



**PEDRO MARANHA PECHE**

**PRODUCTION AND FRUIT PROCESSING OF  
PERSIMMON, GENETIC DIVERSITY AND  
PROPAGATION OF CULTIVAR IN  
SUBTROPICAL AREAS**

**LAVRAS – MG**

**2016**

**PEDRO MARANHA PECHE**

**PRODUCTION AND FRUIT PROCESSING OF PERSIMMON,  
GENETIC DIVERSITY AND PROPAGATION OF CULTIVAR IN  
SUBTROPICAL AREAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. Rafael Pio

Coorientadoras

Dra. María Luisa Badenes Catalá

Dra. Vanessa Rios de Souza

**LAVRAS – MG**

**2015**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo (a) próprio(a) autor(a).**

Peche, Pedro Maranha.

Production and fruit processing of persimmon, genetic diversity and propagation of cultivar in subtropical areas / Pedro Maranha Peche. – Lavras: UFLA, 2016.

132 p.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador(a): Rafael Pio.

Bibliografia.

1. Fenologia. 2. Adaptabilidade. 3. Porta-enxerto. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

**PEDRO MARANHA PECHE**

**PRODUCTION AND FRUIT PROCESSING OF PERSIMMON,  
GENETIC DIVERSITY AND PROPAGATION OF CULTIVAR IN  
SUBTROPICAL AREAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 12 de novembro de 2015.

Dr. Ângelo Albérico Alvarenga      EPAMIG

Dr. Antonio Decarlos Neto      UFLA

Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima      UFLA

Dr. Adriano Teodoro Bruzi      UFLA

Dr. Rafael Pio

Orientador

**LAVRAS – MG**

**2015**

*Aos meus pais, Afonso e Ana, que me educaram e deram a oportunidade para mais esta conquista e que, nos momentos difíceis, me compreenderam e me incentivaram, demonstrando todo o carinho, o respeito e o amor que sentem por mim.*

**OFEREÇO**

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade de realizar o mestrado.

Aos Departamentos de Agricultura (DAG) e Ciências dos Alimentos, pelas oportunidades de desenvolver atividades de pesquisas e extensão.

Ao professor Dr. Rafael Pio, pelos ensinamentos, orientação e amizade.

À professora Dr. Vanessa Rios, pela coorientação, ensinamentos e amizade.

Ao Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias – IVIA (Moncada, Espanha) em especial a pesquisadora Dra. María Luisa Badenes, pela oportunidade de passar um ano em seu laboratório, e aos demais membros do Departamento de Fruticultura que me receberam com muito carinho e atenção.

A CATI, em especial a Dra. Silvana Catariana Sales Bueno, ao Dr. Amélio Berti, ao Cláudio Wiechmann e aos demais funcionários pertencentes ao Núcleo de Produção de Mudas de São Bento do Sapucaí, por todo apoio à condução dos experimentos e ensinamentos transmitidos.

Aos núcleos de estudo em Sistemas de Plantio Direto (NESPD) e em Fruticultura (NEFRUT), pelas experiências trocadas, amizades formadas e momentos de diversão.

Ao pessoal do Pomar MilGrau, pela ótima convivência, amizade e por segurarem a barra conduzindo parte dos meus experimentos no período que estive fora.

Ao meu pai, pelo constante apoio, incentivo e sugestões, os quais contribuíram muito para a conclusão deste trabalho.

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a finalização deste trabalho.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos no Brasil e no Exterior.

## RESUMO

O presente estudo fornece informações nos âmbitos de obtenção de porta-enxertos, escalonamento na produção de mudas, comportamento de cultivares em área de cultivo não tradicional, produção de novos produtos como alternativa de agregação de valor e diversidade genética das cultivares brasileiras de caquizeiro. Na produção escalonada de mudas foi observado que não há diferença na porcentagem de enxertos pegos para as diferentes épocas, porém em mudas enxertadas pelo método de garfagem há maior crescimento quando os garfos são armazenados a frio durante 60 a 120 dias. Na obtenção de porta-enxertos através de sementes verificou-se que o processo de estratificação por 30 dias aumenta em 13,94% a emergência das plântulas. Após a quebra da dormência da semente, a temperatura de 20,5 °C possibilita a emergência de 47,62% para a espécie *D. kaki* e a de 24,6 °C a emergência de 44,49% para a *D. lotus*. Observou-se que o tratamento das sementes com ácido giberélico não favorece a germinação do porta-enxerto, sendo assim considerado desnecessário. No processamento as cultivares de caqui apresentaram diferentes características físico-químicas, o que refletiu nos sucos e geleias com diferentes características físico-químicas e reológicas. As cultivares Rama Forte e Guiombo apresentam potencial para serem processadas na forma de geleia e a cultivar Rama forte na forma de suco, devido à boa aceitação. Os marcadores microssatélites dividiram as cultivares cultivadas no Brasil em três grupos. As cultivares ‘Regina’ e ‘Paraguai’ são as que apresentam maior tamanho de fruto. A cultivar ‘Rama Forte Tardio’ é a mais produtiva. A cultivar ‘Fuyu’ apesar de ser considerada tardia é a que possui o menor ciclo de produção.

Palavras-chave: *Diospyros kaki*. Fenologia. Adaptabilidade. Porta-enxerto. Suco. Geleia. Pré-melhoramento.

## ABSTRACT

This study provides information about obtaining rootstocks, staggering in the seedlings production, cultivars behavior in non-traditional growing area, production of new products as an alternative to over-production and genetic diversity of Brazilian persimmon cultivars. In the production of staggered seedlings it was observed that there is no difference in the percentage of grafts for different times, but in grafted seedlings using the grafting method there is greater growth when forks are stored in the cold for 60 to 120 days. In obtaining rootstocks using seeds, it was found that laminating for 30 days increases 13.94% seedling emergence. After breaking seed dormancy, the temperature of 20,5°C allows emergence of 47.62% *D. kaki* and temperature of 24,6°C allows emergency of 44.49% *D. lotus*. It was observed that seed treatment with gibberellic acid does not favor germination of the rootstock and is therefore considered unnecessary. In processing the persimmon cultivars, it was seen that there was different physical and chemical characteristics among them, which resulted in juices and jellies with different physicochemical and rheological characteristics. ‘Rama Forte’ and ‘Guionbo’ cultivars have potential to be processed in the form of jelly and ‘Rama Forte’ in the form of juice, due to good acceptance. The microsatellite markers divided the cultivars grown in Brazil in three groups. ‘Regina’ and ‘Paraguay’ cultivars are those with larger fruit size. The cultivar ‘Rama Forte Tardio’ is the most productive. Cultivar ‘Fuyu’ despite being considered late is the one with the lowest production cycle.

Keywords: *Diospyros kaki*. Phenology. Adaptability. Rootstock. Juice. Jelly. Pre-breeding.

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE .....</b>	<b>9</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>11</b>
<b>2.1 Importância econômica .....</b>	<b>11</b>
<b>2.2 Origem e aspectos botânicos.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2.1 Fenologia.....</b>	<b>13</b>
<b>2.3 Classificação de acordo tipo de adstringência .....</b>	<b>17</b>
<b>2.4 Melhoramento genético do caquizeiro .....</b>	<b>18</b>
<b>2.4.1 Cultivares PCA (grupo shibugaki).....</b>	<b>21</b>
<b>2.4.2 Cultivares PCNA (grupo amagaki) .....</b>	<b>22</b>
<b>2.4.3 Cultivares PVNA e PVA (grupo variável) .....</b>	<b>23</b>
<b>2.5 Propagação.....</b>	<b>24</b>
<b>2.5.1 Via seminífera .....</b>	<b>24</b>
<b>2.5.2 Enxertia.....</b>	<b>26</b>
<b>2.6 Valor nutricional .....</b>	<b>29</b>
<b>2.6 Processamento .....</b>	<b>31</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>34</b>
<b>SEGUNDA PARTE .....</b>	<b>41</b>
<b>ARTIGO 1 Armazenamento refrigerado de ramos portaborbulhas/garfos para enxertia escalonada em caquizeiro.....</b>	<b>41</b>
<b>ARTIGO 2 Obtenção de porta-enxertos de caquizeiro: avaliação da estratificação de sementes, concentrações de ácido giberélico e temperaturas .....</b>	<b>56</b>
<b>ARTIGO 3 Influence of subtropical persimmon cultivars on juice and jelly characteristics .....</b>	<b>70</b>
<b>ARTIGO 4 Genetic diversity among brazilian persimmon cultivars using microsatellite markers .....</b>	<b>100</b>
<b>ARTIGO 5 Produção de cultivares de caquizeiro nas condições da serra da mantiqueira .....</b>	<b>119</b>

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

O caquizeiro (*Diospyros kaki* L.) é uma frutífera originária da Ásia e tradicionalmente cultivada em regiões de clima temperado e subtropical. O Brasil até o ano de 2001 situava-se como o terceiro maior produtor mundial dessa frutífera e o estado de São Paulo detinha quase que 60% das plantas em produção, principalmente na região do Alto Tietê.

Porém, a produção paulista decaiu drasticamente em anos posteriores, passando de 350 mil toneladas colhidas anualmente para um pouco mais que 100 mil toneladas. Esse fato está aliado a um período que culminou com a renovação de boa parte dos pomares paulistas, como pela substituição dessa frutífera pelo cultivo de laranjas e goiabas que estava em alta no final da década de 90. Em anos posteriores a produção paulista estabilizou-se, porém novas áreas de cultivo se iniciaram em destaque para a região sul do estado de Minas Gerais e até mesmo em outras regiões tropicais como o centro-oeste e o nordeste brasileiro.

Devido a esse grande aumento do cultivo de caquis e as poucas pesquisas com essa cultura no âmbito de manejo, propagação, melhoramento e processamento, a cadeia produtiva brasileira está desamparada, desencadeando a tomada de decisões baseadas no empirismo por parte dos técnicos e produtores, aumentando grandemente as chances de insucessos, de produção de uma frutífera que o Brasil atualmente é o quarto maior produtor mundial.

Em uma pesquisa rápida pelas principais bases indexadoras realizada no ano de 2015, constatou-se a publicação de apenas 1.928 artigos científicos, desde o ano de 1977, relacionados com investigações com o caquizeiro. Dessa quantidade, apenas 95 são publicações brasileiras, porém a grande maioria relacionada à conservação em pós-colheita e uma pequena parte relacionada à

fitossanidade. Conotam-se com esse fato a carência de pesquisas relacionadas com seleção de cultivares potencialmente produtivas e com a produção fora de época, trabalhos básicos de produção de mudas e diversidade genética das cultivares disponíveis no germoplasma brasileiro de caquizeiro.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Importância econômica

De acordo com dados da Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO em 2013 o Brasil foi o quarto maior produtor de caqui a nível mundial, produzindo cerca 173 mil toneladas, ficando atrás da China (3,5 milhões de toneladas), Coreia (350 mil toneladas) e do Japão (215 mil toneladas) (FAO, 2013).

A produção está concentrada nos estados Sul e Sudeste. O estado de São Paulo é o maior produtor nacional, sendo responsável por aproximadamente 58% da produção nacional, seguido do Rio Grande do Sul (15%), Paraná (12%), Minas Gerais (6%) e Rio de Janeiro (5%) (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2013).

Segundo a FAO (2013) o Brasil possui a maior produtividade média a nível mundial que é de 20,25 toneladas por hectare, seguido por Itália (16,7 ton/ha), Arzeibajão (16,6 ton/ha), Taiwan (15,6 ton/ha) e Nova Zelândia (15,5 ton/ha). Porém se analisarmos a produtividade do estado de São Paulo veremos que o mesmo possui uma produtividade de 33 ton/ha, muito acima da média nacional.

A oferta de caqui vai do final de janeiro até princípios de julho, sendo o período de maior oferta o de março a maio. A demanda atual é a produção de frutos fora de época.

### 2.2 Origem e aspectos botânicos

A origem do caquizeiro é imprecisa, a maioria dos autores aceita que proceda da China (YONEMORI; SIGIURA; YAMADA, 2000), onde seu

cultivo começou séculos antes de Cristo. Mais tarde, no século VII foi introduzido no Japão e no século XIV na Coreia. Não há registros do cultivo na Europa até o século XVII, sua expansão para o resto do mundo ocorreu a partir do século XVIII (SUGIURA, 2005).

No Brasil, há evidências de que o caquizeiro entrou pela primeira vez no estado de São Paulo, aproximadamente no ano de 1890, quando o Sr. Luiz Pereira Barreto recebeu sementes enviadas da França, pelo naturalista Charles Naudin (MARTINS; PEREIRA, 1989). Porém a cultura só se expandiu com a imigração japonesa por volta de 1920 (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014).

O caquizeiro é uma árvore frutífera pertencente à ordem *Ebenales*, família *Ebeneceae* e gênero *Diospyros*. Este gênero contém mais de 400 espécies distribuídas desde regiões tropicais a temperadas, com níveis de ploidia que vão desde o diploide ( $2n=2x=30$ ) até o nonaploide ( $2n=9x=135$ ) sendo a espécie mais cultivada mundialmente e de maior importância econômica a *Diospyros kaki* Thunb., a qual é majoritariamente hexaploide ( $2n=6x=90$ ), com poucas exceções de cultivares nonaploides como a ‘Hiratanenashi’ e ‘Tone Wase’ (ZHUANG et al., 1990).

O caquizeiro é uma árvore vigorosa, caducifólia, porte arbóreo, com copa arredondada e ramos frágeis. A madeira é de cor avelã, lisa quando jovem e acinzentada e rugosa quando adulta. As folhas são alternas, em geral com pecíolo curto, inteiras, de forma ovalada, grandes e de cor verde-escuro brilhante. As flores se localizam nas axilas das folhas dos brotos do ano, sendo normal a ocorrência de árvores só com flores femininas (AGUSTÍ, 2010; MARTINS; PEREIRA, 1989; RAGAZZINI, 1985).

As flores masculinas são menores que as femininas, e formadas por um receptáculo e uma corola normalmente com quatro lóbulos, cujo interior há entre 16 e 24 estames. As flores femininas são maiores, com pedúnculo comprido e robusto, cálice de cor verde-oliva em forma de taça e com quatro lóbulos, a

corola tem forma de tubo, de cor branca/creme com quatro lóbulos. O ovário é globular, unido a quatro estilos bilobados, que se correspondem com quatro cavidades biloculadas terminadas em estigmas estriados. A fecundação do caqui é cruzada (planta alógama), e essencialmente entomófila. Porém em cultivos comerciais se utilizam cultivares partenocárpicas (AGUSTÍ, 2010; MARTINS; PEREIRA, 1989; RAGAZZINI, 1985)

O fruto é uma baga com grande variabilidade de formas e tamanhos, dependendo da cultivar. A cor passa de um verde-oliva a um amarelo-alaranjado e quando atinge a maturação fisiológica apresenta cor vermelha intensa (AGUSTÍ, 2010; MARTINS; PEREIRA, 1989; RAGAZZINI, 1985). O caquizeiro apresenta uma etapa de abscisão fisiológica, que vai dos meses de julho a agosto no hemisfério norte e de outubro a dezembro no sul, afetando de 30 a 40% da carga de frutos, esse fenômeno em algumas cultivares é tido com uma autorregulação da planta as suas possibilidades de produção. Para a maioria das cultivares, no momento da colheita comercial o conteúdo de taninos no fruto ainda é muito alto, causando sabor adstringente que desaparece ao atingir a maturação fisiológica ou por meio de tratamento específico (AGUSTÍ, 2010; MARTINS; PEREIRA, 1989)

### **2.2.1 Fenologia**

A fenologia é o ramo que estuda os fenômenos periódicos dos seres vivos e suas relações com as condições do ambiente. A palavra fenologia vem do grego “*fenos*” (fenômeno) e “*logos*” (estudo, tratado) (DE FINA; RAVELO, 1973). Por isso é preciso diferenciar desenvolvimento de crescimento, pois durante seu ciclo a planta sofre diversas e contínuas transformações. O crescimento é caracterizado pelo aumento quantitativo e pode ser medido, por exemplo: ganho de peso seco do vegetal, enquanto no desenvolvimento as

mudanças são na forma e no grau de diferenciação alcançado pelo organismo, ou seja, aspecto qualitativo e é apenas observável (GARCÍA-CARBONELL et al., 2002).

Os estádios fenológicos surgiram pela necessidade de detalhar, de maneira clara e objetiva, as etapas de desenvolvimento das plantas, na elaboração das chamadas escalas fenológicas. Atualmente, existem diferentes escalas, para maioria das espécies cultivadas, que possibilitam descrever e reproduzir com detalhes o ciclo de uma planta, através de estádios muito bem caracterizados (GARCÍA-CARBONELL et al., 2002)

Terra, Pires e Nogueira (1998) afirmam que na introdução de novas variedades, a fenologia desempenha importante papel, pois permite a caracterização da duração das fases do desenvolvimento em relação ao clima, especialmente às variações estacionais, além de ser utilizada para interpretar como a cultura interage nas diferentes regiões climáticas.

Para Torres (1995) torna-se possível utilizar a fenologia para finalidades bem mais específicas, como em adubações de cobertura, em tratamentos fitossanitários ou na observação de um evento importante qualquer (uma geada ou um estresse hídrico), associados a estádios bem definidos. Conhecer os estádios fenológicos de uma planta e as necessidades dos diferentes órgãos significa modificar práticas de manejo e programá-las com o objetivo de melhorar a produção.

O desenvolvimento fenológico das plantas é influenciado por alguns fatores ambientais, dentre eles podemos destacar a temperatura do ar, o fotoperíodo, regime pluviométrico, ocorrência de frio (FOURNIER; CHARPANTIER, 1978).

O desenvolvimento das plantas é afetado de forma direta pela temperatura do ar, ou seja, em regiões ou épocas mais quentes ele é mais rápido, determinando a precocidade no desenvolvimento das mesmas. Se a oscilação

térmica anual for muito acentuada, muitas espécies perenes entram em dormência no inverno, pela ocorrência de baixas temperaturas (PETRI et al., 1996).

O requerimento de frio é um fator limitante para a produção comercial de frutas de clima temperado em regiões de inverno ameno. Conhecer o requerimento de frio da espécie e da cultivar é fundamental para que se obtenha sucesso na produção. Quando a exigência em frio não é satisfeita, muitas gemas vegetativas e floríferas permanecem latentes, mesmo que as condições ambientais sejam favoráveis ao crescimento (PETRI et al., 1996).

O florescimento é o principal mecanismo de resposta ao fotoperíodo, pois se caracteriza pela passagem da planta do crescimento vegetativo ao processo reprodutivo. Algumas espécies apresentam resposta à variação na duração do dia, se ela for sensível ao fotoperíodo, uma mesma cultivar terá seu ciclo alterado ao ser cultivada em diferentes épocas ou em diferentes latitudes (VILLALPANDO; RUIZ, 1993).

A fenologia das espécies também bastante alterada pelas condições hídricas, principalmente em regiões em que se alternam épocas secas e úmidas. Das espécies perenes, muitas entram em repouso (dormência) durante o período da seca, com ciclo vegetativo anual na estação chuvosa (TORRES, 1995).

As baixas temperaturas retardam o desenvolvimento fenológico das plantas, entretanto o frio hibernal pode auxiliar na antecipação de algumas fases importantes, durante o ciclo vegetativo posterior pode ser observado em algumas espécies perenes que entram em repouso no inverno. Mais de um fator pode influenciar o processo e quando se manifestam juntos ocorre uma interação. Quando se trata de fenologia a interação mais comum é temperatura x fotoperíodo, neste caso o fator que tiver em nível mais limitante irá determinar o padrão de resposta e a sua intensidade (FOURNIER; CHARPANTIER, 1978).

A literatura sobre o comportamento fenológico do caquizeiro é escassa, poucos são os trabalhos encontrados e se limitam a algumas cultivares, muitas vezes somente aquelas de interesse econômico para a região (CORSATO; SCARPARE FILHO; FONTANETTI VERDIAL, 2005).

A fenologia do caquizeiro já foi bastante estudada em países de clima temperado, principalmente no Japão (GEORGE; COLLINS; RASMUSSEN, 1994). Contudo, existem poucos trabalhos que a descrevam em condições de clima tropical e subtropical. Os trabalhos desenvolvidos com o caquizeiro nesses países, assim como no Brasil, abordam poucos aspectos do seu ciclo de desenvolvimento, tratados na maioria das vezes de forma isolada dos demais (COLLINS; GEORGE, 1996; MOWAT; GEORGE; COLLINS, 1999; TOMBOLATO, 1989), fato que dificulta o entendimento da relação entre os diferentes estádios fenológicos e o ambiente de cultivo.

Corsato, Carpare Filho e Fontanetti Verdial (2005) com o objetivo de estudar e caracterizar os estádios fenológicos do caquizeiro cultivar Rama Forte desenvolveram um estudo no Setor de Horticultura da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), em Piracicaba/SP, durante o ciclo 2002/2003. Observaram que da brotação das gemas até a abscisão foliar foram caracterizados doze estádios fenológicos, sendo eles: gema dormente, gema intumescida, ponta verde, alongamento do ramo e expansão foliar, aparecimento dos botões florais nos ramos mistos, fim do alongamento e abertura do cálice do botão, mudança na cor da corola, antese, secamento e queda da corola, fruto verde, fruto maduro, senescência foliar e planta desfolhada. Do intumescimento das gemas no fim do inverno, até o amadurecimento dos frutos no fim do verão passaram-se 203 dias. Do florescimento até o amadurecimento dos frutos transcorreram 169 dias.

Ocorreram dois picos no abortamento de frutos. Os primeiros sintomas de senescência das folhas ocorreram aos 60 dias, a partir do término da expansão

foliar. Do início da brotação das gemas no fim do inverno, até o completo desfolhamento das plantas, somaram-se 264 dias no decorrer de toda a primavera, verão e outono.

Razzouk (2007) estudando o comportamento fenológico e produtivo de dez cultivares de caquizeiro (Pomelo, Rubi, Fuyuhana, Rama Forte, Taubaté, Giombo, Toote, Suruga, Fuyu e Jiro) nas condições de Selviria – MS, concluiu que: as cultivares Fuyu e Jiro apresentaram o maior número de gemas por ramo; as cultivares Pomelo e Giombo foram as mais precoces, atingindo todos os estádios fenológicos antes das demais cultivares; a cultivar Jiro produziu frutos com maiores massas; os maiores frutos em diâmetro e comprimento foram produzidos pela cultivar Fuyuhana e os menores pela cultivar Giombo; a cultivar Pomelo apresentou o maior número de frutos por planta e as cultivares Taubaté, Suruga e Toote não produziram frutos; e a cultivar Pomelo apresentou a maior produtividade e Rama Forte a menor.

### **2.3 Classificação de acordo tipo de adstringência**

As cultivares de caquizeiro podem ser divididas em dois tipos distintos: aquelas cujos frutos não apresentam mudanças na coloração da polpa em função da polinização, ou seja, constantes em relação à polinização (PC, derivada do termo em inglês: *pollination-constant*) e aquelas cujos frutos apresentam polpa clara quando não polinizados (sem sementes) e escura quando polinizados (com sementes), ou seja, são variáveis em relação à polinização (PV, sigla originada do termo em inglês: *pollination-variant*). Cada um destes grupos pode ainda ser subdividido em adstringentes (A, sigla originada do termo em inglês: *astringent*) e não adstringentes (NA, sigla originada do termo em inglês: *non-astringent*). Dessa forma, as cultivares de caquizeiro podem ser classificadas entre os tipos básicos: PCA (Taubaté, Hachiya, Pomelo e Rubi), PCNA (Fuyu, Jiro e

Fukuhara) e PV, sendo que os frutos das cultivares de polinização variável podem ser adstringentes (PVA) (Aizumishirazu, Rama Forte e Giombo) ou não adstringentes (PVNA) (Zenjimaru, Shogatsu e Mizushima) (YONEMORI; SIGIURA; YAMADA, 2000).

Outra classificação que pode ser utilizada classifica o caqui em três grupos. O primeiro é denominado “sibugaki”, que compreende frutos de polpa sempre taninosa e de cor amarelada, quer apresentam ou não sementes, sendo as principais cultivares: ‘Taubaté’, ‘Pomelo’, ‘Hachiya’ e ‘Coração de boi’. O segundo grupo, denominado “amagaki”, abrange frutos de polpa sempre não taninosa e de cor amarelada, apresentando ou não sementes. São chamados caquis doces ou duros, as principais cultivares são: ‘Fuyu’, ‘Jiro’, ‘Hanagoshō’ e ‘Fuyuhana’. O terceiro grupo é denominado “variável” e inclui frutos de polpa taninosa e de cor amarelada quando sem sementes e não taninosa (parcialmente ou totalmente), quando com uma ou mais sementes. Quando as sementes são numerosas a polpa é de cor escura, sendo, popularmente chamado caqui “chocolate”. As principais cultivares deste grupo são: Rama Forte, Giombo e Kaoru (CAMPO-DALL’ORTO et al., 1996; MARTINS; PEREIRA, 1989).

#### **2.4 Melhoramento genético do caquizeiro**

Um dos principais objetivos nos programas de melhoramento de caquizeiro é a obtenção de cultivares não adstringentes, porém a dificuldade para selecionar cultivares tipo PCNA está no seu caráter recessivo. Quando se cruza uma parental PCA com outro PCNA, nenhum indivíduo da primeira geração (F1) será PCNA, somente na segunda geração (F2) ou realizando um retrocruzamento com parentais PCNA se obterá uns 15% de indivíduos que sejam não adstringentes (PCNA). Isso ocorre devido à natureza poliploide da espécie (YONEMORI; SIGIURA; YAMADA, 2000).

Devido à biologia desta espécie, os seus resultados do melhoramento nessa espécie são lentos. Uma das maiores dificuldades é o baixo número de cultivares com flores masculinas ou completas, o que reduz as possíveis combinações com parentais masculinos no melhoramento clássico (TAO; SUGIURA, 1992). Outra dificuldade é o fato da espécie *D. kaki* ser hexaploide ( $2n=6x=90$ ), o que complica a predição do fenótipo nos cruzamentos dirigidos devido à alta porcentagem de polimorfismo entre os cromossomos (YONEMORI; SIGIURA; YAMADA, 2000).

Os primeiros programas de melhoramento genético clássico foram iniciados em países asiáticos, principalmente Japão, Coreia e China. No Japão começou no ano de 1938 na Horticultural Experimental Station atualmente Department of Citriculture of the National Institute of Fruti Tree Science. Seu principal objetivo tem sido a obtenção de cultivares tipo PCNA comerciais e atrativas. Na Coreia durante os anos de 1959 a 1969 foram coletadas 233 variedades autóctonas realizando trabalhos de seleção e identificação até que chegaram a 188 variedades, foram criadas duas estações experimentais, uma para variedades não adstringentes estabelecida em 1994 e outra para adstringentes em 1995. No mesmo ano se iniciou um programa de melhoramento genético com o objetivo de obter novas cultivares não adstringentes (PCNA), utilizando parentais japoneses. Seu principal objetivo também era obter cultivares PCNA de qualidade, elevado calibre e maturação precoce. Na China mais de 200 variedades locais foram avaliadas no Pomology Institute of Shaanxi Academy of Agricultural Sciences na província de Shaanxi, chegando a recomendar em 1987 algumas variedades autóctonas de qualidade (YONEMORI; SIGIURA; YAMADA, 2000). Atualmente sua atividade se centra no âmbito das universidades e em trabalhos relacionados à busca de novo germoplasma, caracterização, sistemas de produção, qualidade de frutos,

biologia reprodutiva, biologia molecular, biotecnologia, pós-colheita e outros usos para o caqui (ZHANG et al., 2008).

Outros países não asiáticos pioneiros no melhoramento do caquizeiro são Israel, Brasil e Itália. Em Israel o programa era baseado na produção de cultivares não adstringentes com elevada capacidade de armazenamento, porém o programa foi encerrado por falta de financiamento. A Itália iniciou seu programa em 1971, no Instituto de Cultivo de Fruteiras, hoje Departamento de Horticultura da Universidade de Florêncio. Seu objetivo principal era obter cultivares tipo PCNA de frutos grandes, forma arredonda e ligeiramente plana, com boa conservação pós-colheita e aptas a transformação industrial. Desde que começou em 1971, já obtiveram mais de 5000 híbridos a partir de 90 cruzamentos, selecionando vários indivíduos interessantes, entre eles o DOFI86.II.034, tipo PCNA (YONEMORI; SIGURA; YAMADA, 2000).

Na Espanha, o Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), estabeleceu em 2004 um banco de germoplasma de caquizeiro com o objetivo de começar a renovação varietal do cultivo, pelo fato da produção ser baseada praticamente na cultivar Rojo Brillante. Posteriormente, em 2007, começaram os trabalhos de melhoramento clássico, mediante cruzamentos entre ‘Rojo Brillante’ (PVA) e ‘Cal Fuyu’ (PCNA), e melhoramento biotecnológico, aplicando técnicas como a indução de mutações por irradiação, variação somaclonal, sempre com o objetivo de buscar alternativas a ‘Rojo Brillante’ com novas cultivares não adstringentes (BADENES et al., 2015).

No Brasil, os únicos relatos de programas de melhoramento e conservação de material genético fazem referência ao Instituto Agronômico de Campinas (IAC), o qual foi o grande responsável pela disseminação dessa frutífera em São Paulo e no Brasil, gerando tecnologia para a exploração racional, introdução e lançamento de cultivares de importância econômica para a cadeia de caquis no Brasil. No entanto, o programa de melhoramento dessa

instituição encontra-se desativado, uma vez que, a última cultivar lançada foi em 1983 (Fuyuhana - IAC 152-7).

Desde várias décadas, grupos de pesquisa em genética e melhoramento de caqui estão utilizando ferramentas biotecnológicas junto a cruzamentos e seleção tradicional. A maioria dos estudos sobre a variabilidade e recursos genéticos da espécie utilizaram marcadores moleculares tipo RAPDs (BADENES et al., 2003), RFLPs (YONEMORI; KANZAKI; SUGIURA, 2002), AFLPs (YONEMORI et al., 2008), SCARS (AKAGI et al., 2009).

Desde a obtenção e desenvolvimento de marcadores tipo microssatélite (SSR), estes têm sido os mais utilizados para esta espécie (GUO; LUO, 2006; NAVAL et al., 2010; SORIANO et al., 2006; YANG et al., 2015).

#### **2.4.1 Cultivares PCA (Grupo Shibugaki)**

‘Coração de Boi’: cultivar muito vigorosa e de boa produção. O fruto é grande, atingindo até 500 gramas, formato redondo alongado, epiderme vermelha e polpa alaranjada (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014).

‘Costata’: fruto de tamanho médio e de formato globoso achatado. As principais características são a boa aparência do fruto, o grande vigor da planta e a precocidade de maturação, que ocorre entre os meses de fevereiro e março. Muito produzida na região de Barbacena (MG) e Nova Friburgo (RJ) (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014).

‘Pomelo’ (IAC 6-22): cultivar oriunda do cruzamento das cultivares Chocolate e HanaGosho (OJIMA, 1972; RIGITANO, 1966), é a cultivar mais precoce disponível ao produtor (janeiro e fevereiro). Cultivar muito vigorosa e produtiva, com frutos grandes (160g), forma globosa, epiderme e polpa de coloração alaranjada, suavemente avermelhada e consistência pastoso-gelatinosas, com fibras e com sabor agradável. Devido à alta produção de frutos,

é necessária a prática de desbaste de frutos, afim de evitar a alternância de produção. Produz muitas flores masculinas, permitindo a ocorrência de grande número de sementes por fruto, por este motivo é o principal porta-enxerto utilizado no Brasil (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014).

‘Rubi’ (IAC 8-4): oriunda do cruzamento da cultivares Trakoukaki e Hanagoshō (OJIMA, 1972; RIGITANO, 1966). Plantas vigorosas e produtivas, com tamanho de fruto médio (140g), globoso-achatado, com bom aspecto e excelente sabor. A polpa é de coloração vermelho-alaranjado, pouco fibrosa e, normalmente, com sementes e com teor de sólidos solúveis totais de 16° Brix. Produção concentrada entre fevereiro e março (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014).

‘Taubaté’: plantas vigorosas e resistentes a doenças. Bastante produtiva, porém muito sujeita ao quebramento dos galhos quando sobrecarregados (necessita escoramento). Os frutos são grande (180g) e globosos, com tendência ao rachamento da película e o defeito de amolecerem rapidamente após a destanização. Pode ser usada na produção de caqui passa e sua colheita ocorre entre os meses de março a abril (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014).

‘Trakoukaki’: planta muito vigorosa e robusta, produz frutos pequenos, achatados de polpa consistente e com epiderme amarela-avermelhada. É muito taninosa antes de completar a maturação (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014).

#### **2.4.2 Cultivares PCNA (Grupo Amagaki)**

‘Fuyu’: originária do Japão é a cultivar não adstringente mais cultivada no mundo. Suas plantas são de porte médio, menos produtivas em relação às demais cultivares, exigente em climas amenos e tratos culturais específicos. Seus frutos são grandes (180g a 250g, sem raleio), de excelente qualidade e boa conservação, achatados quando sem sementes e globosos na presença de

semente, polpa alaranjada, de consistência firme, epiderme de cor amarela-alaranjada ao vermelho. Colheita tardia, entre abril e julho (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014).

‘Jiro’: mais precoce (março a abril) e menos produtiva em relação ‘Fuyu’, porém com sabor inferior. As plantas são de porte médio, bastante exigente em tratos culturais e clima ameno. Necessita polinização, gerando frutos grandes (180g), achatados com perfil quadrangular, casca vermelha-claro, polpa amarela-avermelhada, resistente e saborosa (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014).

#### **2.4.3 Cultivares PVNA e PVA (Grupo Variável)**

‘Guombo’: plantas vigorosas e produtivas. Necessita raleio para produção de frutos de maior calibre. Fruto de tamanho médio (140g) de formato oblongo-ovalado. Polpa amarela e taninosa quando sem sementes, e amarronzada (chocolate), não taninosa quando apresenta muitas sementes. Sua produção é tardia (março a maio) (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014).

‘Kyoto’: planta vigorosa que apresenta autopolinização, frutos grandes, redondo-ovalado, polpa escura (amarronzada) quando apresenta poucas sementes. Colheita tardia (maio a junho) (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014).

‘Rama Forte’: cultivar mais cultivada do Brasil, principalmente no estado de São Paulo. Planta vigorosa e muito produtiva, frutos de tamanho médio (130g), achatados, taninosos na maioria das vezes, possui sabor agradável (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014). Colheita vai de março a fins de maio (MARTINS; PEREIRA, 1989).

‘Rama Forte Tardio’: planta semelhante a ‘Rama Forte’, porém mais vigorosa, com flores e frutos maiores, maturação tardia (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014).

‘Chocolate’: produz frutos de tamanho pequeno, polpa de coloração amarela quando sem sementes e cor chocolate quando apresenta várias sementes. Colheita ocorre de fevereiro a março (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014).

## 2.5 Propagação

O método tradicional de produção de mudas de caquizeiro é pela enxertia, realizada em plantas de *Diospyros kaki*, ou ainda dos caquis americanos *Diospyros lotus* e *Diospyros virginiana*, principais espécies de porta enxerto utilizadas (FERRI; GIORDANI; BENELLI, 2013; KOCHANOVÁ et al., 2012). Os frutos do *D. lotus* apresentam grande quantidade de sementes, porém, menor tamanho em relação ao *D. kaki* (GRYGORIEVA et al., 2009).

No Brasil, devido à inexistência de programas de produção de mudas que envolvam a utilização dos caquis americanos ou ainda a existência de um caqui com potencial de utilização como porta-enxerto, a única alternativa é a extração de sementes das próprias cultivares comerciais para a formação dos porta-enxertos que apresentam o inconveniente de nem todas possuírem sementes e, quando possuem, são escassas, além da baixa germinação destas. Uma alternativa para o cultivo do caquizeiro seria a formação de mudas pelo método da estaqueia, no entanto, o enraizamento das estacas é baixo (BASTOS et al., 2005).

### 2.5.1 Via seminífera

As sementes das frutíferas de clima temperado, de modo geral, requerem certa quantidade de frio úmido, variável conforme a espécie e, sobretudo, o cultivar, para que se processe a quebra da dormência fisiológica. Dessa maneira,

tornam-se metabolicamente ativas e aptas a germinar, proporcionando plântulas de desenvolvimento vegetativo normal. O tratamento com temperatura baixa e umidade disponível, ou seja, estratificação faz-se necessário para reduzir os níveis de inibidores do crescimento, a exemplo o ácido abscísico (ABA), que se encontra naturalmente em altas concentrações nos tegumentos, cotilédones e eixos embrionários das sementes, impedindo-lhes a germinação (BONAMY; DENNIS JUNIOR, 1977; DIAZ; MARTIN, 1972).

Nas condições edafoclimáticas das regiões temperadas, sementes em dormência permanecem no solo sem condições de germinação no período que precede o inverno, favorecendo a preservação das espécies (CAMPO-DALL'ORTO et al., 1985).

A estratificação pode ser realizada tanto em geladeira como em câmaras tipo B.O.D., sendo os meios utilizados para esse processo a areia, terra ou algodão (BARBOSA et al., 1997).

A estratificação a frio, com adequada umidade, é o principal método usado para superação da dormência em sementes, tornando-as metabolicamente ativas e aptas para iniciarem a germinação (HARTMANN et al., 2002). O frio desencadeia mecanismos internos modificando a natureza e o nível de fitohormônios envolvidos no controle dos processos de dormência-germinação (CAMPANA; CAFFARINI; CALVAR, 1993).

A temperatura é um dos fatores que afeta tanto a percentagem final como a velocidade de germinação (VANIN et al., 2010); as sementes germinam em uma amplitude de temperatura variável de acordo com a espécie, sendo necessário definir a temperatura ótima na qual ocorre o máximo de germinação e emergência num menor período de tempo, e as temperaturas máxima e mínima, acima e abaixo das quais a germinação não ocorre (PASSOS et al., 2008).

Outra forma de superar a dormência das sementes das espécies de caquizeiro é a imersão em ácido giberélico, que pode elevar os índices

germinativos e uniformizar a emergência. O ácido giberélico na fase de germinação das sementes melhora o desempenho das plântulas, consequentemente acelerando a velocidade de emergência (CARDOSO et al., 2014). A giberelina, importante regulador endógeno, produz, também, outros efeitos como indução da germinação de sementes, promoção do alongamento do hipocôtilo e do caule (PENG; HARBERD, 2000). A ação da giberelina está relacionada à síntese de enzimas envolvidas no enfraquecimento dos tegumentos, como endo- $\beta$ -manases, de expansinas e de enzimas hidrolíticas de reserva nutritiva contida no endosperma, como  $\alpha$ -amilase.

### **2.5.2 Enxertia**

A enxertia é um método de propagação que consiste em se unir duas ou mais porções de tecidos de modo que a união destas partes venha a constituir-se em uma única planta. Nesse caso, as partes que compõem a planta são: porta-enxerto ou “cavalo”, parte que confere o sistema radicular à planta e passa a ser o responsável pela absorção de nutrientes e água, além de servir de suporte e o enxerto ou “cavaleiro”, parte que irá originar a parte aérea da planta. A planta enxertada é, portanto, uma associação de duas plantas, podendo ser do mesmo cultivar ou de cultivares ou espécies diferentes, mas que guardam entre si relativa interdependência. A afinidade anatômica é necessária para o perfeito desenvolvimento da planta. A base da enxertia consiste na íntima associação dos tecidos cambiais, de modo a formarem uma conexão contínua (SIMÃO, 1998).

O porta-enxerto é de fundamental importância na formação de uma muda, visto que ele pode interferir no desenvolvimento e vigor da copa, precocidade de produção, na quantidade e na qualidade da produção, no adiantamento e atraso da maturação dos frutos, na resistência a inúmeras pragas e doenças, bem como na capacidade de adaptação da planta às condições

edafoclimáticas desfavoráveis, preservando as características fundamentais das copas desejadas (POMPEU JÚNIOR, 1991).

A habilidade de uma planta enxertada formar uma combinação bem sucedida está relacionada, em grande parte, com a sua constituição e o seu modo de desenvolvimento. As falhas que ocorrem entre as plantas enxertadas podem ser devidas à incompatibilidade entre tecidos do enxerto e do porta-enxerto, que pode estar associada a questões estruturais e fisiológicas (SIMÃO, 1998).

A propagação por meio da enxertia tem sido uma técnica bastante utilizada na fruticultura, garantindo a formação de pomares com populações de plantas homogêneas (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005). Além disso, a enxertia, por possibilitar a união de mais de um genótipo, combina as características desejáveis de ambos em uma planta composta (HARTMANN et al., 2002).

A enxertia é uma das etapas críticas no processo de produção de mudas, cuja eficiência é dependente da qualidade do porta-enxerto e dos garfos ou borbulhas, da habilidade do enxertador e das condições climáticas. A época de realização e os métodos de enxertia encontram-se entre os fatores externos que afetam ou que podem afetar a pega dos enxertos. Normalmente, espécies lenhosas caducas, como as frutíferas de clima temperado, apresentam ótimos índices de pega quando os enxertos são realizados em período de repouso vegetativo e enxertados por garfagem pelos métodos de fenda cheia, fenda esvaziada, inglês simples ou inglês complicado (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

A redução do porte da planta é um dos aspectos principais na propagação por enxertia. Plantas de menor porte favorecem os tratos culturais e ainda permitem o adensamento das plantas. Além da utilização da técnica da enxertia, a utilização de porta-enxertos de gênero diferenciado vem a favorecer

ainda mais a redução do porte da planta, pela menor afinidade entre os tecidos do câmbio (HARTMANN et al., 2002).

Para a produção de mudas enxertadas de fruteiras de clima temperado, são coletados ramos porta-borbulhas junto à operação da poda, normalmente realizada no mês de julho, quando as plantas encontram-se em dormência (PIO et al., 2008). Como é uma prática rotineira e idêntica as demais frutíferas de clima temperado, há concentração dessa atividade nesse período, o que demanda muita mão-de-obra no viveiro e desfavorece o escalonamento da produção de mudas. Assim, faz-se necessário o armazenamento dos ramos porta-borbulhas, a fim de maximizar o aproveitamento do material propagativo, ampliar o período de oferta das mudas e dinamizar o uso da mão de obra no viveiro (CELANT et al., 2010).

Em citros, o armazenamento de ramos porta-borbulha em baixa temperatura já foi estudado e demonstrou ser uma técnica viável (MACIEL; SOUZA; SCHÄFER, 2008).

Nas borbulheiras, apesar de se conseguir bom controle da intensidade de brotações, e do fluxo de crescimento, nem sempre se consegue sincronia perfeita entre o período de amadurecimento dos ramos e a demanda por parte dos viveiristas. Assim, faz-se necessário o armazenamento dos ramos porta-borbulhas, a fim de maximizar o aproveitamento dos mesmos, ampliar o período de oferta e dinamizar o uso de mão de obra nas borbulheiras. O armazenamento refrigerado permite a conservação dos ramos porta-borbulhas por vários meses, embora ocorra perda gradual de viabilidade das borbulhas (CELANT et al., 2010).

O armazenamento em baixa temperatura, técnica que possui como finalidade ausentar o material propagativo de luz ou então suprir a necessidade de frio, tem como intuito superar a endodormência das gemas. Nesse caso, pode-se ainda encurtar o período de formação das mudas e/ou se obter mudas com

maior vigor, caso as gemas do enxerto brotem de forma antecipada (SALOMÃO et al., 2008; SIQUEIRA et al., 2010).

## 2.6 Valor nutricional

Qualquer que seja a cultivar considerada, o fruto do caquizeiro é quase só polpa. De aparência gelatinosa, apresenta boas quantidades de vitaminas e minerais (PARK et al., 2004). O fruto, quando verde, tem coloração verde-oliva e é rico em tanino, o que proporciona a adstringência da fruta. Com a maturação ocorre a polimerização desses taninos devido à ação de acetaldeídos, transformando-os em açúcares, ou são consumidos durante a respiração (AGUSTÍ, 2010).

O caqui é classificado como um fruto de baixa acidez, apresentando acidez total titulável, em ácido málico, em torno de 0,16% a 0,23% (GONZÁLEZ et al., 2015).

Do ponto de vista nutricional, o caqui é de alta digestibilidade e, por ser rico em caroteno (provitamina A), vitamina C e sais minerais, além de apresentar elevado teor de potássio, assemelha-se à banana. Dois a três caquis médios suprem a necessidade diária de vitamina A de uma pessoa adulta. É indicado contra as afecções do fígado, transtornos intestinais e enfermidades das vias respiratórias (BUTT et al., 2015; XIE et al., 2015). Além disso, pesquisas evidenciam efeito benéfico no controle dos níveis de colesterol (GORINSTEIN, 1999).

O caqui é fonte de cálcio, fósforo e sódio e contém também vitaminas hidrossolúveis B1 e B2 (CORSATO; SCARPARE FILHO; SALES, 2008). É uma fruta saborosa, que atende a diversos tipos de paladares, de acordo com a cultivar consumida. Apresenta, em sua composição, baixo teor de lipídeos e

proteínas. É considerado alcalinizante, antioxidante, estomáquico, fortificante, laxante e nutritivo (BUTT et al., 2015; XIE et al., 2015).

A polpa do caqui é constituída, basicamente de mucilagem e pectina, responsáveis pela aparência característica da fruta (PARK et al., 2004). O conteúdo de açúcares totais no caqui varia de 10,2% a 19,6%, em frutos de cultivares taninosa e de 10,1% a 16,7%, em frutos de cultivares doces, superando, nesse quesito, o da maioria das frutas de consumo popular (CORSATO; SCARPARE FILHO; SALES, 2008).

É considerada uma fruta calórica, contendo, aproximadamente, 78 kcal por 100 g e 17% de carboidratos, superando os valores encontrados para a maioria das frutas de consumo popular. Além disso, é rica em fibras (BUTT et al., 2015). Na Tabela 1 observa-se a composição química da porção comestível do caqui.

A composição das frutas frescas pode variar em função da cultivar, da fertilidade do solo, do grau de maturação, da porção do fruto, etc. Quanto ao aspecto qualitativo, é uma fruta rica em elementos nutritivos e muito saborosa (PARK et al., 2004).

Tabela 1 Teores nutricionais encontrados em 100g da polpa de caqui

Elemento	
Calorias (kcal)	78
Umidade (%)	81,49
Gordura (g)	0,1
Proteínas (g)	0,33
Fibras (g)	2,6
Cinzas (g)	0,37
Carboidratos (g)	17,2
Cálcio (mg)	6,0
Fósforo (mg)	26,0
Ferro (mg)	0,3
Vitamina A (mg)	250
Vitamina B1(mg)	0,05
Vitamina B2(mg)	0,05

Fonte: (PINTO, 2010)

## 2.6 Processamento

Às vezes frutos são armazenados demasiado tempo a baixas temperaturas e a utilização de etileno, dióxido de carbono, e outros produtos químicos para remover a adstringência do fruto quando ainda estão verdes podem produzir alterações indesejadas dos frutos característica cor amarelo-laranja, devido à degradação do padrão de carotenoides, mas o fruto comercializado tem alta firmeza e não possui adstringência. O excedente de cultivo de fruta e frutos danificados, os quais são indesejáveis pelo consumidor, exigem o desenvolvimento de novos produtos dele derivados (GONZÁLEZ et al., 2015).

Segundo Testoni (2002) é difícil obter um produto processado a partir de caqui, devido à sua baixa firmeza quando maduro e a sua composição química. Embora rico em açúcares (16-20%) e ideal para geleia, o caqui tem baixo teor de

ácidos orgânicos cerca de (0,1%). Isto pode ser corrigido pela adição de corretores de acidez, mas o elevado teor de pectina solúvel e taninos, que são mais ou menos solúveis em água, fazem a etapa de concentração difícil e pode levar a um sabor desagradável ou mesmo escurecimento da geleia com a perda do típico aroma de caqui (TESTONI, 2002).

No entanto, nunca houve uma grande demanda por geleia caqui no mercado internacional, pequenas quantidades são feitas localmente apenas em algumas áreas. Apenas no mercado dos Estados Unidos existe um purê congelado para ser usado como uma base para o sorvete e indústria de bolos. A cultivar mais utilizada é 'Hachiya', mas os frutos devem ser completamente maduros e não adstringentes. No Japão, foi feita a fermentação de frutos, obtendo-se uma bebida alcoólica (8% de álcool) que não é aceitável para o gosto ocidental. O passo seguinte foi a destilação desse fermentado, mas mesmo isso não foi apreciado nos países ocidentais. Outro uso, novamente no Japão, é o suco de tanino seco e em pó com proteínas adicionadas para a clarificação do tradicional *sake* (TESTONI, 2002).

O uso industrial mais interessante de caqui é a técnica de secagem. Na verdade, tradicionalmente os japoneses e chineses, sempre utilizam os caquis descascados, cortados e secos ao sol. Este processo foi atualizado na Califórnia e na Itália. Estudando o ciclo tecnológico de secagem em estufa e a relação entre tempo e temperatura. Na Itália propuseram os parâmetros ideais para a secagem (ar quente a 45 °C durante cerca de 18 h) em relação à fase de maturação e a espessura das fatias de caqui 'Caqui Tipo'. Se o fruto é fatiado e descascado a temperatura utilizável é de cerca de 65 °C. O passo final é alcançado quando a perda de peso é de cerca de 75-85% do peso inicial, obtendo-se um produto de humidade intermediária de alta energia, pronto para comer (TESTONI; MALTINI, 1978).

De acordo com condições convencionais, a preparação de suco de caqui baseia-se num simples processo de separação sólido-líquido (LU et al., 2010). Frutos de caqui foram moídos em suspensão, misturados com água numa proporção de 1: 1 (v / v) e aqueceu-se a diferentes temperaturas e tempos. Após arrefecimento à temperatura ambiente, a mistura é filtrada através de membrana de 0,2 micrões ou centrifugada. Em seguida, o filtrado ou o sobrenadante é recolhido como o suco de caqui (LEE; LEE, 2012; LU et al., 2010).

## REFERÊNCIAS

- AGUSTÍ, M. **Fruticultura**. 2. ed. Madrid: Mundiprensa, 2010.
- AKAGI, T. et al. Quantitative real-time PCR to determine allele number for the astringency locus by analysis of a linked marker in *Diospyros kaki* Thunb. **Tree Genetics & Genomes**, Cham, v. 5, n. 3, p. 483–492, July 2009.
- BADENES, M. et al. Genetic diversity of introduced and local Spanish persimmon cultivars revealed by RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 50, n. 6, p. 579–585, Sept. 2003.
- BADENES, M. L. et al. Material vegetal y mejora genética. In: BADENES, M. L. et al. (Ed.). **El cultivo del caqui**. Valencia: Generalitat Valenciana, 2015. p. 55–80.
- BARBOSA, W. et al. Conservação e germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas da pereira porta-enxerto “Taiwan Nashi-C”. **Scientia Agricola**, Piraacicaba, v. 54, n. 3, p. 147–151, 1997.
- BASTOS, D. C. et al. Enraizamento de estacas lenhosas e herbáceas de cultivares de caquizeiro com diferentes concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 27, n. 1, p. 182–184, abr. 2005.
- BONAMY, P. A.; DENNIS JUNIOR, F. G. Abscisic acid levels in seeds of peach. II Effects of stratification temperature. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 102, n. 1, p. 26–28, 1977.
- BUENO, S. C. S.; PIO, R.; WIECHMANN, C. J. S. Cultivo do caquizeiro. In: PIO, R. (Ed.). **Cultivo de fruteiras de clima temperado em regiões subtropicais e tropicais**. Lavras: UFLA, 2014. p. 251–295.
- BUTT, M. S. et al. Persimmon (*diospyros kaki*) fruit: Hidden phytochemicals and health claims. **EXCLI Journal**, Dortmund, v. 14, p. 542-561, 2015.
- CAMPANA, B.; CAFFARINI, P.; CALVAR, J. Quebra de dormência de sementes de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) mediante reguladores de crescimento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 15, p. 171–176, 1993.

- CAMPO-DALL'ORTO, F. A. et al. Conservação de sementes de marmelo. **Bragantia**, Campinas, v. 44, n. 1, p. 347–356, 1985.
- CAMPO-DALL'ORTO, F. A. et al. Novo processo de avaliação da adstringência dos frutos no melhoramento do caquizeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 55, n. 2, p. 237–243, 1996.
- CARDOSO, R. R. et al. Desempenho de sementes de crambe expostas à tratamentos prégerminativos. **Acta Biológica Colombiana**, Bogotá, v. 19, n. 2, p. 251–260, 2014.
- CELANT, V. M. et al. Armazenamento a frio de ramos porta-borbulhas e métodos de enxertia de cultivares de marmeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.1, p.20-24, fev. 2010.
- COLLINS, R.; GEORGE, A. P. Managing crop load on nonastringent persimmon (*Diospyros kaki* L.) grown in the subtropics. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 436, p. 251–260, 1996.
- CORSATO, C. E.; SCARPARE FILHO, J. A.; FONTANETTI VERDIAL, M. Fenologia do caquizeiro “Rama Forte” em clima tropical. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 3, p. 323–329, 2005.
- CORSATO, C. E.; SCARPARE FILHO, J. A.; SALES, E. C. J. Teores de carboidratos em órgãos lenhosos do caquizeiro em clima tropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 30, n. 2, p. 414–418, jun. 2008.
- DE FINA, A. L.; RAVELO, A. **Climatología y fenología agrícolas**. Buenos Aires: EUDEBA, 1973.
- DIAZ, D. A.; MARTIN, G. C. Peach seed dormancy in relation to endogenous inhibitors and applied growth substances. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 97, n. 5, p. 651–654, 1972.
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa, 2005.
- FERRI, A.; GIORDANI, E.; BENELLI, C. Viability and in vitro germination rate of pollen grains of *D. kaki* Thunb., *D. lotus* L. and *D. virginiana* L. in relation to storage time and temperatures. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 996, p. 97–102, 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Statistical – database**. 2013. Disponível em: <[http://faostat3.fao.org/browse/Q/\\*/Ei](http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/Ei)>. Acesso em: 25 jan. 2016.

FOURNIER, L.; CHARPANTIER, C. El tamaño de la muestra y la frecuencia de las observaciones en el estudio de las características fenológicas de los árboles tropicales. **Cespedesia**, Cali, v. 7, n. 2, p. 25–26, 1978.

GARCÍA-CARBONELL, S. et al. Phenological growth stages of the persimmon tree (*Diospyros kaki*). **Annals of Applied Biology**, London, v. 141, p. 73–76, 2002.

GEORGE, A. P.; COLLINS, R.; RASMUSSEN, T. S. Phenological cycling of non-astringent persimmon in subtropical Australia. **Journal of Horticultural Science**, London, v. 69, n. 5, p. 937–946, 1994.

GONZÁLEZ, E. et al. Physicochemical characterization of pure persimmon juice: nutritional quality and food acceptability. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 80, n. 3, p. 532–539, Mar. 2015.

GORINSTEIN, S. Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in some tropical fruits and persimmon. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Chicago, v. 10, n. 10, p. 371–376, Oct. 1999.

GRYGORIEVA, O. et al. Morphometrical analysis of *Diospyros lotus* population in the Mlyňany Arboretum, Slovakia. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 833, p. 145–150, 2009.

GUO, D. L.; LUO, Z. R. Development of SSR primers using ISSR-PCR in *Diospyrus kaki* Thunb. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 6, p. 886–887, 2006.

HARTMANN, H. T. et al. **Plant propagation:** principles and practices. 7th ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola municipal**. 2013. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2013/>>. Acesso em: 25 jan. 2016.

KOCHANOVÁ, Z. et al. Sodium azide induced morphological and molecular changes in persimmon (*Diospyros Lotus* L.). **Agriculture**, London, v. 58, n. 2, p. 57–64, Jan. 2012.

LEE, D. W.; LEE, S. C. Effect of heat treatment condition on the antioxidant and several physiological activities of non-astringent persimmon fruit juice. **Food Science and Biotechnology**, Heidelberg, v. 21, n. 3, p. 815–822, June 2012.

LU, Z. et al. Fermentative production of L(+)-lactic acid using hydrolyzed corn starch, persimmon juice and wheat bran hydrolysate as nutrients. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, n. 10, p. 3642–3648, May 2010.

MACIEL, H. S.; SOUZA, P. V. D.; SCHÄFER, G. Viabilidade de borbulhas de citros coletadas de ambiente protegido e mantidas em frigoconservação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 30, p. 241-245, mar. 2008.

MARTINS, F. P.; PEREIRA, F. M. **Cultura do caquizeiro**. Jaboticabal: FUNEP, 1989.

MOWAT, A. D.; GEORGE, A. P.; COLLINS, R. . Macro-climatic effects on fruit development and maturity of non-astringent persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. “Fuyu”). **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 436, p. 195–202, 1999.

NAVAL, M. M. et al. Analysis of genetic diversity among persimmon cultivars using microsatellite markers. **Tree Genetics & Genomes**, Cham, v. 6, n. 5, p. 677-6687, Apr. 2010.

OJIMA, M. Caqui (*Diospyros kaki* L.). In: \_\_\_\_\_. **Instruções agrícolas para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 1972. p. 68–69. (Boletim, 200).

PARK, K. J. et al. Estudo da secagem de caqui giombo com encolhimento e sem encolhimento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 6, n. 1, p. 71–86, 2004.

PASSOS, M. A. A. et al. Luz, substrato e temperatura na germinação de sementes de cedro-vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 2, p. 281–284, fev. 2008.

PENG, J.; HARBERD, N. P. The role of GA-mediated signalling in the control of seed germination. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 5, n. 5, p. 376–381, 2000.

PETRI, J. L. et al. **Dormência e indução da brotação de fruteiras de clima temperado**. Florianópolis: EPAGRI, 1996.

PINTO, D. M. **Tecnologias de pós-colheita em caqui “Fuyu”**. Lavras: UFLA, 2010.

PIO, R. et al. Desenvolvimento de 31 cultivares de marmeiro enxertadas no porta-enxerto ‘Japonês. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 30, n. 2, p. 466–470, 2008.

POMPEU JÚNIOR, J. Porta enxerto. In: RODRIGUEZ, O. et al. (Ed.). **Citricultura brasileira**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargil, 1991. p. 265–280.

RAGAZZINI, D. **El kaki**. Madrid: Mundiprensa, 1985.

RAZZOUK, P. L. G. **Avaliação fenológica de dez variedades de caquizeiro *Diospyros kaki* L. e propagação por estaqüia em regiões tropicais**. Ilha Solteira: Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2007.

RIGITANO, O. **ABC do lavrador prático 35: a cultura do caqui**. São Paulo: Melhoramentos, 1966.

SALOMÃO, L. C. C. et al. Low temperature storage of NAA, GA3 and 2,4-D treated citrus budsticks. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 4, 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90162008000400007](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162008000400007)>. Acesso em: 22 jan. 2016.

SIMÃO, S. **Tratado de fruticultura**. Piracicaba: FEALQ, 1998.

SIQUEIRA, D. L. et al. Viabilidade de hastes porta-borbulhas de citros em diferentes estádios de desenvolvimento e períodos de armazenamento. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 15, p. 95-120, fev. 2010.

SORIANO, J. M. et al. Development of microsatellite markers in polyploid persimmon (*Diospyros kaki* Lf) from an enriched genomic library. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 6, n. 2, p. 368–370, June 2006.

SUGIURA, A. **Retrospects and prospects on persimmon research**. 2005. Disponível em: <<http://hzsy.hzau.edu.cn/shixuegailan/%E6%9F%BF%E4%B8%9A%E5%8A%A8%E6%80%81/RetrospectsandProspectsonPersimmonResearch.pdf>>. Acesso em: 30 jan. 2015.

TAO, R.; SUGIURA, A. Adventitious bud formation from callus cultures of japanese persimmon. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 3, p. 259–261, 1992.

TERRA, M.; PIRES, E. J.; NOGUEIRA, N. A. **Tecnologia para produção de uva “Itália” na região Noroeste do Estado de São Paulo.** Campinas: CATI, 1998.

TESTONI, A.; MALTINI, E. Prime esperienze nell'essiccamento dei loti. **Annali IVTPA**, Milano, v. 9, p. 111-117, 1978.

TESTONI, A. **Post-harvest and processing of persimmon fruit.** 2002. Disponível em: <<http://om.cihem.org/om/pdf/a51/02600062.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2016.

TOMBOLATO, A. F. C. Polinização e formação de sementes em caquizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 8, p. 991–996, 1989.

TORRES, R. E. **Agrometeorología.** México: Trillas, 1995.

VANIN, J. P. et al. Adubação na produção de plântulas do marmeleiro “Japonês”. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 545–550, jun. 2010.

VILLALPANDO, J.; RUIZ, A. **Observaciones agrometeorológicas y su uso en la agricultura.** Mexico: Lumusa, 1993.

XIE, C. et al. Persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves: a review on traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 163, p. 229–240, Apr. 2015.

YANG, Y. et al. Development of simple sequence repeat markers in persimmon (*Diospyros* L.) and their potential use in related species. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 1, p. 609–618, 2015.

YONEMORI, K. et al. Phylogeny and cultivar development of *Diospyros kaki*: a survey based on molecular analyses. **Advances in Horticultural Science**, Firenze, v. 22, n. 4, p. 261–268, 2008.

YONEMORI, K.; KANZAKI, S.; SUGIURA, A. Current situation of molecular markers for selecting pollination-constant and non astringent type from breeding populations of Japanese persimmon. **Options Méditerranéennes Serie A**, Paris, v. 51, p. 81-86, 2002.

YONEMORI, K.; SIGIURA, A.; YAMADA, M. Persimmon genetics and breeding. **Plant Breeding Reviews**, Westport, v. 19, p. 191–225, 2000.

ZHANG, Q. et al. Current progress on industry and sciencience of persimmon in mainland China. **Italus Hortus**, Firenze, v. 15, n. 5, p. 95, 2008.

ZHUANG, D. et al. Chromosome number of *Diospyros kaki* cultivars. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, v. 59, p. 289–297, 1990.

## SEGUNDA PARTE

### ARTIGO 1

#### **ARMAZENAMENTO REFRIGERADO DE RAMOS PORTA-BORBULHAS/GARFOS PARA ENXERTIA ESCALONADA EM CAQUIZEIRO**

**Cold storage of budsticks/clefts for staggered grafting in persimmon trees**

**Artigo Aceito e aguardando publicação na Revista Ciência Rural.**

**(Extrato B1 – Qualis 2014 – Ciências Agrárias I)**

#### **ABSTRACT**

The persimmon tree is propagated by grafting and the rootstocks are produced from seeds. Grafting is done in July, which coincides with the time when the persimmon trees are pruned. But, at this time, many rootstocks are not yet eligible to receive the grafts. In this case budsticks/cleft storage is an option. Thus, this study aimed to verify the feasibility of cold storage of budsticks/cleft and verify the grafting method to promote better graft development. The rootstock was sown in August 2012 and the branches were collected in July 2013. Part of the branches were used for grafting (budding and cleft graft methods) in one-year old rootstocks and the other part was stored at low temperature (cuttings wrapped in moistened paper and then wrapped in polyethylene bags placed in cold storage at 4°C), during the months of August to December. Every 30 days, a number of branches was removed from the cold storage to perform grafting by budding and cleft and to quantify total sugars and starch in the budsticks/cleft stored. One hundred and twenty days after the grafting was performed, the length and diameter of the bud, number of leaves, sprouting percentage, dry weight of aerial part and root from the grafts were measured. We concluded that there is no difference in the budding graft for different periods, but in seedlings grafted by the cleft grafting method there is greater growth when the clefts have been in cold storage for 60 to 120 days.

**Key words:** *Diospyrus kaki*, seedlings production, cleft graft, budding.

## RESUMO

O caquizeiro é propagado por enxertia e os porta-enxertos são produzidos por sementes. A enxertia é realizada em julho, que coincide com a época de poda dos caquizeiros. Porém, nessa época, muitos porta-enxertos ainda não estão aptos a receberem os enxertos. Nesse sentido, o armazenamento dos ramos porta-borbulhas/garfos seria a opção. Assim, o objetivo neste trabalho foi verificar a viabilidade do armazenamento refrigerado dos ramos porta-borbulhas/garfos e diagnosticar o método de enxertia para promover melhor desenvolvimento do enxerto. A semeadura dos porta-enxertos foi realizada em agosto de 2012 e os ramos foram coletados em julho de 2013. Uma parte dos ramos foi utilizada para a realização da enxertia (métodos de borbulhia e garfagem) em porta-enxertos de um ano de idade e a outra parte foi armazenada sob baixa temperatura (estacas envoltas em papel umedecido, embrulhadas em sacos de polietileno colocadas em câmara fria a 4 °C), pelos meses de agosto a dezembro. A cada 30 dias uma quantidade de ramos foi removida da câmara fria para a realização das enxertias por borbulhia e garfagem e para a quantificação dos açúcares totais e amido dos ramos porta-borbulhas/garfos armazenados. Passados 120 dias da realização das enxertias foram mensurados o comprimento e diâmetro do broto, número de folhas, porcentagem de brotação, massa seca da parte aérea e das raízes dos enxertos. Conclui-se que não há diferença na brotação dos enxertos para as diferentes épocas, porém em mudas enxertadas pelo método de garfagem há maior crescimento quando os garfos são armazenados a frio durante 60 a 120 dias.

**Palavras-chave:** *Diospyrus kaki*, produção de mudas, garfagem, borbulhia.

## INTRODUCTION

The persimmon tree (*Diospyros kaki* L.) is a fruit bearing tree from Asia, traditionally cultivated in temperate or subtropical climates (MARTINELI et al., 2013). The Brazilian persimmon production has grown in recent years, since it is very profitable (BRACKMANN et al., 2013). The State of São Paulo, with over 8,100 ha under production, has the largest cultivated area (ALVES et al., 2011).

The traditional method to produce persimmon tree seedlings is by grafting, performed in *Diospyros kaki* plants, or else also of American persimmons *D. lotus* and *D. virginiana* (FERRI et al., 2013; KOCHANOVA et al., 2012). In Brazil, due to the lack of seedling programs using American persimmons, or also the existence of a persimmon that could potentially be used as rootstock, the only alternative is to extract seeds from the commercial cultivars themselves to form the rootstocks. This is inconvenient because they do not all have seeds, and when they do, they are scarce, besides their low germination and the lack of uniform rootstock growth (BUENO et al., 2014). An option for the persimmon tree would be to form seedlings using the cuttings method, but the rate of rooting from cuttings is low (BASTOS et al., 2005).

The alternative would be the storage of budsticks/clefts, in order to maximize the use of the branches fragmented during pruning and maximizing the greater use of rootstocks produced due to the lack of uniformity of the rootstocks in the nursery. Storage at a low temperature, a technique whose purpose it is to keep the propagation material away from light, or else to supply the need for cold, aims to overcome the endodormancy of the buds (BIASI, 1996). In citrus, the storage of budsticks/clefts at low temperature has already been studied and proved to be a feasible technique (MACIEL et al., 2008). In the case of the quince tree, CELANT et al. (2010) found that the budsticks/clefts

must be stored for only 30 days, and grafting by clefts promoted greater growth of the grafts, compared to grafting by budding.

Hence, the purpose of the present study was to test at the feasibility of cold storage of the budsticks/cleft persimmon branches and to diagnose the grafting method that best promotes graft development.

## MATERIAL AND METHODS

The experiment was performed at the Center for Seedling Production of São Bento do Sapucaí-SP, belonging to the Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), located in the Mantiqueira mountains at a latitude of 22° 41' (S), longitude of 45° 43' (W), altitude of 886 meters and mesothermal climate (Cwa).

Seeds of mature fruit of the ‘Pomelo’ persimmon tree were extracted in February 2012. After washing and drying the seeds were placed in a plastic bag and stored in a cold storage at a temperature of 4°C. In August, the seeds were buried two centimeters deep in a sand bed, which was moistened daily. After 60 days the seedlings were transplanted into plastic bags with a 2.5 L capacity filled with a substrate of pinus bark, burnt rice husks, and organic matter from the composting of plant residues. The rootstocks were kept in a nursery made of a shading screen (50% luminosity) and daily irrigation was performed with watering cans.

In July 2013, a random sample of 200 rootstocks in a lot of 2,000 rootstocks was measured for height and diameter at the graft site, 15 cm above soil level. The classes of diameters were separated into 0-4.9 mm, 5-6.7 mm, 6.8-8.5 mm and were ready for grafting (greater than 8.6 mm) according to the recommendations of BUENO et al. (2014); the classes of rootstock height were separated into 0-35.3 cm, 35.4-53.7 cm, 53.8-72 cm and above 72.1 cm.

Branches of the 'Guiombo' persimmon tree collected in July 2013 together with the pruning were standardized with a 20 cm length. Part of the branches was grafted immediately, in July, at a height of 10 to 15 cm above the soil level. The grafting methods used were: plate type budding, in which the buds were tied with transparent plastic tape, and after 30 days these tapes were removed and then the aerial part of the rootstock, above the graft was decapitated; and a double slit type cleft graft, and cleft with three buds approximately six centimeters long, and the grafts were tied with plastic tape and protected for 30 days with transparent plastic bags (15 cm long and 3 cm in diameter) in order to form a moist chamber and avoid dessication of the propagative material.

Another part of the branches was placed in cold storage. For storage the cuttings were wrapped in moistened paper, immersed in fungicide (Captan 500PM, at a concentration of 10 gL<sup>-1</sup>) for three minutes, then wrapped in polyethylene bags and placed in cold storage at a temperature of 4°C, maintained from August to December. Every 30 days, a certain number of branches was removed from cold storage to perform grafting using both methods (budding and cleft grafting) in rootstocks that had a diameter greater than 8.6 mm, 15 cm above the soil level, and higher than 72.1 cm. The design used was entirely randomized, with a factorial of 6x2 (first factor: grafting season; second factor; type of graft), with four repetitions and 10 grafts per plot, with a total of 480 grafts.

The total soluble sugars and starch of the budsticks/cleft stored were quantified and also the control which did not undergo the storage process. In order to extract the total soluble sugars, 0.2g of dry mass of the branches and rootstocks were used, homogenized in 5 mL of phosphate buffer 0.1 M pH 7.0, followed by a water bath for 30 min at 40°C and later centrifuged at 10,000 RPM for 20 min; the supernatant was collected and stored in black plastic pots

at -20°C. To extract the starch, the pellet resulting from the extraction of total soluble sugars was resuspended with 8 mL of potassium acetate buffer 200 mM pH 4.8 and 2 mL of amyloglucosidase enzyme solution ( $1\text{mg.mL}^{-1}$ ) were added and incubated at 40°C for two hours and then later centrifuged at 10.000 RPM for 20 min; the resulting supernatant was collected and discarded and the pellet volume was completed to reach 15 mL with distilled water. The starch and total soluble sugars were quantified using the anthrone method (ZANANDREA et al., 2009).

The grafts were conducted on a single stem and periodical debudding was performed. 120 days after the graft was performed for each period, the percentage of graft sprouting, the length and diameter of the sprout, the number of leaves, the dry mass of the aerial part and the roots were measured. The dry masses were obtained by drying the plant material in a forced air circulation oven at 65°C, for 72 h and later weighed on a semi-analytic balance. The data were submitted to analysis of variance and the means were grouped by the Scott-Knott test with a 5% probability level.

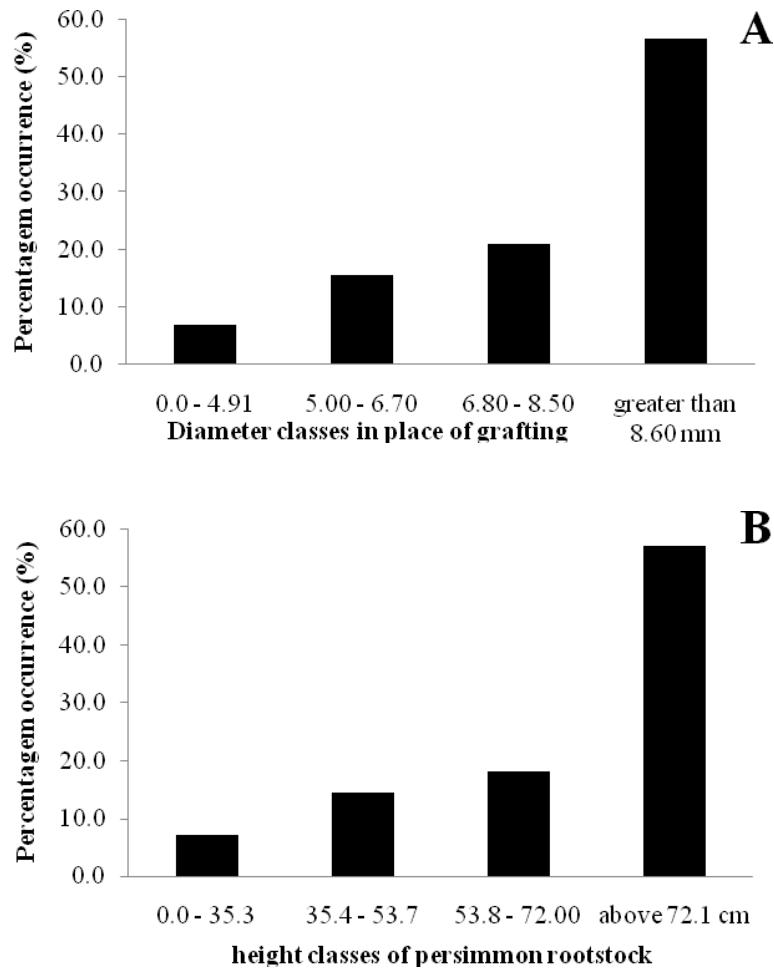
## RESULTS AND DISCUSSION

Evaluating the rootstock of the ‘Pomelo’ persimmon tree before the grafting was done, it was found that only 57% of them were suitable for grafting, in other words, had a diameter greater than 8.6 mm 15 cm above the soil level and a height of more than 72.1 cm, according to the indications of BUENO et al. (2014) (Figure 1). These results supported the statement by BUENO et al. (2014), concerning the lack of uniformity of the persimmon tree rootstock. In this sense, storage of the budsticks/cleft branches would be the feasible alternative, agreeing with the statement by MACIEL et al. (2008) who emphasize that the storage of budsticks/cleft branches allows a synchrony

between the maturing of the branches and the moment when the rootstocks are ready for the graft to be performed.

According to the statistical analysis of the quantifications performed after grafting, interaction occurred only between the factors to carry out the grafting. As to the isolated factors, there was a statistical difference between the grafting periods and the type of graft for the variables number of leaves, dry matter of the aerial part and of the roots.

Although there was no statistical difference in the percentage of sprouting grafts, it is found that the indices were above 80% (Table 1). The percentage of sprouting reflects the success of the tissue regeneration in the graft and rootstock region (CELANT et al., 2010). Through these results it is found that it is possible to store the budstocks/cleft branches of the ‘Guionbo’ persimmon tree for up to 150 days. These results are promising from the point of view of optimization and the better use of rootstocks in the seedling production system for this fruit tree, since, according to the results shown in Figure 1, 57% of the roostocks were suitable for grafting in the traditional period for carrying out this procedure.



**Figure 1.** Diameter classes in place of grafting measured at 15 cm above soil level (A) and height (B) of persimmon rootstock ‘Pomelo’.

Thus, since it is feasible to store the budstick/cleft branches, the other rootstocks which were not suitable for grafting can be used later. It should be underscored that not all lignous and deciduous fruit trees can be used for the storage of budsticks/cleft branches, since, according to CELANT et al. (2010),

the budsticks/cleft branches of quince trees can be stored for up to 30 days. According to the authors, at the end of 60 days, it was seen that calluses were formed and rhizogenic initiation occurred on the budsticks/cleft branches of quince trees. Since the persimmon tree branches have a low rhizogenic potential (BASTOS et al., 2005), this may be a reason for the successful storage of the budsticks/cleft branches at a low temperature, since the reserves are not exhausted because of the rhizogenic initiation.

As to the period when grafting is performed, only in branches that were stored up to the month of December, they had the grafts with the smallest number of leaves (Table 1). In the case of the dry mass of the aerial part of grafts, ie, the sprouts, grafts performed between July and August, ie, on budsticks/cleft branches that did not undergo the storage process or that were kept for 30 days in cold storage presented the highest values (Table 1). Usually, deciduous lignous species, such as fruit trees from temperate climates present high development indices when the grafts are performed during a period of vegetative rest (CELANT et al., 2010).

**Table 1.** Percentage of graft sprouting (GS), diameter of the sprout (DS), number of leaves (NL), dry weight of the aerial part (DWAP) and root (DWR) of persimmon grafted by grafting and budding at different times.

	GS (%) <sup>(1)</sup>	DS (mm) <sup>(1)</sup>	NL <sup>(1)</sup>	DWAP (g) <sup>(1)</sup>	DWR (g) <sup>(1)</sup>
Grafting method					
Grafting	87.50 <sup>ns</sup>	6.50 <sup>ns</sup>	20.06 a	18.55 a	16.13 a
Budding	89.58	5.98	16.37 b	15.67 b	15.30 b
Grafted at different times					
July	87.50 <sup>ns</sup>	6.38 <sup>ns</sup>	19.46 a	22.12 a	15.51 b
August	91.25	6.83	18.45 a	19.12 a	16.51 b
September	88.75	6.16	17.92 a	16.25 b	16.05 b
October	80.00	5.47	19.26 a	13.64 b	13.49 b
November	96.25	6.78	19.19 a	14.97 b	13.37 b
December	87.50	5.80	15.91 b	16.56 b	19.38 a
C.V. (%)	10.89	16.80	14.87	17.45	21.07

(1) Means followed by the same letter in the column do not differ by the Scott-Knott test ( $P \leq 0.05$ ). ns – not significant.

As to the period when grafting is performed, only in branches that were stored up to the month of December, they had the grafts with the smallest number of leaves (Table 1). In the case of the dry mass of the aerial part of grafts, ie, the sprouts, grafts performed between July and August, ie, on budsticks/cleft branches that did not undergo the storage process or that were kept for 30 days in cold storage presented the highest values (Table 1). Usually, deciduous lignous species, such as fruit trees from temperate climates present high development indices when the grafts are performed during a period of vegetative rest (CELANT et al., 2010).

As to the methods, cleft grafting helped increase the number of leaves and weight of the aerial part (graft buds) and roots (Table 1). These differences regarding the grafting methods are related to the seedling, since the clefts have a greater amount of reserves (carbohydrates) than the buds, which helps the graft healing and sprouting (BIASI, 1996). SEIFERT et al. (2009) also found a higher

percentage of sprouts in and dry mass of sprouting in pear trees grafted by clefting, compared to the grafts performed by budding in quince tree rootstocks.

In the case of length of grafts, there was no difference between the methods for grafting in budsticks/cleft branches that had not been stored and those that remained 30 days in cold storage (until August). However, for the branches that were stored between the months of September and December, cleft grafting promoted a greater length of grafts (Table 2).

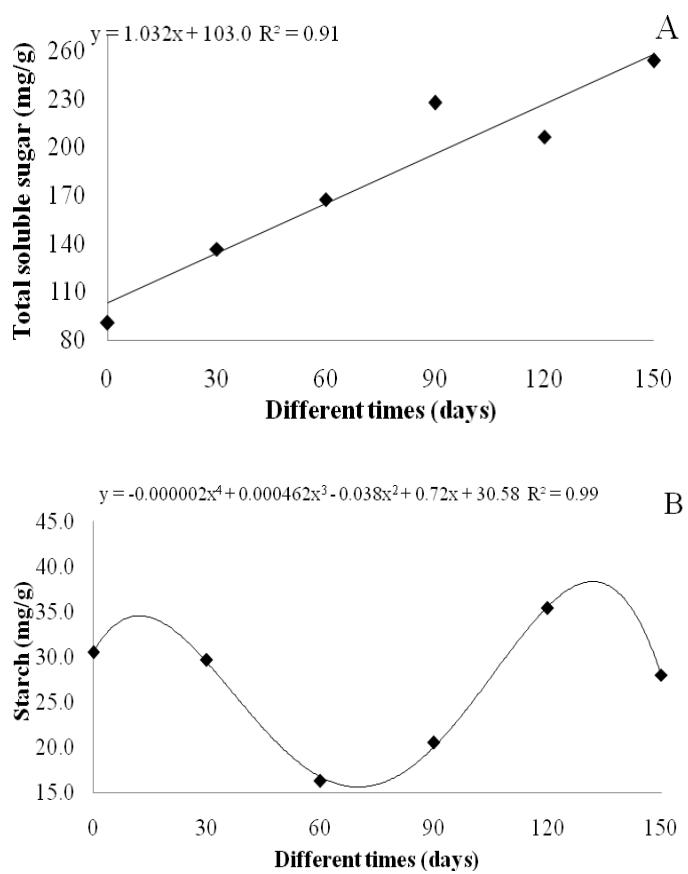
**Table 2.** Length of the grafts derived from persimmon branches grafted by grafting and budding at different times.

Grafted at different times	Grafting	Budding
	Length of the grafts (cm) <sup>(1)</sup>	
July	60.85 Aa	62.82 Aa
August	53.83 Aa	52.99 Aa
September	57.70 Aa	38.68 Bb
October	54.61 Aa	41.48 Bb
November	49.24 Aa	44.11 Bb
December	51.70 Aa	26.88 Bc
C.V. (%)	14.98	

<sup>(1)</sup> Means followed by the same letter capitalized on the line and lowercase in the column do not differ by the Scott-Knott test ( $P \leq 0.05$ ).

In Figure 2A, it is found that there was a linear increase in the total soluble sugar contents insofar as the branches remained stored over time. CORSATO et al. (2008) found increased total soluble sugar contents in persimmon tree branches beginning at the end of the dormancy period. Since the persimmon tree branches used in this study were collected precisely during the dormancy period, a rise in the total soluble sugar contents was expected. On the other hand there was a reduction in the starch contents beginning with the 12<sup>th</sup> day of storage up to 60 days, which is explained by the conversion to soluble

sugar. However, the starch content increased later after 72 days, possibly due to preventing the sprouting of buds of the stored branches, to the detriment of the low temperature of the cold conservation storage (Figure 2B). CORSATO et al. (2008) also observed an equation identical to that of the present paper for starch contents in persimmon tree branches over time.



**Figure 2.** Total soluble sugar (mg/g) (A) and starch (mg/g) (B) in branches ‘Guionbo’ persimmon storage in a cold chamber at 4°C for different times.

Comparing the storage periods in each grafting method it is noted that there was no difference between the periods when grafting was done by clefting (Table 2). However the budsticks/cleft branches that were not stored, or that remained in cold storage until the month of August, when they were grafted by budding presented a longer graft. The same results were observed by CELANT et al. (2010) in quince trees, which showed that cleft grafting promotes a greater length of the grafts, even when they are kept in cold storage. SEIFERT et al. (2009) also observed a greater length of the pear tree grafts performed by clefting and comparison with those performed by budding.

## CONCLUSIONS

Budsticks/cleft branch storage is an efficient method to stagger and/or produce persimmon tree seedlings out of season. The clefting method provides greater graft growth when the clefts are submitted to cold storage for 60 to 120 days. The clefting method was better than graft.

## REFERENCES

- ALVES, G. et al. First report of *Pestalotiopsis diospyri* causing canker on persimmon trees. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 1019-1022, set. 2011.
- BASTOS, D.C. et al. Enraizamento de estacas lenhosas e herbáceas de cultivares de caquizeiro com diferentes concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 1, p. 182-184, abr. 2005.
- BIASI, L.A. Emprego do estiolamento na propagação de plantas. **Ciência Rural**, v. 26, n. 2, p. 309-315, ago. 1996.

- BRACKMANN, A. et al. Controle da maturação de caqui ‘Fuyu’ com aplicação de aminoetoxivinilglicina e 1-metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 953-961, dez. 2013.
- BUENO, S.C.S. et al. Cultivo do caquizeiro. In: PIO, R. **Cultivo de fruteiras de clima temperado em regiões subtropicais e tropicais**. Lavras: Editora UFLA, 2014. Cap. 9, p. 250-295.
- CELANT, V.M. et al. Armazenamento a frio de ramos porta-borbulhas e métodos de enxertia de cultivares de marmeleiro. **Ciencia Rural**, v. 40, n. 1, p. 20-24, jan./fev. 2010.
- CORSATO, C.E. et al. Teores de carboidratos em órgãos lenhosos do caquizeiro em clima tropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 414-418, jun. 2008.
- FERRI, A. et al. Viability and in vitro germination rate of pollen grains of *D. kaki* Thunb., *D. lotus* L. and *D. virginiana* L. in relation to storage time and temperatures. **Acta Horticulturae**, v. 996, n. 1, p. 97-102, 2013.
- KOCHANOVA, Z. et al. Sodium Azide Induced Morphological and Molecular Changes in Persimmon (*Diospyros Lotus* L.). **Agriculture**, v. 58, n. 2, p. 57-64, jul. 2012..
- MACIEL, H.S. et al. Viabilidade de borbulhas de citros coletadas de ambiente protegido e mantidas em frigoconservação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 241-245, mar. 2008.
- MARTINELI, M. et al. Caqui cv. ‘Mikado’: análise de compostos voláteis em frutos adstringentes e destanizados. **Ciência Rural**, v. 43, n. 8, p. 1516-1521, ago. 2013.

SEIFERT, K.E. et al. Mudas de pera produzidas por dupla enxertia em marmeiro utilizando o porta-enxerto 'Japonês'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.1631-1635, 2009.

ZANANDREA, I. et al. Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. **Australian Journal of Botany**, v. 57, n. 8, p. 661-669, fev. 2009.

## ARTIGO 2

### OBTENÇÃO DE PORTA-ENXERTOS DE CAQUIZEIRO: AVALIAÇÃO DA ESTRATIFICAÇÃO DE SEMENTES, CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO GIBERÉLICO E TEMPERATURAS

**Artigo aceito e aguardando Publicação na Revista Ciência Agronômica**  
**(Extrato B1 – Qualis 2014 – Ciências Agrárias I)**

**Obtain rootstocks of persimmons: stratification, gibberellic acid  
concentration and temperature**

**RESUMO** - O caquizeiro é propagado por enxertia, em porta-enxertos obtidos por sementes. Devido à baixa germinação, objetivou-se com este trabalho aumentar a germinação das sementes de porta-enxertos dos caquizeiros *Dyospyros kaki* e *Dyospyros lotus* através da estratificação, tratamento das sementes com ácido giberélico e utilização de diferentes temperaturas. No primeiro experimento as sementes foram colocadas entre camadas de areia umedecida em placas de Petri e mantidas em câmara tipo B.O.D. com temperatura de 4 °C, por 15 e 30 dias, além do controle, em que as sementes foram imersas em água por 10 min. Em seguida as sementes foram colocadas em bandejas plásticas com areia de grânulos médios em câmara tipo B.O.D., com temperatura controlada de 15; 20; 25 ou 30 °C por 60 dias, em que se avaliou a porcentagem de emergência. No segundo experimento, as sementes foram estratificadas por 30 dias e posteriormente colocadas para embeber em bêqueres contendo soluções de ácido giberélico de 100; 200 e 300 mg L<sup>-1</sup>, além do controle composto somente por água destilada. As sementes foram colocadas em bandejas plásticas com areia de grânulos médios e mantidas em câmara tipo B.O.D., com temperatura controlada de 20,5 °C para *D. kaki* e 24,6 °C para *D. lotus*, por 60 dias. Verificou-se que o processo de estratificação por 30 dias aumenta em 13,94% a emergência das plântulas. A temperatura de 20,5 °C possibilita a emergência de 47,62% para a espécie *D. kaki* e a de 24,6 °C a emergência de 44,49% para a *D. lotus*. Observou-se que o tratamento das sementes com ácido giberélico não favorece a germinação das sementes, sendo assim considerado desnecessário.

**Palavras-chave:** *Dyospyros kaki*. *Dyospyros lotus*. Emergência. GA<sub>3</sub>.

**ABSTRACT** - The persimmon is propagated by grafting method, using rootstocks obtained by seeds. Due the low germination of the seeds, this work was to increase the rootstocks production of *Diospyros kaki* e *Diospyros lotus* species, through the stratification, gibberellic acid treatment on the seeds, and used of different environmental temperatures. In the first experiment, the seeds were placed between layers of moist sand in Petri dish, maintained in B.O.D. chamber with 4°C temperature, by 15 and 30 days, and control, where seeds were immersed in water for 10 min. Then the seeds were placed in plastic trays with coarse sand in B.O.D. chamber controlled of 15; 20; 25 and 30°C for 60 days, when were evaluated the emergence percentage. On the second experiment, the seeds were stratified for 30 days, and then, placed to soak in beaker containing solutions of gibberellic acid at 100; 200 e 300 mg L<sup>-1</sup> concentration, beyond the control composed only by distilled water. After, the seeds were placed in plastic trays containing coarse sand, and maintained in B.O.D. chamber, at controlled and constant temperature of 20.5°C to *D. kaki* and 24.6°C to *D. lotus*, for 60 days. The process of stratification during 30 days increase in 13.94% the emergence percentage. The temperature of 20.5 °C enables the emergence of 47.62% for the specie *D. kaki* and, at 24.6°C, enables 44.49% of emergence to *D. lotus*. It was observed that the treatment the seeds with gibberellic acid not favor germination of rootstocks and is thus deemed unnecessary.

**Key words:** *Dyospyros kaki*. *Dyospyros lotus*. Emergence. AG<sub>3</sub>.

## INTRODUÇÃO

O caquizeiro (*Diospyros kaki* L.) é uma frutífera originária da Ásia e tradicionalmente cultivada em regiões de clima temperado ou subtropical (MARTINELI *et al.*, 2013). A produção brasileira de caquis tem crescido nos últimos anos, tendo em vista os elevados rendimentos que essa frutífera proporciona (BRACKMANN *et al.*, 2013). O estado de São Paulo, com mais de 8.100 ha em produção, detém a maior área cultivada (ALVES *et al.*, 2011; PEREIRA; KAVATI *et al.*, 2011).

O método tradicional de produção de mudas de caquizeiro é pela enxertia, realizada em plantas de *Diospyros kaki*, ou ainda dos caquis americanos *Diospyros lotus* e *Diospyros virginiana*, principais espécies de porta-enxerto utilizadas (FERRI *et al.*, 2013; KOCHANOWA *et al.*, 2012). Os frutos do *D. lotus* apresentam grande quantidade de sementes, porém, menor tamanho em relação ao *D. kaki* (GRYGORIEVA *et al.*, 2009).

No Brasil, devido à inexistência de programas de produção de mudas que envolvam a utilização dos caquis americanos ou ainda a existência de um caqui com potencial de utilização como porta-enxerto, a única alternativa é a extração de sementes das próprias cultivares comerciais para a formação dos porta-enxertos, que apresentam o inconveniente de nem todas possuírem sementes e, quando possuem, são escassas, além da baixa germinação destas. Uma alternativa para o cultivo do caquizeiro seria a formação de mudas pelo método da estaquia, no entanto, o enraizamento das estacas é baixo (BASTOS *et al.*, 2005).

A propagação seminífera constitui-se do processo natural de disseminação e perpetuação das espécies. Sementes de muitas espécies vegetais germinam tão logo sejam colocadas em condições de solo e ambiente favorável, enquanto outras, embora vivas, deixam de germinar, mesmo quando submetidas

a condições ideais. A temperatura ambiental controlada favorece incrementos na emergência das sementes, conforme relatado por Entelmann *et al.* (2013) em nogueria-macadâmia. A temperatura é um dos fatores que afeta tanto a percentagem final como a velocidade de germinação (VANIN *et al.*, 2010); as sementes germinam em uma amplitude de temperatura variável de acordo com a espécie, sendo necessário definir a temperatura ótima na qual ocorre o máximo de germinação e emergência num menor período de tempo, e as temperaturas máxima e mínima, acima e abaixo das quais a germinação não ocorre (PASSOS *et al.*, 2008).

Nas condições das regiões temperadas, sementes em processo de dormência permanecem no solo sem condições de germinação no período que precede o inverno, favorecendo a preservação das espécies. As sementes das espécies que possuem o mecanismo de dormência, que é o caso do caquizeiro, possuem a dormência como uma forma de adaptação às condições naturais de cultivos onde foram evoluídas, exigindo, assim, para germinar, certo período de exposição a frio-úmido, para então as plântulas obtidas se desenvolverem normalmente (ENTELMANN *et al.*, 2009). Essa exposição a baixas temperaturas é fundamental na superação da dormência de propágulos vegetais (CAMPAGNOLO; PIO, 2012).

Outra forma de superar a dormência das sementes das espécies de caquizeiro é a imersão em ácido giberélico, que pode elevar os índices germinativos e uniformizar a emergência. O ácido giberélico na fase de germinação das sementes melhora o desempenho das plântulas, consequentemente acelerando a velocidade de emergência (CARDOSO *et al.*, 2014). A giberelina, importante regulador endógeno, produz, também, outros efeitos como indução da germinação de sementes, promoção do alongamento do hipocôtilo e do caule (PENG; HARBERD, 2000; RICHARDS *et al.*, 2001). A ação da giberelina está relacionada à síntese de enzimas envolvidas no

enfraquecimento dos tegumentos, como endo- $\beta$ -manases, de expansinas e de enzimas hidrolíticas de reserva nutritiva contida no endosperma, como  $\alpha$ -amilase.

Objetivou-se com este trabalho avaliar a estratificação de sementes, utilização de concentrações de ácido giberélico e diferentes temperaturas ambientais visando a aumentar a obtenção de porta-enxertos dos caquizeiros *Dyospyros kaki* e *Dyospyros lotus*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em Lavras-MG, no período de janeiro a junho de 2014, a 21°14' de latitude Sul e 45°00' de longitude Oeste, a uma altitude média de 918 metros.

As sementes foram coletadas de frutos maduros das espécies *Dyospyros kaki* (cultivar Pomelo) e *Dyospyros lotus*, em dois períodos, janeiro e final de março. As sementes das duas espécies foram extraídas, lavadas em água corrente com a adição de cal ( $20\text{g}.\text{kg}^{-1}$  de semente), sob uma peneira de cerdas finas e, em seguida, secas à sombra por 48 horas.

No primeiro experimento as sementes foram colocadas em placas de Petri (90 x 15 mm), entre camadas de areia umedecida. As placas foram mantidas a frio em câmara tipo B.O.D. (temperatura de 4 °C), por um período de 15 e 30 dias, além de uma parte que não passou pelo processo de estratificação (controle), seguindo as recomendações de Pio *et al.* (2007). No caso do controle, as sementes foram imersas em água por um período de 10 minutos, apenas para embebição. Posteriormente, as sementes foram colocadas em bandejas plásticas preenchidas com areia de grânulos médios autoclavada (121 °C por 20 min.), a dois centímetros de profundidade. As bandejas foram mantidas em câmara tipo

B.O.D., com temperatura controlada, para cada tratamento (15; 20; 25 e 30 °C) durante todo o período experimental, que foi de 60 dias.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2 (duas espécies de caquizeiro) x 3 (períodos de estratificação: 0; 15 e 30 dias) x 4 (temperaturas para emergência: 15; 20; 25 e 30 °C), com quatro repetições e parcela constituída por 20 sementes. Durante o experimento o substrato foi umedecido. Ao final, avaliou-se a porcentagem de emergência.

No segundo experimento os melhores resultados obtidos foram utilizados no experimento anterior, no qual as sementes das duas espécies foram estratificadas por 4 °C por 30 dias, conforme descrito anteriormente. Posteriormente, as sementes foram colocadas para serem embebidas em bêqueres, com capacidade de um litro com soluções de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), nas concentrações de 100; 200 e 300 mg L<sup>-1</sup>, além do controle composto por água destilada. O produto utilizado foi o Pro-Gibb, produto contendo GA<sub>3</sub> a 10%. Durante o período de imersão de 24 horas, as soluções foram oxigenadas mediante o emprego de bombas de aquário, segundo as recomendações de Dalastra *et al.* (2010).

Posteriormente, as sementes foram colocadas em bandejas plásticas preenchidas com areia de grânulos médios autoclavada (121 °C por 20 min.), a dois centímetros de profundidade. As bandejas foram mantidas em câmara tipo B.O.D., com temperatura controlada de 20,5 °C para *Diospyros kaki* e 24,6 °C para *Diospyros lotus*. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2 (duas espécies de caquizeiro) x 4 (concentrações de ácido giberélico: 0; 100; 200 e 300 mg L<sup>-1</sup>), com quatro repetições e parcela constituída por 20 sementes. Passados 60 dias da semeadura, avaliou-se a porcentagem de emergência, além do comprimento médio e massa seca da parte aérea e do sistema radicular.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, a 5% de probabilidade, ao teste Scott-Knott, para comparações múltiplas dos tratamentos qualitativos e à regressão para os tratamentos quantitativos. As análises foram realizadas pelo programa computacional Sistema para Análise de Variância - SISVAR (FERREIRA, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro experimento houve diferença estatística apenas entre os fatores isolados e na interação entre as espécies e as temperaturas controladas para emergência das plântulas. As sementes de *Diospyros kaki* apresentaram maior emergência de suas plântulas, em comparação à emergência da espécie *Diospyros lotus*, que apresentou 25,74% (Tabela 1). Pio *et al.* (2007) verificaram que a espécie de marmeleiro *Chaenomeles sinensis* apresentou maior emergência em relação à espécie *Cydonia oblonga*.

Não houve diferença estatística entre as sementes de caquizeiro que foram estratificadas por 15 dias e aquelas que não passaram pelo processo de estratificação (Tabela 1). No entanto, a estratificação por 30 dias possibilitou o aumento de 13,94% de emergência, em relação às sementes que não foram estratificadas. De acordo com Entelmann *et al.* (2009), o processo de estratificação à frio-úmido em baixa temperatura das sementes de marmeleiro ‘Japonês’ por 30 dias em camadas de areia possibilitou aumento de 67,52% de emergência das plântulas. Segundo os mesmos autores, as sementes de espécies que apresentam dormência necessitam de certo período de exposição a frio-úmido, para que ocorra superação da dormência e então as plântulas obtidas se desenvolvam normalmente.

**Tabela 1** - Porcentagem de emergência das sementes de espécies de caqui (*Diospyros kaki* e *Diospyros lotus*) submetidas a diferentes períodos de estratificação

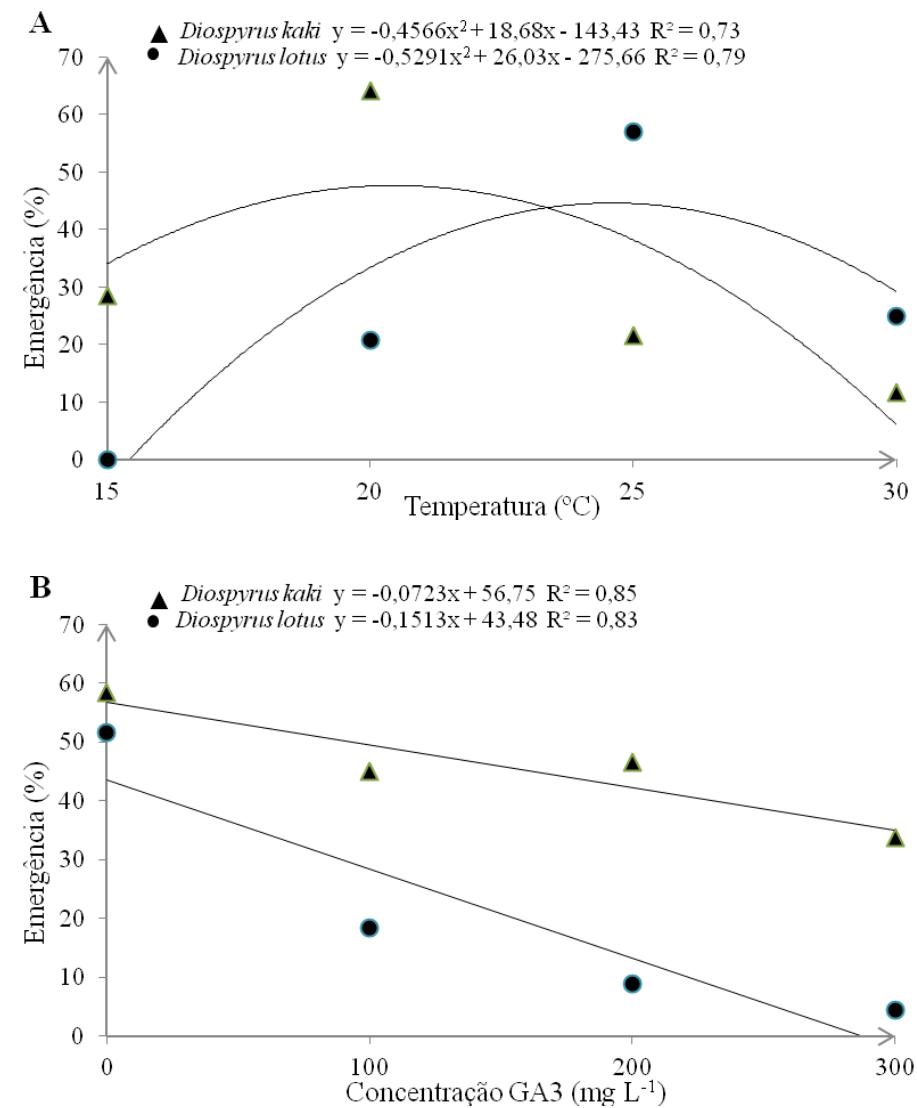
Espécies	Porcentagem de emergência (%) <sup>(1)</sup>
<i>Diospyros kaki</i>	31,46 a
<i>Diospyros lotus</i>	25,74 b
Estratificação (períodos)	
Sem estratificação	22,19 b
15 dias	27,81 b
30 dias	36,13 a
CV (%)	16,60

<sup>(1)</sup> Médias seguidas pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo pelo teste Scott-Knott ( $p>0,05$ ).

Quanto ao ambiente controlado com diferentes temperaturas em que as sementes das espécies permaneceram, verificou-se pelo desdobramento das equações de segundo grau, que a temperatura de 20,5 °C possibilitou a emergência de 47,62% para a espécie *D. kaki*, aumento de 13,58% em relação ao ambiente com 15 °C e 41,59% a mais em relação à temperatura de 30 °C. Para a espécie *D. lotus*, a temperatura que favoreceu a maior porcentagem de emergência foi a de 24,6 °C, que proporcionou 44,49% de emergência, 15,44% a mais em relação ao ambiente controlado de 30 °C (Figura 1A). Entelmann *et al.* (2013) verificaram que a temperatura controlada influencia a capacidade de emergência. Estes autores, ao estudarem sementes de nogueira-macadâmia, observaram que quando postas em temperatura controlada apresentam o dobro da capacidade de emergência, 61,8% quando colocadas a 27 °C e 29,1% a 23 °C.

A temperatura é um fator que influencia as reações bioquímicas que regulam o metabolismo necessário para iniciar o crescimento do embrião e, em consequência, a porcentagem e a velocidade de germinação. A temperatura ótima para a germinação é aquela na qual a semente expressa o seu potencial máximo em originar plântulas normais no menor tempo possível (GUIMARÃES *et al.*, 2010).

**Figura 1** - Porcentagem de emergência das espécies de caqui *Diospyros kaki* e *Diospyros lotus* semeadas em diferentes temperaturas (A) ou tratadas com diferentes concentrações de ácido giberélico (B).

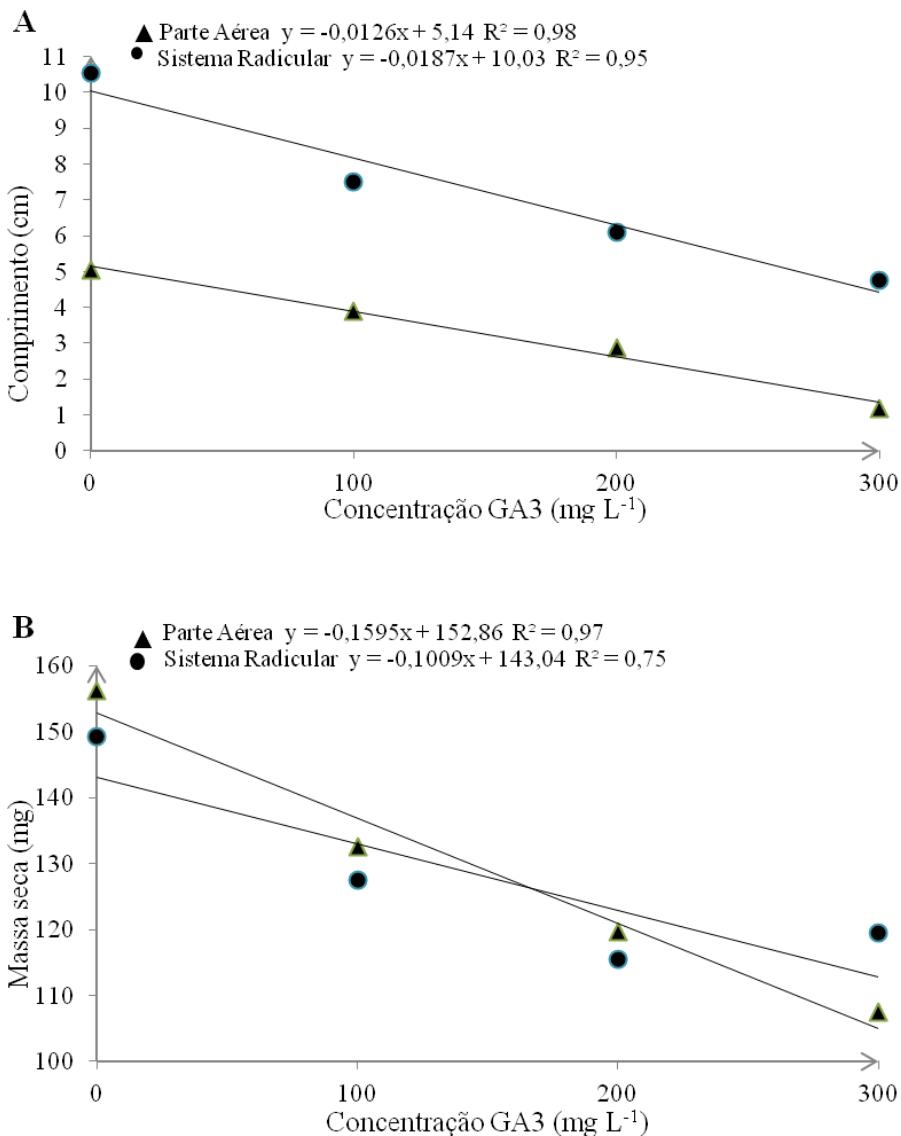


Para o tratamento das sementes de caquizeiro em ácido giberélico ( $GA_3$ ), verificou-se que, à medida que as sementes das espécies foram imersas nas soluções crescentes de  $GA_3$ , houve decréscimo linear na porcentagem de emergência, obtendo-se, no caso, 56,75% de emergência com a espécie *D. kaki* e 43,48% com a *D. lotus* (Figura 1B). Dalastra *et al.* (2010) também verificaram que a imersão das sementes, no caso de nogueira-macadâmia em concentrações crescentes de  $GA_3$  propiciaram a redução da emergência das plântulas. De acordo com os autores, o uso de compostos químicos biologicamente ativos, como o ácido giberélico, pode sobrepujar efeitos de fatores adversos na qualidade e no desempenho das sementes.

Outra hipótese em relação ao decréscimo linear em função do aumento das concentrações de  $GA_3$  pode estar relacionada ao fato da estratificação a frio-úmido por 30 dias, antes do tratamento com ácido giberélico, já terem sido suficiente para a imersão das sementes e até mesmo para a superação da dormência das mesmas. Tais resultados, assemelham-se aos obtidos por Mattiuz *et al.* (1996), que verificaram que a estratificação das sementes de kiwi ‘Bruno’ a frio-úmido a 4 °C por 15 e 30 dias elevaram a germinação a 70%. Segundo os mesmos autores, não houve qualquer ganho no aumento da germinação em função do tratamento com  $GA_3$ .

Diferentemente não ocorreu para o comprimento (Figura 2A) e massa seca (Figura 2B) da parte aérea e do sistema radicular, havendo melhores resultados quando as sementes de ambas as espécies não foram tratadas com  $GA_3$ . Quanto às espécies, verificou-se ainda que as plântulas da espécie *D. kaki* apresentaram maior comprimento e massa seca da parte aérea e do sistema radicular em relação a *D. lotus* (Tabela 2), com diferenças bastante expressivas, que possam a vir influenciar no crescimento dos porta-enxertos no viveiro e até no desempenho produtivo das cultivares de caquizeiro sobre o *D. kaki* enxertados.

**Figura 2** - Comprimento (a) e massa seca (b) das plântulas das espécies de caqui *Diospyros kaki* e *Diospyros lotus* oriundas de sementes tratadas com diferentes concentrações de ácido giberélico.



**Tabela 2** - Comprimento e massa seca da parte aérea e do sistema radicular das espécies de caqui *Diospyros kaki* e *Diospyros lotus* oriundas de sementes tratadas com ácido giberélico.

Espécies	Comprimento (cm) <sup>(1)</sup>		Massa seca (mg) <sup>(1)</sup>	
	Parte aérea	Sistema radicular	Parte aérea	Sistema radicular
<i>Diospyros kaki</i>	6,86 a	11,19 a	223,95 a	222,08 a
<i>Diospyros lotus</i>	1,29 b	3,69 b	32,34 b	31,91 b
CV (%)	28,95	16,86	21,19	23,49

<sup>(1)</sup> Médias seguidas pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo pelo teste Scott-Knott ( $p>0,05$ ).

## CONCLUSÃO

O processo de estratificação por 30 dias aumenta a emergência das plântulas em ambas as espécies. A temperatura de 20,5 °C possibilita aumento da emergência das plântulas. Não há necessidade do tratamento das sementes com ácido giberélico. A espécie *Dyospyros kaki* apresenta maior comprimento das plântulas, massa seca e porcentagem de germinação em relação à *Dyospyros lotus*.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, G. et al. First report of *Pestalotiopsis diospyri* causing canker on persimmon trees. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 1019-1022, 2011.
- BASTOS, D. C. et al. Enraizamento de estacas lenhosas e herbáceas de cultivares de caquizeiro com diferentes concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 1, p. 182-184, 2005.
- BRACKMANN, A. et al. Controle da maturação de caqui ‘Fuyu’ com aplicação de aminoetoxivinilglicina e 1-metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 953-961, 2013.

- CAMPAGNOLO, M. A.; PIO, R. Enraizamento de estacas caulinares e radiculares de cultivares de amoreira-preta coletadas em diferentes épocas, armazenadas a frio e tratadas com AIB. **Ciência Rural**, v. 42, n. 2, p. 232-237, 2012.
- CARDOSO, R. R. *et al.* Desempenho de sementes de crambe expostas à tratamentos pré-germinativos. **Acta Biológica Colombiana**, v. 19, n. 2, p. 251-260, 2014.
- DALASTRA, I. M. *et al.* Germinação de sementes de nogueira-macadâmica submetidas à incisão e imersas em ácido giberélico. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 3, p. 641-645, 2010.
- ENTELMANN, F. A. *et al.* Emergência de plântulas e enraizamento de estacas e alporques de porta-enxertos de nogueira-macadâmia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 210-2151, 2014.
- ENTELMANN, F. A. *et al.* Estratificação à frio de sementes de 'Japonês', porta-enxerto para marmeleiros. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, edição especial, p. 1877-1882, 2009.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FERRI, A.; GIORDANI, E.; BENELLI, C. Viability and in vitro germination rate of pollen grains of *D. kaki* Thunb., *D. lotus* L. and *D. virginiana* L. in relation to storage time and temperatures. **Acta Horticulturae**, v. 996, p. 97-102, 2013.
- GUIMARÃES, M. A. *et al.* Influência de temperatura, luz e giberelina na germinação de sementes de *Thlaspi caerulescens*J. Presl & C. Presl (Brassicaceae). **Revista Ceres**, v. 57, n. 3, p. 372-376, 2010.
- GRYGORIEVA, O. *et al.* Morphometrical analysis of *Diospyros lotus* population in the Mlyňany Arboretum, Slovakia. **Acta Horticulturae**, v. 833, p. 145-150, 2009.

- KOCHANOWA, Z. *et al.* Sodium Azide Induced Morphological and Molecular Changes in Persimmon (**Diospyros Lotus L.**). **Agriculture**, v. 58, n. 2, p. 57-64, 2012.
- MARTINELI, M. *et al.* Caqui cv. 'Mikado': análise de compostos voláteis em frutos adstringentes e destanizados. **Ciência Rural**, v. 43, n. 8, p. 1516-1521, 2013.
- MATTIUZ, B. *et al.* Efeitos do ácido giberélico e da baixa temperatura na germinação de sementes de kiwi (*Actinidia deliciosa*, A. Chev.) cultivar Bruno. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 53, n. 1, p. 80-83, 1996.
- PASSOS, M. A. A. *et al.* Luz, substrato e temperatura na germinação de sementes de cedro-vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 2, p. 281-284, 2008.
- PEREIRA, F. M.; KAVATI, R. Contribuição da pesquisa científica brasileira no desenvolvimento de algumas frutíferas de clima subtropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol. 33, número especial, p. 92-108, 2011.
- PENG, J.; HARBERD, N. P. The role of GA-mediated signalling in the control of seed germination. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 5, n. 5, p. 376-381, 2000.
- PIO, R. *et al.* Emergência e desenvolvimento de plântulas de cultivares de marmeiro para uso como porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 133-136, 2007.
- RICHARDS, D. E. *et al.* How gibberellin regulates plant growth and development: a molecular genetic analysis of gibberellin signaling. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 52, n. 1, p. 67-88, 2001.
- VANIN, J. P. *et al.* Adubação na produção de plântulas do marmeiro Japonês. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 3, p. 545-550, 2010.

## ARTIGO 3

**Artigo Submetido à Revista Journal of Food Processing and Technology  
(Extrato A1 – Qualis 2014 – Ciências Agrárias I)**

### **INFLUENCE OF SUBTROPICAL PERSIMMON CULTIVARS ON JUICE AND JELLY CHARACTERISTICS**

**Persimmon juice and jelly processing potential**

#### **ABSTRACT**

To increase the availability to consumers and add more value to persimmon, which is a very perishable and seasonal fruit and in order to identify which cultivars grown in subtropical regions are more suitable for processing in the form of juice and jelly, as well as understand what the consumer profile is for these products, the objective of this study was to evaluate the influence of different persimmon cultivars (Rama Forte, Mel, Guiombo and Taubaté) grown in subtropical regions of Brazil on the physicochemical characteristics, rheological properties and sensory acceptance of the resulting juice and jelly in order to identify cultivars with the greatest potential for industrial use. Based on sensory acceptance and productivity/adaptability of persimmon crop in Brazil, the most suitable persimmon cultivars for processing are Rama Forte and Guiombo. In this study it was found that the consumer prefers a more acidic persimmon juice and a less firm or softer, less sweet, clearer and more intense yellow color persimmon jelly.

**keywords:** persimmon, subtropical, jelly, juice, processing

## 1 INTRODUCTION

The persimmon (*Diospyros kaki* L.) is a fruit native to Asia, traditionally grown in temperate and subtropical climates [1, 2]. Persimmon has a good commercial acceptance because of its appearance, aroma and attractive flavor and can be eaten fresh or in processed form. In addition to the sensorial characteristics, the persimmon is a fruit that has beneficial health properties, as it contains high amounts of phenolic compounds including polyphenols, carotenoids, has high antioxidant capacity and is also a source of fiber, vitamins and minerals [3-5, 2, 6- 8].

The Brazilian production of persimmons has grown in recent years, compared to the high yields that this fruit tree provides [9]. The state of São Paulo, with more than 8,100 ha in production, has the largest cultivated area in Brazil [10] and the main persimmons grown are the cultivars 'Rama Forte', 'Mel', 'Giombo' and 'Taubaté' [11, 12]. The persimmon cultivars, of Japanese origin, can be classified into three basic types: tannic ("sibugaki"), variable ("sibugaki variant" or "variant amagaki") and sweet ("amagaki") [13, 14]. The Rama cultivar is variable and features high levels of soluble tannins as its main characteristic, making them unsuitable for fresh consumption [15, 16]. The Giombo is classified by [17] as belonging to the astringent and constant pollination type. However, [18] cite it as belonging to the variable type, with fruit pulp with sufficient tannin when parthenocarpic, and the "chocolate" type without astringency when with numerous seeds. Since they are mostly consumed fresh, the fruits of astringent cultivars require removal of the astringency prior to consumption [19, 20]. The cultivar Taubaté features large and globular fruit, but has a film cracking tendency and the defect to quickly soften after astringency before that, the fruit of this cultivar are mainly used for industrial processing. This cultivar belongs to the tannin group and are yellow in color when ripe and

may have seeds. Cultivar Mel presents a huge potential to be grown in subtropical and tropical regions, the fruit rind is yellowish when ripe with orange pulp and may present seeds [21].

Whatever the cultivar, the fruit of the persimmon has a lot of pulp, with high concentration of antioxidants such as vitamins A and C (ascorbic acid) and polyphenols [22, 6], but this composition can influence the characteristics of the products obtained after processing. Recently studies with different persimmon cultivars shown that the cultivar influences the physicochemical, rheological and sensory characteristics [8, 23] as well as antioxidant activity and bioactive compounds of the jellies and juices [24, 23].

The persimmon harvest is concentrated in three months of the year. The lack of consistent information on the storage and transport factors limits the expansion of the crop, leading to losses at the end of the production process as well as during the marketing of the fruit [25, 26]. Although consumed fresh, losses that occur during persimmon storage are, to a large extent due to excessive ripening, loss of firmness, rot and the incidence of fruit peel browning. The fresh fruits are highly perishable and there are several problems related to their conservation, originating at harvest time when a series of processes begin that influence the quality of the product and its consequent loss. The induced acceleration of maturity, commonly conducted to promote the astringency of the persimmon fruits, further contributes to the shelf life reduction [19]. Thus, one way to increase the availability to the consumer, and even provide more value to the end product, is processing or industrialization, through jams, jellies, juices, dried persimmon and vinegar [27].

In this context, the objective of this study was to evaluate the influence of different persimmon cultivars (Rama Forte, Mel, Guiombo and Taubaté) grown in subtropical regions of Brazil as to their the physicochemical characteristics, rheological properties and sensory acceptance of the resulting

jelly and juice in order to identify cultivars with the greatest potential for industrial use.

## **2 MATERIALS AND METHODS**

### **2.1 Ingredients**

The jellies and juices were prepared from four persimmon cultivars; Rama Forte, Mel, Guiombo and Taubaté. These cultivars were harvested in the morning in São Bento do Sapucaí, São Paulo - Brazil, at their physiological maturity, determined by color and fruit size, and were immediately transported to the Post Harvest Laboratory of the Federal University of Lavras, Minas Gerais- Brazil and cold-stored until processing time. In addition to the fruit, sucrose, high-methoxyl pectin (Danisco, SP, Brazil) and citric acid (Vetec, SP, Brazil) was used for the preparation of the jellies. To prepare the juice only the fruit and the sweetener, sucralose, was used. In pre-tests it was found that the persimmon juice sweetened with sucralose showed the most pronounced and pleasant persimmon flavor than the juice made with sugar, for this reason it was decided to prepare the diet juice.

### **2.2 Juice and Jelly Processing**

Four persimmon jellies and juices were prepared and the variation between the formulations was only the persimmon cultivar. The preparation of the jelly and juice was conducted in the Plant Product Processing Laboratory.

After the discard of the fruit with physical or microbiological damage and manual removal of the leaves, the persimmons were washed in potable water. To obtain the pulp used in the juice and jelly preparation, the fruits were

homogenized with 30% water for about 5 min in an industrial Poly. LS-4 blender with a 4.0 L capacity at a 3500 rpm.

For the juice preparations 0.0275% of sucralose was added to the obtained fruit pulp. The juice was then homogenized, subjected to heat treatment at 90°C/30s and then bottled in 500 mL sterilized glass bottles. The juice was stored under refrigeration at between 4-8°C until analysis. No preservative was added to the product, because the sensory and physicochemical analyzes were performed within 48 hours after processing.

To elaborate the jellies the pulp obtained was finely sieved to obtain the clarified juice. The percentages of ingredients used for preparation of the jellies were 60% clarified persimmon juice, 40% sugar, 1.5% high methoxyl pectin and 6.0% citric acid (2%). For the preparation of jellies, sugar was added in the fruit pulp and then the processing was carried out in an open pan heated by a gas flame (Macanuda, SC, Brazil). After boiling, pectin was added. At the end of the process, when the soluble solids reached 65° Brix, heating was stopped and the citric acid was added. The total soluble solids were determined using an RT-82 portable refractometer. The hot jellies were poured into sterile 250 mL glass vials and stored at 7°C until analysis.

### **2.3 Physical and Physicochemical analysis**

To characterize the different persimmon cultivars, the analysis of total soluble solids, total acidity, pH, color ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ), length, diameter, mass and texture was made in the fresh fruits. In the jellies and juices, total soluble solids, pH, total acidity and color ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ) analyses were conducted. A texture profile analysis (TPA) was also carried out in the various jelly formulations obtained. The analyses were performed in the Post Harvest Laboratory in three repetitions.

The total acidity, soluble solids and pH values were determined according to the IAL [28]. The L\*, a\* and b\* values were determined using a Minolta CR 400 colorimeter with standards and D65 CIELab, where L\* ranges from 0 (black) to 100 (white), a\* is green (-) to red (+) and b\* is blue (-) to yellow (+) [29].

For conducting fruit firmness, we measured the force required for a 3 mm probe coupled to a digital penetrometer, Instrutherm PTR-300, to overcome the resistance of the fruit pulp. The determinations were performed at two separate points on the fruit and the results expressed in Newtons (N).

The length and diameter of fruit were measured with the aid of a digital caliper 150 mm (Kingtools, São Paulo, SP), and average fruit weight was determined by individual weighing of each fruit with the aid of a AUX220 semi - analytical scale, (Shimadzu of Brazil, São Paulo, SP).

The texture profile analyses (TPA) of the jellies were performed in penetration mode under the following conditions: a pre-test speed of 1.0 mm/s, a test speed of 1.0 mm/s, a post-test speed of 1.0 mm/s, a time interval between penetration cycles of 10 s, a distance of 40.0 mm and a compression with a 6.0 mm diameter cylindrical aluminum probe using a Stable Micro Systems TA-XT2i texturometer (Goldaming, England). The jelly samples were compressed by approximately 30%. The parameters analyzed were hardness, adhesiveness, springiness, cohesiveness, gumminess and chewiness [30-32].

## 2.4 Sensory analysis

Sensory analysis was performed in the Sensory Analysis Laboratory. Two sessions of sensory analysis were performed; on the first day the evaluation of the juice formulations was conducted and on the second day, the jelly formulation evaluations. An acceptance test was conducted with 90 consumers

per day, in which the evaluated attributes were color, taste, consistency and overall liking, through a 9-point hedonic scale (1 = extremely dislike, 9 = extremely like) [33].

Each taster assessed, on average, 50 mL of juice and 5 grams of each of the four persimmon jelly formulations [34], which were served in 50 mL plastic cups coded with 3 digits in a monadic manner and in a balanced order [35]. The test was carried out in individual booths under white light and ventilation. The tasters were instructed in the use of the hedonic scale and to drink water between samples.

## 2.5 Statistical analysis

To compare the persimmon cultivars regarding the physicochemical characteristics and to compare the persimmon jellies and juices regarding the physicochemical, rheological and sensory characteristics, initially a univariate statistical analysis (ANOVA) and Tukey mean test were used to verify if there was a difference between samples at a significance level of 5% ( $p \leq 0.05$ ).

For better understanding and visualization of sensory acceptance of the samples a multivariate statistical analysis was performed, which considers the individuality of consumers and not only the average consumer group that evaluated the product. PARAFAC procedures for three-way internal preference mapping were performed [36]. A three-way array was arranged from stacked matrices (consumer x samples) of the acceptance attributes. Each individual acceptance matrix of the consumer acceptance attributes was previously standardized (correlation matrix). The PARAFAC model was optimized using the value of core consistency diagnostic (CORCONDIA) for choosing the number of factors [37, 36].

In order to correlate the consumer acceptance with persimmon juice physicochemical characteristics and with persimmon jelly physicochemical characteristics and texture parameters, external preference mapping was also performed. Data were arranged in a matrix of 4 lines (samples) and 6 columns for juice (physicochemical and texture parameters) and 12 columns for jelly (physicochemical and texture parameters). Data were standardized (correlation matrix) and PCA was applied. After the obtaining the PCA, a regression step was conducted and the first 2 principal components of the PCA scores were fitted against the overall acceptance for each consumer using a vector (linear) model. The external preference map was built by plotting the PCA scores (samples) and loadings (descriptive attributes) from the first 2 principal components and plotting the slopes of the models for the consumers [38].

Data analysis was performed with SensoMaker software version 1.6 [39].

### **3 RESULTS AND DISCUSSION**

#### **3.1 Physical and physicochemical analysis of persimmon cultivars**

The average values and the average test of the physical and physicochemical properties evaluated for the different cultivars are shown in Table 1. The persimmon cultivars showed significant differences ( $p \leq 0.05$ ) for average length, soluble solids, firmness and color parameters L\*, a\* and b\*. For the other parameters (average diameter, unit weight, total acidity and pH) significant differences were not observed.

Regarding the size and weight parameters of persimmons, from Table 1, it can be seen that in the case of the average fruit length, quantified in the direction of the stalk, the Taubaté cultivar differed from the others, as it

presented the largest dimension (69.25 mm), whereas in the other cultivars the range of variation was 49.26 (Rama Forte) to 64.91 mm (Guiombo). The average diameter and unit weight did not differ among cultivars, and the diameter of persimmons ranged from 59.35 mm to 68.02 mm and the unit weight ranged from 111.21 g to 162.66 g (Table 1). These results agree with other similar works [40], who also found unitary weight between 150 and 160 g and an average diameter in the range of 65 to 70 mm in several persimmon cultivars.

The soluble solids content varied significantly among cultivars, ranging from 15.37 to 18.23 °Brix, and the cultivar Guiombo stood out for having the highest soluble solids content (18.23°Brix) (Table 1). An important factor for products that are sold and eaten fresh is the content of sugars and organic acids, which are linked to the amount of soluble solids present in the fruit, since consumers prefer sweeter fruits [43].

**Table 1** Average length (AL), average diameter (AD), unit weight (UW), total soluble solids (SS), total acidity (TA), firmness (Firm.), pH and color (L\*, a\* and b\*) in persimmon cultivars.

Cultivars	AL (mm)	AD (mm)	UW (g)	SS (°Brix)	TA (%)	pH	Firm. (N)	L*	a*	b*
<b>Rama F.</b>	49.26 <sup>c</sup>	68.02 <sup>a</sup>	132.31 <sup>a</sup>	15.37 <sup>b</sup>	0.08 <sup>a</sup>	6.15 <sup>a</sup>	125.5 <sup>ab</sup>	55.12 <sup>b</sup>	33.71 <sup>a</sup>	49.10 <sup>b</sup>
<b>Mel</b>	58.05 <sup>b</sup>	64.45 <sup>a</sup>	114.66 <sup>a</sup>	16.40 <sup>ab</sup>	0.06 <sup>a</sup>	5.74 <sup>a</sup>	138.5 <sup>a</sup>	45.40 <sup>c</sup>	31.24 <sup>a</sup>	34.55 <sup>c</sup>
<b>Guionbo</b>	64.91 <sup>ab</sup>	59.35 <sup>a</sup>	111.21 <sup>a</sup>	18.23 <sup>a</sup>	0.08 <sup>a</sup>	5.97 <sup>a</sup>	97.95 <sup>b</sup>	41.46 <sup>c</sup>	10.50 <sup>c</sup>	22.01 <sup>d</sup>
<b>Taubaté</b>	69.25 <sup>a</sup>	66.50 <sup>a</sup>	162.66 <sup>a</sup>	16.10 <sup>ab</sup>	0.08 <sup>a</sup>	5.62 <sup>a</sup>	71.83 <sup>b</sup>	61.07 <sup>a</sup>	27.75 <sup>b</sup>	63.30 <sup>a</sup>

\*Mean values with common letters in the same column indicate that there is no significant difference among samples ( $P < 0.05$ ) from Tukey's mean test.

\*\* Total acidity: g citric acid/100 g f.w.

Thus, the fruits with a higher possibility of acceptance are those with high levels of soluble solids and total sugars. Thus, it can be seen that the Guiombo cultivar, characterized by presenting the sweetest fruits, can be very interesting for fresh consumption.

Generally, the physicochemical characteristics of pH, total acidity and soluble solids corroborate with the range found in previous studies [14, 26].

Regarding the fruit firmness, the range of variation was from 71.83 (Taubaté) to 138.5N (Mel). The Mel cultivar differentiated from the others, being considered the cultivar that showed the firmest fruits (Table 1). Importantly, the difference in the firmness of the cultivars may be due to differences in the fruit maturation stage and not only differences due to cultivar because although great care has been taken, we cannot guarantee that all the fruits of all cultivars were collected exactly at the same stage of ripening.

Regarding the coloration of the persimmon cultivars, the color parameter L\* ranged from 41.46 (Guiombo) to 61.07 (Taubaté), the color parameter a\* varied from 10.50 (Guiombo) to 33.71 (Rama Forte) and the parameter b\* color ranged from 22.01 (Guiombo) to 63.30 (Taubate) (Table 1). According to Table 1, it can be seen that the Taubaté is the cultivar which has higher L\* (61.07) and b\* (63.30) values, this shows that this fruit has less intense black color, that is, a lighter fruit and has a more intense yellow color. Regarding the color parameter a\*, the fruit of the cultivars Rama Forte and Mel, stood out due to their higher intensity of red color (33.71 and 31.24, respectively) when compared to the other cultivars. As noted in firmness, color may also reflect differences among cultivars and possible differences in the fruit maturation stage.

### 3.2 Persimmon juice

The average values and the average test of the physicochemical properties evaluated for the different persimmon juice formulations are shown in Table 2. Except for the total acidity, all parameters were significant ( $p \leq 0.05$ ) for the juice prepared with the different persimmon cultivars.

**Table 2** Soluble Solids (SS), total acidity (TA), pH and color (L\*, a\* and b\*) in persimmon juices.

Cultivars	SS (°Brix)	TA (%)	pH	L*	a*	b*
<b>Rama Forte</b>	4.00 <sup>a</sup>	0.05 <sup>a</sup>	8.73 <sup>b</sup>	36.88 <sup>b</sup>	2.27 <sup>ab</sup>	7.81 <sup>b</sup>
<b>Mel</b>	3.00 <sup>b</sup>	0.03 <sup>a</sup>	9.20 <sup>ab</sup>	29.96 <sup>b</sup>	2.10 <sup>b</sup>	8.63 <sup>b</sup>
<b>Guimbo</b>	4.67 <sup>a</sup>	0.03 <sup>a</sup>	9.53 <sup>ab</sup>	49.29 <sup>a</sup>	5.49 <sup>a</sup>	29.89 <sup>a</sup>
<b>Taubaté</b>	4.00 <sup>a</sup>	0.03 <sup>a</sup>	9.93 <sup>a</sup>	34.18 <sup>b</sup>	2.22 <sup>ab</sup>	15.18 <sup>b</sup>

\*Mean values with common letters in the same column indicate that there is no significant difference among samples ( $P < 0.05$ ) from Tukey's mean test.

\*\* Total acidity: g citric acid/100 g f.w.

The soluble solids content of the juice varied significantly among cultivars, ranging from 3.00 to 4.67° Brix (Mel and Guimbo cultivars, respectively). As was to be expected, the Guimbo cultivar was that which presented juice with highest soluble solids content. The soluble solids in the juice was well below that of the fruit, and can be explained because 30% water was added to the pulp and the juice was prepared without the addition of sucrose.

Regarding the acidity, the pH of the juices ranged from 8.73 (Rama Forte) to 9.93 (Taubaté) and total acidity varied from 0.03 to 0.05 g citric acid / 100 g (Table 2). According to Table 2, it can be seen that the juice prepared with

the Rama Forte cultivar had the lowest pH, and was considered more acidic than the other formulations.

The total acidity results are according to previous permission juice studies [27], wherein the acidity found in the juice was 0.048. In relation to the pH, these values were higher than in the other study [44], who found a range varying from 6.04 to 6.11.

Regarding color, the color parameter L\* ranged from 29.96 (Mel) to 49.29 (Guionbo), the color parameter a\* ranged from 2.10 (Mel) to 5.49 (Guionbo) and the color parameter b\* varied from 7.81 (Rama Forte) to 29.89 (Guionbo) (Table 2). According to Table 2, it can be seen that with the cultivar Guionbo, juice had higher L\*, a\* and b\* values, this means that this juice has low black color intensity, that is, a clearer juice and has higher yellow and red color intensity when compared to other formulations. The color of the juice obtained did not corroborate with the fresh fruit color results; this was possibly due to processing such as adding water to obtain the juice and possibly due to the reaction of the pigments with oxygen.

Through analysis of variance significant difference was verified among the juices obtained from different persimmon cultivars for all the evaluated sensory attributes ( $p \leq 0.05$ ). The mean scores and the mean test for the sensory characteristics evaluated in persimmon juice formulations are shown in Table 3. Figure 1 shows the three-way internal map, representing the consumer behavior, samples and acceptance attributes for the juice formulations. The number of factors in the PARAFAC

model was chosen by the CORCONDIA value and was set to two (CORCONDIA = 72%) [45, 36].

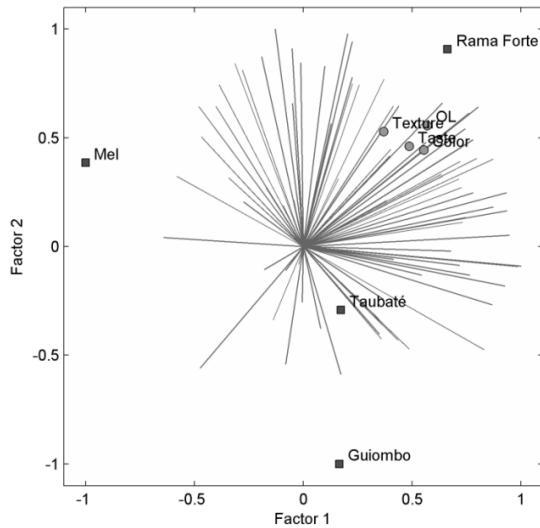
In general, the formulations of juices showed intermediate sensory acceptance for all sensory attributes evaluated, with average scores ranging from the hedonic terms "disliked slightly" and "liked very much" (Table 3).

**Table 3** Sensory characteristics of the persimmon juices obtained from different cultivars.

Formulations	Color	Taste	Consistency	Overall Liking
<b>Rama Forte</b>	7.5 <sup>a</sup>	6.7 <sup>a</sup>	6.3 <sup>a</sup>	6.9 <sup>a</sup>
<b>Mel</b>	4.9 <sup>c</sup>	5.6 <sup>b</sup>	5.5 <sup>ab</sup>	5.6 <sup>b</sup>
<b>Guiombo</b>	6.0 <sup>b</sup>	5.7 <sup>b</sup>	4.9 <sup>b</sup>	5.6 <sup>b</sup>
<b>Taubaté</b>	6.5 <sup>b</sup>	6.1 <sup>ab</sup>	5.0 <sup>b</sup>	6.0 <sup>b</sup>

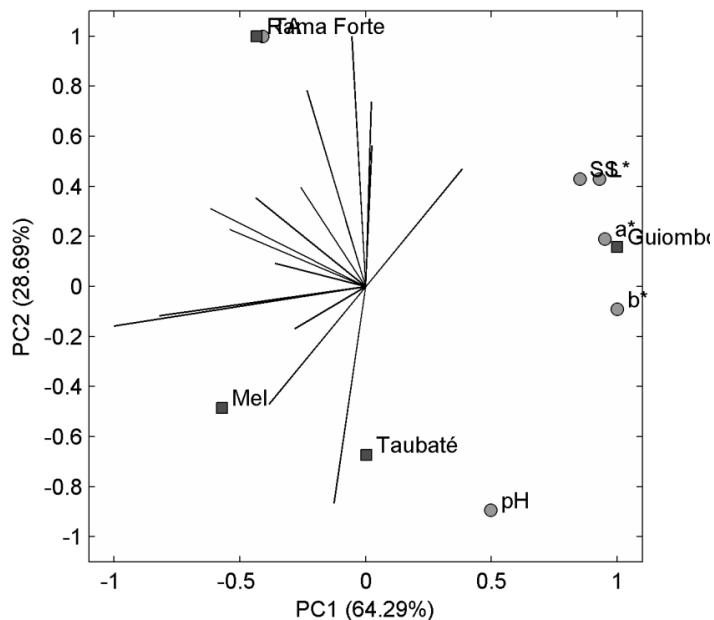
Mean values with common letters in the same column indicate that there is no significant difference among samples ( $P < 0.05$ ) from Tukey's mean test.

According to the averages table (Table 3) and in accordance with the PARAFAC (Figure 1) it can be clearly seen the better consumer acceptance and preference for juice prepared with cultivar Rama Forte, and this cultivar differed from the others, presenting higher average scores for all sensory attributes, situated between the hedonic terms "liked slightly" and "liked very much". The other cultivars (Mel, Guiombo and Taubaté) were less acceptable and similar to each other for almost all sensory attributes evaluated (Table 3 and Figure 1).



**Figure 1** Three-way internal preference maps for color, taste, consistency and overall liking obtained for the persimmon juice formulations (Consumers are represented by vectors, samples by squares and acceptance attributes by circles).

Aiming to correlate sensory acceptance with the physicochemical attributes of persimmon juice, the external preference map for the overall impression attribute is presented in Figure 2.



**Figure 2** External preference mapping for overall liking to the persimmon juices. Consumers are represented by vectors, samples by squares and physicochemical and texture attributes by circles (SS, Soluble Solids; TA, Total acidity).

According to the external preference map (Figure 2) and according to the average scores of the physicochemical attributes of different persimmon juice formulations (Table 2) one can notice that the juice prepared with the cultivar Guiombo characterized by having higher soluble solids and higher color intensity L\*, a\* and b\*, which reflects in a sweeter, clearer juice, with a more intense yellow / red coloration. It was expected that these characteristics would contribute to higher juice acceptance, but since that was not the result obtained, we can presume that other features of the juices are related to the sensory acceptance. According to Figure 2 and Table 2, it appears that the juice prepared with the Rama Forte cultivar (most accepted, sensorially) characterized by having higher acidity, since the juice prepared from Taubaté cultivar showed

higher pH values. Thus, there is an indication that the consumer has a preference for more acidic juices. The acidity, up to a certain level, may be desirable, mainly because of intensifying the characteristic flavor of the fruit.

### 3.3 Persimmon Jelly

The average values and the average test of the physicochemical properties evaluated for the different persimmon jelly formulations are shown in Table 4. Except for soluble solids and color parameter L\*, all parameters were significant ( $p \leq 0.05$ ) for the jelly made with different persimmon cultivars.

**Table 4** Soluble Solids (SS), total acidity (TA), pH and color (L\*, a\* and b\*) in persimmon jellies.

Cultivars	SS (°Brix)	TA (%)	pH	L*	a*	b*
<b>Rama Forte</b>	46.00 <sup>a</sup>	0.31 <sup>b</sup>	4.17 <sup>b</sup>	39.94 <sup>a</sup>	0.72 <sup>b</sup>	15.07 <sup>a</sup>
<b>Mel</b>	54.67 <sup>a</sup>	0.38 <sup>b</sup>	4.60 <sup>a</sup>	36.20 <sup>a</sup>	0.74 <sup>b</sup>	5.55 <sup>b</sup>
<b>Guionbo</b>	45.44 <sup>a</sup>	0.29 <sup>b</sup>	3.87 <sup>c</sup>	40.27 <sup>a</sup>	0.58 <sup>b</sup>	8.33 <sup>b</sup>
<b>Taubaté</b>	53.67 <sup>a</sup>	0.43 <sup>a</sup>	3.67 <sup>c</sup>	32.38 <sup>a</sup>	1.44 <sup>a</sup>	6.63 <sup>b</sup>

\*Mean values with common letters in the same column indicate that there is no significant difference among samples ( $P < 0.05$ ) from Tukey's mean test. \*\* Total acidity: g citric acid/100 g f.w.

The soluble solids of the persimmon jelly ranged from 45.44 to 54.67 °Brix (cultivars Guimbo and Mel respectively) (Table 4). It was expected that the soluble solids content would not significantly differ because although the persimmon cultivars showed different soluble solids, during the preparation of the jelly the final brix degree was fixed.

Regarding the acidity, the pH of the jellies ranged from 3.67 (Taubaté) to 4.60 (Mel) and total acidity ranged from 0.29 (Guionbo) to 0.43g of citric

acid / 100g (Taubaté) (Table 4). The jellies prepared from the cultivar Mel presented the highest pH value (4.60); the jellies from the Taubaté cultivar showed the highest acidity (0.43 g citric acid / 100 g). Although the fruits showed no significant difference in acidity and the amount of citric acid added was the same in all formulations, the difference observed between the jellies is due to processing and intensity of the reactions that occur during cooking. A common reaction in the preparation of jellies is the conversion of organic acids into sugars [46].

Regarding color, the color parameter  $a^*$  ranged from 0.58 to 1.44 and the color parameter  $b^*$  ranged from 5.55 to 15.07 (Table 4). Regarding the color parameter  $a^*$ , the jelly obtained from cultivar Taubaté, stands out due to its higher yellow intensity (1.44) when compared to other formulations. For the color parameter  $b^*$ , the jelly obtained from cultivar Rama Forte stood out with the highest red intensity (15.07). As for the color parameter  $L^*$ , no significant difference was verified among the jellies prepared from the different persimmon cultivars, and the range of variation was 32.38 to 40.27. Compared to fresh fruit, yellow/red color of the jelly is less intense and is darker, possibly because of the concentration and the reactions that occur during the heating, such as the Maillard reaction.

The average values and the average test of the rheological properties evaluated for the different persimmon jelly formulations are shown in Table 5. A significant difference was observed ( $p \leq 0.05$ ) for all rheological parameters evaluated, except for springiness.

**Table 5** Texture parameters of the persimmon jellies obtained from different cultivars.

Cultivar	Hard	Adhe	Spr	Coh	Gum	Chew
<b>Rama Forte</b>	0.154 <sup>c</sup>	-1.167 <sup>a</sup>	0.980 <sup>a</sup>	0.579 <sup>a</sup>	0.089 <sup>c</sup>	0.088 <sup>c</sup>
<b>Mel</b>	3.748 <sup>a</sup>	-7.787 <sup>b</sup>	0.972 <sup>a</sup>	0.341 <sup>c</sup>	1.280 <sup>a</sup>	1.245 <sup>a</sup>
<b>Guiombo</b>	0.369 <sup>c</sup>	-1.556 <sup>a</sup>	0.977 <sup>a</sup>	0.464 <sup>b</sup>	0.170 <sup>c</sup>	0.166 <sup>c</sup>
<b>Taubaté</b>	2.550 <sup>b</sup>	-5.409 <sup>ab</sup>	0.958 <sup>a</sup>	0.329 <sup>c</sup>	0.843 <sup>b</sup>	0.807 <sup>b</sup>

\*Mean values with common letters in the same column indicate that there is no significant difference among ( $P < 0.05$ ) from Tukey's mean test. (\*\* Hard. – Hardness (N); Adhe – Adhesiveness (N/s); Spr – Springiness; Coh – Cohesiveness; Gum – Gumminess (N); Chew – Chewiness).

Texture profile analysis (TPA) is a method for evaluating sensory properties. The test consists of compressing the food (study sample) twice in a reciprocating motion to mimic the action of the mandible; a first compression and relaxation followed by a second compression are performed during testing. This test yields a graph of force versus time from which the texture parameters are calculated [47-50].

The hardness measures the force required to achieve a certain deformation; adhesiveness is the amount of force to simulate the work necessary to overcome the attractive forces between a surface and the food surface in contact with it; gumminess is energy required to disintegrate a semi-solid food to the point of being swallowed; chewiness is the energy required to chew solid food to the point of being swallowed; springiness measures the rate at which the deformed material returns to its original condition after the removal of the deforming force and cohesiveness is the extent to which the material can be stretched before irreversibly breaking [30-32, 51].

The jelly obtained from the cultivar Mel had the highest hardness (3.748 N), higher adhesiveness modulus (7.878) and greater gumminess (1,280 N) and chewiness (1.245). The jelly obtained from the Rama Forte cultivar characterized by having the highest cohesiveness value (0.579). As such, the

jelly obtained by Mel cultivar characterized as a more rigid, firm, sticky, adhesive and elastic jelly.

Several factors may explain the variation in texture among the jellies prepared from different persimmon varieties; among them the amount of sugar naturally present in each cultivar, pH, acidity and soluble pectin content are factors that may influence the gelling and therefore the texture of the end product [38]. In addition, other factors such as the moisture content and the chemical composition of the fruit affect the texture profile, as it may influence the cooking time, yield, and thus the moisture content of the end product [42, 52, 53 ].

Through analysis of variance a significant difference was verified among the jellies obtained from different persimmon cultivars as to taste, consistency and overall liking ( $p \leq 0.05$ ). The mean scores and the mean test for the sensory characteristics evaluated in persimmon jelly formulations are shown in Table 6. Figure 3 shows the three-way internal map, representing the consumer behavior, samples and acceptance attributes for the jelly formulations. The number of factors in the PARAFAC model was chosen by the CORCONDIA value and was set to two (CORCONDIA = 64%) [45, 36].

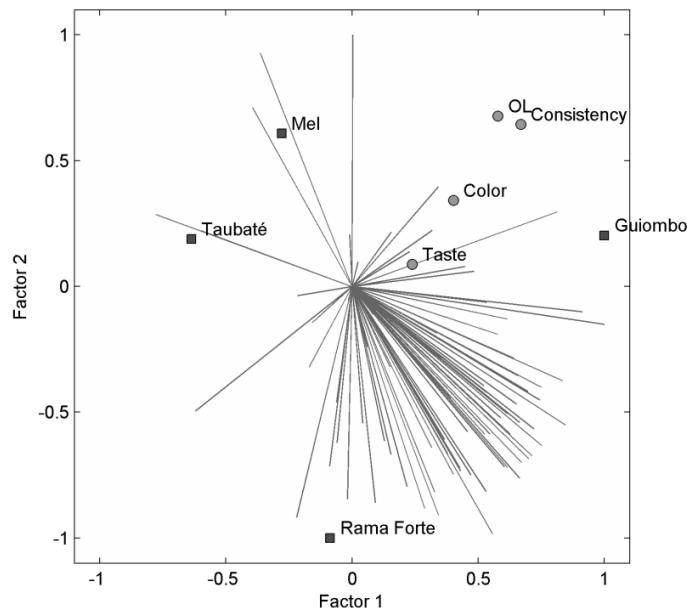
In general the jelly formulations showed good sensory acceptance, higher than the persimmon juice, for all sensory attributes evaluated, with average scores ranging from the hedonic terms "not liked / nor disliked" and "liked very much" (Table 6).

**Table 6** Sensory characteristics of the persimmon jellies obtained from different cultivars.

Formulations	Color	Taste	Consistency	Overall Liking
<b>Rama Forte</b>	7.1 <sup>a</sup>	7.3 <sup>a</sup>	7.2 <sup>a</sup>	7.3 <sup>a</sup>
<b>Mel</b>	6.7 <sup>a</sup>	6.2 <sup>b</sup>	5.0 <sup>b</sup>	5.6 <sup>b</sup>
<b>Guiombo</b>	7.1 <sup>a</sup>	7.2 <sup>a</sup>	7.2 <sup>a</sup>	7.2 <sup>a</sup>
<b>Taubaté</b>	6.5 <sup>a</sup>	6.3 <sup>b</sup>	5.0 <sup>b</sup>	5.8 <sup>b</sup>

Mean values with common letters in the same column indicate that there is no significant difference among samples ( $P < 0.05$ ) from Tukey's mean test.

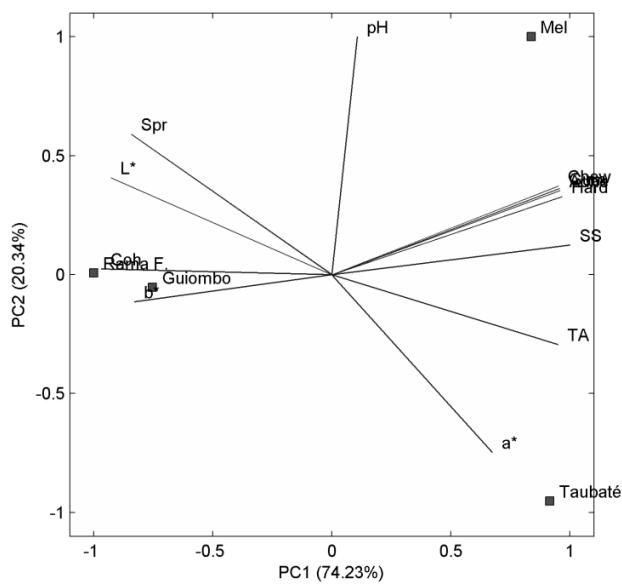
According to the average table (Table 6) and according to the PARAFAC (Figure 3) it can clearly see the consumer acceptance and preference for jelly prepared with Rama Fort and Guiombo cultivars, and these jellies differentiated from the others showing higher average scores for all sensory attributes, situated between the hedonic terms "liked moderately" and "liked very much". The jelly obtained from the other cultivars (Mel and Taubaté) were less acceptable and similar to each other for almost all sensory attributes evaluated (Table 4 and Figure 3). It is important to emphasizes that jellies developed with these cultivars obtained lower scores, especially for the consistency attribute, which may have resulted in the lowest overall liking score. Aiming to correlate sensory acceptance with the physicochemical and rheological attributes of persimmon jellies, the external preference map for the overall impression attribute is presented in Figure 4.



**Figure 3** Three-way internal preference maps for color, taste, consistency and overall liking obtained for the persimmon jelly formulations (Consumers are represented by vectors, samples by squares and acceptance attributes by circles).

According to the external preference map (Figure 4) and according to the average scores of physicochemical and rheology attributes for different persimmon jelly formulations (Table 4 and Table 5, respectively) it can be seen that the jellies elaborated with Mel and Taubaté cultivars, less accepted formulations, characterized by presenting higher hardness, adhesiveness, gumminess, chewiness and higher soluble solids. Furthermore, the jelly prepared with the cultivar Taubaté characterized as being more acidic and having a higher red color intensity and Mel, due to its higher pH (Figure 4, Tables 4 and 5). The jellies elaborated with the Guiombo and Rama Forte cultivars, which were the most accepted formulations, characterized as having greater cohesiveness and

greater intensity of L\* and b\* color, which reflects in a clearer and more intense yellow-colored jelly. Thus, there is an indication that the consumer has a preference for softer or less firm jellies, less sweet, lighter and more intense yellow color.



**Figure 4** External preference mapping for overall liking to the persimmon jellies. Consumers are represented by vectors, samples by squares and physicochemical and texture attributes by circles.

SS, Soluble Solids; TA, Total acidity; Hard., Hardness (N); Adhe., Adhesiveness (N/s); Sprin, Springiness; Cohe, Cohesiveness; Gummi, Gumminess (N); Chew, Chewiness.

### 3.4 Persimmon processing potential

From the sensory acceptance results it was recognized that persimmon processing, in the form of juices and mainly in the form of jelly, is feasible. Sensorially speaking, for juice elaboration the most suitable cultivar is Rama Forte, and for jelly preparation the most suitable cultivars are Rama Forte and also the Guiombo. The juice and jelly formulations made with the other cultivars

had lower average acceptance scores, but that does not mean impossibility of use, as adjustments in the process could change the undesirable characteristics.

It is important to emphasize that the cultivar Rama Forte, which was the most suitable for the preparation of juice and one of the most suitable for the preparation of jelly, with high processing potential, is considered unsuitable for fresh consumption because this cultivar is astringent and features high soluble tannin levels [19, 16].

The largest Brazilian persimmon producer state is São Paulo, reaching 60% of the national production. Of this total, 50% are the cultivar 'Rama Forte', 19% 'Guionbo', 15% 'Fuyu', 14% 'Taubate' and 2% others [54, 20]. The cultivars that have the highest productivity and adaptability in Brazil (Rama Forte and Guionbo) were exactly those most suitable for processing.

## **CONCLUSION**

- The different studied persimmon cultivars (Rama Forte, Mel, Guiombo and Taubaté) had different physical and physicochemical characteristics which resulted in juices and jellies with different physicochemical, rheological and sensory characteristics.
- The consumer prefers a more acidic persimmon juice and a less firm or softer persimmon jelly, less sweet, clearer with a more intense yellow color.
- Based on sensory acceptance and productivity/adaptability of persimmon crop in Brazil, the most suitable persimmon cultivars for processing are Rama Forte and Guiombo.

## REFERENCES

- [1] Martineli M, Alves AAR, Figueiredo GM, Rezende CM, Fonseca MJO (2013) Caqui cv. 'Mikado': análise de compostos voláteis em frutos adstringentes e destanizados. Ciência Rural 43: 1516-1521.
- [2] Del Bubba M, Giordani E, Pippucci L, Cincinelli A, Checchini L, et al. (2009) Changes in tannins, ascorbic acid and sugar content in astringent persimmons during on-tree growth and ripening and in response to different postharvest treatments. Journal of Food Composition and Analysis 22: 668-677.
- [3] Chen XN, Fan JF, Yue X, Wu X, Li LT (2008) Radical scavenging activity and phenolic compounds in persimmon (*Diospyros kaki* L.cv Mopan). J. Food Sci 73: 24- 28.
- [4] Akter MS, Eun JB (2009) Characterization of insoluble fibers prepared from the peel of ripe soft persimmon (cv. Daebong). Sci. Biotechnol 18: 1545-1547.
- [5] Candir EE, Ozdemir AE, Kaplankiran M, Toplu C (2009) Physico-chemical changes during growth of persimmon fruits in the east mediterranean climate region. Scientia Horticulturae 12: 42-48.
- [6] Veberic RJ, Jurhar M, Mikulic-Petkovsek F, Stampar and Schmitzer (2010) Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit. (*Diospyros kaki* L.) Food Chem 119: 477-483.
- [7] Nugraheri M, Rahmawati F (2013) Potencial of yospirus Khaki Beverage as Sources of Natural Antioxidant. Pakistan Journal of Nutrition 12: 620-627.
- [8] Jiménez-Sánchez C, Lozano-Sánchez J, Martí N, Saura D, Valero M, et al. (2015) Characterization of polyphenols, sugars, and other polar compounds in persimmon juices produced under different technologies and their assessment in terms of compositional variations. Food Chemistry 182 : 282-291.

- [9] Brackmann A, Schorr MRW, Gasperin AR, Venturini TL, Pinto JAV (2013) Controle da maturação de caqui ‘Fuyu’ com aplicação de aminoetoxivinilglicina e 1-metilciclopropeno. Revista Brasileira de Fruticultura 35: 953-961.
- [10] Alves G, Verbiski FS, Michaelides TJ, Mio LLM (2011) First report of *Pestalotiopsis diospyri* causing canker on persimmon trees. Revista Brasileira de Fruticultura 33: 1019-1022.
- [11] Pio R, Scarpone Filho JA, Mourão Filho FAAA cultura do caquizeiro. Piracicaba: ESALQ/USP, 2003. 35p. (Série Produtor Rural 23).
- [12] Tessmer MA, Kluge RA, Glória BA (2014) The accumulation of tannins during the development of ‘Giombo’ and‘Fuyu’ persimmon fruits. Scientia Horticulturae 172: 292-299.
- [13] Campo-Dall’Orto FA, Ojima M, Barbosa W, Zullo MAT (1996) Novo processo de avaliação da adstringência dos frutos no melhoramento do caquizeiro. Bragantia 55: 237- 243.
- [14] Blum J, Hoffmann FB, Ayub RA, Jung DL, Malgarim MB (2008) Uso de cera na conservação pós-colheita de caqui cv 'Giombo'. Revista Brasileira de Fruticultura 30: 830-833.
- [15] Edagi FK, Sestari I, Terra FAM, Chiou DG, Kluge RA, et al.(2009) Effect of Ripening Stage on Astringency Removal of ‘Rama Forte’ Persimmon. Acta Horticulturae 833: 269-274.
- [16] Gardin JPP, Argenta L C, Souza ELS, Rombaldi CV, Souza ALK (2012)
- [17] Ito S (1971) The persimmon. In: HULME AC. The biochemistry of fruits and their products. Academic Press 2: 281-301.
- [18] Martins FP, Pereira FM (1989) Cultura do caquizeiro. Jaboticabal. FUNEP. Editora Legis Lumma, 71p.
- [19] Edagi FK, Kluge RA (2009) Remoção de adstringência de caqui (*Diospyros kaki* L.): um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico. Ciência Rural 39: 585- 594.

- [20] Terra FAM, Edagi FK, Sasaki FFC, Frassetto Filho ME, Silva MM, et al. (2014) Aplicação do 1-metilciclopropeno e sua influência no processo de remoção da adstringência com etanol em caqui ‘Giombo’ refrigerado. Ciência Rural 44: 210-216.
- [21] Bueno SCS, Pio R, Wiechmann CJS Cultivo do caquizeiro. In: PIO, R.. (Org.) (2014) Cultivo de fruteiras de clima temperado em regiões subtropicais e tropicais. 1ed. Lavras-MG: Editora UFLA 1: 250-295.
- [22] Kondo S, Yoshikawa H, Katayama R (2004) Antioxidant activity in astringent and non-astringent persimmons. J. Hortic. Sci. Biotechnol 79: 390-394.
- [23] Butt MS, Sultan T, Aziz M, Naz A, Ahmed W, et al. (2015) Persimmon (*Diospyros Kaki*) Fruit: Hidden Phytochemicals And Health Claims Excli Journal 14: 542-561.
- [24] Lee JH, Lee YB, Seo WD, Kang AT, Lim JW, et al.(2012) Comparative Studies of Antioxidant Activities and Nutritional Constituentsof Persimmon Juice (*Diospyros kaki* L. cv. Gapjubaekmok) Prev Nutr Food Sci 17: 141-151.
- [25] Donazzolo J, Brackmann A (2002) Efeito do  $\text{CO}_2$  em atmosfera controlada na qualidade de caqui (*Diospyros kaki*, L.) Cv. Fuyu. Revista Brasileira Agrociência 8: 241-245.
- [26] Vieites RL, Picanço NFM, Daiuto ER (2012) Radiação Gama na conservação de caqui ‘Giombo’, destanizado e frigoarmazenado. Rev. Bras. Frutic 34: 719-726.
- [27] Gonzalez E, Vegara E, Martí N, Valero M, Saura D (2015) Physicochemical Characterization of Pure Persimmon Juice: Nutritional Quality and Food Acceptability Journal of Food Science 80: 532–539.
- [28] IAL—Instituto Adolfo Lutz (2005) Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo: Instituto.

- [29] Gennadios A, Weller CL, Hanna MA, Froning GW (1996) Mechanical and barrier properties of egg albumen films. *J Food Sci* 61: 585-89.
- [30] Friedman HH, Whitney JE, Szczesniak A S (1963) The texturometer—a new instrument for objective texture measurement. *J Food Sci* 28: 390-6.
- [31] Bourne M C (1968) Texture profile of ripening pears. *J Food Sci* 33: 223-6.
- [32] Van Vliet T (1991) Terminology to be used in cheese rheology. *Int Dairy Fed* 268: 5-15.
- [33] Stone HS, Sidel JL (1993) Sensory evaluation practices, San Diego, Calif.: Academic Press.
- [34] Acosta O, Víquez F, Cubero E (2008) Optimization of low calorie mixed fruit jelly by response surface methodology. *Food Qual Prefer* 19: 79-85.
- [35] Wakeling IN, Macfie HJH (1995) Designing consumer trials balanced for first and higher orders of carry-over effect when only a subset of k samples from t may be tested. *Food Qual Prefer* 6: 299-308.
- [36] Nunes Ca, Pinheiro ACM, Bastos S C (2011) Evaluating consumer acceptance tests by three-way internal preference mapping obtained by parallel factor analysis (PARAFAC). *J. Sens. Stud* 26: 167-174.
- [37] Bro R (1997) PARAFAC. Tutorial and applications. *Chemom. Intell. Lab. Syst* 38: 149-171.
- [38] Souza VR, Pereira PAP, Pinheiro ACM, Lima LCO, Pio R, et al. (2014) Analysis of the subtropical blackberry cultivar potential in jelly processing. *J Food Sci* 79: 1776-81.
- [39] Pinheiro ACM, Nunes C A, Vietoris V (2013) SensoMaker: a tool for sensorial characterization of food products. *Ciênc agrotec* 37: 199-201.
- [40] Martínez-Calvo J, Naval M, Zuriaga E., Llácer G, Badenes ML (2013) Morphological characterization of the IIVIA persimmon (*Diospyros kaki*Thunb.) germplasm collection by multivariate analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60: 233-241.

- [41] Paiva MC, Manica I, Fioravanço JC, Kist H (1997) Caracterização química dos frutos de quatro cultivares e de duas seleções de goiabeira. Revista Brasileira de Fruticultura 19: 57-63.
- [42] Jackix MH (1988) Doces, geleias e frutas em calda. Sao Paulo: Icone, p. 158.
- [43] Silva PSL, Sa WR, Mariguele KH, Barbosa APR, Oliveira OF (2002) Distribuição do teor de sólidos solúveis totais em frutos de algumas espécies de clima temperado. Rev Caatinga 15: 19-23.
- [44] Ergun M, Ergun N (2010) Extending Shelf Life Of Fresh-Cut Persimmon By Honey Solution Dips Journal of Food Processing and Preservation 34 : 2-14.
- [45] Bro R, Kiers H (2003) A new efficient method for determining the number of components in PARAFAC models. Journal of Chemometrics 17: 274-286.
- [46] Tosun I, Ustun NS, Tekguler B (2008) Physical and chemical changes during ripening of blackberry fruits. Sci Agri 65: 87-90.
- [47] Honikel KO (1998) Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. Meat Sci 49:447-57.
- [48] Lau MH, Tang J, Paulson AT (2000) Texture profile and turbidity of gellan/gelatin mixed gels. Food Res Int 33: 665-71.
- [49] Bourne MC (2002) Food texture and viscosity: concept and measurement. New York: Academic Press.
- [50] Herrero AM, Ordóñez JA, Avila R, Herranz B, Hoz L, et al. (2007) Breaking strength of dry fermented sausages and their correlation with texture profile analysis (TPA) and physicochemical characteristics. Meat Sci 77: 331-338.
- [51] Huang M, Kennedy JF, LI B, Xu X, Xie BJ (2007) Characters of rice starch gel modified by gellan, carrageenan and glucomannan: a texture profile analysis study. Carbohydr Polym 69 : 411-418.

- [52] Gava AJ (1998) Princípios de tecnologia de alimentos. 2nd ed. São Paulo: Nobel P. 284.
- [53] Lofgren C, Hermansson AM (2007) Synergistic rheological behavior of mixed HM/LM pectin gels. *Hydrocoll* 21: 480-486.
- [54] Camargo Filho WP, Mazzei AR, Alves HS (2003) Mercado de caqui: Variedades, estacionalidade e preços. *Informações Econômicas* 33: 81-87.

**ARTIGO 4****GENETIC DIVERSITY AMONG BRAZILIAN PERSIMMON  
CULTIVARS USING MICROSATELLITE MARKERS**

**Artigo Submetido à Revista Tree Genetics & Genomes  
(Extrato A2 – Qualis 2014 – Ciências Agrárias I)**

**Abstract**

The present paper was aimed at exploring the genetic diversity among different persimmon cultivars, seventeen persimmon cultivars coming from Brazil were analyzed using 12 polymorphic microsatellite markers. A total of 141 alleles were obtained, with a mean value of 11,74 alleles per locus. A neighbor joining dendrogram and a principal coordinate analysis arranged the cultivars according to their genetic relationships. The variance molecular analysis revealed significant genetic variability between cultivar, 14 among and 86% within persimmon types.

## Introduction

Persimmon belongs to the genus *Diospyros* in the family Ebenaceae and originated in Eastern Asia. In Brazil, there is evidence that the persimmon first came through São Paulo, around 1890, at which Luiz Pereira Barreto received sent seeds of France by naturalist Charles Naudin (MARTINS, PEREIRA, 1989) (BUENO, PIO; Wiechmann, 2014; MARTINS, PEREIRA, 1989).

The first seedlings were sold in 1897 as "Japanese persimmon". Later the nursery John Dierberger and Francisco Marengo, undertook to introduce and spread by Brazil cultivars existing today. As the arrival of Japanese growers, since 1920, bringing new technologies and cultivars as 'Giombo', 'Fuyu' and others, this crop has obtained economic expression (BUENO, PIO; Wiechmann, 2014).

In Brazil the only reports of breeding and genetic material conservation programs make reference to the Agronomic Institute of Campinas (IAC), which was largely responsible for the spread of this fruit in São Paulo and in Brazil, generating technology for the rational exploitation, introduction and launch of cultivars of economic importance to the persimmons chain in Brazil. However, the establishment of this breeding program is disabled, since, according to literature information, the latter cultivar was launched in 1983 (Fuyuhana - 152-7 IAC).

One of the main problems regarding diversity management of persimmon resources is the assignment of cultivar identity due to the existence of synonyms and homonyms among local varieties, misleading transliterations from Japanese, and incorrect labeling in the past. Traditionally, the method for cultivar identification was based on morphology of leaves, bud, flower, seed, and fruit characters (UPOV 2004).

The main characteristics used as references for cultivar classification are the fruit astringency loss and the change in flesh color, resulting in the recognition of four groups of cultivars (Yonemori et al. 2000): pollination-constant non-astringent (PCNA), pollination-variant non-astringent (PVNA), pollination- constant astringent (PCA), and pollination-variant astringent (PVA). The limitations of phenotype-based genetic markers led to the development of DNA-based markers.

Molecular markers are independent of environment and of pleiotropic and epistatic effects, providing new tools to support cultivar identification. So far, different DNA-based marker techniques such as RFLP (Kanzaki et al. 2000a; Maki et al. 2001), random amplification of polymorphic DNA (RAPD; Luo et al. 1995; Badenes et al. 2003; Yamagishi et al. 2005), and amplified fragment length polymorphism (AFLP; Kanzaki et al. 2000b; Yonemori et al. 2008a, b) have been applied to assess the genetic diversity and relationships between *Diospyros* species. Moreover, molecular markers based on PCR developed from retrotransposon sequences have also been employed (Du et al. 2009).

Nevertheless, the relationships between persimmon accessions are still not completely clarified in spite of all previous efforts, probably because of the low resolution of the molecular markers previously employed in terms of polymorphic alleles found at a single locus.

Although simple sequence repeat (SSR) markers have been developed for persimmon (Soriano et al. 2006), to date, no report concerning the use of SSR (also known as microsatellite) markers in genetic diversity of persimmon have been published. SSR markers evenly spaced across the genome offer an ideal tool for such purpose as they have other desirable properties of a molecular marker such as being highly polymorphic, reproducible, abundant, and co-dominant (Powell et al. 1996). However, complex ploidy levels of some species,

as is the case of *D. kaki*, can make it difficult to identify the full genotype of each sample. In these cases, the presence or absence of bands has been employed as scoring system, thereby effectively employing SSRs as dominant markers (Khlestkina et al. 2004; Al-Khanjari et al. 2007).

In this paper, our aim was to assess the genetic diversity among persimmon cultivars cultivated in Brazil using microsatellite markers from persimmon developed by Soriano et al. (2006).

#### Materials and methods

##### Plant materials and DNA extraction

Seventeen cultivars of *D. kaki* Thunb. from Brazil were evaluated in this study (Table 1). *Diospyros lotus* L. and *Diospyros virginiana* L. were used as reference outgroups. The plant materials were obtained from the persimmon germplasm collection at Seedlings Production Center of São Bento do Sapucaí (São Bento do Sapucaí, São Paulo, Brazil) belonging to Coordination of Integral Technical Assistance (CATI). Young, fully expanded leaves were collected from mature trees and kept at -20°C until DNA extraction. DNA was extracted according to the CTAB method of Doyle and Doyle (1987) with minor modifications made by Soriano et al. (2006).

##### Microsatellite analysis.

All plants were screened for variation at 12 polymorphic microsatellite loci developed for *D. kaki* by Soriano et al. (2006) (Table 2). Each polymerase chain reaction was performed with three primers: the specific forward primer of each microsatellite with M13(-21) tail at its 5' end, the sequence-specific reverse

primer, and the universal fluorescent-labeled M13(-21) primer (Schuelke 2000). PCR conditions were performed as described by Soriano et al. (2006). Allele lengths were determined using an ABI Prism 3130 Genetic Analyzer with the aid of GeneMapper software, version 4.0 (Applied Biosystems).

Table 1 – List of persimmon cultivars analyzed in this study

Cultivar	Origin	Abbreviations	Types
Cereja	Brazil	CER	PVA
Chocolate	Japan	CHOC	PVA
Erma Rideo	Brazil	ERRI	PV
Fuyu	Japan	FUYB	PCNA
Giombo	Japan	GUIOMB	PVA
Kyoto	Japan	KYOTO	PVNA
Kakimel	Brazil	MEL	PVA
Mikado	Japan	MIKB	PVA
Paraguai	Brazil	PAR	PCA
Pomelo (IAC 6-22)	Brazil	POMB	PCA
Rama Forte	Brazil	RFB	PVA
Regina (IAC 2-4)	Brazil	REG	PCA
Rojo	Spain	RB	PVA
Brillante	Spain		
Rubi (IAC8-4)	Brazil	RUBI	PCA
Taubaté	Brazil	TAUB	PCA
Trakoukaki	Japan	TRAK	PCA
Vaniglia	Italia	VAN	PVNA
D. Lotus	China	LOTUS	Outgroup
D. Virginiana	EUA	VIRG	Outgroup

### Analysis of genotype data

The presence or absence of each allele was coded as 1 or 0, respectively, for each microsatellite, in order to generate a binary data matrix.

For evaluating the informativeness of the microsatellites employed, the polymorphism information content (PIC) was calculated according to Weir (1990) from the allele frequencies for all the accessions.

A pairwise genetic similarities matrix (Nei, 1973) was made with GeneAlEx v. 6.41. The resulting matrix was used to generate a principal coordinates analysis (PCA).

The significance of the partitioning of genetic variance among cultivar types and country of origin was further investigated by an analysis of the genetic variance (AMOVA) using GeneAlEx v.6.41. In order to analyze the pairwise genetic distance between the partitioned populations, similarity matrices were constructed using the phiPT statistic with the same software (999 total permutations and 999 pairwise population permutations).

The construction of the phylogenetic tree was carried out using a distance matrix calculated with the Phylogenetic Computer Tools v. 1.3 software (Buntjer J.B., 2001). PHYLIP v. 3.695 (Felsenstein, J. 2005) was used to perform a neighbor-joining (NJ) analysis. The stability of the tree was tested with 1000 bootstrapped data matrices.

## Results and Discussion

### Genetic variation of SSR markers

A total of 141 alleles resulted from the analysis of the genetic variation in 17 cultivars of persimmon by 12 SSR polymorphic markers ranging in size

from 134 to 365 bp. Average of 11.75 alleles per locus was obtained, ranging from five alleles (ssrdk04) to 18 alleles (ssrdk03) (Table 2). Rare and unique alleles were also observed in the analysis. The number of rare alleles (frequency < 0.02) varied from zero (ssrdk04, ssrdk14 and ssrdk16) to four (ssrdk03), with a total of 21 and an average value of 1.75 (Table 2). Moreover, 20 unique alleles, i.e., amplified in just one accession, were found at ten marker loci (Table 2).

The PIC results for each marker confirmed their utility to show differences between the samples analyzed in this study (Table 2). PIC values ranged from 0.6289 (ssrdk04) to 0.926 (ssrdk03), with an average value of 0.86755. All of the 12 markers except ssrdk04 were highly polymorphic, having a PIC value equal to or higher than 0.78. The PIC values of a locus were associated with the number of alleles detected; for instance, the highest PIC value corresponded to the ssrdk03 with 18 alleles and the lowest corresponded to the ssrdk04 with five alleles. Rare (frequency < 0.02) and unique alleles were observed in the study. These alleles can be considered markers of interest to separately identify cultivars. This is a major issue in non-Asian countries where the introduction of persimmon varieties has lead to a high number of misidentified cultivars (NAVAL et al., 2010). The SSRs used in this study have allowed identification of several cultivars, among which ‘Paraguai’, ‘Fuyu’, ‘Rama Forte’, ‘Chocolate’, ‘Vaniglia’, ‘Kyoto’ and ‘Rubi’, with unique alleles.

Table 2 Summary of microsatellite allele data revealed by 12 microsatellite loci in 17 cultivars of *Diospyros kaki*

Marker	Repeat motif	Primers (5'-3')	Allele size (bp)	No.of alleles	Rare alleles	Unique alleles	PIC
ssrdk01 (AG)19		F:GGCATGAAGGAATAAGGAA R:GCTCACATTCCAACCAATCA	155–184	13	1	1 (Paraguai)	0.9064
ssrdk02 (GA)17		F: TTAATTGGACACAAGTCT R: TCTCTTCAAGTCTTCTATCCT	196–224	11	2	2 (Fuyu y Paraguai)	0.8632
ssrdk03 (AG)16		F: GGCTCTCGGTCAAATAGTAG R:GGAGGTTAGAAAATCCAGCTA	158–198	18	4	2 (Rama Forte)	0.9260
ssrdk04 (GA)17		F:CATTGAAAGCAGTCGTCCA R: GCGCAAATCATTGCTATCT	336–365	5	0	1 (Chocolate)	0.6289
ssrdk06 (AG)19		F: CGGCATGAAGGAATAAGGAA R: GCTCACATTCCAACCAATCA	154–187	11	1	1 (Paraguai)	0.8938
ssrdk14 (AG)16		F: GTGAAGGAACCCCATAAGAA R: CCATCATCAGGTAGGAGAGA	155–178	10	0	0	0.8691
ssrdk16 (GA)12		F: ACTACAACGGCGGTGAGAAC R: GTCCTTCACTTCCCGCATT	134–173	9	0	0	0.8413
ssrdk25 (CT)15		F: GGGGTAATATGAATTGAATC R: CTCAGAGAGGAGAAGAAATAG	219–283	15	2	2 (Fuyu y Vaniglia)	0.8984
ssrdk26 (GA)15		F: GGGAAATTAAAGAGGGAAGAA R: AGGAACTGGATCAGCATAAA	152–202	13	2	2 (Fuyu y Rama Forte)	0.8936
ssrdk30 (TG)9(AG)17		F:TGGTGATCGTGGTAGTGGTT R: GGCCTAATCTCTGTCCATCC	137–275	9	2	2 (Kyoto y Vaniglia)	0.8189

Table 2, conclusion

Marker	Repeat motif	Primers (5'-3')	Allele size (bp)	No.of alleles	Rare alleles	Unique alleles	PIC
ssrdk36 (GA)16		F: GGAAGAACAAAGAGAACTG R: ACGAAGTTGTAATCCTGAGC	226–259	13	3	3 (Fuyu, Kyoto, y Rubi)	0.8880
ssrdk37 (CT)10		F: CAAAATGAAGCCCCATAAGAC R: GTGAAAGTGTGGTTGGATT	154–211	14	2	2 (Fuyu)	0.9009
Mean				11,75	1,75		0.8655
Total		141		21	20		

Range of fragment size, allele number, rare alleles (freq < 0.02), alleles exclusive for one accession (name between parentheses), and PIC

### Genetic distance within Brazilian persimmon

Nei's (1972) genetic distance values varied from 0.32 (Trakoukaki vs. Erma Rideo) to 0.97 (Kyoto vs. Lotus and Kyoto vc. Virginiana, Table 3). The highest genetic distance corresponded entre a cultivar Kyoto and the two cultivars considered outgroup. This occurs because out-group cultivars show a wide range of genetic variation in morphological characters being classified as the most diverse group (JING et al., 2013). Based on AMOVA, 14% of the total variation resided between persimmon types (PVNA, PCA, PVNA, PVA) and 86% was present within groups (figure 1), which indicated that the type of astringency is not a trait that determined the diversity into persimmon.

Table 3: Pearson's  $\text{N}(\rho)$  (95%) P-values between the different constituents and others.

	PABA	POMA	REG	REGI	TALB	TALB	CEK	CEK	CHOC	CHOC	GLUCONE	NEI	NEI	RB	RB	REGI	REGI	VASH	VASH	LOTUS	LOTUS	VIDEO	VIDEO
PABA	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
POMA	0.45	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
REG	0.45	0.40	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
REGI	0.45	0.40	0.40	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TALB	0.55	0.43	0.44	0.43	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TRAK	0.45	0.41	0.41	0.40	0.40	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CER	0.5	0.45	0.45	0.51	0.45	0.45	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CHOC	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLUCONE	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NEI	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ANNE	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RB	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
REGI	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ERBL	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KYOTO	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-
FUCH	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.00	-	-	-	-	-	-	-
VASH	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.00	-	-	-	-	-	-
LOTUS	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.00	-	-	-	-	-
VIDEO	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.00	-	-	-	-

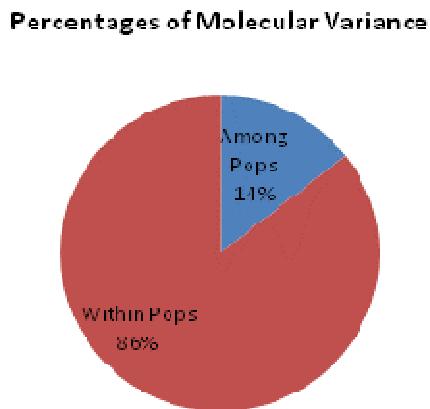


Figure 1 – Percentages of Molecular Variance

#### Cluster and principal component analysis

Based on microsatellite data, genetic distances among persimmon accessions were used to generate a neighbor joining cladogram (Fig. 2). The cladogram showed two major clades, one to the right with bootstrap 63.5% which gathered almost the PVA type cultivars (Mel, Chocolate, Mikado and Rojo Brillante), except to cultivate Kyoto which is a PVNA within this clade. In fact one the cultivars Rojo Brillante and Mikado grouped together with a probability of 56.9%. Still the right PCNA cultivars were grouped with a probability of 64.3% and to cultivate Paraguai was isolated from the others. On the left clade predominated cultivars type PCA (Pomelo, Regina, Ruby, Trakoukai and Taubaté).

Microsatellite data were subjected to a principal component analysis in order to obtain an alternative view of the relationships between the accessions (Fig. 2). As expected, this analysis agrees roughly with the neighbor joining dendrogram. The first coordinate expresses 16.25% of the variability and the second 13.8% groups formed from the plot of the first relative to the second

coordinate are very similar to those found in cladogram, being a group mainly formed by direira type cultivars PVA and another right to the PCA cultivars.

Cluster and Principal component analysis placed PCNA types together, showing a high level of genetic relatedness. Similar results were obtained by Yonemori et al. (2008a); the authors studied a total of 61 accessions, including five PCNA, and four were grouped together and one grouped with other astringency types. However, in another study Yonemori et al (2008b) analyzed a larger number of persimmon accessions including Japanese, Korean, and Chinese by AFLP markers. The results obtained showed a unique clade of PCNA Japanese cultivars, suggesting an independent evolution, although the authors did not present the bootstrap value that support the clades. Naval et al., (2010) studied 71 varieties and Liang et al., (2015) with 133 cultivars, they worked with SSR markers obtained similar results, where PCNA cultivars were grouped in the same group. This fact is explained by type PCNA be recessive, making the genetic variability among cultivars of the same type is very small (YONEMORI; KANZAKI; SUGIURA, 2002). For the other groups the results were similar to those found with (NAVAL et al., 2010) and (LIANG et al., 2015), occurring formation of groups dominated the PCA and PVA types, but no "pure" group as with PCNA type, which can be explained by the characteristic polyploidy persimmon (TAMURA et al., 1998).

### Conclusion

Brazilian cultivars can be divided into three groups, one unique to the PCNA and two types, one with predominance of type PCA and the other with the PVA type.

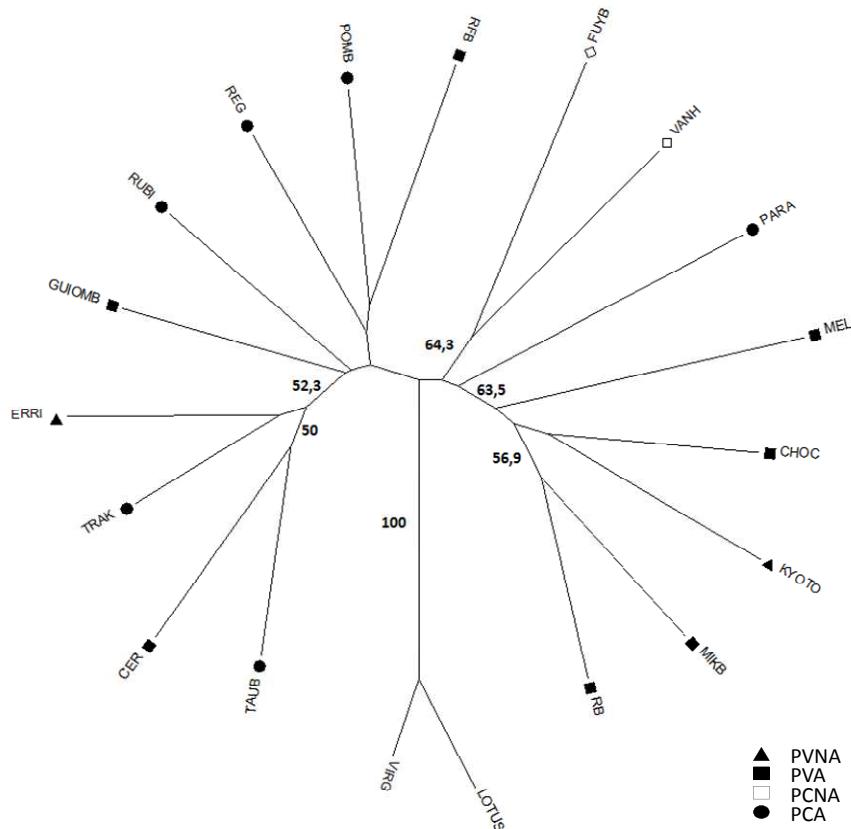


Fig. 1 Cladogram obtained by neighbor joining analysis for 19 persimmon cultivars based on SSR markers. Bootstrap values >50% are shown in the tree

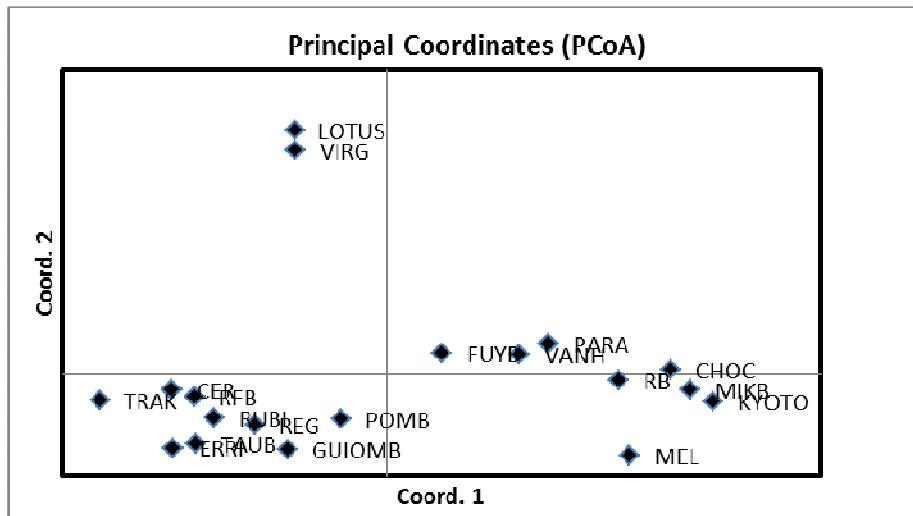


Fig. 3 Scatter plot of 19 persimmon cultivars estimated with 12 SSR markers using the genetic similarity matrix based on first and second components of principal coordinate analysis.

#### References

- Al-Khanjari S, Hammer K, Buerkert A, Röder MS (2007) Molecular diversity of Omani wheat revealed by microsatellites: I. Tetraploid landraces. *Genet Resour Crop Evol* 54:1407–1417
- Badenes ML, Garcés A, Romero C, Romero M, Clavé J, Rovira M, Llácer G (2003) Genetic diversity of introduced and local Spanish persimmon cultivars revealed by RAPD markers. *Genet Res Crop Evol* 50:579–585
- Bellini E, Giordani E (2000) Conservation of under utilised fruit tree species in Europe. *Acta Hort* 522:165–173
- Bellini E, Giordani E (2005) Germplasm and breeding of persimmon in Europe. In: Park YM, Kang SM (eds) Proceeding of 3rd International Symposium on Persimmon. *Acta Hort* 685:65–75
- Buntjer JB (1997) Phylogenetic computer tools (PhylTools), version

1.32 for Windows. Wageningen: Laboratory of Plant Breeding, Wageningen University, Wageningen

Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19:11–15

Du XY, Zhang QL, Luo ZR (2009) Development of retrotransposon primers and their utilization for germplasm identification in *Diospyros* spp. (Ebenaceae). *Tree Genet Genom* 5:235–245

Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) ARLEQUIN ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinf Online* 1:47–50

Felsenstein J (2005) PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle

Greene SL, Morris JB (2001) The case for multiple-use plant germplasm collections and a strategy for implementation. *Crop Sci* 41(3):886–892

Kanzaki S, Yonemori K, Sato A, Yamada M, Sugiura A (2000a) Evaluation of RFLP analysis for discriminating PCNA genotype in some persimmon cultivars. *J Jpn Soc Hort Sci* 69:702–704

Kanzaki S, Yonemori K, Sato A, Yamada M, Sugiura A (2000b) Analysis of the genetic relationships among pollination-constant and non-astringent (PCNA) cultivars of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) from Japan and China using amplified fragment length polymorphism (AFLP). *J Jpn Soc Hort Sci* 69:665–670

Khlestkina EK, Röder MS, Efremova TT, Börner A, Shumny VK (2004) The genetic diversity of old and modern Siberian varieties of common spring wheat as determined by microsatellite markers. *Plant Breed* 123:122–127

Lapointe FJ, Legendre P (1992) Statistical significance of the matrix correlation coefficient for comparing independent phylogenetic trees. *Syst Biol* 41:378–384

Luo ZR, Yonemori K, Sugiura A (1995) Evaluation of RAPD analysis for cultivar identification of persimmons. *J Jpn Soc Hort Sci* 64:535–541

Llácer G, Martínez-Calvo J, Naval M, Badenes ML (2008) From germplasm to fruit export: the case of ‘Rojo Brillante’ persimmon. *Adv Hort Sci* 22(4):281–285

Maki S, Oyama K, Kurahashi T, Nakahira T, Kawabata T, Yamada T (2001) RFLP analysis for cultivar identification of persimmons. *Sci Hortic* 91:407–412

Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* 27:209–220

Nei M (1972) Genetic distance between populations. *Am Nat* 106:283–292

Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 70:3321–3323

Parfitt DE, Yonemori K, Ryugo K, Sugiura A (1991) Isozyme identification of Japanese persimmons (*Diospyros kaki* L.): comparison of cultivars in California and Japan. *Fruit Var J* 45 (2):107–113

Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol Breed* 2:225–238

Romero M, Clavé J, Rovira M (2002) Characterization of persimmon (*Diospyros kaki* L.f.) cultivars from Spain. First Mediterranean Symposium on Persimmon, Faenza, Italy, 23–24 Nov. 2001. Options-Mediterraneennes-Séries-A-Séminaires-Méditerranéens 51:71–74

- Schuelke M (2000) An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nat Biotechnol* 18:233–234
- Soriano JM, Pecchioli S, Romero C, Vilanova S, Llácer G, Badenes ML (2006) Development of microsatellite markers in polyploid persimmon (*Diospyros kaki* Lf) from an enriched genomic library. *Mol Ecol Notes* 6:368–370
- Weir BS (1990) Genetic data analysis. Methods for discrete genetic data. Sinauer Associates, Sunderland
- Yamada M, Yamane H, Ukai Y (1994) Genetic analysis of Japanese persimmon fruit weight. *J Am Soc Hort Sci* 119: 1298–1302
- Yamagishi M, Matsumoto S, Nakatsuka A, Itamura H (2005) Identification of persimmon (*Diospyros kaki*) cultivars and phenetic relationships between *Diospyros* species by more effective RAPD analysis. *Sci Hortic* 105:283–290
- Yonemori K, Sugiura A, Yamada M (2000) Persimmon genetics and breeding. In: Janick C (ed) Plant breeding reviews, vol 19. Wiley, New York, pp 191–225
- Yonemori K, Honsho C, Kitajima A, Aradhya M, Giordani E, Bellini E, Parfitt DE (2008a) Relationship of European persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) cultivars to Asian cultivars, characterized using AFLPs. *Gen Res Crop Evol* 55:81–89
- Yonemori K, Kanzaki S, Honsho C, Akagi T, Parfitt DE (2008b) Phylogeny and cultivar development of *Diospyrus kaki*: a survey based on molecular analysis. *Adv Hort Sci* 22(4):261–268
- JING, Z. et al. Genetic diversity and relationships between and within persimmon (*Diospyros* L.) wild species and cultivated varieties by SRAP markers. *Plant Systematics and Evolution*, v. 299, n. 8, p. 1485–1492, 16 out. 2013.

LIANG, Y. et al. Genetic diversity among germplasms of *Diospyros kaki* based on SSR markers. *Scientia Horticulturae*, v. 186, p. 180–189, abr. 2015.

NAVAL, M. DEL M. et al. Analysis of genetic diversity among persimmon cultivars using microsatellite markersTree Genetics & GenomesSpringer-Verlag, , 14 abr. 2010. Disponível em: <<http://link.springer.com.ez26.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s11295-010-0283-0/fulltext.html>>. Acesso em: 19 jan. 2015

TAMURA, M. et al. Ploidy Level and Genome Size of Several *Diospyros* Species. *Engei Gakkai zasshi*, v. 67, n. 3, p. 306–312, 31 jan. 1998.

YONEMORI, K.; KANZAKI, S.; SUGIURA, A. Current situation of molecular markers for selecting pollination-constant and non astringent type from breeding populations of Japanese persimmonFirst Mediterranean symposium on persimmon. Options méditerranéennes. Anais...2002

**ARTIGO 5****PRODUÇÃO DE CULTIVARES DE CAQUIZEIRO NAS CONDIÇÕES  
DA SERRA DA MANTIQUEIRA**

**Artigo Submetido à Revista Brasileira de Fruticultura  
(Extrato B1 – Qualis 2014 – Ciências Agrárias I)**

**RESUMO**

Objetivou-se avaliar a produção e atributos de qualidade de cultivares de caquizeiro nas condições da serra da Mantiqueira. Um ensaio de competição foi implantado no município de São Bento do Sapucaí, SP, com quatorze cultivares: ‘Cereja’, ‘Fuyu’, ‘Guimbo’, ‘IAPAR 125’, ‘Kakimel’, ‘Kyoto’, ‘Mikado’, ‘Paraguai’, ‘Pomelo’, ‘Rama Forte’, ‘Rama Forte Tardio’, ‘Regina’, ‘Rubi’ e ‘Taubaté’. O experimento foi implantado no espaçamento de 6,0 m x 4,0 m, com mudas enxertadas no porta-enxerto ‘Pomelo’. As avaliações foram realizadas em dois ciclos produtivos (2014 e 2015), analisando-se a fenologia, produtivos e atributos de qualidade do fruto. As cultivares Regina e Paraguai são as que apresentam maior tamanho de fruto. A cultivar Rama Forte Precoce é a mais produtiva e a ‘Fuyu’ é a que possui o menor ciclo de produção

**Palavras-chave:** *Diospyros kaki*, fenologia, produtividade.

**ABSTRACT****Production and postharvest quality of persimmon tree cultivars in  
Mantiqueira rangers conditions**

This work aimed to evaluate the production and quality attributes of persimmon tree cultivars in Mantiqueira rangers. For such, an assay of competition among cultivars has been implemented in São Bento do Sapucaí, São Paulo, with fourteen cultivars: 'Cereja', 'Fuyu', 'Guimbo', 'IAPAR 125', 'Kakimel', 'Kyoto', 'Mikado', 'Paraguai', 'Pomelo', 'Rama Forte', 'Rama Forte Tardio', 'Regina', 'Rubi' and 'Taubaté'. The experiment was implemented with spacing was 6.0 m x 4.0 m, and the plants were grafted in 'Pomelo'. The assays were carried out in three production cycles (2014 and 2015), the phenological stage, productive aspects and fruit quality attributes were evaluated. Regina and Paraguai cultivars are those with the highest fruit size. The cultivar Rama Forte Tardio is the most productive and 'Fuyu' is the one with the lowest production cycle.

**Key words:** *Diospyros kaki*, phenology, productivity.

## 1. INTRODUÇÃO

O cultivo de espécies de frutíferas temperadas caducifólias em condições subtropicais brasileiras possibilita a colheita em épocas de menores ofertas (BARBOSA et al., 2010; CHAGAS et al., 2012), devido à antecipação da safra, em relação às tradicionais regiões produtoras do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (ARAÚJO et al., 2008). Assim, a fruticultura de clima temperado deslocou-se, por exemplo, para o Sudeste brasileiro (BARBOSA et al., 2003).

O caquizeiro (*Diospyros kaki* L.) é uma frutífera originária da Ásia e tradicionalmente cultivada em regiões de clima temperado ou subtropical (MARTÍNEZ-CALVO et al., 2013). A produção brasileira de caquis concentra-se no Alto Tietê paulista, principalmente no município de Mogi das Cruzes. Porém as áreas de cultivo estão se expandindo para outras regiões, principalmente em locais de clima mais quente como o sul de Minas Gerais e até mesmo no Centro-Oeste e o Nordeste brasileiro. Porém essa expansão também está ocorrendo próxima às zonas de cultivo tradicional, como o vale do Paraíba em São Paulo (BRACKMANN et al., 2013).

A oferta de caqui no Sudeste brasileiro se inicia em meados de janeiro e se estende até o início de julho, sendo o período de maior oferta entre os meses de março a maio. No entanto, a demanda atual é a produção de frutos fora de época e devido às condições climáticas da serra da Mantiqueira, com temperaturas suaves durante o dia e amenas à baixa durante a noite acredita-se que se possam conseguir colheitas tardias em relação ao Alto Tietê. Porém, torna-se oportuno selecionar as cultivares mais produtivas.

Nesse sentido, no presente trabalho o objetivo foi avaliar o desempenho produtivo e atributos de qualidade de cultivares de caquizeiro nas condições da serra da Mantiqueira.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Centro de produção de mudas de São Bento do Sapucaí pertencente à Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI – SP), inserido na microrregião da serra da Mantiqueira. Localiza-se a 22°41' de latitude sul e 45° 43' de longitude oeste, com altitude média de 886 m. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é mesotérmico de inverno seco (Cwb), com temperatura média de 17 °C e precipitação em torno de 1.738,6 mm anuais. O solo é classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico.

As 14 cultivares utilizadas na presente pesquisa foram: Cereja, Fuyu, Guimbo, IAPAR 125, Kakimel, Kyoto, Mikado, Paraguai, Pomelo, Rama Forte, Rama Forte Tardio, Regina, Rubi e Taubaté.

As plantas foram levadas ao campo no espaçamento de 6,0 m x 4,0 m (416 plantas ha<sup>-1</sup>). As mudas foram enxertadas no porta-enxerto ‘Pomelo’. Após o plantio, as plantas foram conduzidas em sistema de “taça aberta”. O experimento foi instalado em delineamento de blocos casualizados e os tratamentos foram constituídos pelas cultivares, contendo quatro blocos e uma planta por unidade experimental.

Quando as plantas atingiram oito anos, período no qual a produção estabiliza (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014), iniciaram-se as avaliações, em julho de 2014, junto à poda invernal. A poda e a indução vegetativa e floral foram realizadas quando as gemas das plantas ainda estavam dormentes.

Durante os ciclos produtivos 2014 e 2015, foram avaliados os aspectos fenológicos: início da floração (5% flores abertas) e término da floração (95% ou mais das flores abertas), início e final da colheita, bem como a duração da floração e colheita, se considerando a diferença cronológica entre o início e o término desses eventos. Para isso, foram realizadas observações diárias como

um todo na copa das plantas pertencentes ao experimento, durante o período reprodutivo nos dois ciclos avaliados. Para a florada e colheita, foi realizada uma análise estatística para cada ciclo de avaliação.

As variáveis produtivas avaliadas foram: número médio de frutos por planta, massa fresca média dos frutos (g), produção média ( $\text{kg.planta}^{-1}$ ) e produtividade média estimada ( $\text{t. ha}^{-1}$ ), nos dois ciclos produtivos. Os frutos coletados em cada colheita, realizada semanalmente, foram contatos e pesados com o auxílio de uma balança semianalítica digital.

Ao final do ciclo de produção somaram-se todas as massas registradas para a determinação da produção por planta e posteriormente calculou-se a produtividade estimada, multiplicando a produção pela densidade populacional ( $410 \text{ plantas.ha}^{-1}$ ). Nesse caso, as análises estatísticas foram feitas em parcelas subdivididas no tempo, sendo as cultivares as parcelas e os dois anos de avaliação (ciclos produtivos) as subparcelas.

No ciclo produtivo do ano de 2015 foram colhidas quatro amostras contendo dez frutos de cada cultivar e avaliados quanto ao diâmetro e comprimento médio dos frutos.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott, a 5 % de probabilidade de erro.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estádios fenológicos foram influenciados pelas condições climáticas dos diferentes anos avaliados (Tabela 1), de maneira geral de 2014 para 2015 ocorreu um encurtamento do ciclo produtivo das cultivares, fato que pode ser explicado pela ocorrência de um veranico prolongado na época de floração em 2015 (figura 1), afetando principalmente a cultivares de brotação precoce e ciclo de duração mediana, como ‘Pomelo’, ‘Mikado’ e ‘Paraguai’. As cultivares de

brotação tardia e ciclo curto como ‘Fuyu’ e ‘IAPAR 124’ praticamente não sofrem alterações no seu ciclo de um ano para outro.

CORSATO et. al. (2005) trabalhando com a cultivar Rama Forte em Piracicaba-SP, encontraram um ciclo de produção, 203 dias após a brotação, praticamente 15 dias antes em relação a essa cultivar nas condições da serra da Mantiqueira. Isso comprova que é possível se prolongar a colheita de caquis pelo fato de se cultivar nas regiões montanhosas de São Paulo.

Apesar de ser considerada de meia estação ou tardia a cultivar Fuyu é a que apresentou menor ciclo produtivo, entorno de 170 dias (Tabela 1) entre a brotação e a colheita, dados que estão de acordo com os obtidos por RAZZOUK, (2007).

**Tabela 1.** Fenologia início, final do florescimento e colheita (dias após a brotação), de cultivares caquizeiro na serra da Mantiqueira, nos ciclos produtivos 2014 e 2015.

Cultivares	Brotação		Início Florescimento (DAB)		Final de Florescimento (DAB)		Colheita (DAB)	
	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015
Cereja	15/08/2013	19/09/2014	56,50 d B	29,25 aA	80,50 cB	39,00 bA	210,50 dB	173,25 cA
Fuyu	27/09/2013	23/09/2014	24,00 aA	23,00 aA	44,00 aA	34,50 aA	180,00 aB	162,25 bA
Guiombo	21/8/2013	12/09/2014	35,25 bA	26,00 aA	47,50 aA	45,50 bA	231,00 eB	206,50 eA
IAPAR 125	27/09/2013	02/10/2014	34,50 bB	19,00 aA	56,50 bB	26,00 aA	176,00 aA	202,00 eB
Kakimel	20/09/2013	13/09/2014	30,75 bA	36,25 aA	45,00 aA	45,00 bA	204,00 cB	178,50 cA
Kyoto	27/09/2013	29/09/2014	20,75 aA	21,75 aA	40,00 aB	28,75 aA	188,00 aB	160,75 bA
Mikado	05/09/2013	23/09/2014	37,75 bB	20,75 aA	55,75 bB	34,75 aA	192,25 bB	146,75 aA
Paraguai	21/08/2013	12/09/2014	34,75 bA	25,75 aA	48,75 aA	45,25 bA	202,75 cB	150,25 aA
Pomelo	01/08/2013	11/09/2014	32,50 bA	31,50 aA	56,50 bA	46,50 bA	224,50 dB	176,25 cA
Rama Forte	15/08/2013	11/09/2014	34,50 bB	16,75 aA	49,25 aA	46,25 bA	228,75 eB	187,25 dA
Rama Forte	26/08/2013	18/09/2014	41,75 cB	25,50 aA	57,25 bB	39,50 bA	239,25 eB	215,50 fA
Tardio								
Regina	02/09/2013	24/09/2014	35,00 bB	19,50 aA	46,75 a B	33,50 aA	194,00 bB	167,50 cA
Rubi	14/08/2013	04/09/2014	23,50 aA	26,25 aA	47,50 aA	53,25 b A	222,50 dB	186,00 dA
Taubaté	27/08/2013	16/09/2014	40,75 cB	21,75 aA	48,25 aA	41,25 b A	218,75 dB	184,75 dA
C.V. (%)								
Parcela			26,29		17,20		4,03	
(cultivar)								
C.V. (%)								
Subparcela			30,58		12,44		4,65	
(ano)								

\*Médias não seguidas pela mesma letra em maiúsculo na linha e minúsculo na coluna diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p>0,05$ ).

No ano de 2014 a cultivar Pomelo foi a que apresentou os maiores valores para todas as medidas de produção (Tabela 2), porém no ano seguinte praticamente não produziu, devido sua característica forte, de alternância de produção (OJIMA et al., 1985).

Em relação ao número de frutos as cultivares Guiombo, IAPAR 125, Rama Forte Tardio e Taubaté são as que apresentaram maiores valores nos dois anos de estudo (Tabela 2). ‘Paraguai’ e ‘Regina’ foram as que apresentaram os frutos com maiores massas nos anos estudados (Tabela 2).

Quanto à produção e produtividade o destaque foi a ‘Rama Forte Tardia’, fato esperado devido a relatos de produtividades da ordem de 33 ton/ha com essa cultivar (BUENO; PIO; WIECHMANN, 2014), seguida pelas cultivares Guiombo, IAPAR 125, Mikado e Taubaté (Tabela 2).

**Tabela 2.** Número médio de frutos, massa média dos frutos (g), produção média (kg.planta<sup>-1</sup>) e produtividade média estimada (t.ha<sup>-1</sup>), considerando uma densidade populacional de 416 plantas por ha, de cultivares e seleções de caquizeiro na serra da Mantiqueira, nos ciclos produtivos 2014 e 2015.

Cultivares	Nº de Frutos*		Massa média (g)		Produção (kg/planta)		Produtividade (kg/ha)	
	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015
Cereja	118,75 cA	94,75 bA	205,60 aA	82,73 cB	24,42 cA	7,84 bA	10,01 cA	3,21 bA
Fuyu	89,75 cA	56,50 bA	238,17 aA	146,70 bB	21,02 cA	8,58 bA	8,62 cA	3,53 bA
Guimbo	304,00 bA	260,00 aA	139,33 cA	110,65 bA	42,30 bA	29,67 aA	17,34 bA	12,16 aA
IAPAR 125	307,00 bA	194,25 aA	118,83 cA	139,05 bA	36,27 bA	26,65 aA	14,87 bA	10,93 aA
Kakimel	93,00 cB	299,5 aA	165,00 bA	138,50 bA	15,68 cB	38,41 aA	6,43 cB	15,75 aA
Kyoto	150,00 cA	28,75 bA	153,85 bA	141,98 bA	23,07 cA	4,21 bB	9,46 cA	1,72 bA
Mikado	157,00 cA	152,25 bA	182,80 bA	182,80 aA	29,12 cA	28,99 aA	11,94 cA	11,89 aA
Paraguai	123,00 cA	77,50bA	250,73 aA	215,40 aA	30,88 cA	16,79 bA	12,66 cA	6,88 bA
Pomelo	1380,00 aA	2,75 bB	151,05 bA	45,65 cB	206,82 aA	0,50 bB	84,80 aA	0,21 bB
Rama Forte	95,25 bA	95,50 bA	108,58 cA	84,05 cA	9,98 cA	8,20 bA	4,09 cA	3,37 bA
Rama Forte Tardio	241,00 cA	278,25 aA	239,00 aA	130,00 bB	57,53 bA	36,47 aB	23,59 bA	14,95 aA
Regina	119,75 cA	77,00 bA	235,65 aA	224,60 aA	28,65 cA	17,46 bA	11,75 cA	7,15 bA
Rubi	105,25 cA	62,50 bA	170,60 bA	183,85 aA	18,28 cA	10,80 bA	7,50 cA	4,42 bA
Taubaté	191,00 cA	236,25 aA	207,33 aA	143,90 aB	39,63 bA	33,52 bA	16,25 bA	13,74 aA
C.V. (%)								
Parcela	47,11		18,57		12,88		12,89	
(cultivar)								
C.V. (%)								
Subparcela	50,93		17,76		51,39		51,39	
(ano)								

\*Médias não seguidas pela mesma letra em maiúsculo na linha e minúsculo na coluna diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p>0,05$ ).

As cultivares Fuyu, Kakimel, Mikado, Paraguai, Rama Forte Tardio, Regina, Rubi e Taubaté, foram as que apresentaram frutos de maior diâmetro em torno de 75,25 mm. ‘Cereja’ foi a que apresentou o menor diâmetro, 41,08mm (tabela 3). Em relação ao comprimento dos frutos (tabela 3) as cultivares apresentaram grande variabilidade, esse fato pode ser explicado devido a muitos formatos de frutos apresentados pelo caquizeiro, podendo variar de formas oblongas-ovaladas até formas achatadas (MARTÍNEZ-CALVO et al., 2013). Paraguai e Regina apresentaram os maiores valores provavelmente por possuírem forma elíptica alargada (UPOV, 2004) e novamente a cultivar Cereja, junto à Rama Forte apresentaram os menores valores, provavelmente por possuírem formato do fruto achatado (UPOV, 2004).

**Tabela 3.** Diâmetro médio dos frutos (mm), comprimento médio dos frutos (mm), de caquizeiros na serra da Mantiqueira, no ciclo produtivo 2015

Cultivares e seleções de caquizeiro	Diâmetro médio dos frutos (mm) *	Comprimento médio dos frutos (mm)
Cereja	41,08 c	50,92 d
Fuyu	82,94 a	60,16 c
Guiombo	61,23 b	66,75 b
IAPAR 125	59,95 b	57,89 c
Kakimel	72,01 a	58,15 c
Kyoto	64,77 b	62,69 b
Mikado	69,52 a	64,55 b
Paraguai	78,11 a	76,32 a
Pomelo	67,56 a	58,99 c
Rama Forte	61,21 b	47,09 d
Rama Forte Tardio	78,86 a	55,89 c
Regina	76,65 a	77,79 a
Rubi	76,72 a	61,55 b
Taubaté	73,57 a	63,59 b
C.V. (%)	18,80	5,49

\*Médias não seguidas pela mesma letra na coluna diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p>0,05$ ).

#### 4. CONCLUSÃO

É possível se conseguir prolongamento do início da colheita dos frutos em algumas cultivares na serra da Mantiqueira. As cultivares Regina e Paraguai são as que apresentam maior tamanho de fruto. A cultivar Rama Forte Precoce é a mais produtiva. A cultivar Fuyu é a que possui o menor ciclo de produção, apesar de ser considerada uma planta tardia.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores do trabalho agradecem a Capes pelo fornecimento de bolsas de doutorado.

#### REFERÊNCIAS

ARAÚJO, J.P.C. et al. Influência da poda de renovação e controle da ferrugem nas reservas de carboidratos e produção de pessegueiro precoce. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p.331-335, 2008.

BARBOSA, W. et al. Distribuição geográfica e diversidade varietal de frutíferas e nozes de clima temperado no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.2, p.:341-344, 2003.

BARBOSA, W. et al. Advances in low-chilling peach breeding at Instituto Agronômico, São Paulo State, Brazil. **Acta Horticulturae**, v.872, p.147-150, 2010.

CHAGAS, E.A. et al. Composição do meio de cultura e condições ambientais para germinação de grãos de pólen de porta-enxertos de pereira. **Ciência Rural**, v.40, p.261-266, 2010.

BADENES, M. L. et al. Material vegetal y mejora genética. In:

BADENES, M. L. et al. (Eds.). . **El cultivo del caqui**. 1. ed. Valencia: Generalitat Valenciana, 2015. p. 55–80.

BRACKMANN, A. et al. Controle da maturação de caqui “Fuyu” com aplicação de aminoetoxivinilglicina e 1-metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 953–961, dez. 2013.

BUENO, S. C. S.; PIO, R.; WIECHMANN, C. J. S. Cultivo do caquizeiro. In: PIO, R. (Ed.). . **Cultivo de fruteiras de clima temperado em regiões subtropicais e tropicais**. 1. ed. Lavras: Editora UFLA, 2014. p. 251–295.

CORSATO, C. E.; SCARPARE FILHO, J. A.; FONTANETTI VERDIAL, M. Fenologia do caquizeiro “Rama Forte” em clima tropical. **Bragantia**, v. 64, n. 3, p. 323–329, 2005.

GARDIN, J. P. P. et al. Qualidade de caqui “Rama forte” após armazenamento refrigerado, influenciada pelos tratamentos 1-MCP e/ou CO<sub>2</sub>. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1043–1050, dez. 2012.

MARTÍNEZ-CALVO, J. et al. Morphological characterization of the IVIA persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) germplasm collection by multivariate analysis. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 60, n. 1, p. 233–241, 5 abr. 2013.

OJIMA, M. et al. **Frutificação alternada em caqui cultivar Pomelo (IAC 6-22)****Bragantia**, Instituto Agronômico, 1985. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0006-87051985000100046&lng=en&nrm=iso&tlang=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87051985000100046&lng=en&nrm=iso&tlang=pt)>. Acesso em: 19 jan. 2015

RAZZOUK, P. L. G. **AVALIAÇÃO FENOLÓGICA DE DEZ VARIEDADES DE CAQUIZEIRO** *Diospyros kaki* L. E PROPAGAÇÃO POR ESTAQUIA EM REGIÕES TROPICais. [s.l.] UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO” FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA, 2007.

TERRA, F. DE A. M. et al. Aplicação do 1-metilciclopropeno e sua influência no processo de remoção da adstringência com etanol em caqui “Giombo” refrigerado. **Ciência Rural**, v. 44, n. 2, p. 210–216, fev. 2014.

UPOV. Working paper on test wide lines for *Diospyros kaki* L.f. TG/92/4, , 31 March 2004. 2004.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

De acordo com os resultados das pesquisas realizadas foi possível constatar a viabilidade da exploração comercial do caquizeiro. Os resultados são animadores, uma vez que essa fruteira pode ser alternativa na diversificação da fruticultura. No entanto, os trabalhos de manejo cultural devem ser intensificados com as cultivares mais promissoras a fim de possibilitar aumento da produção das plantas, e paralelamente, reiniciar os trabalhos de melhoramento genético com essa fruteira, uma vez que apresenta uma grande variabilidade, tanto no âmbito de cultivares copa, como na obtenção de portaeinxertos clonais adaptados as nossas condições. Deve-se também buscar alternativas de processamento, para que, principalmente nos picos de produção, o produtor tenha uma alternativa mais rentável que somente a venda do fruto para o consumo.