Estratificação das sementes, ácido giberélico e temperatura na obtenção de porta-enxertos de caquizeiros¹

Seed stratification, gibberellic acid and temperature in obtaining rootstock in the persimmon

Pedro Maranha Peche², Caio Morais de Alcântara Barbosa², Rafael Pio³*, Pedro Henrique Assis Sousa⁴ e Matteus Heberth do Valle⁴

RESUMO - O caquizeiro é propagado por enxertia, em porta-enxertos obtidos por sementes. Devido à baixa germinação, este trabalho teve como objetivo aumentar a obtenção de porta-enxertos dos caquizeiros *Dyospyros kaki* e *Dyospyros lotus* através da estratificação e tratamento das sementes com ácido giberélico e utilização de diferentes temperaturas ambientais. 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, onde as sementes foram imersas em água por 10 min. Em seguida as sementes foram colocadas em bandejas plásticas com areia grossa em câmara tipo B.O.D., com temperatura controlada e constante de 15; 20; 25 ou 30 °C por 60 dias, onde se avaliou a porcentagem de emergência. No segundo experimento, as sementes foram estratificadas por 30 dias e posteriormente colocadas para embeber em *beckers* que continham soluções de ácido giberélico de 100; 200 e 300 mg L⁻¹, além do controle composto somente com água destilada. As sementes foram colocadas em bandejas plásticas com areia grossa e mantidas em câmara tipo B.O.D., com temperatura controlada e constante de 20,5 °C para *Diospyros kaki* e 24,6 °C para *Diospyros lotus*, por 60 dias. 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 *Diospyros kaki* e a 24,6 °C, 44,49% de emergência para a *Dyospyros lotus*. Não há necessidade do tratamento das sementes com ácido giberélico.

Palavras-chave: Caqui. Porta-enxerto. Emergência. GA₃.

ABSTRACT - The persimmon is propagated by grafting, using rootstock obtained from seeds. Due to low germination, the aim of this study was to increase the production of rootstock of the *Dyospyros kaki* and *Dyospyros lotus* persimmon through stratification and treatment of the seeds with gibberellic acid, at different environmental temperatures. In the first experiment, the seeds were placed between layers of moist sand in Petri dishes, and kept in a BOD chamber at a temperature of 4 °C for 15 and 30 days; as well as the control, where seeds were immersed in water for 10 min. The seeds were then placed onto plastic trays containing coarse sand in a BOD chamber, at a controlled and constant temperature of 15, 20, 25 or 30 °C for 60 days, when the emergence percentage was evaluated. In the second experiment, the seeds were stratified for 30 days and then left to soak in beakers containing solutions of gibberellic acid of 100, 200 and 300 mg L⁻¹, in addition to the composite control using only distilled water. The seeds were placed on plastic trays containing coarse sand, and kept for 60 days in a BOD chamber at a controlled and constant temperature of 20.5 °C for *Diospyros kaki* and 24.6 °C for *Diospyros lotus*. The process of stratification for 30 days increases seedling emergence by 13.94%. A temperature of 20.5 °C results in 47.62% emergence in the species *Diospyros kaki*, and 24.6 °C results in 44.49% emergence in *Dyospyros lotus*. It is not necessary to treat the seeds with gibberellic acid.

Key words: Persimmon. Rootstock. Emergence. GA₃.

DOI: 10.5935/1806-6690.20160046

^{*}Autor para correspondência

¹Recebido para publicação em 05/09/2014; aprovado em 20/01/2016

Trabalho realizado no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, concebido e desenvolvido com recursos da CAPES (Projeto PNPD Institucional 2011)

²Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras/UFLA, Caixa Postal 3037, Lavras-MG, Brasil, 37.200-000, pedmpeche@hotmail.com, caio_seven@yahoo.com.br

³Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras/UFLA, Caixa Postal 3037, Lavras-MG, Brasil, 37.200-000, rafaelpio@dag.ufla.br

⁴Universidade Federal de Lavras/UFLA, Caixa Postal 3037, Lavras-MG, Brasil, 37.200-000, bitoca@agronomia.ufla.br, matteus_hrv@hotmail.com

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).

O método tradicional de produção de mudas de caquizeiro é pela enxertia, realizada em plantas de *Diospyros kaki*, ou ainda dos caquis americanos *D. lotus* e *D. virginiana*, principais espécies de porta-enxerto utilizadas (FERRI; GIORDANI; BENELLI, 2013; KOCHANOVA *et al.*, 2012). Os frutos do *Diospyros lotus* apresentam muitas sementes e 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 dessas. Uma alternativa para o caquizeiro seria a formação de mudas pelo método da estaquia, no entanto, o enraizamento das estacas é baixo (BASTOS et al., 2005), possivelmente por problemas intrínsecos na espécie e do material vegetal (PIO et al., 2007a; BASTOS et al., 2009).

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. (2014) em nogueria-macadâmia. A temperatura afeta tanto a percentagem final como a velocidade de germinação; 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 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 dormência como 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).

A imersão em ácido giberélico das sementes das espécies de caquizeiro pode elevar os índices germinativos e uniformizar a emergência. A giberelina, importante regulador endógeno, produz, também, outros efeitos como indução da germinação de sementes, promoção do alongamento do hipocótilo 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-b-manases, de expansinas e de enzimas hidrolíticas de reserva nutritiva contida no endosperma, como á-amilase.

Este trabalho teve como objetivo aumentar a obtenção de porta-enxertos dos caquizeiros *Dyospyros kaki* e *Dyospyros lotus* através da estratificação e tratamento das sementes com ácido giberélico e utilização de diferentes temperaturas ambientais.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em Lavras-MG, no período de janeiro a junho de 2014. O referido município está situado a 21°14' de latitude Sul e 45°00' de longitude Oeste, a uma altitude média de 918 metros. O clima da região é do tipo Cwb (clima mesotérmico ou tropical de altitude), com inverno seco e verão chuvoso, segundo a classificação de Köppen (MOURA *et al.*, 2012).

As sementes foram coletadas de frutos maduros das espécies *Dyospyros kaki* (cultivar Pomelo) e *Dyospyros lotus*, em dois diferentes momentos, um em janeiro e outro no final de março. As sementes das duas espécies foram extraídas, lavadas em água corrente com a adição de cal (20g 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 (dimensões de 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), de acordo com a metodologia de Pio *et al.* (2007b), por 15 e 30 dias, além de uma parte que não passou pelo processo de estratificação. No caso do controle (sem estratificação), 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 grossa autoclavada (temperatura de 121 °C por 20 min.), à dois centímetros de profundidade. As bandejas foram preservadas em câmara tipo B.O.D., com temperatura controlada e constante, para cada tratamento (15; 20; 25 ou 30 °C) durante toda a fase experimental.

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). Durante o período experimental, o substrato foi umedecido racionalmente. Utilizaram-se quatro repetições e 20 sementes por parcela. Passados 60 dias da semeadura, avaliou-se a porcentagem de emergência.

No segundo experimento, utilizaram-se os melhores resultados obtidos no experimento anterior. Para tal, as sementes das duas espécies foram estratificadas por 30 dias, conforme descrito anteriormente. Em seguida, as sementes foram colocadas para embeber em *beckers*, com capacidade de um litro, que continham soluções de ácido giberélico (GA₃), nas concentrações de 100; 200 e 300 mg L⁻¹, além do controle composto somente por água destilada. O produto utilizado foi o Pro-Gibb, produto comercial embalado pela Abbott Laboratório do Brasil Ltda., contendo GA₃ 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 grossa autoclavada (temperatura de 121 °C por 20 min.), a dois centímetros de profundidade. As bandejas foram preservadas em câmara tipo B.O.D., com temperatura controlada e constante de 20,5 °C para *Diospyros kaki* e 24,6 °C para *Diospyros lotus*, durante toda a fase experimental. 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⁻¹), com quatro repetições e 20 sementes por parcela. 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 de Tukey, para comparações múltiplas dos tratamentos qualitativos e à regressão para os tratamentos envolvendo as temperaturas e concentrações de ácido giberélico. As análises foram realizadas pelo programa computacional Sistema para Análise de Variância - SISVAR.

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. Apesar da pequena diferença de 5,72%, as sementes de *Diospyros kaki* apresentaram maior emergência de suas plântulas, em comparação a emergência da espécie *Diospyros lotus*, que apresentou 25,74% (Tabela 1). Apesar de serem do mesmo gênero, há diferença entre as espécies. Esses resultados também foram constatados no trabalho desenvolvido por Pio *et al.* (2007b), que verificaram que a espécie *Chaenomeles sinensis* apresentou maior emergência em relação a espécie de marmeleiro *Cydonia oblonga*.

Tabela 1 - Porcentagem de emergência das espécies de caqui *Diospyros kaki* e *Diospyros lotus* com suas sementes estratificadas em diferentes períodos

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

 $^{^{(1)}}$ Médias seguidas pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo pelo teste Scott-Knott (p>0,05)

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

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 *Diospyros kaki*, aumento de 13,58% em relação ao ambiente com 15 °C e 41,59% a mais em relação a temperatura de 30 °C. Para a espécie *Diospyros 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). Sementes de nogueira-macadâmia postas em temperatura controlada apresentam o dobro da capacidade de emergência, ou seja, 61,8% quando colocadas a 27 °C e 29,1% à 23 °C (ENTELMANN *et al.*, 2014).

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).

Por esses resultados, verifica-se a importância do ambiente para a maximização da emergência das espécies de caquizeiro. Neste caso, as sementes de *Diospyros kaki* devem ser extraídas dos frutos maduros, que no Brasil ocorre entre os meses de janeiro a abril e conservadas em baixas temperaturas até o inverno, quando as temperaturas estão amenas, maximizando o processo de produção dos porta-enxertos. Já para a espécie *Diospyros lotus*, tão logo os frutos amadureçam, as sementes podem ser extraídas e semeadas, neste caso, para regiões do Sudeste brasileiro que apresentem temperaturas médias ao redor de 25 °C.

Para o tratamento das sementes de caquizeiro em ácido giberélico (GA_3), verificou-se que, à medida que as sementes das espécies foram embebidas nas soluções crescentes de GA_3 , houve decréscimo linear na porcentagem de emergência, obtendo-se, no caso, 56,75%

de emergência com a espécie *Diospyros kaki* e 43,48% com a *Diospyros lotus* (Figura 1B). Esses resultados concordam com Dalastra *et al.* (2010), que verificaram que a embebição das sementes de nogueira-macadâmia em concentrações crescentes de GA₃ 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 GA₃ pode estar relacionada ao fato da estratificação, à frio-úmido por 30 dias, antes do tratamento com ácido giberélico, já terem sido suficiente para a embebição 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 à frio-úmido à 4 °C por 15 e 30 dias, elevaram a germinação das sementes de kiwi 'Bruno' a 70%, não ocorrendo, no caso, qualquer ganho no aumento da germinação em função do tratamento com GA₃. Os autores demonstraram que é possível, e viável, a substituição de aplicações de GA₃ por estratificações de 15 e 30 dias à temperatura de 4 °C.

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 GA₃. Quanto às espécies, verificou-se ainda que as plântulas da espécie *Diospyros kaki* apresentaram maior comprimento e massa seca da parte aérea e do sistema radicular em relação a *Diospyros lotus* (Tabela 2), com diferenças bastantes expressivas, que possam a vir influenciar no crescimento dos porta-enxertos no viveiro e até no desempenho produtivo das cultivares de caquizeiro sobre o *Diospyros kaki* enxertados.

Figura 1 - Porcentagem de emergência das espécies de caqui *Diospyros kaki* e *Diospyros lotus* com suas sementes postas para germinar em diferentes temperaturas (a) ou tratadas com diferentes concentrações de ácido giberélico (b)

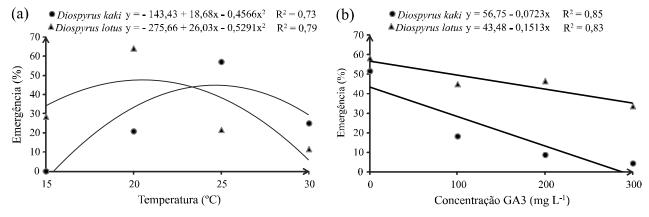


Figura 2 - Comprimento (a) e massa seca (b) das plântulas das espécies de caqui *Diospyros kaki* e *Diospyros lotus* com suas sementes tratadas com diferentes concentrações de ácido giberélico

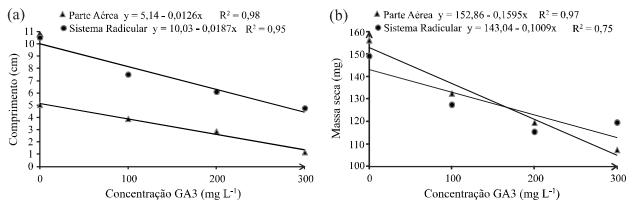


Tabela 2 - Comprimento e massa seca da parte aérea e do sistema radicular das espécies de caqui Diospyros kaki e Diospyros lotus

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

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra pertecem a um mesmo grupo pelo teste Scott-Knott (p>0,05)

CONCLUSÃO

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 *Diospyros kaki* e a 24,6 °C, 44,49% de emergência para a *Dyospyros lotus*. Não há necessidade do tratamento das sementes com ácido giberélico. A espécie *Dyospyros kaki* apresenta maior crescimento em relação a *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.* Estiolamento, incisão na base da estaca e uso de ácido indolbutírico na propagação da caramboleira por estacas lenhosas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 1, p. 313-318, 2009.

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.

DALASTRA, I. M. *et al.* Germinação de sementes de nogueiramacadâmica 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, p. 1877-1882, 2009. Edição especial.

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.

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

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.

KOCHANOVA, 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**, v. 53, n. 1, p. 80-83, 1996.

MOURA, P. H. A. *et al.* Fenologia e produção de cultivares de framboeseiras em regiões subtropicais no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 12, p. 1714-1721, 2012.

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.

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.* Propagação do marmeleiro 'Japonês' por estaquia e alporquia realizadas em diferentes épocas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p. 570-574, 2007a.

PIO, R. *et al.* Emergência e desenvolvimento de plântulas de cultivares de marmeleiro para uso como porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 133-136, 2007b.

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.