

ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA E ESCURECIMENTO EPIDÉRMICO EM CAQUI 'FUYU' (*Diospyrus kaki*) APÓS ARMAZENAMENTO REFRIGERADO¹

EMERSON DIAS GONÇALVES², RENATO TREVISAN², JORGE ADOLFO SILVA³, CESAR VALMOR ROMBALDI³

RESUMO - O presente trabalho teve o objetivo de avaliar a ocorrência de escurecimento epidérmico no caqui cv. Fuyu e sua relação com variabilidade genética. O experimento foi realizado com folhas e frutas obtidas de cinco pomares comerciais, sendo quatro deles situados na região serrana do Rio Grande do Sul e um na região de Pelotas. A escolha dos pomares foi baseada na idade das plantas, entre cinco e oito anos, e ocorrência do escurecimento epidérmico das frutas. As plantas foram escolhidas ao acaso em cada pomar. Para avaliação de variabilidade genética, foi utilizada a técnica de RAPD. As frutas foram avaliadas quanto ao grau de escurecimento, após três meses de armazenamento. Para avaliar o escurecimento, foi usada uma escala de 0 a 5. Todos os locais apresentaram a ocorrência de escurecimento com vários níveis de severidade entre as frutas, com exceção do pomar de Pelotas - RS, que não apresentou o sintoma. A técnica de RAPD não foi eficiente para identificar o caráter escurecimento entre as plantas e as regiões estudadas.

Termos para indexação: RAPD, armazenamento, qualidade.

GENETIC VARIABILITY STUDY AND BROWNING IN 'FUYU' (*Diospyrus kaki*) PERSIMMON AFTER COLD STORAGE

ABSTRACT - The present work had the objective of evaluating the occurrence of skin browning, in persimmon, cv. Fuyu and its relation with genetic variability. The experiment was carried on with leaves and fruits obtained from five commercial orchards, being four of them located in the mountain region of Rio Grande do Sul and one in Pelotas area. The choice of the orchards was based on the plants age, between five and eight years and a known occurrence of skin browning of the fruits. The randomized plants were sampled in each orchard for genetic variability evaluation using RAPD technique. Fruits were evaluated for skin browning, after being in cold storage for tree months. A scale of 0 to 5 was used all the locations had browning occurrence varying the severity among the fruits with the exception of persimmon from Pelotas orchard which did not have the problem. The RAPD technique was not efficient to identify the browning character as well as the areas.

Index terms: RAPD, storage, quality.

A cultivar 'Fuyu' destaca-se por apresentar boa adaptação e produtividade, com frutas sem sementes, de tamanho médio a grande (150 a 300g), coloração amarelo-avermelhada e sabor adocicado. No Sul do Brasil, o período de colheita vai de abril a maio (Martins & Pereira, 1989). O escurecimento epidérmico e a perda de firmeza de polpa das frutas são os principais fatores limitantes de comercialização, caracterizando-se pelo surgimento de estrias com coloração escura, iniciando pelo pedúnculo e prosseguindo ao longo da epiderme da fruta. As frutas que não apresentam escurecimento, mostram-se lisas, com coloração alaranjada e brilhante, sem nenhuma mancha ou estria (George et al., 1997; Danieli, 2000).

Embora sem sucesso, os trabalhos de pesquisa têm sido dirigidos para minimizar a ocorrência deste problema bem como ampliar o mercado de comercialização a curto prazo, buscando prolongar a vida pós-colheita e retardando a velocidade de maturação das frutas, seja no campo, seja após a colheita (Ferri, 2000). Alternativas como Atmosfera Refrigerada (AR), Atmosfera Modificada (AM) e Atmosfera Controlada (AC) conseguem prolongar a vida pós-colheita de caquis da cv. Fuyu, porém o escurecimento das frutas é notório após a saída das frutas da câmara, apresentando diferentes graus de severidade. A temperatura de armazenamento para caquis 'Fuyu' situa-se na faixa de zero a 0,5°C e umidade relativa de 90-95% (Brackmann & Donazzolo, 2000). Os mesmos autores destacam a utilização de atmosfera modificada (AM), com o emprego de embalagens de polietileno de baixa densidade (PEBD), com espessura de 30 a 80µm; e atmosfera controlada (AC), com concentrações parciais de O₂ e de CO₂, situando-se na faixa de 2,0 a 3,0 kPa e 5,0 a 10,0 kPa, respectivamente.

De maneira geral, observa-se que os caquis 'Fuyu' não têm boa conservabilidade em AR, mesmo por curtos períodos de estocagem (de 30 a 40 dias). Embora na retirada da câmara frigorífica as frutas se apresentem aparentemente em boas condições, há uma significativa perda de firmeza de polpa a partir desse momento, resultando em frutas completamente amolecidas dois a três dias após (Brackmann, 1997). Em AM, o período seguro de estocagem prolonga-se para 45 a 60 dias, com vida de prateleira acima de sete dias (Brackmann & Saquet, 1995). Em AC, os resultados apontam para um período de estocagem ainda maior, em torno de 60 a 80

dias (Brackmann & Donazzolo, 2000).

O escurecimento epidérmico está entre os fatores limitantes durante e após o armazenamento de caquis 'Fuyu', podendo atingir a totalidade da superfície das frutas, depreciando-as do ponto de vista comercial (Ferri et al., 2002). As causas desse problema não foram elucidadas, embora tenham sido estabelecidas correlações positivas entre sua ocorrência e o vigor do pomar, as baixas temperaturas e o excesso de umidade no período de maturação, o retardo na colheita e o armazenamento prolongado (Ferri, 2000). Afora esses aspectos, tem-se observado que há comportamento diferenciado entre frutas de plantas distintas de um mesmo pomar com características edafoclimáticas e de cultivo homogêneo, sugerindo que o fator genótipo possa estar envolvido na suscetibilidade ao escurecimento epidérmico (Marks & Andrews, 1990). A priori, é de se esperar que, pela propagação vegetativa, não haja variabilidade genética nos pomares de caquizeiro. Porém, como a maioria das áreas cultivadas com caqui 'Fuyu' no Sul do Brasil não tem identificação exata da origem do material genético, essa hipótese pode ser falsa. Nesse contexto, buscou-se verificar se há variabilidade genética em plantas de caquizeiro 'Fuyu' e relacioná-las com uma possível ocorrência de escurecimento epidérmico.

O estudo foi conduzido em cinco pomares de caquizeiro 'Fuyu', cujo histórico de ocorrência de escurecimento epidérmico das frutas já era conhecido, a partir de trabalhos anteriormente realizados (Rinaldi, 1998; Ferri, 2000; Danieli, 2000; Neves, 2002). Em cada pomar, selecionaram-se dez plantas. Dos cinco pomares, quatro localizavam-se na região da Serra Gaúcha e um em Pelotas, na região Sul do Rio Grande do Sul.

Em todos os pomares avaliados, para o estudo da variabilidade genética e observação da ocorrência do escurecimento epidérmico, coletaram-se, de cada planta, folhas jovens (brotações de aproximadamente 150 mm) e frutas sadias com coloração amarelo-alaranjada, respectivamente.

A variabilidade genética foi estudada empregando-se a técnica de RAPD, e a extração do DNA das folhas de caquizeiro foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Ferreira e Grattapaglia (1996), efetuando-se duas extrações por planta. Anteriormente à amplificação, determinou-se a concentração e estimou-se a pureza do DNA por

¹ (Trabalho 101/2004). Recebido: 04/08/2004. Aceito para publicação: 21/12/2004.

² Eng^o Agr^o, Dr. Bolsista RD/CNPq. Embrapa Clima Temperado. emersondg@hotmail.com, trevisan@cpact.embrapa.br, C.P. 403 CEP: 96001-970, Pelotas-RS.

³ Eng^o Agr^o, Dr. Professor Adjunto DCTA/FAEM/UFPEL. cesarvrf@ufel.edu.br, ctajorge@ufpel.edu.br, C.P. 354, CEP: 96010-900, Pelotas-RS.

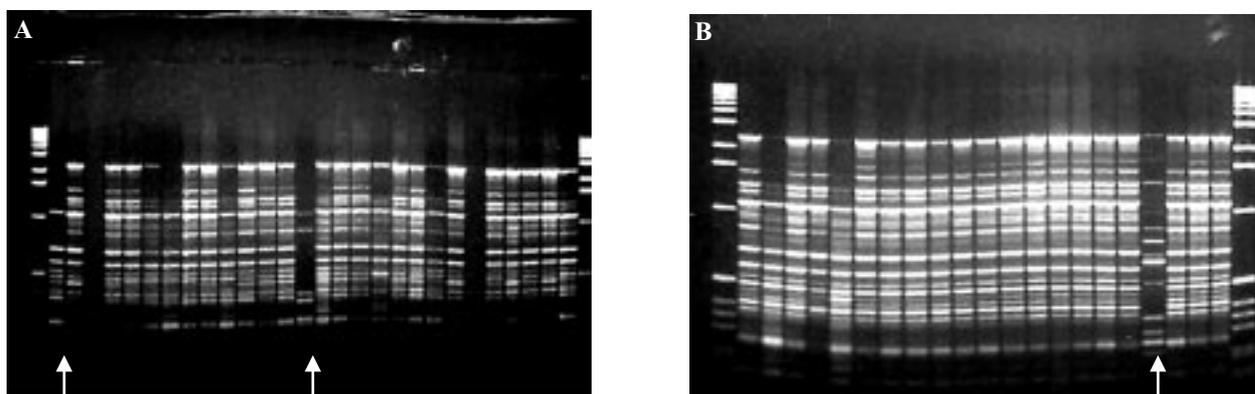


FIGURA 1 - Bandas RAPD de brotações foliares de caqui (*Diospyros kaki*) cv. Fuyu utilizando o primer (OPC 6). Sequência das plantas no gel:

(A) (M,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,31,32,33,34,35,36,37,38,39,1,2,3,4,5,6,M)

(B) (M,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,M*,1A,1B,2B,3C,21,24,25,26,29,M).

espectrofotometria, de maneira que cada reação fosse conduzida com 10 ng, μl^{-1} . Os oligonucleotídeos empregados foram selecionados a partir dos kits OPF, OPA, OPAN, OPB e OPC (Operon Technologies®), por teste preliminares de amplificação detectando-se bandas definidas (Figura 1). Testaram-se 200 oligonucleotídeos e selecionaram-se 22, das seguintes series: OPF (1; 2; 4; 7; 9; 12; 15; 19 e 20); OPAN (03; 11 e 16); OPB 20; OPC (03; 04; 05; 06; 07; 09; 10; 11 e 20).

Para avaliar o grau de escurecimento da epiderme, as frutas foram

analisadas visualmente, sempre pela mesma pessoa, adotando-se escala de zero a cinco, com o seguinte critério: a) 0 (zero), sem escurecimento; b) 1, de 1 a 5% de escurecimento; c) 2, de 5 a 10% de escurecimento; d) 3, com 10 a 20% de escurecimento; e) 4, com 20 a 30% de escurecimento epidérmico; f) 5, acima de 30% de escurecimento. O delineamento experimental adotado na câmara fria foi o de blocos ao acaso, com três repetições, sendo cada unidade experimental constituída de uma bandeja com quatro frutas. O delineamento de tratamento foi o fatorial 5 x 10,

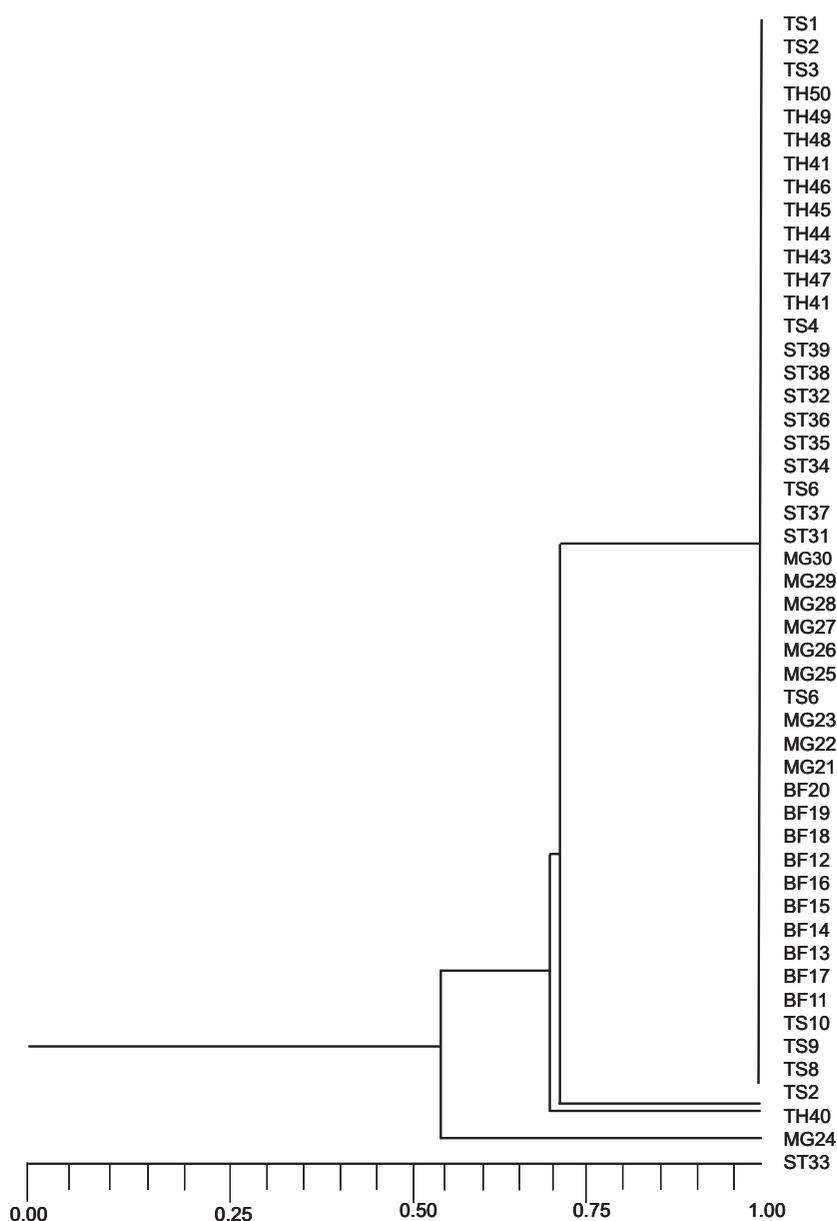


FIGURA 2 - Análise de agrupamento pelo método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average) entre os diferentes genótipos da seleção de plantas de caqui cv. Fuyu em cinco pomares diferentes. Coeficiente de Jacquard.

consistindo dos fatores: Pomar, em cinco níveis: (Pomar 1) município de Ana Rech; (Pomar 2) município de Farroupilha; (Pomares 3 e 4) Caxias do Sul, e (Pomar 5) Pelotas; e Planta, em dez níveis, sendo o fator planta aninhado dentro do fator pomar. A variável analisada foi o grau de escurecimento. Em cada pomar, as plantas foram identificadas pela numeração de 1 a 50, sendo que cada pomar correspondia a dez plantas.

A análise estatística utilizada neste estudo consistiu de análise da variação, testando a significância do efeito (fixo) do fator pomar e do efeito (aleatório) do fator planta dentro de pomar sobre a variável resposta grau de escurecimento. Esta análise foi processada pelo WinStat (Sistema de Análise Estatística para Windows – Versão 1.2).

Embora o marcador RAPD não tenha sido capaz de relacionar o escurecimento epidérmico observado na epiderme das frutas com a variabilidade encontrada entre as plantas, ele foi capaz de demonstrar que existe variabilidade genética entre plantas de caqui cv. 'Fuyu'. Isso está demonstrado no dendrograma (Figura 2), onde as plantas: 24 do pomar de Farroupilha, 33 do pomar de Caxias do Sul e 40 do pomar de Pelotas diferem do grande grupo monomórfico. As plantas 24 do pomar de Farroupilha e 40 do pomar de Pelotas apresentam 70% de similaridade com as plantas do grupo majoritário, e a planta 33 do pomar de Caxias do Sul apenas 55% de similaridade. Para muitas espécies propagadas por sementes, uma variabilidade de três plantas em 50 pode ser considerada baixa, mas, para cultivares propagadas vegetativamente, essa proporção é relativamente alta, indicando que, provavelmente, há heterogeneidade no material de origem para a enxertia (Barden & Marini, 1992).

A discriminação de materiais homogêneos talvez possa ser obtida pelo aumento no número de primers usados (Ferreira & Grattapaglia, 1996) ou pelo emprego de outros tipos de marcadores moleculares, tais como SSR e AFLP (Bastianel et al., 2001). A variação apresentada por uma pequena parcela das plantas estudadas entre diferentes pomares pode ser creditada à mistura varietal, pois, provavelmente, esta diferença se deve ao fato de as plantas serem adquiridas de viveiristas diferentes.

TABELA 1 - Grau de escurecimento em frutas de caqui cv. Fuyu, após três meses de armazenamento a 0°C na safra de 2002. FAEM/UFPel, Pelotas-RS, 2004.

Produtores	Grau de escurecimento
1	1,92 a
2	1,87 a
3	1,77 a
4	1,73 a
5	1,32 b
Media geral	1,73
CV (%)	21,5

Medias seguidas pela mesma letra na coluna não apresentam diferença significativa, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan

Os resultados da análise da variação mostraram que o efeito do fator pomar foi significativo, ou seja, houve diferença entre os pomares quanto ao grau médio de escurecimento da epiderme das frutas (Tabela 1).

De acordo com a escala adotada, o grau médio geral (1,73) correspondeu ao intervalo de 5 a 10% de escurecimento da superfície da fruta, embora algumas frutas tenham apresentado grau cinco, correspondendo a mais de 30% de escurecimento na saída da câmara e após cinco dias de vida de prateleira à temperatura de 20°C. George et al. (1997) consideram esse nível de escurecimento como sendo o maior defeito de qualidade de caquis 'Fuyu'. Esses autores classificam as manchas em grupos distintos, sendo que quatro destes apresentam alta correlação com variáveis ambientais, e os outros estão relacionados ao manejo da cultura, localização do pomar, vento, drenagem do terreno, orientação solar e umidade relativa do ar. Os resultados encontrados no presente trabalho são semelhantes aos relatados por George et al. (1997).

Embora não tenha sido observada diferença estatística entre os pomares da região serrana, observou-se que não há consenso entre os produtores quanto às práticas culturais adotadas, visto que cada produtor conduz diferentemente as plantas quanto à poda, ao manejo fitossanitário e às adubações.

O pomar localizado na região de Pelotas apresentou índice de escurecimento da epiderme dos frutos menor que os pomares da serra. A causa de este pomar ter apresentado frutos no final do armazenamento com índices tão baixos de escurecimento, deve-se, provavelmente, a fatores edafoclimáticos, os quais, apesar de não terem sido avaliados neste trabalho, observou-se, porém, que estes fatores foram evidentes e que, de acordo com Arpaia (1994), podem influenciar na qualidade das frutas.

A incidência do escurecimento dos frutos de caqui cv. Fuyu não está ligada ao fator variabilidade genética;

A técnica RAPD foi eficiente quanto à variabilidade genética, porém não sendo quanto à variável escurecimento.

REFERÊNCIAS

- ARPAIA, M. L. Preharvest factors influencing postharvest quality of tropical and subtropical fruit. **HortScience**, Alexandria, v.29 n.9 p.982-985, 1994.
- BARDEN, J. A.; MARINI, M. E. Maturity and quality of 'Delicious' apples as influenced by rootstock. **Journal of the American Society for the Horticultural Science**, Alexandria, v.117, n.4, p.547-550, 1992.
- BRACKMANN, A.; DONAZZOLO, J. Armazenagem de caqui. In: **ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO**, 3., 2000, Fraiburgo-SC. **Anais...** Caçador: Epagri, 2000. p.99-102.
- BRACKMANN, A.; SAQUET, A. A. Efeito da temperatura e condições de atmosfera controlada sobre a conservação de caqui (*Diospyros kaki* L.). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.25, n.3, p.375-378, 1995.
- BRACKMANN, A.; MAZARO, S.; SAQUET, A. A. Frigoconservação de caquis (*Diospyros kaki* L.) das cultivares Fuyu e Rama Forte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.27, n.4, p.561-565, 1997.
- BASTIANEL, M.; DORNELLES, A.L.C.; MACHADO, M.A.; WICKERT E.; MARASCHIN, S. de F.; FILHO, H. D. C.; SCHAFFER G. Caracterização de genótipos de *Citrus* spp através de marcadores RAPD. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n.5, p.763-768, 2001.
- DANIELI, R. **Retardamento da colheita e conservação de caquis (*Diospyros kaki* L.) cv. Fuyu**, 2000. 52f. Dissertação (Mestrado em ciências, Tecnologia de alimentos) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas-RS. 2000.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, 1996, 220p.
- FERRI, V. C. **Controle da maturação e conservação de caquis (*Diospyros kaki* L.), cultivar Fuyu**, 2000. 105f. Tese (Doutorado em agronomia, Fruticultura de Clima Temperado). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas-RS, 2000.
- FERRI, V. C.; RINALDI, M. M.; LUCCHETTA, L.; ROMBALDI, C. V. Qualidade de caquis Fuyu tratados com cálcio em pré-colheita e armazenamento sob atmosfera modificada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p.385-388, 2002.
- GEORGE, A. P.; COLLINS, R. J.; MOWAT, A. D. Factors affecting blemishing of persimmon in New Zealand and Australia. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.436, p.171-177, 1997.
- MARTINS, F.P.; PEREIRA, F.M. **Cultura do caqui**. Jaboticabal. FUNEP. Editora Legis Lumma, 1989. 71p.
- MARKS, M. J.; ANDREWS, L. The response of Bramley's seedling apple trees grown on different rootstocks to spring and autumn applied nitrogen. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 274, p.321-329, 1990.
- NEVES, L. C. **Atmosfera modificada e absorção de etileno no armazenamento refrigerado de caquis (*Diospyros kaki*, L.) cv. Fuyu**. 2000. Dissertação (mestrado em ciências) - Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2002.
- RINALDI, M. M. **Frigoconservação de caquis (*Diospyros kaki*, L.) cv. Fuyu em atmosfera modificada**. 1998. 22f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, 1998.