality as influenced by spring sprays with commercial Rosatop material containing calcium and boron. **Journal of Plant Nutrition**, v.25, p.999-1010, 2002.
- WU B.H.; QUILOT B.; GENARD M.; KERVELLA J.; LI S.H. Changes in sugar and organic acid concentrations during fruit maturation in peaches, *P. davidiana* and hybrids as analyzed by principal component analysis. **Scientia Horticulturae**, v.103, p.429-439, 2005.

YAMADA H.; KOBAYASHI S. Relationship between watercore and maturity or sorbitol in apples affected by preharvest fruit temperature. **Scientia Horticulturae**, v.80, p.189-202, 1999.

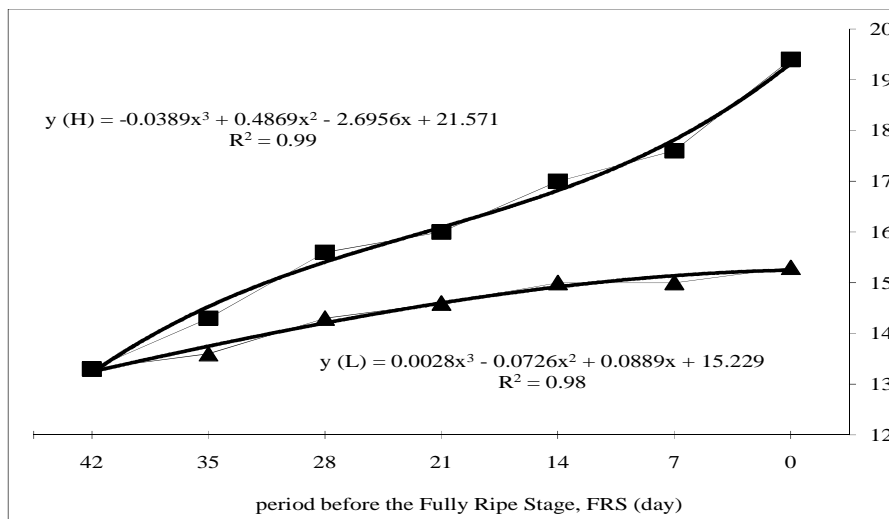


Figure 1. Evolution of total soluble solids (TSS) in Fuyu persimmon fruit during ripening on the tree in orchards H and L. Forty two (42) day before the fully ripe stage (0 day) corresponded to the first effective sampling, performed on 15th March 2008 and 15th April 2008, in orchards L (about 300 m altitude) and H (about 900 m altitude), respectively. Each data point represents the means of 3 replicates.

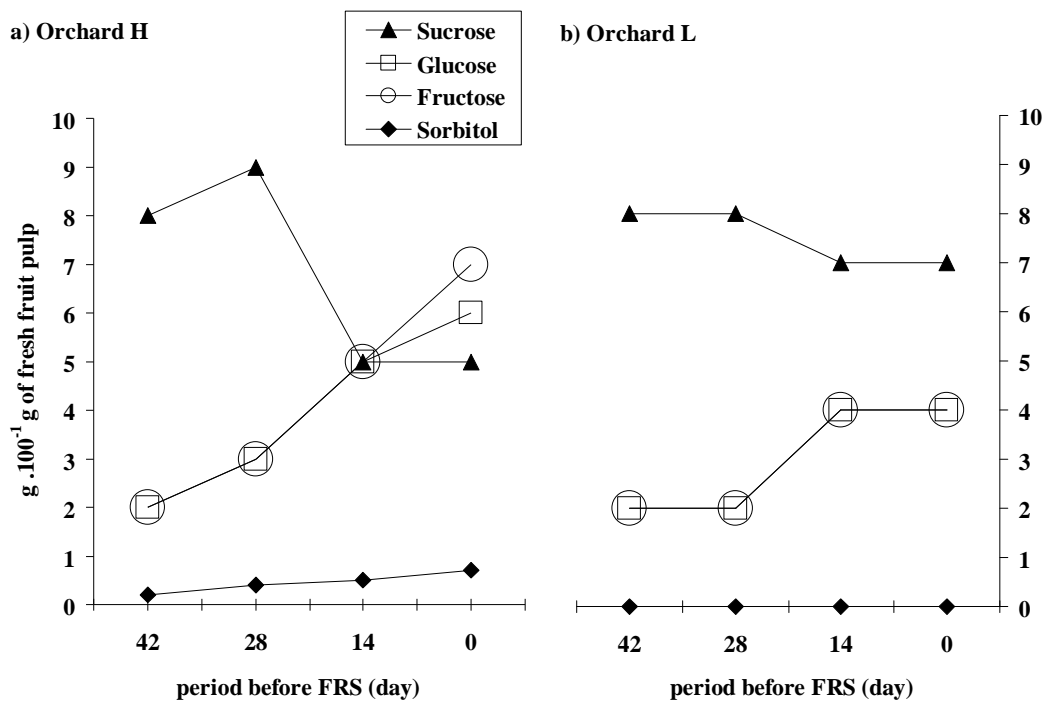


Figure 2. Evolution of total soluble sugars in Fuyu persimmon fruit during ripening on the tree in orchards H and L. Forty two (42) day before the fully ripe stage (FRS) corresponded to the first effective sampling, performed on 15th March 2008 and 15th April 2008, in orchards L (about 300 m altitude) and H (about 900 m altitude), respectively. Each data point represents the means of 3 replicates

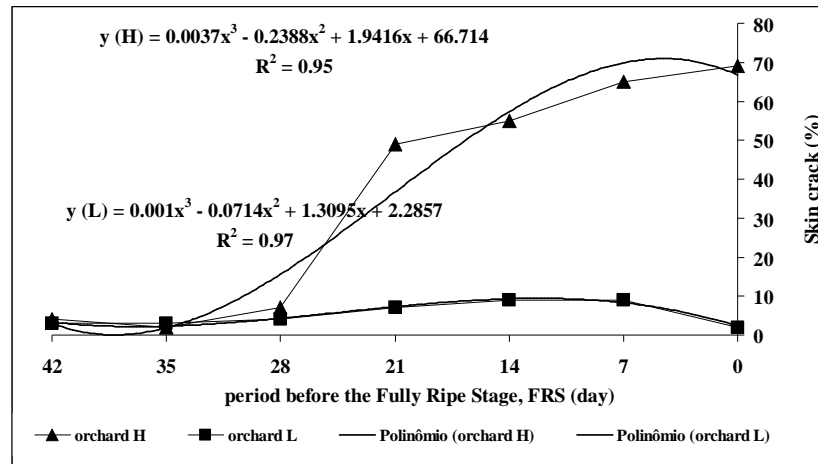


Figure 3. Occurrence of skin cracks (%) in Fuyu persimmon fruit during ripening on the tree in orchards L and H. Forty two (42) day before the fully ripe stage corresponded to the first effective sampling, performed on 15th March 2008 and 15th April 2008, in orchards L (about 300 m altitude) and H (about 900 m altitude), respectively. Each data point represents the means of 3 replicates.

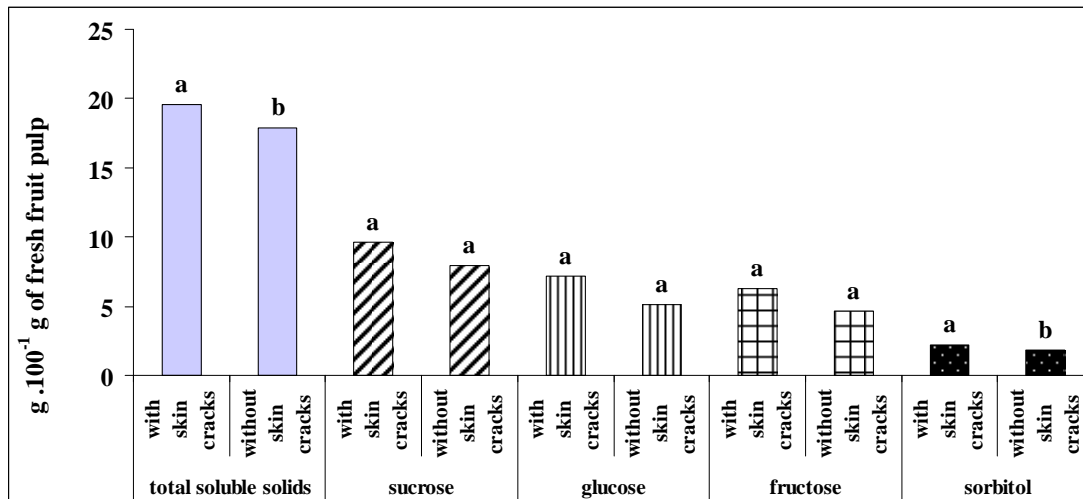


Figure 4. Evolution of total soluble solids (TSS), sucrose, glucose, fructose and sorbitol in the flesh of Fuyu persimmon under surfaces with or without skin cracks. The fruit was harvested from orchard H (about 900 m altitude), forty two (42) day before the fully ripe stage (FRS). Means ($n = 3$) of treatment into the same category (with or without skin cracks) were compared by Duncan's test ($p < 0.05$) and do not differ from each other if the letters on top of the columns are the same.

Artigo 4: Enzymatic activity, accumulation of proteins and softening of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) flesh as a function of pre-cooling acclimatization

Edson Formato

De: "Scientia Horticulturae" <sci_horti@elsevier.com>
Para: <edsonluiz@epagri.sc.gov.br>; <edsonluizdesouza@gmail.com>
Enviada em: terça-feira, 27 de julho de 2010 12:02
Assunto: A manuscript number has been assigned - HORTI5600

Dear Mr. Souza,

Your submission entitled "Enzymatic activity, accumulation of proteins and softening of persimmon (*Diospyros kaki* Thumb.) flesh as a function of pre-cooling acclimatization" has been assigned the following manuscript number: HORTI5600.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Elsevier Editorial Systems as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/horti/>.

Your username is: Edsonluiz

If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/horti/automail_query.asp

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Virginia O'Brien
Journal Manager
Scientia Horticulturae

For further assistance, please visit our customer support site at <http://epsupport.elsevier.com>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

27/7/2010

**Enzymatic activity, accumulation of proteins and softening of persimmon
(*Diospyros kaki* Thunb.) flesh as a function of pre-cooling acclimatization**

Edson Luiz de Souza^a, André Luiz Kulkamp de Souza^b, Aline Tiecher^b, César Luíz
Girardi^c, Leonardo Nora^b, Jorge Adolfo da Silva^b, Luiz Carlos Argenta^d and Cesar
Valmor Rombaldi^b

^a Epagri, Videira-SC, Brasil, P.O.B 21, CEP 89560-000, e-mail:

edsonluiz@epagri.sc.gov.br. Phone 55 049 34660054.

^b Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Departamento de Ciência and Tecnologia
Agroindustrial (DCTA), P.O.B 354, CEP 96010-900, Pelotas-RS, Brasil.

^c Embrapa Uva e Vinho, P.O.B 130, CEP 95.700-000, Bento Gonçalves-RS, Brasil.

^d Epagri, Caçador-SC, Brasil, P.O.B 591, CEP 89500-000.

**Enzymatic activity, accumulation of proteins and softening of persimmon
(*Diospyros kaki* Thunb.) flesh as a function of pre-cooling acclimatization**

Edson Luiz de Souza^a, André Luiz Kulkamp de Souza^b, Aline Tiecher^b, César Luíz Girardi^c, Leonardo Nora^b, Jorge Adolfo da Silva^b, Luiz Carlos Argenta^d and Cesar Valmor Rombaldi^b

^a Epagri, Videira-SC, Brasil, P.O.B 21, CEP 89560-000, e-mail:

edsonluiz@epagri.sc.gov.br. Phone 55 049 34660054.

^b Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Departamento de Ciência and Tecnologia Agroindustrial (DCTA), P.O.B 354, CEP 96010-900, Pelotas-RS, Brasil.

^c Embrapa Uva e Vinho, P.O.B 130, CEP 95.700-000, Bento Gonçalves-RS, Brasil.

^d Epagri, Caçador-SC, Brasil, P.O.B 591, CEP 89500-000.

Abstract

One of the major causes of 'Fuyu' persimmon loss after cold storage (CS) is the breakdown of its flesh, which results in the production of a translucent fruit (a *water-soaked* fruit). It is believed that the cause of this disturbance is linked to disorganization of the cytoskeleton and endomembrane system, which changes the synthesis and transportation of proteins and metabolites, resulting in incomplete ripening. To test this hypothesis, 'Fuyu' persimmon was subjected to three different postharvest treatments (T): T1- harvested and kept at 23 ± 3 °C and relative humidity (RH) of $85 \pm 5\%$ (room temperature, RT) for 12 days, T2- harvested and kept under cold storage (CS) (1 ± 1 °C and RH of $85 \pm 5\%$) for 30 days followed by RT storage for two days, T3- kept under RT for two days (acclimatization) followed by CS for 30 days. T1 and T3 resulted in fruit with decreased flesh firmness (FF), and increased soluble solids (SS) and ascorbic acid (AA) contents. In these fruit the activity of endo-1,4- β -glucanase (endo-1,4- β -gluc), pectin-methyl-esterase (PME), polygalacturonase (PG) and β -galactosidase (β -gal) increased. T2 resulted in translucent fruit with decreased FF, without any enzymatic activity changes, probably due to solubilization of the cell wall. Further, there was an

increased content of proteins corresponding to expansins in fruit kept under T1 and T3 conditions, which suggests that these conditions do contribute to the synthesis and/or transportation of proteins involved in the process of solubilization of the cell wall. In these fruit, there was also a major accumulation of gene transcripts corresponding to heat shock proteins (HSPs), which suggests participation of these genes in the prevention of damage caused by cold conditions. These data proved the hypotheses that acclimatization contributes to the expression of HSPs of organelles related to endomembrane, synthesis and transportation of proteins involved in the solubilization of the cell wall. This expression results in the proper ripening of the persimmon, as confirmed by the evolution of ethylene production.

Keywords: Cell wall disassembling, PME, PG, expansins, heat shock proteins.

1. Introduction

Among the methods used to maximize the storage period of 'Fuyu' persimmon, cold storage (CS), storage in a modified atmosphere (MA) and storage under a controlled atmosphere (CA) have been suggested. With CS at 0-1 °C, damage caused by cold is often observed and is characterized by the breakdown of flesh one to two days after its removal from the cold chamber (George et al., 1997; Krammes et al., 2006).

During persimmon ripening, softening is caused by the activity of the hydrolytic enzymes of the cell wall and by proteins that facilitate these activities such as expansins (Nakano et al., 2003). However, there is little information regarding this process or regarding the enzymatic behavior after CS or after acclimatization followed by CS. In other species, enzymes that are more involved with the metabolism of the cell wall, and thus responsible for the solubility of its macromolecules, include endo-1,4- β -glucanase (endo-1,4- β -gluc), pectin-methyl-esterase (PME), polygalacturonase (PG) and β -galactosidase (β -gal) (Nakamura et al., 2003; Brummell, 2006). Moreover, it is known that adequate ripening is the result of the evolution of ethylene production and the maintenance of the endomembrane system, which is responsible for the transportation of proteins including ones involved in cell wall solubilization (Rose et al., 1998). Several reports describe that pre-storage treatments such as the use of growth regulators (Pegoraro et al., 2010; Krammes et al., 2006) or physical treatments (Sabehat et al.,

1998; Sun et al., 2010; Boston et al., 1996) can contribute to the preservation of cellular homeostasis and prevent damage by cold storage.

The goal of this study was to identify the mechanisms involved in the sudden loss of flesh firmness (FF) soon after removing the fruit from the cold and to verify the effect of acclimatization prior to CS in the prevention of chilling injury. To achieve this, we both related enzymatic activities with FF loss and evaluated the content of ascorbic acid (AA), which are indicators of the evolution of the ripening processes of fruit that contain significant concentrations of pectin (Gomes et al., 2008). During normal ripening of fruit, it is expected that solubilization of pectin will cause an increase in AA (Barata-Soares et al., 2004; Gomes et al., 2008). Moreover, it is believed that delaying CS of persimmon could stimulate activity of HSPs genes (Sun et al., 2010; Sabehat et al., 1998), thus protecting the synthesis and transport of proteins and organelle homeostasis, which would result in adequate ripening.

2. Material and Methods

2.1. Plant Materials and Experimental Design

Persimmon (*Diospyros kaki*, cv. Fuyu) fruit from a commercial orchard located in the municipality of Canguçu/RS, South of Brazil, were harvested in 2010 when the epidermises were orange in color. The average values for L*, a* and b* were 56.3, 34.7 and 49.1, respectively. The Hue angle was 54.7, and the SS content was 15.2%. The FF average was 82.6 Newton (N), and the average fruit weight was 256.5 g. Prior to treatment application, the fruit were randomly divided into 42 experimental units with 10 persimmons in each group. Then, each treatment was applied to a random fruit, and all experiments were repeated in triplicate. Persimmons were stored under the following conditions:

T1 (control): 23 ± 3 °C and RH of $85 \pm 5\%$ (room temperature, RT) for 12 days;

T2: 1 ± 1 °C and RH of $85 \pm 5\%$ (cold storage, CS) for 30 days, followed by storage at 23 ± 3 °C and RH of $85 \pm 5\%$ for two days;

T3: 23 ± 3 °C and RH of $85 \pm 5\%$ for two days (acclimatization) followed by the same conditions described for T2 for 30 days.

Acclimatization condition was selected from exploratory research in which several temperature combinations (15 °C to 50 °C in warmed water or air) and multiple

time periods (from 2 min to 4 days) were tested. From these studies, we found that the optimal acclimatization condition is 23 ± 3 °C for 2 days.

For storage under T1, the first sample collection was performed soon after beginning the study, and thereafter at intervals of two days until the twelfth day of storage. A total of seven sample collections were made. The samples were stored for 30 days under T2 and T3 conditions and were analyzed immediately upon the removal of the fruit from the chamber and then at 12 hours interval for 2 days. The FF, SS, AA content, enzymatic activities of endo-1,4- β -gluc, PME, PG and β -gal and the immunodetection of expansins were measured. The accumulation of transcripts of the genes corresponding to expansins (Exp3) and HSPs were also evaluated, via RT-qPCR. There were multiple HSP genes examined, associated with different regions of the cell: cytosol (Ps-CI sHSP1 and Ps-CI sHSP2), lumen of the endoplasmic reticulum (HSP40-1er), chloroplasts (HSP70 chl and HSP17.8 chl) and mitochondria (HSP60 mit and HSP26.5 mit). The RT-qPCR of the T1 was analyzed at 0, 24, 48 and 72 hours after harvesting. The Exp3 was also evaluated. The RT-qPCR results of the T2 and T3 samples were analyzed 0, 12, 24, 36 and 48 hours after removal from the cold chamber. Variance analysis was performed on the data, and the least significant difference (LSD) among treatments was determined by the Tukey test ($p < 0.05$) using the Winstat program (Machado and Conceição, 2003).

2.2. Physico-chemical analysis

The flesh firmness (FF) was measured using a manual penetrometer, with a tip of 11 mm, and the results were reported in Newtons (N). The content of soluble solids (SS) was determined by refractometry, with results expressed as percentages (m/m). The content of ascorbic acid (AA) was determined using the extraction method of Vinci et al. (1995) in which 3 g of fruit is added to 5 mL of metaphosphoric acid at 4.5% (v/v) for one hour in a light-proofed flask. Then, the samples were filled to a volume of 10 mL with ultra-pure water and homogenized. After homogenization, two filtrations with Whatman n° 3 paper were performed. The filtrate was centrifuged at 10000 g for 10 minutes at 4 °C, and the supernatant was used for analysis in a Shimadzu chromatograph equipped with the following modules: solvent mixer LC-10AT_{VP}, degasser FCV-10A_{VP}, pump reodine DGU-14_A, control system SCL-10^A_{VP}, column

oven CTO-10AS_{VP} and autosampler SIL-10AF. A reverse phase analytical separation column, Nova-Pak C₁₈ (3.9 cm x 150 mm x 4 μm), was used. The mobile phase consisted of two solvents: (A) 0.1% acetic acid solution and (B) methanol. A total of 10 μL of sample was injected at a rate of 0.8 mL min⁻¹ at a column temperature that was maintained between 25-40 °C. The elution time of the sample was 30 minutes. Compound identification was obtained from the absorption spectrum in the UV-visible using a model SPD-10AV_{VP} at the wavelength of 254 nm. The recovery rate of the method was determined to be 93%, and the data were acquired and processed using the software Class-VP. Results were expressed as mg of AA per 100 g of fresh material.

2.3. Enzyme activities

To determine enzyme activities, methods based on the procedures previously calibrated for strawberries (Martínez and Civello, 2008) and peaches (Girardi et al., 2005) were used with slight modifications. In these studies, the flesh was frozen in liquid nitrogen and stored at either -85 °C or -20 °C prior to analysis. For persimmon, it was found that using the exact procedure of those previous studies led to poor reproducibility in the enzyme activity measurements. Better results were obtained by adding the extraction buffers (3mL.g⁻¹ of flesh) prior to storage of samples at -85 °C. Good separation of the supernatant and high reproducibility were obtained using this modification.

The determination of the enzyme activity of endo-1,4-β-gluc was performed with a sample of frozen persimmons and its extraction buffer containing 50 mM sodium acetate and 10 g L⁻¹ polyvinylpyrrolidone (PVPP) at pH 6.0 (buffer A). After disintegration of the frozen flesh in the presence of the buffer at a volume ratio of 1:3, the suspension was centrifuged at 20000 g at 4 °C for 30 minutes and the supernatant was discarded. The precipitate was resuspended in 15 mL of buffer A, homogenized for 30 minutes and centrifuged again. The precipitate from this stage was resuspended in 15 mL of buffer containing 50 mM sodium acetate, 1 M of NaCl and 10 g L⁻¹ PVPP at pH 6.0 (buffer B) and kept under agitation at 4 °C for one hour. After this period, the material was centrifuged at 20000 g at 4 °C for one hour. For each analysis repetition of the enzyme assay, 1.5 mL of supernatant was added to 0.5 mL of buffer B with 0.5% (m/v) of carboxy-methyl-cellulose. The mixture was then incubated at 30 °C, and

determinations of enzyme activities were made regularly during the first 12 hours of incubation. After the first 12 hours, readings were taken every 2 hours for 24 hours. Reaction mixtures, without either the substrate or the enzyme extract were analyzed as negative controls. The results were expressed in nanomoles of glucose produced per hour per gram of protein in the enzyme extract.

The PG activity was measured in the enzyme extract obtained by centrifuging at 20000 g for 30 minutes the crushed and frozen flesh samples in the presence of buffer A. The reaction was performed in a final volume of 4 mL, with 2 mL of the enzyme extract (supernatant) and 2 mL of a solution composed of 50 mM sodium acetate at pH 6.0 with 0.3% (m/v) polygalacturonic acid. The reaction was conducted at 30 °C over 24 hours with two samples of 300 µL; one reacted for 12 hours and the other reacted for 24 hours. The quantity of galacturonic acid released was measured by reaction with 2-cyano-acetamide, and the activity was expressed in nanomoles of this molecule per hour per gram of protein in the enzyme extract.

The PME activity was determined according to the previously optimized procedure for peach (Girardi et al., 2005).

To determine the β-gal enzyme activity, the samples were frozen with buffer B, crushed, thawed at 4 °C and centrifuged at 20000 g for 30 minutes. The activity was measured in a reaction buffer containing 50 mM sodium acetate at pH 4.5, 2 mL of enzyme extract (supernatant) and 5 mM *p*-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside in a final volume of 4 mL. The reaction was incubated at 30 °C and 300 µL aliquots were collected every ten minutes for one hour. The activity was determined in a solution with 400 mM Na₂CO₃. The activity was expressed as nanomoles of *p*-nitrophenol per minute per gram of protein in the enzyme extract.

2.4. Ethylene production

The production of ethylene was examined following the procedures described by Pegoraro et al. (2010), and the results were expressed in nL g⁻¹ h⁻¹.

2.5. Western blot

For immunodetection of expansins, Western blotting was performed. The total protein extract from persimmon flesh was extracted using one gram of flesh and one milliliter of Laemmli (2X) buffer. Evaluations were performed five times for all treatments. After 10 minutes of homogenization, the material was heated to 90 °C for 5 minutes and then centrifuged at 14000 g for 30 minutes. The supernatant was used to perform SDS-PAGE electrophoresis. Once migration was complete, the proteins were transferred to a nitrocellulose membrane (Sigma) using a Bio-Rad apparatus. The membrane was blocked with TTBS containing 2% (m/v) skim milk powder. Then, the membrane was incubated for two hours with a mouse polyclonal anti-expansin antibody (Pegoraro et al., 2010) that was diluted 1:2500 in TTBS. After three washes with TTBS, the membrane was incubated with goat anti-mouse antibody that was diluted 1:50000 in TTBS, and staining was performed with the *ECL advanced kit*[®]. In each lane, 20 µg of total protein was run.

2.6. Quantitative Real-Time PCR (RT-qPCR)

RNA was extracted from flesh of persimmon following the protocol described for PureLinK[™] reagent (Plant RNA Reagent – Invitrogen[™]). Total RNA was treated with DNase I – Invitrogen[™] and each sample was reverse transcribed into cDNAs using the commercial kit SuperScript First-Strand System for RT-PCR (Invitrogen[™]). The quantity and quality of the RNA and DNA was assessed spectroscopically and by electrophoresis in agarose gel.

Genes from peach, tomato, plum and arabidopsis putatively encoding for proteins involved in cell wall metabolism (Exp3) and heat shock proteins (Ps-CI sHSP1, Ps-CI sHSP2, HSP40-1er, HSP70 chl, HSP17.8 chl, HSP60 mit e HSP26.5 mit) were selected based on previous work that showed an association between these metabolic functions and woolliness (Pratt and Toft, 2003; Trainotti et al., 2003; Trainotti et al., 2006; González-Agüero et al., 2008; Iwata et al., 2008; Mueller et al., 2008; Su and Li, 2008; Deacon, 2009; Pegoraro et al., 2010; Sun et al., 2010). Gene-specific primers were designed from sequences deposited in the GeneBank (Benson et al., 2005) using Vector NTI Advance[™] 10 (Invitrogen, 2005). The criteria used for primer selection consisted of: amplicon size, between 100 and 150 bp; CG content, between 40 and

60 %; 3' ends with less than two C and G bases in the last five nucleotides; and melting temperature ranging from 60 to 65 °C; according to Applied Biosystems® recommendations. The sizes of amplification products and their specificity were tested in agarose gels (2 %, w/v) prior to RT-qPCR. Melting curves were evaluated and only primers giving single peaks were used. Primers used in the current work are listed in Table 1. RT-qPCR was performed with a 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems®) using SYBR® Green. The amplification reaction was carried out in a total volume of 25 µL, containing 2 µM of each primer, 12.5 µL of PCR Master Mix SYBR® Green, 1 µL of cDNA (diluted 5-fold) and water to make up the final volume. Samples were loaded in 96 well optic plates (Applied Biosystems®) and covered with optic adhesives (Applied Biosystems®). Thermal cycle conditions were as follows: denaturing at 50 °C for 2 min and 95 °C for 10 min, followed by 40 three-step cycles (95 °C for 30 s, 57 °C for 1 min and 72 °C for 1 min) and final extension at 72 °C for 5 min. Relative quantification of each single gene expression was performed using the comparative threshold cycle method, as described by Livak and Schmittgen (2001). For each cDNA, 18S was used as a reference gene to quantify cDNA abundance (at the same dilution as mentioned above). Threshold cycle (CT) was calculated based on the PCR exponential reaction obtained from the relative expression content (REL) formula, $REL = 2^{-\Delta\Delta CT}$. Results were expressed as mRNA abundance in a colour diagram using the Multi Experiment Viewer (TIGR MeV) software (Saeed et al., 2003). mRNA abundance of each gene from T1 fruit at 0 h served as the baseline for determining relative RNA content.

3. Results

'Fuyu' persimmon harvest and kept either at room temperature (T1), under cold storage (T2) and under cold storage after acclimatization (T3) was distinctively affected in terms of flesh firmness (FF), soluble solids (SS), ascorbic acid (AA), ethylene production, enzyme activity, mRNA and protein accumulation.

We observed that FF reduction occurred much more quickly under T2 (Fig. 1A). However, what stands out is that the reduction in the FF under either T1, T2 or T3 was followed by an increase in the content of SS (Fig. 1B) and AA (Fig. 1C). Interestingly,

the content of SS and AA increased to a lesser extent in persimmons that were subjected to T2, indicating an abnormal ripening process.

Persimmon under T1 and T3 ripened normally as characterized by the evolution of ethylene production (Fig. 1D) and resulted in an elevation in enzymatic activity (endo-1,4- β -gluc, PME, PG and β -gal), followed by an enzymatic activity stabilization or reduction (Fig. 2). In persimmon under T2, the mentioned enzymatic activities and ethylene production were generally smaller.

The increases in activity of the enzyme endo-1,4- β -gluc during fruit ripening in persimmon under T1 and T3 groups are consistent with the reductions in the FF. In our experiment, it was noted that during the normal softening of persimmon occurred prior to CS, during acclimatization, there were higher expression content of expansins (Fig. 3) as well as endo-1,4- β -gluc (Fig. 2A). With regard to the two most cited enzymes that are responsible for demethylation and hydrolysis of pectin in fruit (PMEs and PGs), their behaviors were similar to endo-1,4- β -gluc (Fig. 2). We observed that the fruit kept under T1 showed an increase in the activities of PME and PG during a period in which there was also a large reduction of FF. This pattern also occurred in fruit subjected to the T3. In the fruit subjected to T2, although there was a significant loss of FF, the loss was not correlated to the enzymatic activity, which indicates that the softening of the fruit was not dependent on these enzymes. The activity of the enzyme β -gal was increased in the first four days of storage under RT (T1), followed by a period of stabilization and finally ending with a decreasing trend at six days (Fig. 2D). Similarly to the others enzymes studied in this work, the β -gal showed higher activity in fruit T1 and T3.

Accumulation of expansins was higher in the fruit subjected to T1 and T3 than in the fruit subjected to T2 (Fig. 3).

In 'Fuyu' persimmon the accumulation of HSPs transcripts was higher in the fruit subjected to T3 than in the fruit subjected to T1 and T2 (Fig. 4).

4. Discussion

It is widely known that one of the main limitations of CS is the softening of the fruit, characterized by flesh breakdown, after their removal from a cold chamber. This flesh breakdown is probably due to the physical disruption of the cytoskeleton and the endomembrane system (Krammes et al., 2006). We successfully alleviated the fruit softening problem with the use of acclimatization (T3). The flesh firmness of the fruit decreased approximately 84 N when kept in CS (T2) as compared with only 47 N when the fruit were first acclimatized (T3). A similar result has already been shown for the same cultivar in New Zealand by MacRAE (1987).

The increase in the content of AA could be associated with a solubilization of cell wall components, which might cause a FF reduction and/or the conversion of part of the galacturonic acids to AA. According to Gomes et al. (2008), the production of AA in the fruit originates from two sources; synthesis and accumulation during growth as a result of photosynthetic equilibrium and the bioconversion of molecules during ripening. This latter source may be particularly appropriate to our hypothesis regarding the potential solubilization of the cell wall, which is likely to occur when the harvested persimmons were stored at RT (T1) or submitted to acclimatization prior to cold storage (T2). In the fruit that were submitted to CS, the abrupt loss of FF during the first day after CS removal was not associated with any large variations in the content of SS and AA, which suggests that the decreased FF is likely caused by physical disruption by the action of low temperatures, as observed in other fruit (George et al., 1997; Goulão and Oliveira, 2008).

The lower enzymatic activities and ethylene production in the T2 fruit suggest that the softening of the fruit was caused by the cold. Moreover, we observed that the fruit under T2 had internal structure damage including oxidation beginning on the second day after leaving the cold conditions (data not presented).

The increases in activity of the enzyme endo-1,4- β -gluc and the reductions in the FF during fruit ripening in the T1 and T3 fruit was not found in previous studies of the depolymerization of xyloglucans in persimmons. In studies of strawberries and tomatoes, it was noted that endoglucanases are critical for fruit softening, and that the expression of their respective genes and proteins occurs incrementally during ripening (Brummell, 2006; Martínez and Civello, 2008).

PMEs and PGs enzymes are known to be necessary for cell division and expansion. Their activities are known to increase during ripening of the fruit, and each isoform has a specific contribution to this process. For example, even though transgenic tomato plants had lower activities of PME and PG, they still experienced a loss of firmness of their flesh (Tieman et al., 1992). Pech et al. (2008) characterized the ethylene-dependence of PGs as well as the genes involved in the process of melon ripening. In this study, because the method of dose of enzymatic activity was used, there was no way to discriminate between the isoforms of these proteins. In other words, this study only examined the apparent total activity, which consisted of both the enzyme potential to perform de-esterifications (PME) and hydrolysis (PG) of the polyuronide compounds of the cell wall.

According to Smith et al. (1998), as β -gal removes the galactosidase of the ramnogalacturanos chains, it reduces their ability to interact with other adjacent polysaccharides, which leads to increasing solubility and decreasing flesh firmness. This phenomenon has been previously shown in strawberries, in which the varieties of strawberries that had larger reductions in flesh firmness also demonstrated higher activities of β -gal and increased solubilization of the cell wall components (Goulão and Oliveira, 2008).

The higher accumulation of expansins in the fruit under T1 and T3 is consistent with results from other studies (Brummell, 2006; Goulão and Oliveira, 2008). Because it is believed that expansins facilitate the breakage of the hydrogen bonds between cellulose, pectin and xyloglucans in cell walls, we would expect more action from the hydrolytic and de-esterifying enzymes in cells with higher content of expansins. In the case of the persimmons exposed to T2, softening could have been the consequence of the susceptibility of the fruit of persimmons 'Fuyu' to low temperatures in general, as suggested by other studies (Örvar et al., 2000). For each species, variety and organ, there is a combination of binomial time and temperature for which there is an associated increase in the content proteins involved in cold tolerance such as LEAs (late embryogenesis accumulated proteins), HSPs and molecules such sorbitol (Ferri et al., 2008).

The higher accumulation of cytosolic HSPs transcripts, endoplasmic reticulum, chloroplast and mitochondria in persimmons submitted to acclimatization (T3), suggests

that acclimatization can stimulate genes that increase the fruit' cold tolerances at low temperatures by maintaining the integrity of the cellular organelles (Barsan et al., 2010), the cytoskeleton (Örvar et al., 2000) and the endomembrane system (Pegoraro, 2010).

The expansin studied here (Exp3) encode gene that have address signal peptides for transport via the endomembrane system (iPSORT, 2009). The fact that there was less transcript accumulation (Fig. 4) and a lower intensity of immune reactions after exposure to CS indicates that either the synthesis or transport of the expansins was affected by CS. Others causes could explain this fact. For example, a reduction in protein translation and/or acceleration in protein degradation are plausible alternative explanations. However, our hypothesis is most probable because the enzymes studied here as well as the expansins are proteins that are known to transport peptides via the canonical system, which includes the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus, although, this hypothesis needs to be further explored. Moreover, as there was greater expression of HSPs in the endoplasmic reticulum, in the chloroplasts and in the mitochondria in fruit kept under T1 and under T3 conditions, it is likely that these conditions allow for better cell homeostasis. This improved homeostasis could explain the improved evolution of the process of ripening in these fruit.

In conclusion, the drastic softening of fruit after CS (T2) may be the result of physical damage caused by low temperatures. This problem can be attenuated through the use of acclimatization of persimmons at 23 ± 3 °C for two days prior to CS (T2). This acclimatization stimulates greater accumulation of the transcripts corresponding to putative genes encoding to cytosolic, mitochondrial, chloroplastc and the endomembrane HSPs as well as proteins corresponding to expansins and enzymes that are involved in the cell wall disassembling. Together, the increased transcript production and protein production result in the adequate evolution of fruit ripening after CS. Furthermore, from a basic science point of view, our study highlights the involvement of HSPs in cold tolerance of fruit.

Acknowledgments

The authors acknowledge the CNPq and CAPES for scholarships and financial support.

References

- Barata-Soares, A. D., Gomez, M.L.P.A., Mesquita, C.H., Lajolo, F.M., 2004. Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v.16, n.3, p.147-154.
- Barsan, C., Sanchez-Bel, P., Rombaldi, C.V., Egea, I., Michel Rossignol, M., Kuntz, M., Mohamed Zouine, M.Z., Latché, A., Bouzayen, M., Jean-Claude Pech, J.C., 2010. Characteristics of the tomato chromoplast revealed by proteomic analysis. *Journal of Experimental Botany*. JXB Advance Access published on April 2, DOI 10.1093/jxb/erq070.
- Benson, D.A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D.J., Ostell, J., Rapp, B.A., Wheeler, D.L., 2005. GenBank. *Nucl. Acids Res.* 33, D34-D38.
- Boston, R.S., Viitanen, P.V., Vierling, E., 1996. Molecular chaperones and protein folding in plants. *Plant Molecular Biology*, v.32, p.191-222.
- Brummell, D.A., 2006. Cell wall disassembly in ripening fruit. *Functional Plant Biology*, v.33, p.103-119.
- Ferri, V.C., Rombaldi, C.V., Silva, J.A., Pegoraro, C., Nora, L., Antunes, P.L., Girardi, C.L., Tibola, C.S., 2008. Boron and calcium sprayed on 'Fuyu' persimmon tree prevent skin cracks, groove and browning of fruit during cold storage. *Ciência Rural*, v.38, n.8, p.2146-2150.
- George, A.P., Mowat, A.D., Collins, R.J., 1997. Factors affecting blemishing of persimmon in New Zealand and Australia. *Acta Horticulturae*, n.436, p.171-178.
- Girardi, C.L., Corrent, A.R., Lucchetta, L., Zanuzo, M.R., Da Costa, T.S., Brackmann, A., Twyman, R.M., Nora, F.R., Nora, L., Silva, J.A., Rombaldi, C.V., 2005. Effect of ethylene, intermittent warming and controlled atmosphere on postharvest quality and the occurrence of woolliness in peach (*Prunus persica* cv. Chiripa) during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, v. 38, p.25-33.
- Gomez, M.L.P.A, Lajolo, F.M., 2008. Ascorbic acid metabolism in fruit: activity of enzymes involved in synthesis and degradation during ripening in mango and guava. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.88, n.5, p.756-762.
- González-Agüero, M., Pavez, L., Ibáñez, F., Pacheco, I., Campos-Vargas, R., Meisel, L.A., Orellana, A., Retamales, J., Silva, H., Gonzalez, M., Cambiazo, V., 2008.

- Identification of woolliness response genes in peach fruit after post-harvest treatments. *Journal of Experimental Botany*, v.59, p.1973-1986.
- Goulão, L.F, Oliveira, C.M., 2008. Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. *Trends in Food Science and Technology*, v. 19, p. 4-25.
- Invitrogen, Vector Nti Advance™ 10 Quick Start Guide., 2005. Invitrogen Corporation, Carlsbad.
- Ipsort. Prediction. Available in: <http://ipsort.hgc.jp/#predict>. Access in: 07 July 2009.
- Iwata, Y., Fedoroff, N.V., Koizumi, N., 2008. Arabidopsis bZIP60 is a proteolysis-activated transcription factor involved in the endoplasmic reticulum stress response. *Plant Cell*, v.20, p.3107-3121.
- Krammes, J.G., Argenta, L.C., Vieira, M.J., 2006. Influences of methylcyclopropano on quality of persimmon fruit cv. 'Fuyu' after cold storage. *Acta Horticulturae*, n.727, p.513-518.
- Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using realtime quantitative PCR and the 2(T)(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 25, 402-408.
- MacRAE, E.A., 1987. Development of chilling injury in New Zealand grown 'Fuyu' persimmon during storage. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, v.15, p.333-344.
- Machado, A.A., Conceição, A.R., 2003. Sistema de análise estatística para Windows. Winstat. Versão 2.0. UFPel.
- Martínez, G.A., Civello, P.M., 2008. Effect of heat treatments on gene expression and enzyme activities associated to cell wall degradation in strawberry fruit. *Postharvest Biology Technology*, v.49, p.38-45.
- Mueller, S., Hilbert, B., Dueckershoff, K., Roitsch, T., Krischke, M., Mueller, M.J., Berger, S., 2008. General detoxification and stress responses are mediated by oxidized lipids through TGA transcription factors in Arabidopsis. *Plant Cell*, v.20, p.768-785.
- Nakamura, A., Maeda, H., Mizuno, M., Koshi, Y., Nagamatsu, Y., 2003. β -Galactosidase and Its Significance in Ripening of 'Saijo' Japanese Persimmon Fruit. *Bioscience, Biotechnology and Agrochemistry*, v.67, n.1, p.68-76.

- Nakano, R., Ogura, E., Kubo, Y., Inaba, A., 2003. Ethylene biosynthesis in detached young persimmon fruit is initiated in calyx and modulated by water loss from the fruit. *Plant Physiology*, v.131, p.276-286.
- Örvar, B.L., Sangwan, V., Omann, F., Dhindsa, R.S., 2000. Early steps in cold sensing by plant cells: the role of actin cytoskeleton and membrane fluidity. *The Plant Journal*, v.23, p.785-794.
- Pech, J.C., Bouzayen, M., Latche, A., 2008. Climacteric fruit ripening: Ethylene-dependent and independent regulation of ripening pathways in melon fruit. *Plant Science*, v.175, p.114-120.
- Pegoraro, C., Zanuzo, M.R., Chaves, F.C., Brackmann, A., Girardi, C., Lucchetta, L., Nora L., Silva, J.A., Rombaldi, C.V., 2010. Physiological and molecular changes associated with prevention of woolliness in peach following pre-harvest application of gibberellic acid. *Postharvest Biology and Technology*, v.57, p.19-26.
- Pratt, W.B., Toft, D.O., 2003. Regulation of signaling protein function and trafficking by the hsp90/hsp70-based chaperone machinery. *Experimental Biology and Medicine*, v.228, p.111-133.
- Rose, J.K.C., Hatfield, K.A., Labavitch, J.M., Bennett, A.B., 1998. Temporal sequence of cell wall disassembly in rapidly ripening melon fruit. *Plant Physiology*, v.117, p.345-361.
- Saeed, A.I., Sharov, V., White, J., Li, J., Liang, W., Bhagabati, N., Braisted, J., Klapa, M., Currier, T., Thiagarajan, M., Sturn, A., Snuffin, M., Rezantsev, A., Popov, D., Ryltsov, A., Kostukovich, E., Borisovsky, I., Liu, Z., Vinsavich, A., Trush, V., Quackenbush, J., 2003. TM4: a free, open-source system for microarray data management and analysis. *Biotechniques*, v.34, p.374-378.
- Sabehat, A., Lurie, S., Weiss, D., 1998. Expression of small heat-shock proteins at low temperatures. A possible role in protecting against chilling injuries. *Plant Physiology*, v.117(2), p. 651-658.
- Smith, D.L., Starrett, D.A., Gross, K.C., 1998. A gene coding for tomato fruit β -galactosidase II is expressed during fruit ripening. Cloning, characterization, and expression pattern. *Plant Physiology*, v.117, p.417-423.

- Su, P.H., Li, H.M., 2008. Arabidopsis stromal 70-kD heat shock proteins are essential for plant development and important for thermotolerance of germinating seeds. *Plant Physiology*, v.146, p.1231-1241.
- Sun, J.H., Chen, J.Y., Kuang, J.F., Chen, W.X., Lu, W.J., 2010. Expression of HSPs genes as affected by heat shock and cold acclimatization in relation to chilling tolerance in plum fruit. *Postharvest Biology and Technology*, v.55, n.2, p.91-96.
- Tieman, D.M., Harriman, R.W., Ramamohan, G., Handa, A.K., 1992. An antisense pectin methylesterase gene alters chemistry and soluble solids in tomato fruits. *The Plant Cell*, v.4, p.667-679.
- Trainotti, L., Zanin, D., Casadoro, G., 2003. A cell wall-oriented genomic approach reveals a new and unexpected complexity of the softening in peaches. *Journal of Experimental Botany*, v.54, n.389, p.1821-1832.
- Trainotti, L., Bonghi, C., Ziliotto, F., Zanin, D., Rasori, A., Casadoro, G., Ramina, A., Tonutti, P., 2006. The use of microarray μ PEACH1.0 to investigate transcriptome changes during transition from pre-climacteric to climacteric phase in peach fruit. *Plant Science*, v.170, p.606-613.
- Vinci, G., Botre, F., Mele, G., Ruggieri, G., 1995. Ascorbic acid in exotic fruits: a liquid chromatographic investigation. *Food Chemistry*, v. 53, p. 211-214.

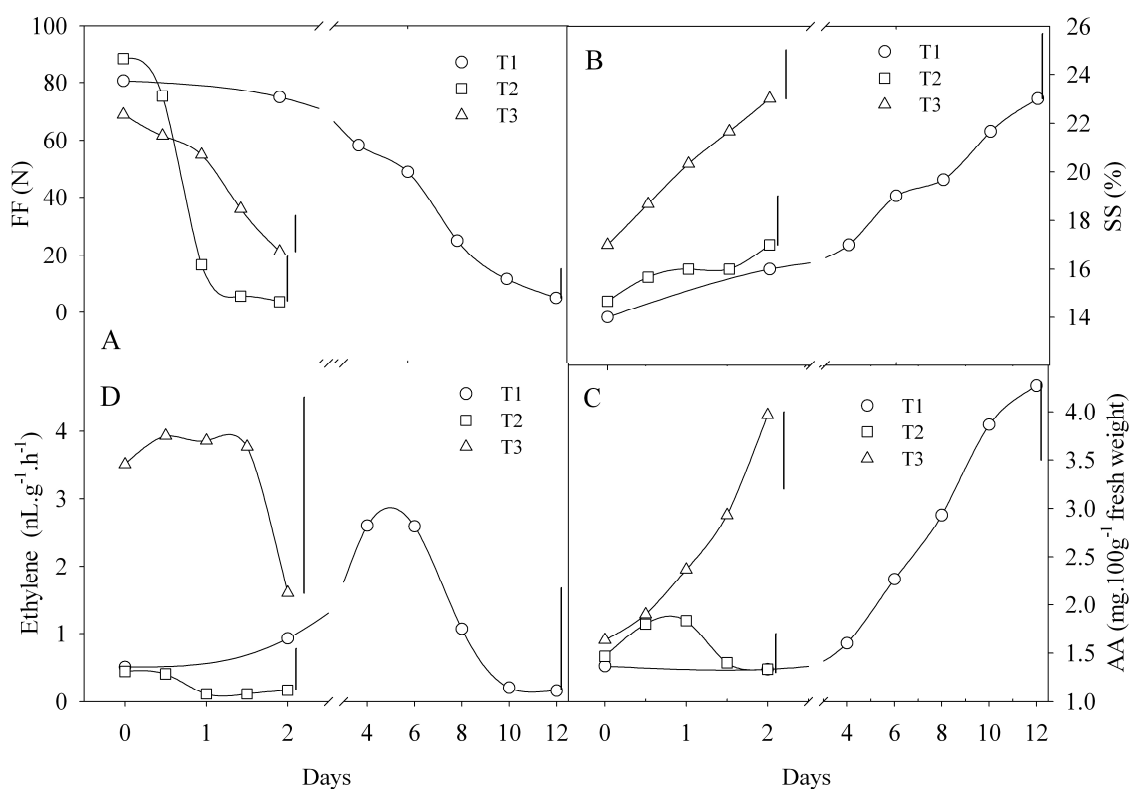


Figure 1. Flesh firmness (FF), soluble solid (SS) content, ethylene production and ascorbic acid (AA) content in 'Fuyu' persimmon under three different treatments: T1- 23 ± 3 °C and RH of $85 \pm 5\%$ for 12 days (0: harvest; 2; 4; 6; 8; 10; 12 days); T2- 1 ± 1 °C and RH of $85 \pm 5\%$ for 30 days, followed by storage at 23 ± 3 °C and RH of $85 \pm 5\%$ for two days; T3- 23 ± 3 °C and RH of $85 \pm 5\%$ for two days followed by the same conditions of T2 for 30 days. Vertical bars indicate the value of MSD for time effect in each treatment ($p < 0.05$, as determined by Tukey test).

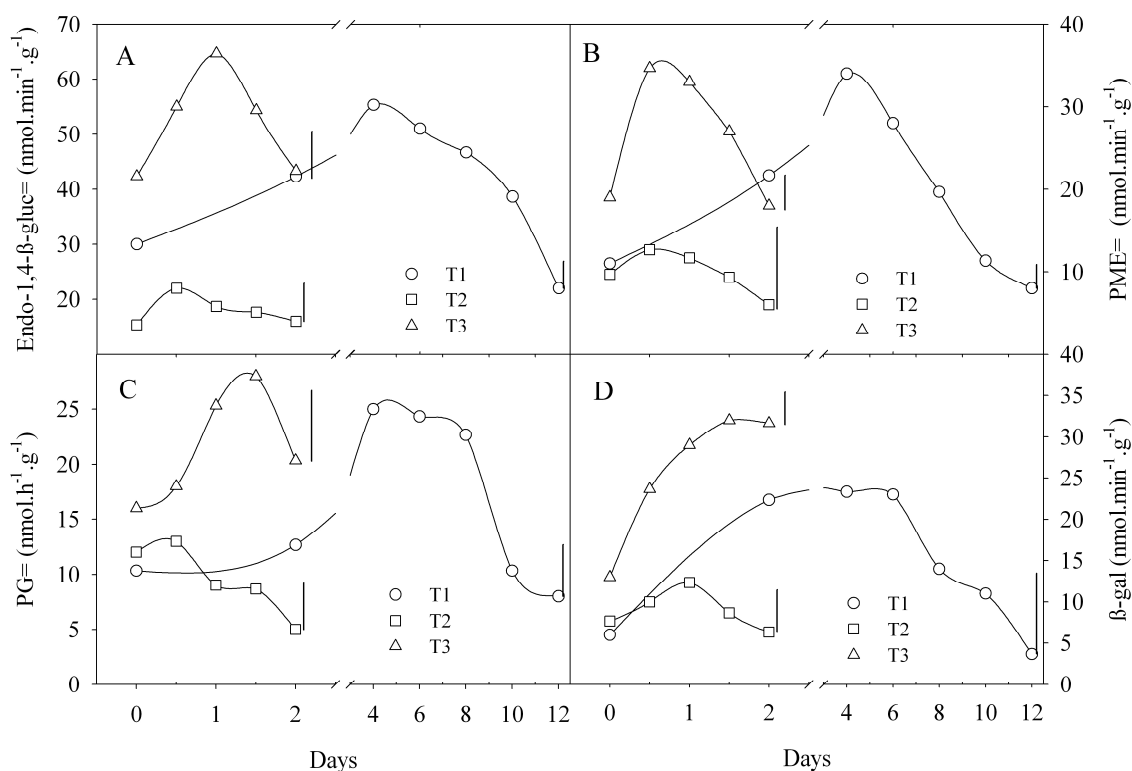


Figure 2. Variation of enzyme activity for endo-1,4-β-glucanase (endo-1,4- β-gluc), pectin-methyl-esterase (PME), polygalacturonase (PG) and β-galactosidase (β-gal) in ‘Fuyu’ persimmon under three different treatments: T1- 23 ± 3 °C and RH of 85 ± 5% for 12 days (0: harvest; 2; 4; 6; 8; 10; 12 days); T2- 1 ± 1 °C and RH of 85 ± 5% for 30 days, followed by storage at 23 ± 3 °C and RH of 85 ± 5% for two days; T3- 23 ± 3 °C and RH of 85 ± 5% for two days followed by the same conditions of T2 for 30 days. Vertical bars indicate the value of MSD for time effect in each treatment (p < 0.05, as determined by Tukey test).

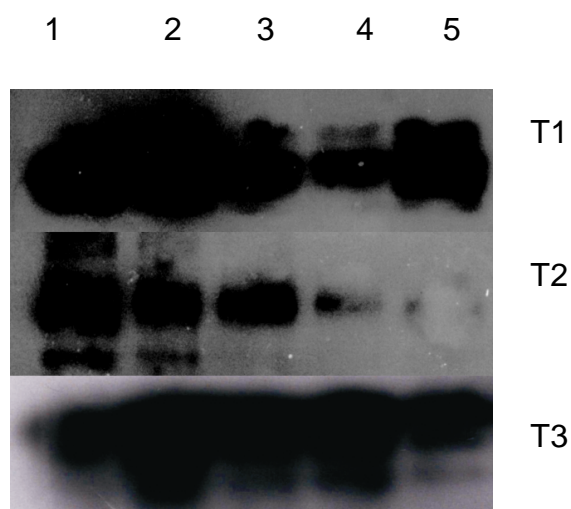


Figure 3. Immunodetection of expansins in 'Fuyu' persimmons during ripening at room temperature (T1) (1: harvest; 2: 2; 3: 6; 4: 8; 5: 10 days), after cold storage (T2) (1: removal from cold chamber; 2: 0.5; 3: 1; 4: 1.5; 5: 2 days) and after acclimatization followed by CS (T3), (1: removal from cold chamber; 2: 0.5; 3: 1; 4: 1.5; 5: 2 days).

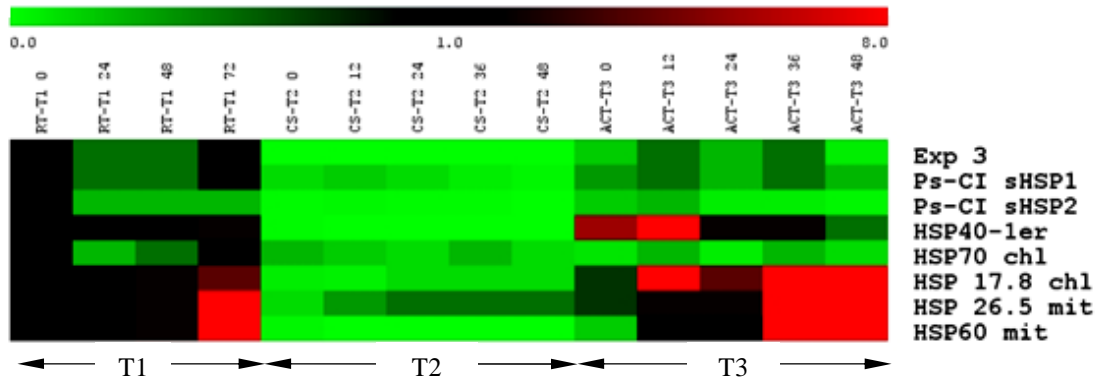


Figure 4. Relative mRNA accumulation in 'Fuyu' persimmon fruits as a function of ripening time at room temperature (T1) after harvest, after cold storage (T2) and after acclimatization followed by CS (T3).

*The quantity of mRNA is shown on a scale of 0-30. The lower end of scale (light-green color) indicates the lowest content. The black color in the middle of the scale shows accumulation five times larger than the green shade. The red at the highest part of the scale represents the greatest abundance of mRNA (30 times higher than the lowest content).

2. Considerações finais

Em termos gerais, confirmou-se que os distúrbios fisiológicos têm causas diversas, envolvendo fatores edafoclimáticos, manejo da cultura e técnicas de armazenamento. Mais detalhadamente, com respeito a fatores edafoclimáticos, a incidência de escurecimento de epiderme e podridões foram influenciadas pela maior precipitação pluviométrica que antecederam a colheita. Caquis produzidos em regiões de maior amplitude térmica apresentam maior ciclo de maturação, maior acúmulo de sólidos solúveis totais e, em consequência, a formação de microfissuras na epiderme, facilitando a ocorrência de escurecimento em pós-colheita.

Com relação ao manejo, a adição de adubação nitrogenada se mostrou necessária em função do baixo teor de matéria orgânica do solo, melhorando a produtividade em função do maior número de flores e frutos, mas interferindo negativamente na firmeza de polpa quando usado em doses mais elevadas.

Em função do uso de atmosfera modificada, a presença de podridões pode afetar a conservabilidade dos frutos. Frutos que apodrecem dentro da embalagem produzem etanol e etanal, favorecendo a maturação, além da produção de etileno pelos próprios fungos.

As bolsas, responsáveis pela produção da atmosfera modificada, não podem estar furadas, permitindo a concentração ideal de umidade e CO_2 , já que o CO_2 tem função de diminuir o processo respiratório e ação de etileno.

Paralelo a esses estudos, o grupo de trabalho atuou no desenvolvimento de diversos experimentos, na tentativa de solucionar os principais entraves do armazenamento de caqui 'Fuyu', entre eles, o tratamento térmico, o uso de diferentes temperaturas no armazenamento, o 1-MCP campo, os diferentes tipos de

plásticos na indução de AM no armazenamento, retardamento de entrada no frio e retardamento de aplicação de 1-MCP, trabalhos que serão publicados em breve.

Novas linhas de trabalho podem ser sugeridas, como o uso de embalagem que contemplasse o Bin, facilitando enormemente a formação de atmosfera modificada, que hoje é feita caixa por caixa. Outra alternativa seria estudar o retardamento de entrada no frio visando a redução de escurecimento de epiderme e também estudos mais detalhado sobre qual a quantidade de dias em temperaturas inadequadas que provocariam danos por frio, já que frio de boa qualidade ($0\pm 0,5$ °C) é fundamental na conservação de caquis.

Nesse período de estudos, tive a oportunidade de aprofundar o conhecimento em ciência, proporcionado pelos professores e colegas, além da possibilidade de contato com o setor produtivo, dessa forma podendo associar a ciência com a sua aplicação, contribuindo significativamente como melhor formação de pesquisador e professor.

3. Referências Bibliográficas

ARGENTA, L.C. Descrição dos principais distúrbios em caqui 'Fuyu' após a armazenagem refrigerada. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.19, p.49-52, 2006.

ARGENTA, L.C.; VIEIRA, M.J.; SCOLARO, A.M.T. Conservação da qualidade de caqui 'Fuyu' em ambiente refrigerado pela combinação de 1-MCP e atmosfera modificada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.31, n.2, p.323-333, 2009.

BARATA-SOARES, A.D. et al. Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campos dos Goytacazes, v.16, n.3, p.147-154, 2004.

BATISSE, C.; FILS-LYCAON, B.; BURET, M. Pectin changes in ripening cherry fruit. **Journal of Food Science**, Chicago, v.59, n.2, p.389-393, 1994.

BEEDE, R.H. **The storage performance of the Fuyu persimmon and its susceptibility to chilling injury**. Davis, University of California, 94p. (Dissertação de Mestrado), 1983.

BEN-ARIE, R.; ZUTKHI, Y. Extending the storage life of 'Fuyu' persimmon by modified atmosphere packaging. **Hortscience**, Alexandria, v.27, n.7, p.811-813, 1992.

BRACKMANN, A.; MAZARO, S.M.; SAQUET, A.A. Frigoconservação de caquis (*Diospyrus kaki*, L.) das cultivares Fuyu e Rama forte. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 27, p.561-565, 1997.

BRACKMANN, A. et al. Condições de armazenamento de caqui 'Fuyu'. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.12, n.2, p.183-186, 2006.

BRUMMELL, D.A.; HARPSTER, M.H. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. **Plant Molecular Biology**, Amsterdam, v.47, n.1-2, p.311-340, 2001.

BRUMMELL, D.A. Cell wall disassembly in ripening fruit. **Functional Plant Biology**, Victoria, v.33, p.103-119, 2006.

CANDIR, E.E. et al. Physico-chemical changes during growth of persimmon fruits in the East Mediterranean climate region. **Scientia Horticulturae**, v.121, p.42-48, 2009.

CARPITA, N. C.; GIBEAUT, D. M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **Plant Journal**, Gainesville, v.3, n. 1, p.1-30, 1993.

COSGROVE, D. J. Cell wall loosening by expansins. **Plant Physiology**, Rockville, v.118, p.333-339, 1998.

CRISOSTO, C.H.; MITCHAM, E.J.; KADER, A.A. **Persimmon: recommendations for maintaining postharvest quality**. Disponível em: <<http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Fruit/persimmon.shtml>>. Acesso em 16 out, 2008.

FAO. FAOSTAT: **Production-crops**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 10 nov, 2009.

FENG, X. et al. Control of ethylene activity in various plant systems by analogues of 1-methylcyclopropene. **Plant Growth Regulation**, New York, v.42, n.1, p.29-38, 2004.

FERRI, V.C et al. Conservação de caquis 'Fuyu' em diferentes condições de armazenamento. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.13, n.1, p.69-72, 2007.

FERRI, V.C. et al. Cold storage conservation of kakis (*Dyospirus kaki*, L.) cv. Fuyu, in modified atmosphere. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.10, n.1, p.111-115, 2004.

FIORAVANÇO, J.C.; PAIVA, M.C. Cultura do caquizeiro no Brasil e no Rio Grande do Sul: situação, potencialidade e entraves para o seu desenvolvimento. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.37, n.4, p.43-51, 2007.

FISCHER, R. L.; BENNETT, A. B. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.42, p.675-703, jun.1991.

GEORGE, A.P.; MOWAT, A.D.; COLLINS, R.J. Factors affecting blemishing of persimmon in New Zealand and Australia. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.436, p.171-178, 1997.

GIRARDI, C.L. et al. Conservação de caqui (*Diospyrus kaki*, L.), cv. Fuyu, pela aplicação de 1-metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.53-55, 2003.

GONÇALVES, E.D. et al. Estudo da variabilidade genética e escurecimento epidérmico em caqui 'Fuyu' (*Diospyrus kaki*) após armazenamento refrigerado. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.3, p.555-557, 2004.

HARRIMAN, R. W. et al. Molecular cloning of tomato pectin methylesterase gene and its expression in Rutgers, ripening inhibitor, nonripening, and Never Ripe tomato fruits. **Plant Physiology**, Rockville, v.97, p.80-87, 1991.

HUAI, Q. et al. Crystal structures of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) synthase in complex with aminoethoxyvinylglycine and pyridoxal-5'-phosphate provide new insight into catalytic mechanisms. **Journal of Biological Chemistry**, Maryland, v.276, n.41, p.38210-38216, 2001.

IBGE. Lavouras permanentes. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 21 fev. 2009.

IGLESIA GONZALEZ, J.; SOTES RUIZ, V. El Kaki, (tradução da obra **La Coltivazione Del Kaki**, autor Domenico Ragazzini, ed. Edagricole, Bologna – Itália, 1984), Edições Mundi-Prensa, Madrid, 1985.

KENDE, H. Ethylene biosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, Palo Alto, v.44, p.238-307, 1993.

KIM; Y.K.; LEE, J.M. Extension of storage and shelf-life of sweet persimmon with 1-MCP. **Acta Horticulture**, Wageninge, v.685, p.165-175, 2005.

KITAGAWA, H.; GLUCINA, P.G. **Persimmon culture in New Zealand**. Wellington: SIPC- Science Information Publishing Center, 1984. 74p.

KOCH, J. L.; NEVINS, D. J. Tomato fruit cell wall. Use of purified tomato polygalacturonase and pectinmethylesterase to identify developmental changes in pectins. **Plant Physiology**, Rockville, v.91, p.816-822, 1989.

KRAMMES, J. G. et al. Estabelecimento de índices de maturação para o ponto de colheita de frutos de caqui 'Fuyu'. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.20, n.3, p.62-66, Nov. 2007.

KRAMMES, J.G.; ARGENTA, L.C.; VIEIRA, M.J. Influences of methylcyclopropeno on quality of persimmon fruit cv. 'Fuyu' after cold storage. **Acta Horticulturae**, Saltillo, n.727, p.513-518, 2006.

LEE, S.K.; SHIN, I.S.; PARK, Y.M. Factors involved in skin browning of non-astringent 'Fuyu' persimmon. **Acta Horticulturae**, v.343, p.300-303, 1993.

LEE, Y. et al. Effects of low oxygen and high carbon dioxide concentrations on modified atmosphere-related disorder of 'Fuyu' persimmon fruit. **Acta Horticulturae**. v.601, p.171-176, 2003.

MACRAE, E.A. Development of chilling injury in New Zealand grown 'Fuyu' persimmon during storage. **New Zealand Journal of Experimental Agriculture**, Wellington, v.15, p.333-344, 1987.

MAOTANI, T.; YAMADA, M.; KURIHARA, A. Storage of Japanese persimmon of pollination constant non-astringent type in polyethylene bags with ethylene absorbent. **Journal of Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, v.51, p.195-202, 1982.

MATOS, C.S. A cultura do caquizeiro no meio-oeste catarinense: situação, potencial e perspectivas. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.6, n.2, p. 38-41, 1993.

MILLER, E.P. Performance of non-adstringente persimmons (*Disopyros kaki* L) in Florida. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**. University of Florida, v.102, p.199-202, 1989.

MOWAT, A.D.; COLLINS, R.A.Y.; GEORGE, A.P. Cultivation of persimmon (*Diospyros kaki* L.) under tropical conditions. *Acta Horticulture*, v.409, p.141-150, 1995.

MOWAT, A.D.; GEORGE, A.P. Persimmon. In: SCHAFFER, B.; ANDERSEN, P. C. (Ed.). *Handbook of environmental physiology of fruit crops: temperate crops*. Boca Raton: CRC Press, 1994. v.1, cap.8, p.209-232.

NAKAMURA, A. et al. β -Galactosidase and Its Significance in Ripening of 'Saijyo' Japanese Persimmon Fruit. **Bioscience, Biotechnology and Agrochemistry**, v.67, n.1, p.68-76, 2003.

NEVES, L.C. et al. Comportamento pós-colheita de caquis cv. Fuyu, através da atmosfera modificada passiva e da adsorção de etileno, armazenados sob refrigeração. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, n.3, p.374-379, 2006.

PARK, Y.M.; LEE, Y.J. Induction of modified atmosphere-related browning disorders in 'Fuyu' persimmon fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.47, p.346-352, 2008.

PEREZ, A. et al. Prevention of Black Spot Disease in Persimmon Fruit by Gibberellic Acid and Iprodione Treatments. **The American Phytopathological Society**. DOI: 10.1094/Phyto-v.85, n2, p.221-225, 1995.

REDPATH, S. et al. Premature fruit softening, a major physiological problem of persimmon in subtropical Australia. **Acta Horticulturae**, v.833, p.289-294, 2009.

RINALDI, M.M.; FERRI, V.C.; ROMBALDI, C.V. Frigoconservação de Caquis (*Diospyrus kaki*, L.), cv. Fuyu, em Diferentes Atmosferas. **Revista Científica Rural**, Bagé, v.6, n.2, p.26-30, 2001.

ROMBALDI, C.V. et al. Ácido giberélico no retardamento da maturação de caquis cultivar Fuyu. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.1, p.001-005, 2004.

ROSE, J. K. C.; LEE, H. H.; BENNETT, A. B. Expression of a divergent expansin gene is fruit-specific and ripening-regulated. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v.94, n. 11, p.5955-5960, may 1997.

SARGENT, S.A.; CROCKER, T.E.; ZOELLNER, J. Storage characteristics 'Fuyu' persimmons. **Proceedings of the Florida State Society for Horticultural Science**, Tallahassee, v.106, p.131-134, 1993.

SMITH, D.L.; STARRETT, D.A.; GROSS, K.C. A Gene Coding for Tomato Fruit β -Galactosidase II Is Expressed during Fruit Ripening . Cloning, Characterization, and Expression Pattern. **Plant Physiology**, Waterbury, v.117, p. 417-423, 1998.

SUGIURA, A.; ZHENG, G.H.; YONEMORI, K. Growth and ripening of persimmon fruit at controlled temperatures during growth stage III. **HortScience**, v.26, p.574-576, 1991.

TAIZ L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**; Tradução E.R. Santarem et al. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

WOOLF, A.B. et al. Reduction of chilling injury in the sweet persimmon 'Fuyu' during storage by dry air heat treatments. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.11, n.3, p.155-164, 1997.

YANG, S. F.; HOFFMAN, N.E. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.35, p.155-189, jun. 1984.

ZHENG, G.H. et al. Fruit growth and ripening of Japanese persimmons (*Diospyros kaki* Thunb.) grown at two locations with different temperature conditions. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v.59, p.471-477, 1990.