

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes

Tese



Produção e qualidade de sementes de *Paspalum notatum* Flüggé: Impactos do arranjo de plantas, do momento da colheita e do estresse hídrico durante o estágio reprodutivo

Gabriel Streck Bortolin

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

B739p Bortolin, Gabriel Streck

Produção e qualidade de sementes de *Paspalum notatum* Flüggé: Impactos do arranjo de plantas, do momento da colheita e do estresse hídrico durante o estágio reprodutivo / Gabriel Streck Bortolin ; Carlos Eduardo da Silva Pedroso, orientador ; João Carlos Pinto Oliveira, coorientador. — Pelotas, 2021.

133 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Grama forquilha. 2. Tetraplóide. 3. Arranjo de plantas. 4. Produção de sementes. 5. Curva de maturação. I. Pedroso, Carlos Eduardo da Silva, orient. II. Oliveira, João Carlos Pinto, coorient. III. Título.

CDD : 631.521

Gabriel Streck Bortolin

Produção e qualidade de sementes de *Paspalum notatum* Flügge: Impactos do arranjo de plantas, do momento da colheita e do estresse hídrico durante o estágio reprodutivo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Dr. Carlos Eduardo da Silva Pedroso

Coorientador: Dr. João Carlos Pinto Oliveira

Pelotas, 2021

Gabriel Streck Bortolin

Produção e qualidade de sementes de *Paspalum notatum* Flügge: Impactos do arranjo de plantas, do momento da colheita e do estresse hídrico durante o estágio reprodutivo

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 29 de outubro de 2021

Banca examinadora:

Prof. Dr. Carlos Eduardo da Silva Pedroso (Orientador)
Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Pesquisador Dr. Mauricio Marini Köpp
Doutor em Agronomia pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Prof. Dr. André Pich Brunes
Doutor em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Prof. Dr. Sidnei Deuner
Doutor em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras (UFLA)

À minha mãe, Janice Streck Bortolin

Dedico

Agradecimentos

A Deus por tudo.

Sou muito grato a minha amada noiva, Yutcelia Carolina Galviz Fajardo, quem eu conheci no primeiro ano de Doutorado e que me brindou com seu amor e companheirismo em todos os momentos! Sua ajuda nas importantes etapas foi fundamental para a realização desta tese. Eres tudo para mim!

Aos meus pais, Leandro e Janice, e meu irmão Eduardo, por terem me dado todas as condições para trilhar este caminho, tendo-me apoiado em todos os momentos.

Ao meu estimado orientador e profissional exemplar, Professor Dr. Carlos Eduardo da Silva Pedroso, a quem sou grato pela sua contribuição na minha formação, por sua orientação, paciência e disponibilidade na realização deste trabalho

Ao Dr. João Carlos Pinto Oliveira, por ter me incentivado a continuar os estudos, pela sua coorientação durante o meu Doutorado e por seus ensinamentos desde os tempos de graduação.

Eu também agradeço aos amigos Athos Odin Severo Dorneles e Aline Soares Pereira, por terem me recebido em sua casa no primeiro ano de meu doutorado, bem como pela amizade e companheirismo desde os tempos de Mestrado

Aos professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, em especial ao Alberto Bohn e a Sheila Bigolin Teixeira, pela amizade e companheirismo demonstrada durante esses anos

Agradeço aos professores do Programa de Pós-Graduação Fisiologia Vegetal Luciano do Amarante, Sidnei Deuner e Gustavo Maia Souza, pela disponibilização de seus laboratórios e por todo o auxílio prestado durante a realização de meu Doutorado

A Embrapa Pecuária Sul pelo fornecimento das sementes e também pela disponibilidade de sua estrutura para a condução de parte dos experimentos

A CAPES, pela concessão da bolsa de Doutorado.

A todos aqueles amigos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

Se cheguei até aqui foi porque me apoiei no ombro de gigantes

Isaac Newton

Resumo

BORTOLIN, Gabriel Streck. **Produção e qualidade de sementes de *Paspalum notatum* Flüggé: Impactos do arranjo de plantas, do momento da colheita e do estresse hídrico durante o estágio reprodutivo**. 2021. 133f. Doutorado (Doutorado em Ciências). – Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

O presente trabalho objetivou determinar o momento adequado para colheita das sementes de grama forquilha tetraplóide e estudar fatores associados à sementeira (densidade e espaçamento) que proporcionem elevadas produtividades de sementes logo no primeiro ano de implantação, bem como avaliar os mecanismos fisiológicos e bioquímicos desta mesma espécie quando exposta ao estresse hídrico no estágio reprodutivo e seus impactos na produção e qualidade das sementes. Os resultados obtidos mostram que a implantação via sementeira de 230 sementes viáveis m² possibilitou elevado rendimento de sementes no primeiro ano de implantação (315kg ha⁻¹). A produtividade de sementes no segundo ano após a implantação não foi afetada pelos fatores associados a sementeira. A maturação das sementes de grama forquilha tetraplóide é um processo desuniforme e que o momento adequado para colheita das sementes – com base no percentual de sementes viáveis – pode ser determinado a partir de dois indicativos: o primeiro é visual, o qual está vinculado à presença inicial de degrana em aproximadamente 10%, enquanto o segundo é um método direto, com base na umidade das sementes, em que um percentual igual ou inferior a 33% deve ser preconizado. Na avaliação dos impactos do estresse hídrico, plantas diplóides e tetraplóides cresceram em casa de vegetação sob condições bem irrigadas até o aparecimento das primeiras inflorescências, quando o déficit e o excesso hídrico foram introduzidos e mantidos por dez dias. O desempenho fotossintético de plantas diplóides e tetraplóides não foi afetado pelo alagamento. Em contrapartida, a baixa disponibilidade de água diminuiu a condutância estomática, aumentou a temperatura foliar e resultou na diminuição da taxa de assimilação dos dois genótipos. A atividade da superóxido dismutase nas raízes foi semelhante (sob alagamento) e ainda menor (na seca) à observada nas plantas controle. As raízes das plantas expostas ao déficit hídrico mantiveram um acúmulo de biomassa semelhante ao das plantas controle. Em folhas de plantas previamente expostas à seca, a prolina foi maior mesmo em recuperação. Enquanto as plantas tetraplóides apresentaram maior estabilidade nas características reprodutivas, as plantas diplóides submetidas ao alagamento apresentaram mais inflorescências, porém o número total de sementes formadas por planta foi reduzido pela seca. Os resultados indicam que a síntese de osmoprotetores e a ativação da maquinaria antioxidante são estratégias importantes na tolerância de grama forquilha ao estresse hídrico na fase reprodutiva.

Palavras-chave: Grama forquilha. Tetraplóide. Arranjo de plantas. Produção de sementes. Curva de maturação. Estresse hídrico.

Abstract

BORTOLIN, Gabriel Streck. **Seed production and quality of *Paspalum notatum* Flüge: Impacts of plant arrangement, harvest time and water stress during the reproductive stage**. 2021. 133p. Doctorate (Doctorate in Science). – Postgraduate Program in Seed Science and Technology, Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2021.

The present work aimed to determine the appropriate time for harvesting seeds of tetraploid bahiagrass and to study factors associated with sowing (density and spacing) that would provide high seed yields in the first year of implantation, as well as to evaluate the physiological and biochemical mechanisms of this same species when exposed to water stress in the reproductive stage and its impacts on seed production and quality. The results obtained show that the implantation via sowing of 230 viable seeds allowed a high seed yield in the first year of implantation (315 kg ha^{-1}). Seed yield in the second year after implantation was not affected by factors associated with sowing. The maturation of tetraploid bahiagrass seeds is an uneven process and the appropriate time to harvest the seeds - based on the percentage of viable seeds - can be determined from two indicators: the first is visual, which is linked to the presence of shattering in approximately 10%, while the second is a direct method, based on seed moisture, in which a percentage equal to or less than 33% should be recommended. In evaluating the impacts of water stress, diploid and tetraploid plants grew in a greenhouse under well-watered conditions until the appearance of the first inflorescences, when water deficit and excess were introduced and maintained for ten days. The photosynthetic performance of diploid and tetraploid plants was not affected by flooding. On the other hand, low water availability decreased stomatal conductance, increased leaf temperature and resulted in decreased assimilation rate of the two genotypes. The superoxide dismutase activity in the roots was similar (under flooding) and even lower (in drought) to that observed in the control plants. The roots of plants exposed to water deficit maintained an accumulation of biomass similar to that of control plants. In leaves of plants previously exposed to drought, proline was higher even in recovery. While tetraploid plants showed greater stability in reproductive characteristics, diploid plants subjected to flooding showed more inflorescences, but the total number of seeds formed per plant was reduced by drought. The results indicate that the synthesis of osmoprotectants and the activation of the antioxidant machinery are important strategies in the tolerance of bahiagrass to water stress in the reproductive phase.

Keywords: Bahiagrass. Tetraploid. Plant arrangement. Seed production. Maturation curve. Water stress.

Sumário

1. Introdução.....	9
2. Projeto de Pesquisa.....	15
3. Relatório de Campo.....	32
4. Artigo 1 – Produção de sementes de grama forquilha tetraplóide, ecótipo Bagual, em função do arranjo de plantas e do momento de colheita.....	41
..	
Resumo.....	43
..	
Introdução.....	44
..	
Materiais	e 46
Métodos.....	
Resultados.....	54
..	
Discussão.....	58
..	
Conclusão.....	65
..	
Referências.....	65
..	
5. Artigo 2 – Respostas da raiz e parte aérea de grama forquilha à seca e alagamento na fase reprodutiva em função da ploidia do genótipo.....	80
Resumo.....	82
..	
Introdução.....	83
..	
Materiais	e 86
Métodos.....	

Resultados.....	94
..	
Discussão.....	10
..	0
Conclusões.....	10
..	7
Referências.....	10
..	9
6.	12
Conclusões.....	5
Referências.....	12
	6

1. Introdução

Grama forquilha (*Paspalum notatum* Flüggé) é uma planta rizomatosa - com hábito de crescimento prostrado - que ocupa uma importante função por ser uma das gramíneas mais frequentes nos campos naturais localizados no Cone-Sul do continente americano (Figura 1). Este mesmo ambiente – muitas vezes inóspito pelas frequentes restrições hídricas e elevadas temperaturas no verão – exige resiliência das espécies que o habitam; um atributo que parece não faltar em grama forquilha.

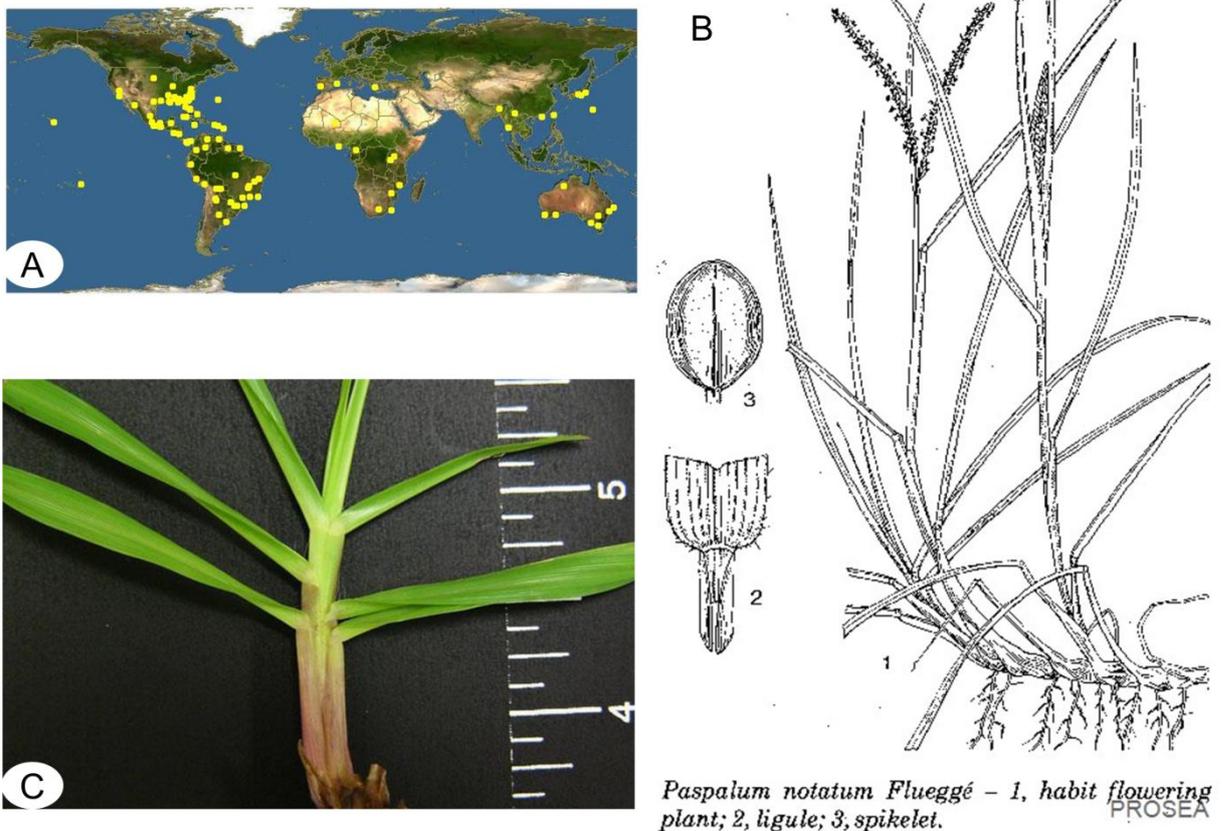


Figura 1 - Caracterização dos locais – a nível global – em que grama forquilha está presente; suas características estruturais (B), com destaque para a presença de colmos (C) sustentados por rizomas.

Esta mesma espécie possui importantes mecanismos – como de exploração do solo pelas raízes – que contribuem para tolerar períodos de déficit hídrico e ao alagamento não prolongado (BOERI et., 2020; SEVERMUTLU et al., 2011; SIGUA et al., 2012).

Além do estresse hídrico, grama forquilha também é caracterizada por

apresentar desenvolvimento satisfatório mesmo em solos ácidos e de limitada fertilidade (GATES et al., 2004; SILVEIRA et al., 2013). Suas características lhe conferem bom desempenho ainda em ambientes degradados pela mineração (STUMPF et al., 2018) e a tornam uma alternativa viável para a conservação do solo e da água (LI et al., 2011). Embora apresente resiliência e rusticidade, grama forquilha também é uma gramínea forrageira com excelente resposta ao emprego de tecnologias, ao exemplo da adição de fertilizantes - principalmente N (PRIOR et al., 2019) - e ao processo de calagem (RECHCIGL et al., 1995). Um exemplo deste potencial de resposta de grama forquilha pode ser verificado no trabalho conduzido por Pitman (2013). Ao utilizar um manejo intensivo – colheita de forragem a cada quatro semanas e quatro aplicações de N de 56kg ha⁻¹ cada, este autor constatou, entre os anos de 2007 (ano em que a produção de forragem foi próxima a 12.000kg ha⁻¹) e 2009, que este método proporcionou maiores rendimentos do que em colheita menos frequentes e com menores doses de N.

Assim como em diversas espécies, o tema produtividade – com o intuito principal de maior eficiência e sustentabilidade das pastagens - também é uma importante temática em grama forquilha. Neste tópico, trabalhos recentes têm destacado benefícios sobre este importante item a um fator: o nível de ploidia. Genótipos tetraplóides têm ganhado destaque por sua elevada produção de forragem, atributo verificado com os cultivares Boyero UNNE na Argentina (URBANI et al., 2016) e INIA Sepé no Uruguai (GIORELLO et al., 2021). No Brasil, o ecótipo tetraplóide Bagual ($2n = 4x = 40$) - com origem no planalto médio do estado do Rio Grande do Sul - apresentou produção de forragem sete vezes superior ao tradicional cultivar diplóide ($2n = 2x = 20$) Pensacola (WEILER et al., 2018). Ao comparar estes dois genótipos (Bagual e Pensacola), Steiner et al. (2017) relataram que, enquanto a produção total de forragem do ecótipo diploide – no primeiro ano de implantação – foi de 8.816 kg de massa seca ha⁻¹, a produção do ecótipo tetraplóide foi de 14.337 kg de massa seca ha⁻¹.

Embora os genótipos tetraplóides de grama forquilha tenham maior potencial de produção de forragem do que cultivares diploides, os empecilhos vinculados à produção de sementes parecem ser independentes do nível de ploidia. Ao avaliar a produção de sementes do cultivar tetraplóide INIA Sepé durante dois anos experimentais, Bertoncilli (2018) constatou altos índices de degrana e, embora não

quantificado, indica a necessidade de estudos relacionados ao momento ideal de colheita. Além da degrana, outros problemas dificultam o processo de produção de sementes de grama forquilha, ao exemplo da desuniformidade na emissão de inflorescências (LOPES; FRANKE, 2011a) e na maturação das sementes na própria inflorescência (BURTON, 1942). Identificar o momento adequado momento para a realização da colheita de sementes de grama forquilha tetraplóide constitui uma lacuna que, se estudada, poderá contribuir de forma expressiva não somente para a obtenção de elevados rendimentos, mas também para a obtenção de sementes com elevada qualidade. Ao conduzir uma revisão sobre este tema, Leprince et al. (2017) argumentaram que o estágio de maturação na colheita é o principal fator que influencia a longevidade das sementes e o estabelecimento das plântulas.

Assim como a colheita das sementes, o processo de implantação também é visto como um empecilho em grama forquilha. Em contraste a limitação do método de implantação via transplante de mudas, a semeadura em linha permite a abrangência de maiores áreas, embora Busey (1989) ressalte que o acúmulo de biomassa se dá de maneira mais lenta e a capacidade competitiva das plantas durante o estabelecimento seja mais baixa. Assim como no transplante de mudas, a umidade do solo também é um importante fator para a obtenção de sucesso na implantação via semeadura em linha (NEWMAN et al., 2011), o qual também é dependente da qualidade das sementes utilizadas. Sobre este tema, Souza et al. (2020) relataram que uma boa implantação de grama forquilha pode ser alcançada com a semeadura de 250 sementes por metro linear, com espaçamento de linhas de 20cm. Todavia, a falta de informações para genótipos tetraplóides – distinguidos de genótipos diploides pelo seu crescimento vigoroso e boa produção de forragem – constitui uma lacuna sobre sua implantação.

Tão relevante quanto a densidade de semeadura, o espaçamento entre linhas de semeadura é um importante componente no arranjo das plantas. Embora seja possível encontrar recomendações para o uso de espaçamentos inferiores (18 - 20cm), a opção por espaços maiores entre as linhas poderia beneficiar o controle mecânico de espécies invasoras que apresentam maior velocidade de crescimento inicial que grama forquilha, e até mesmo favorecer a semeadura associada entre espécies do gênero *Paspalum* com forrageiras leguminosas, um método benéfico não

somente ao estabelecimento, mas para a diversificação e resiliência da pastagem (JARAMILLO et al., 2018; SANCHEZ et al., 2019).

Assim como o arranjo das plantas e também o momento da colheita, é conhecido em diversas espécies que os estresses abióticos que venham a coincidir com o estágio reprodutivo de gramíneas forrageiras podem afetar de forma negativa a produção de sementes destas espécies (DIETRICH; SMITH, 2016; ZEITER et al., 2016). Estudos mostram que em campos naturais – um ambiente comum no Cone-Sul do continente americano e que grama forquilha possui elevada frequência – estresses hídricos durante o período que coincide com o estágio reprodutivo das plantas reduzem significativamente a biodiversidade do banco de sementes.

Tolerar estas condições adversas em um estágio tão importante requer das gramíneas perenes o uso de mecanismos especializados. Para atenuar os impactos de uma condição desfavorável, a síntese de compostos orgânicos contribui para o ajuste osmótico da célula e possibilita a manutenção das funções celulares (OZTURK et al., 2020; SINGH et al., 2015; ZULFIQAR et al., 2020). Por exemplo, ao expor dois genótipos de *Paspalum scrobiculatum* ao déficit hídrico, Ahmad et al. (2013) relataram que teores mais elevados de osmoprotetores (por exemplo, aminoácidos, prolina, açúcares solúveis totais e sacarose) foram encontrados no genótipo com maior tolerância à seca.

Certo número de metabólitos secundários, como àqueles pertencentes à categoria dos compostos fenólicos, contribui para um importante mecanismo que permite que as gramíneas perenes tolerem o estresse hídrico, melhorando o aparato antioxidante (FAN et al., 2020). Este aparelho atua na defesa contra o dano oxidativo gerado pela superacumulação de espécies reativas de oxigênio (ERO's), incluindo radicais livres como o ânion superóxido (O_2^-) e moléculas não radicais, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio singlete (1O_2). Em *Setaria italica* e *Panicum miliaceum* submetidos ao déficit hídrico, observou-se aumento do teor de compostos fenólicos e redução do teor de H_2O_2 , malondialdeído (MDA) e outros aldeídos (NEMATPOUR et al., 2019), evitando o dano oxidativo.

O aparato de enzimas antioxidantes também parece contribuir para mitigar os efeitos do estresse hídrico nas raízes. Ao expor as plantas ao déficit hídrico, Katuwal et al. (2020a) constataram que as folhas do genótipo UGP113 de *Paspalum vaginatum* apresentaram aumento na atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT),

ascorbato peroxidase (APX), peroxidase (POD) e glutathione redutase (GR). Além disso, um aumento simultâneo nas atividades de superóxido dismutase (SOD) e CAT nas raízes manteve os valores de H₂O₂ semelhantes aos das plantas controle (KATUWAL et al., 2020b). Resultados como este indicam que a tolerância ao estresse hídrico por gramíneas forrageiras perenes também depende do desempenho da raiz e de sua relação com a parte aérea.

Além dos mecanismos bioquímicos, as alterações morfológicas desempenham um papel importante na tolerância ao alagamento, uma condição adversa comum em períodos de alta pluviosidade. Em estudos realizados na Argentina com *Paspalum dilatatum*, Mollard et al. (2008) e Vasellati et al. (2001) observaram que a capacidade dessas plantas de tolerar o alagamento estava ligada à formação de aerênquima na bainha foliar e ao aumento do espaço intercelular nas raízes, características que favorecem a aeração dos tecidos submersos.

Vários estudos envolvendo a capacidade de tolerar estresses abióticos mostraram que plantas poliplóides podem ser mais tolerantes a condições desfavoráveis (DENG et al. 2012; STEVENS et al. 2020; XU et al. 2019). Supõe-se que em organismos poliplóides, toda a duplicação do genoma resulta na retenção de mais de dois alelos por loco, e assim os genes duplicados podem desenvolver novas funções que ajudam o organismo a se adaptar melhor a diferentes ambientes estressantes (LIU; SUN 2019). Sabe-se também que a poliploidia aumenta o tamanho e a forma das células, a biomassa dos órgãos (folhas, sementes e raízes) e o conteúdo de metabólitos primários e secundários em várias espécies de plantas (RUIZ et al., 2020). Em grama forquilha, Weiler et al. (2018) constatou que o ecótipo “Bagual” (genótipo tetraplóide) produziu sete vezes mais forragem que o cultivar Pensacola (diplóide). Assim, comparar diferentes ploidias em uma mesma espécie em condições de estresse hídrico, algo ainda não estudado em grama forquilha, pode permitir entender se o maior rendimento do genótipo tetraplóide também é mantido em situações de restrição.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estudar os impactos gerados pelo arranjo de plantas bem como do momento da colheita – através da determinação da curva de maturação – sobre a produção e qualidade de sementes de grama forquilha tetraplóide. Um segundo objetivo foi avaliar impactos do estresse hídrico – aplicado no início do estágio reprodutivo – sobre a produção e qualidade de sementes de grama

forquilha tetraplóide em comparação um cultivar diplóide, bem como avaliar os mecanismos fisiológicos associados a uma possível tolerância desta espécie a este tipo de estresse durante um momento crítico na produção de sementes.

3. Projeto de Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes

Projeto de Pesquisa



Influência do arranjo de plantas sobre a produção e qualidade de sementes de *Paspalum notatum* Flügge ecótipo Bagual

Gabriel Streck Bortolin

Pelotas, 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA & TECNOLOGIA DE SEMENTES
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE SEMENTES DE
FORAGEIRAS

PROJETO DE PESQUISA

**Influencia do arranjo de plantas sobre a produção e qualidade de sementes de
Paspalum notatum Flügge ecótipo Bagual.**

Gabriel Streck Bortolin
Doutorando

Prof. Dr. Carlos Eduardo da Silva Pedroso (UFSM)
Professor Orientador

Dr. João Carlos Pinto Oliveira (Embrapa CPPSul)
Membro do Comitê de Orientação

Dr. Maurício Marini Köpp (Embrapa CPPSul)
Membro do Comitê de Orientação

RESUMO GERAL

Projeto de pesquisa

Curso de Pós-Graduação em Ciência & Tecnologia de Sementes

Universidade Federal de Pelotas

Produção de sementes de *Paspalum notatum* Flügge

Autor: Gabriel Streck Bortolin

Orientador: Carlos Eduardo da Silva Pedroso

Paspalum notatum Flügge, conhecido vulgarmente por “grama-forquilha”, é uma gramínea nativa com bom potencial forrageiro. Devido sua presença em distintos ecossistemas, diversos morfótipos de *P. notatum* são encontrados com notáveis variações, os quais podem ser utilizados em programas de seleção e melhoramento genético. Caracterizado recentemente por apresentar interessante potencial forrageiro, o ecótipo de *P. notatum* nomeado como Bagual possui valores expressivos de produção de forragem e tolerância ao frio. No entanto, apesar da qualidade forrageira, ainda são escassas as informações quanto aos temas que envolvem o estabelecimento, a produção e a qualidade de suas sementes. A partir deste contexto, o presente projeto traz como proposta avaliar metodologias empregadas no estabelecimento desta espécie a campo, bem como na avaliação da produção e na qualidade de suas sementes. Os ensaios experimentais serão conduzidos na unidade da Embrapa Pecuária Sul, município de Bagé-RS, Brasil. Tendo em vista a obtenção de sementes de qualidade, serão avaliados neste projeto os efeitos dos fatores espaçamento e da densidade de semeadura sobre os principais componentes de rendimento, bem como sobre a produção e a qualidade de sementes de *P. notatum* ecótipo Bagual. A partir da execução dos experimentos aqui detalhados, espera-se fornecer informações consistentes sobre os efeitos que os fatores relacionados ao arranjo de plantas exercem sobre a produção de sementes do ecótipo Bagual de *P. notatum*.

Palavras-chave: Grama-forquilha, maturidade fisiológica, beneficiamento, qualidade de sementes.

1 INTRODUÇÃO GERAL

A produção pecuária é definida como uma atividade econômica tradicional no estado do Rio Grande do Sul, sendo que, fundamentalmente, boa parte é realizada sobre campo nativo. As pastagens naturais no Rio Grande do Sul caracterizam-se por apresentar uma grande diversidade, com cerca de 400 espécies de gramíneas e 150 de leguminosas (BOLDRINI, 2002). Das gramíneas nativas, o gênero *Paspalum* ocupa lugar de destaque por possuir o maior número de espécies com bom valor forrageiro (VALLS, 1987). Segundo Prestes et al. (1976), o gênero caracteriza-se por apresentar elevado valor agrônomo, servindo como base alimentar para criação de ruminantes no Rio Grande do Sul. Entre as principais características que qualificam esta espécie, destacam-se a tolerância ao frio, assim como a produção e qualidade de forragem quando comparadas com gramíneas tropicais e subtropicais no Rio Grande do Sul.

Exemplar detentor das principais características de qualidade atribuídas ao gênero, *Paspalum notatum* Flüggé, também conhecida como Grama Forquilha, é a espécie mais comum na formação dos campos nativos do Rio Grande do Sul (MOHRDIECK, 1993), sendo responsável por 20 a 40% da cobertura herbácea das pastagens naturais do Estado. Além da função ecológica como frequente representante nos campos sulinos, a espécie *P. notatum* pode ser introduzida visando o estabelecimento de novas áreas, bem como para recuperação de áreas degradadas. Neste ponto, vários morfótipos são avaliados com o intuito de se disponibilizar novos materiais. Ao verificar o potencial de genótipos de *P. notatum* nativos do Rio Grande do Sul quanto à produção de matéria seca, Steiner (2005) obteve expressivos valores de produção de matéria seca total, próximos a 14.000 kg de massa seca ha⁻¹, provando o potencial produtivo desta espécie nativa, chegando a níveis de produção próximos de cultivares de espécies tropicais.

De acordo com Boggiano; Zanoniani (2001), a produção de sementes de uma espécie forrageira, na qual a produção vegetativa assume uma função relevante, é um fator de grande importância, já que muitas espécies com potencial forrageiro foram desconsideradas por falta de conhecimentos ou incentivos para a multiplicação comercial de sementes.

Os progressos alcançados na produção de sementes estão praticamente restritos a espécies cultivadas, o que vem a constituir-se em uma limitação técnica para a produção de sementes de plantas forrageiras de boa qualidade. Tal condição

é essencial para assegurar não só a manutenção de uma possível produção já existente, mas também facilitar a expansão de novas áreas de cultivo, visto que, a semente é o meio mais econômico na multiplicação de um material vegetal (LEDEZMA, 2000).

Apesar do grande número de trabalhos que caracterizam a produtividade de um grande ecótipos de *P. notatum*, ainda há uma carência de informações quanto à resposta destes materiais quanto à produção de sementes. A partir deste contexto, este projeto tem como objetivo avaliar os efeitos ocasionados pelos fatores densidade de semeadura e arranjo de plantas sobre a produção e qualidade de sementes, bem como determinar o ponto de maturidade fisiológica, a influência do beneficiamento e de condições para o armazenamento sobre a qualidade de sementes de *P. notatum* ecótipo Bagual.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gênero *Paspalum*

Na diversidade existente nos campos sulinos, o gênero *Paspalum* é um dos mais importantes, devido ao elevado número de espécies que apresenta e a sua ampla distribuição geográfica, habitando desde regiões tropicais até subtropicais da América. No Brasil, não há estudos com informações detalhadas sobre o número total de espécies. Segundo Aliscioni (2002), a falta de estudos envolvendo a taxonomia global para este gênero faz com que seja difícil estimar o número total de espécies na atualidade. No entanto, Valls; Pozzobon (1987) estimaram a ocorrência de cerca de 220 espécies.

Strappasson et al. (2000) afirmam que existem mais de 400 espécies tropicais e subtropicais, cuja importância é evidenciada por sua adaptabilidade a diferentes ecossistemas, o que representa menor risco de causar desequilíbrio biológico devido à grande diversidade genética existente. Gates (2004) afirmam que o gênero *Paspalum* foi descoberto nas regiões tropicais e subtropicais do “Novo Mundo”, sendo abundante particularmente no Brasil, leste da Bolívia, Paraguai, nordeste da Argentina e com poucas espécies na África e Ásia. É dominante em campos abertos, mas

também está presente em bordas de florestas e em ambientes salinos, ocorrendo desde o nível do mar até 4600 m de altitude, nos Andes (ZULOAGA et al., 2004).

Praticamente, 75% das espécies de *Paspalum* conhecidas ocorrem no Brasil, fazendo parte das mais variadas formações vegetais em diferentes condições ecológicas. O estudo aprofundado destas espécies é de alta importância, pois objetiva identificar quais apresentam potencial para serem preservadas, ou para uso imediato, ou para serem incorporadas a programas de seleção e melhoramento genético, visando a produção de forragem de elevada qualidade (BATISTA, 2005). No entanto, na seleção e melhoramento de gramíneas forrageiras no Brasil, ocorre concentração de trabalhos com espécies exóticas, ficando as espécies nativas em plano muito secundário.

2.1.1 *Paspalum notatum* Flügge

As gramíneas do gênero *Paspalum* contribuem com elevado número de espécies na composição dos campos do Bioma Pampa, entre as quais se destaca o *Paspalum notatum* Flügge (PRATES, 1977). Esta espécie é a mais comum na formação de pastagens nativas, produzindo forragem da primavera ao outono. As plantas de *P. notatum* são perenes, herbáceas, rizomatosas e possuem de 10 a 20 cm de comprimento, com colmo comprimido, achatado, de forma bem peculiar (TRENHOLM et al., 2001).

Entre seus principais atributos, destaca-se a baixa exigência quanto à fertilidade do solo e a resistência ao stress hídrico, sendo comumente introduzida através da semeadura em áreas com elevado nível de degradação pelo manejo incorreto de cultivos anuais (HUANG et al., 2009). Em sua estrutura, o desenvolvimento de raízes profundas distribuídas por pequenos e fortes rizomas permite que esta planta apresente elevada resistência ao pastejo e ao pisoteio pelos animais (INYANG et al., 2009).

Devido sua presença em distintos ecossistemas, diversos morfótipos de *P. notatum* são encontrados com notáveis variações no meio em que se encontram, os quais podem ser utilizados nos processos de seleção e melhoramento genético (ACUÑA et al. 2009). Ecótipos nativos de *P. notatum* apresentam adaptações a diferentes tipos de solos e condições climáticas, com variação na produção de rizomas

e qualidade de forragem. Nativo do estado do Rio Grande do Sul-Brasil e com elevado potencial forrageiro, o ecótipo de *P. notatum* nomeado como Bagual destaca-se pelos expressivos resultados de produção de matéria seca, seguidos por uma alta persistência às condições adversas na estação fria (FACHINETTO et al. 2012; Steiner et al., 2017).

Steiner (2005), testando genótipos de *P. notatum* nativos do Rio Grande do Sul quanto à produção de matéria seca, obteve expressivos valores de produção de matéria seca total, próximas a 14.000kg de massa seca de forragem ha⁻¹, provando o potencial produtivo desta espécie nativa, chegando a níveis de produção próximos de cultivares de espécies tropicais, como relatam Cecato et al. (2000), com produções de 11.000kg de massa seca de forragem ha⁻¹ para o “capim colônia” e de 16.600 kg de massa para a cultivar “Tanzânia”.

2.2 Produção de sementes de espécies do gênero *Paspalum*

A produção de sementes forrageiras caracteriza-se como um processo complexo, sendo condicionado por um elevado número de fatores específicos. Apesar do elevado potencial para produção de forragem, as insuficientes informações de espécies do gênero *Paspalum* em relação a produção de sementes caracteriza-se como o principal fator na limitação da popularização de uso de suas espécies como forrageiras cultivadas (LOPES, 2009).

Para grande parte das espécies do gênero *Paspalum*, há necessidade de maiores informações sobre etapas que envolvem o estabelecimento da cultura, bem como sua resposta ao manejo, fator importante para garantir a persistência de espécies forrageiras perenes. Destaca-se também que, grande parte da dificuldade em se trabalhar em se trabalhar com espécies nativas como *P. notatum* consiste principalmente na obtenção de sementes de qualidade, situação que dificulta o estabelecimento de ensaios, assim como na comparação com as espécies domesticadas (BARÉA et al., 2007).

De acordo com Souza (2001), em espécies de gramíneas forrageiras, o extensivo período de floração, associado ao precário sincronismo de emergência das inflorescências, têm reflexos diretos sobre o sincronismo da maturação das sementes. Ainda segundo o mesmo autor, o número de perfilhos reprodutivos/m² é um dos

principais determinantes da produção de sementes de gramíneas forrageiras. Para a obtenção de sementes de qualidade, o conhecimento do ponto de maturidade fisiológica é um fator determinante para a escolha do momento de colheita. Em estudo efetuado para *Paspalum gurnoarum* Arech., Batista; Godoy (1997) verificaram que a maturidade fisiológica das sementes foi obtida aos 18 dias após a antese, havendo neste momento o máximo acúmulo de massa seca, bem como um maior vigor das sementes. Os mesmos autores constataram que houve uma taxa elevada de degrana a partir 27 dias após a antese.

Estudos apontam que espécies do gênero *Paspalum* exibem variabilidade em termos de produção de sementes. Em estudo realizado por Souza (2001), o autor afirmou que pode haver ampla variação na produção de sementes de espécies forrageiras, podendo ocorrer variações até mesmo dentro da mesma espécie de acordo com o cultivar. Conforme relatado por Marousky et al. (1991), o florescimento de *P. notatum* responde à temperatura e ao comprimento do dia, ocorrendo durante um período de no mínimo quatro semanas, fator este que é controlado.

Para a espécie *Paspalum dilatatum*, Carámbula (s.d.) verificou que os rendimentos de sementes estão sujeitos a grandes variações e, na média, os rendimentos variam entre 200 e 600kg ha⁻¹ para o rendimento bruto. Loch; Ferguson (1998) constataram que os rendimentos de sementes variam muito de um ano ao outro. Para Pensacola, *P. notatum* cv. Argentine, os rendimentos variam de 60 a 100kg ha⁻¹, podendo chegar até 400kg ha⁻¹. De acordo com Carmona (1985), quanto menos sincronizada for a floração da cultura maior será a heterogeneidade da condição das sementes em relação ao nível de maturidade, tornando difícil a determinação do período em que as plantas apresentam máxima quantidade e qualidade de sementes disponíveis para a colheita.

A produção de sementes de *P. notatum* é caracterizada por apresentar uma série de dificuldades que vão desde a falta de uniformidade de maturação, método de colheita, beneficiamento e secagem, até o estabelecimento da cultura, dificultado principalmente pela ocorrência do alto índice de dormência (MAEDA; PEREIRA, 1997).

3 HIPÓTESE

- O arranjo de plantas exerce influência sobre a produção e qualidade de sementes de *P. notatum* ecótipo Bagual.

4 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Este trabalho tem como objetivo principal avaliar a influência de diferentes densidades de semeadura e de dois espaçamentos entre linhas sobre a produção e a qualidade de sementes de *Paspalum notatum* ecótipo Bagual.

3.1 Objetivos Específicos

- Verificar os efeitos da combinação entre os níveis dos fatores densidade de semeadura e espaçamento entre linhas sobre:

Componentes do rendimento de sementes

Produção e qualidade das sementes

Qualidade das sementes produzidas ao longo do armazenamento

5 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto será desenvolvido na unidade da Embrapa Pecuária Sul, Bagé-RS, sob condições de campo e laboratoriais. O projeto terá duração de 36 meses.

As sementes de *P. notatum* ecótipo Bagual (material que se encontra em testes de Valor de Cultivo e Uso) utilizadas para os testes serão colhidas em área experimental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Após a colheita, estas serão trilhadas e armazenadas em sacos de papel em temperatura de 20°C, na condição de 60 % de umidade relativa do ar.

O experimento será instalado no mês de outubro em área experimental localizada na unidade da Embrapa Pecuária Sul. Visando determinar o arranjo ideal de plantas em termos de produtividade e qualidade de sementes de *P. notatum* ecótipo Bagual, serão avaliados os efeitos de dois espaçamentos (20 e 40 cm) e de

três densidades de semeadura (90, 160 e 230 sementes viáveis/m²) sobre os componentes de rendimento, sobre a produção e qualidade de sementes.

O delineamento será um fatorial (espaçamento x densidade de semeadura), representado pelos níveis dos fatores Espaçamento x Densidade. Um esquema de blocos completamente casualizados em parcelas subdivididas será adotado, tendo cada parcela a medida de 5x2, totalizando 10 metros quadrados. Previamente ao processo de semeadura (setembro), o preparo do solo na área experimental através de gradagens e aplainamento será realizado. Para fins de controle de invasoras e estabelecimento sem competição com invasoras, será utilizada uma aplicação de herbicida de ação total no dia anterior à semeadura. Para conhecimento das condições em que o experimento foi conduzido, dados diários de temperatura e pluviosidade serão computados a partir dos valores obtidos em uma estação meteorológica do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), localizada a 860 metros da área experimental.

A semeadura será efetuada no mês de outubro, de forma manual. Após o estabelecimento das plantas, será efetuada uma adubação de cobertura contendo os elementos N, P e K, conforme necessidade atribuída à interpretação da análise de solo, efetuada seis meses anteriormente à semeadura. Ao longo do ciclo, serão efetuadas limpezas manuais a fim de se evitar a competição com potenciais invasoras.

Como variável resposta, serão avaliados os seguintes componentes de rendimento:

- Número de perfilhos reprodutivos/m²;
- Número médio de racemos por inflorescência;
- Número médio de sementes por racemo;
- Peso médio de sementes por inflorescência;
- Peso médio de sementes por racemo e peso de mil sementes.
- Produção de sementes ha⁻¹.

A colheita será efetuada a partir da degrana natural das primeiras sementes, conforme proposto por Beck (2012). O número de inflorescências, assim como a produção de sementes, serão estimados a partir da avaliação de 3,0 m de duas linhas localizadas ao centro de cada parcela. Na ocasião, as inflorescências serão cortadas, mantidas à sombra por dez dias em local coberto. As amostras coletadas serão secas

à sombra, peneiradas, embaladas em sacos de papel e mantidas sob condições laboratoriais até serem avaliadas.

Os resultados relacionados à qualidade fisiológica das sementes serão obtidos através dos seguintes testes:

- Porcentagem de germinação;
- Primeira contagem da germinação;
- Índice de velocidade da germinação;
- Viabilidade das sementes através do teste de tetrazólio.
- Emergência a campo.

Todos os testes citados serão conduzidos conforme proposto nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009) para a espécie *P. notatum*.

Com o intuito de avaliar o efeito dos tratamentos sobre a germinação e sobre a qualidade fisiológica das sementes ao longo do período de armazenamento, os seguintes testes serão efetuados em intervalos de dois meses, totalizando ao final 6 avaliações (12 meses).

- Porcentagem de germinação;
- Umidade da semente
- Primeira contagem da germinação;
- Índice de velocidade da germinação;
- Viabilidade das sementes através do teste de tetrazólio;
- Sanidade das sementes;

Estes testes citados serão conduzidos conforme proposto nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009) para a espécie *P. notatum*.

Na análise estatística, atendendo os requisitos de homogeneidade, os dados coletados serão submetidos à comparação de médias feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Regressões polinomiais serão empregadas para mensurar o efeito da combinação dos níveis dos fatores estudados ao longo do tempo de armazenamento.

6 RESULTADOS ESPERADOS

Espera-se que o arranjo populacional exerça influência sobre a arquitetura de plantas do ecótipo Bagual de *Paspalum notatum*. Acredita-se que, nas condições geradas pelos arranjos populacionais propostos neste projeto, haverá interferência sobre o aproveitamento dos recursos naturais disponíveis, ocasionando desta forma uma influência significativa sobre as características estruturais das plantas em avaliação. Espera-se que alterações significativas sejam observadas sobre os componentes de rendimento do biótipo em estudo a partir da combinação dos níveis dos fatores propostos.

Além da produtividade, acredita-se que as variáveis relacionadas à germinação e ao vigor de sementes do ecótipo em estudo sejam alteradas na condição de pós-armazenamento, sendo estas influenciadas pelos arranjos de plantas propostos.

Finalmente, importante informação no processo de implantação de uma espécie forrageira, espera-se justificar através da produção e da qualidade de sementes o arranjo ideal de plantas de *P. notatum* ecótipo Bagual.

7 CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

CRONOGRAMA DAS ATIVIDADES DE DOUTORADO						
ATIVIDADES	2017	2018		2019		2020
	2º SEM	1º SEM	2º SEM	1º SEM	2º SEM	1º SEM
Revisão Bibliográfica	X	X	X	X	X	
Elaboração do Projeto	X					
Aquisição de Materiais	X					
Realização dos Experimentos	X	X	X	X		
Análise Estatística			X	X	X	
Redação dos Dados			X	X	X	
Qualificação				X		
Defesa da tese						X

8 ORÇAMENTO

Para realizar as análises propostas, o trabalho será desenvolvido com a utilização da infraestrutura dos laboratórios pertencentes e colaboradores da Embrapa Pecuária Sul, Sendo necessários os seguintes recursos:

8.1 Material de consumo

Descrição das mercadorias	Quantidade	Subtotal (R\$)
Papel para germinação marca Germibox (10,5x10,5cm)	1000 folhas	210,00
Papel alumínio	10 rolos	23,00
Papel toalha	10 rolos	90,00
Tinta para impressão	2 cartuchos	80,00
Papel A4	4 pacotes	88,00
Fotocópias	500	100,00
Análise de solo	3	60,00
Adubo químico	2 sacos	75,00
Uréia	1 saco	65,00
Análise/carboidrato	30	-
Análise/proteína	30	-

9 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

ACUÑA, C. A. Bahiagrass tetraploid germplasm: reproductive and agronomic characterization of segregating progeny. **Crop Science**, v.49, n.2, p.581-588, 2009.

ALISCIONI, S. S. **Contribución a la filogenia del género *Paspalum* (POACEAE: PANICOIDEAE: PANICEAE)**. Annals of the Missouri Botanical Garden, Missouri, v.89, n.4, p.504-523, 2002.

BARÉA, K. Manejo de *Paspalum dilatatum* Poir. biótipo Virasoro. 1. produção, composição química e persistência. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.992-999, 2007.

BATISTA, L.A.R.; GODOY, R. **Curva de maturação das sementes de *Paspalum guenoarum* Arech.** In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora: SBZ, 1997. p. 335-337.

BATISTA, L.A.R.; GODOY, R. Capacidade de produção de sementes em acessos do gênero *Paspalum*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.5, p.841-847, 1998.

BATISTA, L.A.R. **Representatividade taxonômica e caracterização morfológica e agrônômica dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de *Paspalum***. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3., 2005, Gramado. Anais... Passo Fundo, 2005. 1 CD-ROM.

BECK, A.P.A. **Produção de sementes de dois ecótipos *Paspalum notatum* Flugge sob diferentes doses de nitrogênio e regimes de cortes.** 2012. 140f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

BOGGIANO, P.; ZANONIANI, R.A. **Producción de semilla de *Bromus auleticus* Trinius: consideraciones generales.** In: LOS RECURSOS filogenéticos del Genero Bromus en el Cono Sur. Montevideo: Procisur, 2001. p. 29-34.

BOLDRINI, I.I. Campos sulinos: caracterização e biodiversidade. In: ARAÚJO, E. A.; SAMPAIO, E.V.S.B, et al. (ed.). **Biodiversidade, conservação e uso sustentável da flora do Brasil.** Recife: UFPe: Soc. Botânica do Brasil, 2002. p.95-97.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes.** Brasília, 2009. 365 p.

CARMONA, R. **Rendimento e qualidade de sementes de *Stylosanthes macrocephala* e *Stylosanthes capitata* em função da época e método de colheita.** 1985. 111 f. Dissertação (Mestrado – Ciência & Tecnologia de Sementes) - Universidade Federal de Pelotas, 1985.

CARÁMBULA, M. **Producción de semillas de plantas forrajeras.** Montevideo: Hemisferio Sur, [199--]. 518 p.

CECATO, U.; MACHADO, A.O.; MARTINS, E.N.; PEREIRA, L.A.F.; BARBOSA, M.A.A.F.; SANTOS, G.T. Avaliação da produção e algumas características da rebrota de cultivares e acessos de *Panicum maximum* Jacques sob duas alturas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.660-668, 2000.

FACHINETTO, J. M. Avaliação agrônômica e análise da persistência em uma coleção de acessos de *Paspalum notatum* Flüggé (Poaceae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.7, n.1, 2012.

GATES, R.N.; BURTON, G.W. Seed yield and seed quality response of Pensacola and improved Bahiagrasses to fertilization. **Agronomy Journal**, v.90, n.1, p.607-611, 1998.

HUANG, J. Soil aluminium uptake and accumulation by *Paspalum notatum*. **Waste Management & Research**, v.27, n.7, p.668-675, 2009.

INYANG, U. Forage species and stocking rate effects on animal performance and herbage responses of 'Mulato' and bahiagrass pastures. **Crop Science**, v.50, n.3, p.1079-1085, 2010.

LEDEZMA, E.A.P. **Produção de sementes de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urb. em função do espaçamento e épocas de colheita**. 2000. 70f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2000.

LOCH, D. S.; FERGUSON, J.E. **Forage seed production: 2. tropical and subtropical species**. Wallingford: CABI, 1998. 479 p.

LOPES, R.R. **Produção de Sementes de Espécies do Gênero *Paspalum***. Porto Alegre, 2009. 181f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Faculdade de Agronomia-Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

MAEDA, J.A.; PEREIRA, M.F.; MEDINA, P.F. Conservação e superação da dormência de sementes de *Paspalum notatum* Flüggé. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.19, n.2, p. 164-170, 1997.

MAROUSKY, F.J. Flowering response of Pensacola and Tifton 9 bahiagrass grown at different latitudes. **Soil Crop Science Society**, v.50, p.65-69, 1991.

MOHRDIECK, K.H. Formações Campestres do Rio Grande do Sul. In: **Campos nativos: melhoramento e manejo**. Porto Alegre: Federacite, 1993.1123.

PRESTES, P.J.Q; FREITAS, E.A.G.; BARRETO, I.L.B. **Hábito vegetativo e variação estacional do valor nutritivo das principais gramíneas da pastagem nativa do Rio Grande do Sul**. Anuário Técnico do Instituto de Pesquisas Zootécnicas "Francisco Osório", Porto Alegre, v.3, p.516-531, 1976.

SOUZA, F.H.D. **Produção de gramíneas forrageiras tropicais**. São Carlos: EMBRAPA, 2001. 43 p.

STEINER, M.G. **Caracterização agrônômica, molecular e morfológica de acessos de *Paspalum notatum* Flugge e *Paspalum guenoarum* Arech**. 2005. 137f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

STEINER, M. Forage potential of native ecotypes of *Paspalum notatum* and *P. guenoarum*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.89, n.3. p.1753-1760, 2017.

STRAPASSON, E.; VENCOVSKY, R.; BATISTA, L.A.R. Seleção de descritores na comparação de germoplasma de *Paspalum* spp. por meio de componentes principais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.2, p.373-381, 2000.

TRENHOLM, L.E.; UNRUH, J.B.; CISAR, J.L. **Selecting a Turfgrass for Florida Lawns. University of Florida Institute of Food and Agricultural Sciences. Electronic Data Information Source Document ENH04**, 2001.

VALLS, J.F.M.. **Recursos genéticos de espécies de *Paspalum* no Brasil**. In: ENCONTRO INTERNACIONAL SOBRE MELHORAMENTO GENÉTICO DE *Paspalum*, 1987, Nova Odessa. Anais... Nova Odessa, 1987. p.3-13.

VALLS, J.F.M.; POZZOBON, M.T.. **Varição apresentada pelos principais grupos taxonômicos de *Paspalum* com interesse forrageiro no Brasil**. In: ENCONTRO INTERNACIONAL SOBRE MELHORAMENTO GENÉTICO DE *Paspalum*, 1987, Nova Odessa. Anais... Nova Odessa, 1987. p.15-21.

ZULOAGA, F.O.; PENSIERO, J.; MORRONE, O. Systematics of *Paspalum* group Notata (Poaceae – panicoideae- paniaceae). **Systematic Botany Monographs**, v.71, n.1, p.1-75, 2004.

3. Relatório de Campo

Caderno de campo

As atividades conduzidas em campo foram iniciadas logo após o começo de meu doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ciência & Tecnologia de Sementes na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). A partir do início do segundo semestre de 2017, a área experimental - localizada na unidade da Embrapa Pecuária Sul, Bagé-RS, Brasil – foi submetida aos primeiros processos de preparo para a instalação do experimento. Para melhorar as características físicas do solo para o estabelecimento da grama forquilha, bem como para eliminar espécies invasoras, duas gradagens foram realizadas na área experimental na segunda quinzena do mês de agosto.

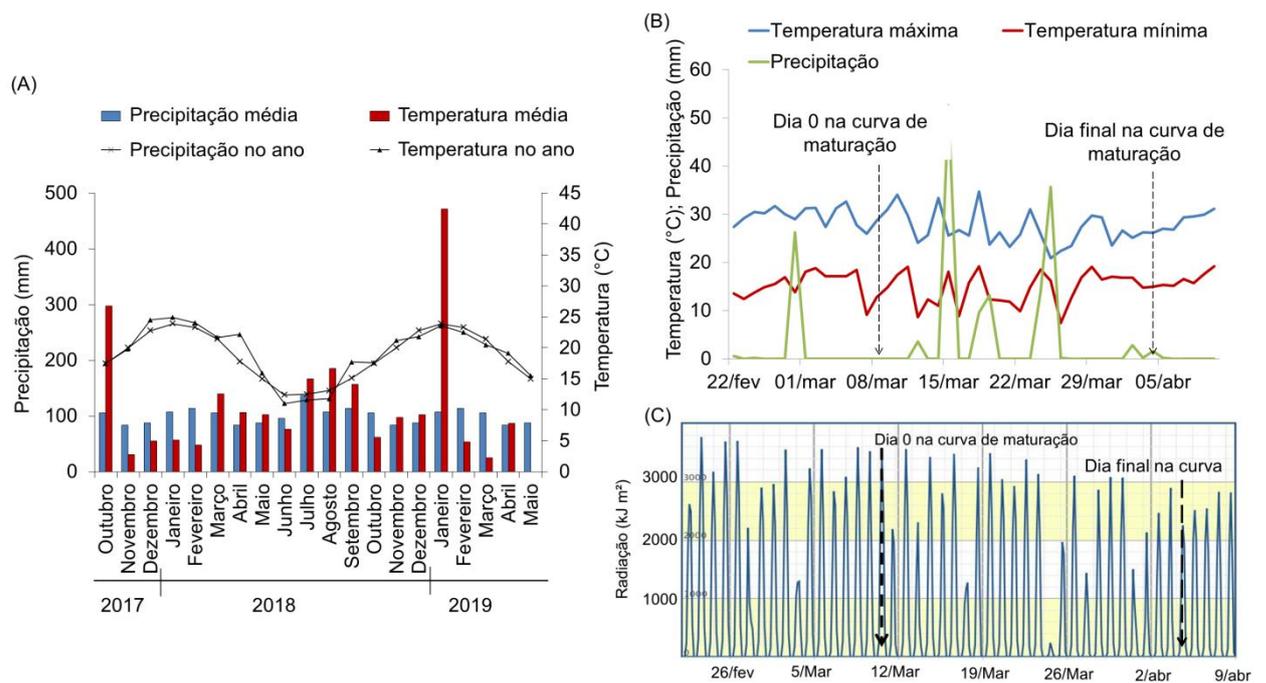


Figura 1 - Valores médios de temperatura e precipitação mensal nos anos experimentais seguidos dos valores médios de 30 anos (A), bem como os valores de temperatura máxima, temperatura mínima e precipitação (B) e de radiação ao longo da avaliação da curva de maturação das sementes de grama forquilha tetraplóide.

Devido à elevada precipitação (Figura 1) na primeira quinzena do mês de outubro de 2017 (dados coletados a partir de uma estação automática do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) localizada a 860 metros da área experimental), a etapa de semeadura do ecótipo tetraplóide de *Paspalum notatum* - identificado como

Bagual - foi efetuada no dia 27 de outubro de 2017. A aplicação de glifosato, em dose de 3L hectare^{-1} , foi realizada sete dias antes da semeadura para eliminação de espécies invasoras que emergiram após a gradagem. Entre estas espécies, houve predomínio dos gêneros *Digitaria* e *Cyperus*. Todos os procedimentos envolvidos na semeadura foram realizados manualmente, com a utilização de um marcador de linhas, bem como de uma semeadora, os quais puderam ser conduzidos manualmente.



Figura 2 - Imagem da área experimental localizada na Embrapa Pecuária Sul, município de Bagé, RS – Brasil (A), da semeadora manual utilizada no momento da semeadura (B) e da emergência das primeiras plântulas aos 15 dias após este mesmo procedimento (C).

Aos 15 dias após a semeadura foi verificada a emergência das primeiras plântulas do genótipo estudado e de espécies invasoras. Neste mesmo momento uma primeira limpeza manual foi realizada para remover estas plantas com potencial dano para as plantas do genótipo Bagual. Esta mesma remoção foi efetuada com o uso de enxada (para os espaços entre linhas) e faca (espaços na linha). Estes procedimentos de remoção manual de invasoras foram realizados em intervalos de

duas semanas até o final do mês de fevereiro, momento em que as plantas de grama forquilha apresentavam um crescimento expressivo.

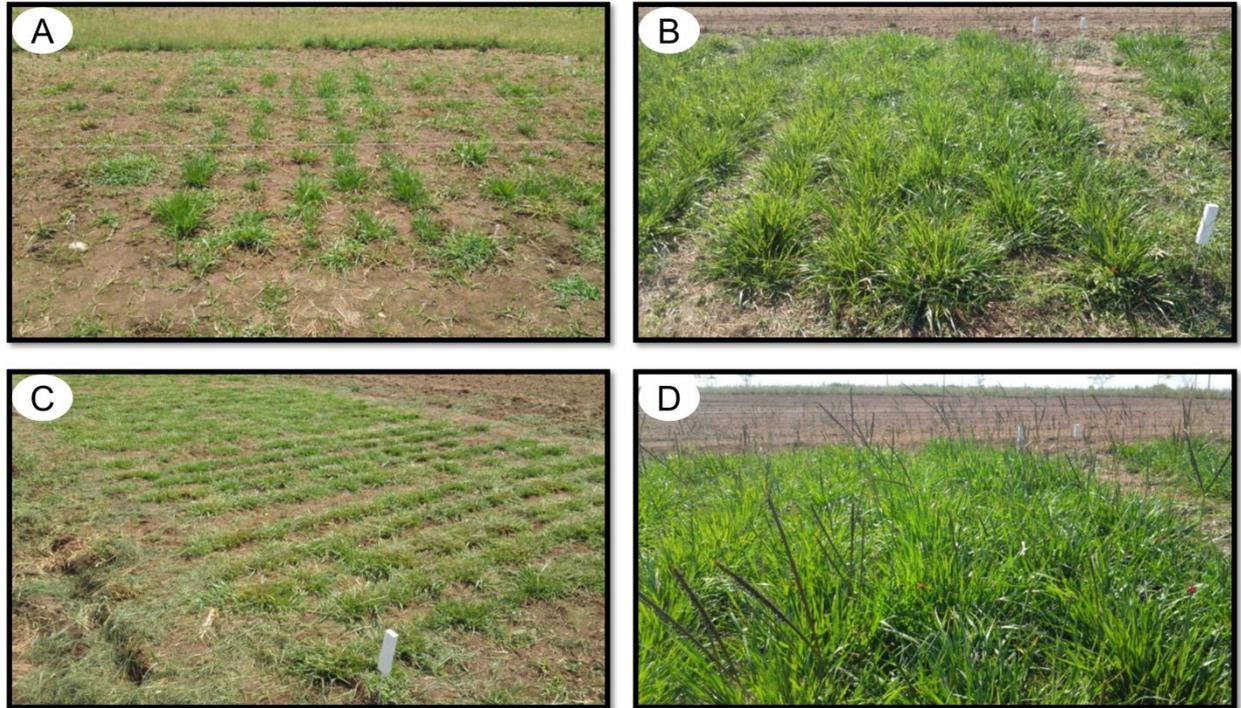


Figura 3 - Imagens representativas do momento da fertilização nitrogenada (A), da condição pré e pós desolha (B-C) e da condição das plantas durante o monitoramento do surgimento de inflorescências e da determinação da curva de maturação (D).

Após um mês de elevada precipitação (outubro), os meses subsequentes foram de níveis bastante inferiores aos da média dos últimos trinta anos. Por este motivo, um sistema de irrigação (composto pela utilização de mangueiras de gotejamento) foi instalado no início da segunda quinzena do mês de dezembro de 2017. Com o propósito de obter maior eficiência no procedimento, a irrigação era iniciada ao final da tarde e cessada na manhã do dia seguinte. Neste procedimento, o início do acúmulo de água na superfície do solo foi considerado como o momento de finalização deste procedimento, o qual foi conduzido em intervalos semanais.

Não conduzida em linha devido ao lento estabelecimento e um possível beneficiamento as espécies invasoras, a fertilização com nitrogênio, fósforo e potássio foi realizada dois dias após a primeira irrigação. Os níveis aplicados de cada um destes elementos foram obtidos a partir da interpretação da análise de solo, coletada ainda no mês de agosto e analisada no laboratório de análise de solos da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL). Os valores obtidos foram interpretados

conforme recomendações do Manual de Adubação e Calagem para os estados do Rio grande do sul e Santa Catarina, para gramíneas forrageiras perenes de estação quente (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO, 2004).



Figura 4 - Imagem representativa da quantidade de sementes colhidas a partir de cinco inflorescências na determinação da curva de maturação das sementes (A), bem como do Laboratório de Análise de Sementes na Embrapa Pecuária Sul (B), local de condução das avaliações iniciais de qualidade. Também está representada a quantidade de inflorescências remanescentes após a amostragem das parcelas e o equipamento utilizado no processo de trilha das sementes (C-D).

Devido à desuniformidade na emergência das plantas, um procedimento de uniformização através de desfolha foi realizado ao final do mês de fevereiro de 2019. Nesta etapa, as plantas que naquele momento estavam com aproximadamente 25 cm tiveram sua altura reduzida para sete cm com auxílio de um cortador de grama. Após esta data, foi verificado o surgimento das primeiras inflorescências. Neste mesmo momento, as duas linhas centrais de cada parcela ao longo de um metro linear foram demarcadas e a contabilização do surgimento de novas inflorescências foi realizada em intervalos de três dias. Inflorescências localizadas nas linhas laterais das parcelas também foram marcadas neste momento com a utilização de fios de luz coloridos para determinação da curva de maturação das sementes. Este procedimento de colheita foi realizado a cada três dias, em que cinco inflorescências foram colhidas em cada intervalo em cada bloco. As inflorescências colhidas – tanto na avaliação dos efeitos

do arranjo de plantas quanto na curva de maturação - foram levadas para o laboratório de análise de sementes da Embrapa Pecuária Sul onde avaliações iniciais de caracterização de umidade e de percentual de degrana foram conduzidas, conforme procedimentos descritos nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Após o processo de secagem, as sementes tiveram parte de sua qualidade avaliada no Laboratório Didático de Análise de Sementes e no Laboratório de Bioquímica Vegetal, ambos da Universidade Federal de Pelotas.

Possíveis efeitos do arranjo de plantas também foram avaliados em um segundo ano após o estabelecimento. Inicialmente, uma desfolha para remoção da excessiva massa de material morto foi conduzida no dia cinco de outubro de 2018.

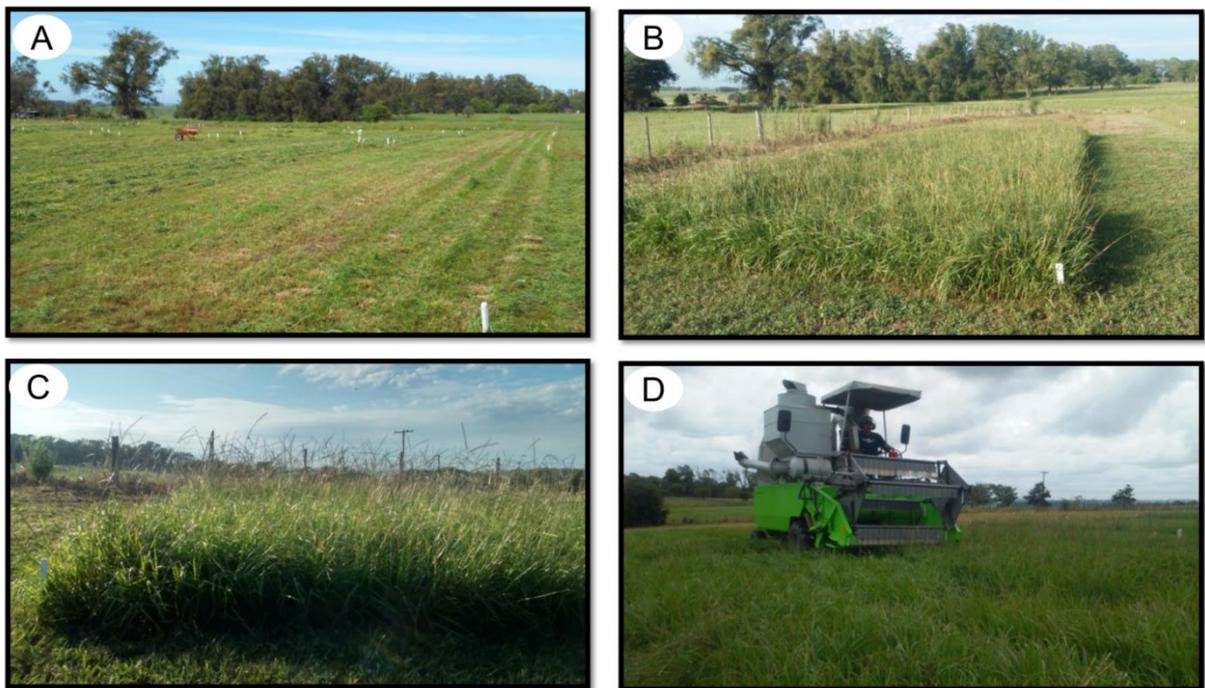


Figura 5 - Representação da primeira desfolha no segundo ano, conduzida apenas para remoção de material morto (A), bem como a condição das plantas no momento de pré (B-C) e pós-amostragem (D) de produção de sementes.

A elevada precipitação no final do ano de 2018 e no início do ano de 2019 contribuiu para o excessivo crescimento vegetativo, e uma desfolha foi conduzida – sem colheita de sementes - no dia 06 de janeiro de 2019. Após este processo houve a realização de uma fertilização nitrogenada, e uma colheita de sementes foi conduzida no dia 25 de fevereiro de 2019, juntamente com a realização de um procedimento de desfolha para colheita da forragem. Assim como na primeira desfolha de 2019, houve novamente excessivo crescimento vegetativo, e foi somado a um

baixo número de inflorescências. Reduzidos níveis de precipitação ocorreram após este momento e, a emissão de novas inflorescências foi extremamente baixa, e isto não possibilitou uma nova colheita de sementes. Houve um baixo crescimento vegetativo nesse momento, o que foi determinado com uma última desfolha no dia 12 de abril de 2019. O procedimento para determinação da qualidade das sementes colhidas foi novamente embasado nos procedimentos utilizados no primeiro ano de avaliações.

Os impactos negativos verificados pela restrição de água no segundo ano (reduzida emissão de inflorescências) motivaram a condução de um segundo experimento – sob condições controladas em casa de vegetação – para avaliar os impactos do estresse hídrico no início do estágio reprodutivo de plantas de grama forquilha. Além da utilização do genótipo tetraplóide avaliado no experimento de campo, também foram avaliadas respostas de um genótipo diplóide, representado pela utilização do cultivar Pensacola.

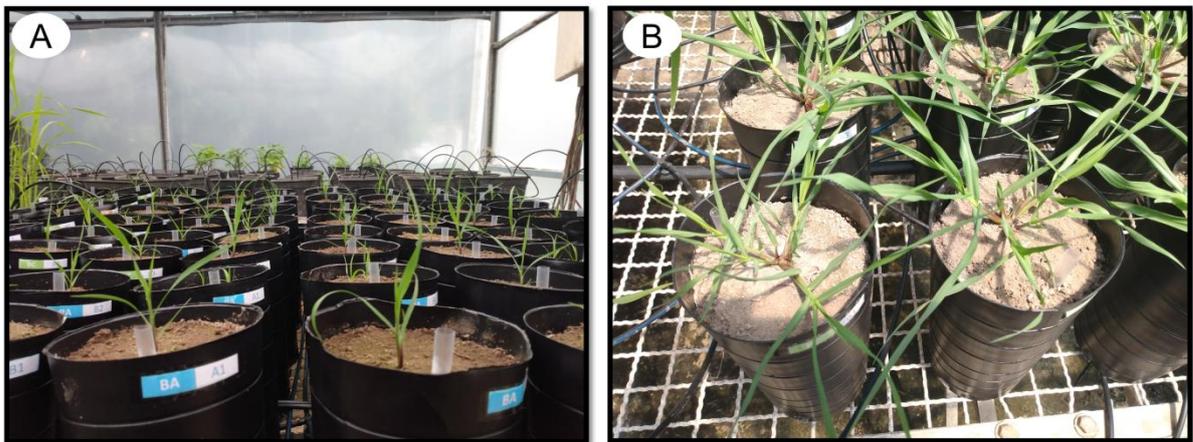


Figura 6 - Plantas de grama forquilha em desenvolvimento inicial (A) e no momento de aplicação da primeira fertilização nitrogenada (B).

Plântulas dos dois genótipos foram transplantadas para vasos de 1.8 litros (1 plântula por vaso) contendo solo previamente peneirado e fertilizado conforme recomendação da Sociedade de Ciência do solo (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO, 2004) A umidade do solo foi mantida em 80% da capacidade de armazenamento de água do solo, conforme protocolos baseados no método gravimétrico (COOPER, 2016)

Ao longo do crescimento as plantas foram fertilizadas com N e K, e aos 99 dias após o transplante das plântulas houve o estabelecimento dos seguintes níveis de

estresse hídrico: Manutenção da irrigação adequada (80% da CAA – Controle); seca (25% da CAA) e alagamento (Manutenção de uma lâmina de água de 5 cm). Estes mesmos níveis – os quais coincidiram com o surgimento dos primeiros perfilhos férteis – foram mantidos por um período de dez dias.

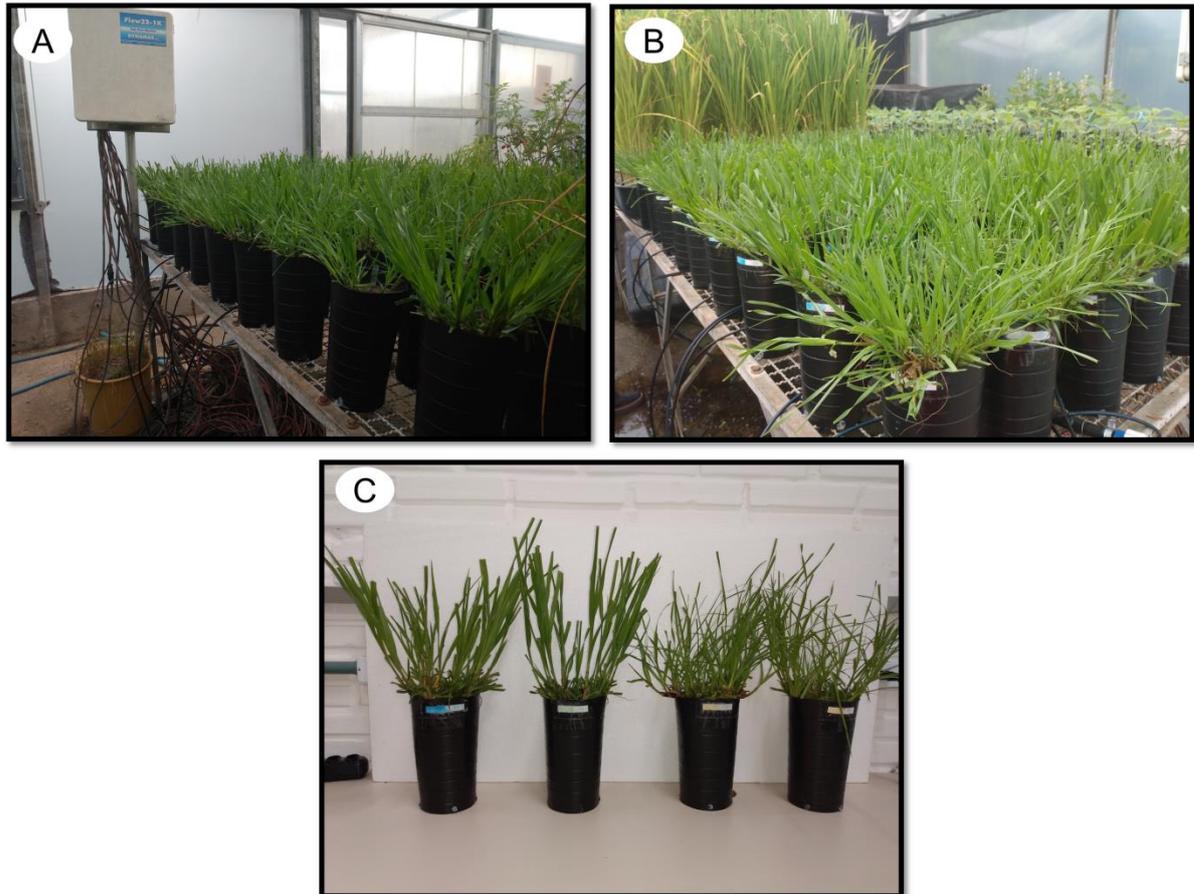


Figura 7 - Caracterização das plantas de grama forquilha após a desfolha de uniformização (A-B) e no dia anterior a implantação dos níveis do fator estresse hídrico (C), em que as duas plantas da esquerda e as duas da direita são exemplares tetraplóides e diplóides de grama forquilha, respectivamente.

Ao longo deste intervalo, foram realizadas avaliações de trocas gasosas (com auxílio de um analisador portátil) ao 0, 4, 8 e 10 dias, bem nas 24 horas aos sete dias após o reestabelecimento dos níveis adequados de irrigação. Análises destrutivas foram realizadas ao final do período de estresse (10º dia) e no 7º dia de recuperação. Estas análises foram constituídas da coleta de amostras - tanto de folhas quanto de raízes - para determinação de espécies reativas de oxigênio, da atividade antioxidante e também de moléculas que contribuem na osmorregulação das plantas. Também foram coletadas amostras para determinação do conteúdo relativo de água das folhas, bem como o extravasamento de eletrólitos nesta mesma estrutura.

Em acréscimo as avaliações fisiológicas e bioquímicas, avaliações morfológicas foram conduzidas no 10º dia de estresse hídrico e ao no 7º dia de recuperação. Além da contabilização de perfilhos férteis e vegetativos, nesta etapa as plantas foram separadas nos componentes folha, perfilhos totais mais rizomas, material morto e raiz. Estas mesmas estruturas foram alocadas em sacos de papel e colocadas em estufa para secagem. Todas estas mesmas avaliações foram novamente efetuadas aos 58 dias após o encerramento do período de estresse, momento este em que a colheita das sementes de cada planta foi realizada. Em somatório aos componentes estruturais da planta, também foram avaliados os principais componentes que influenciam no rendimento de sementes. Avaliações como número de inflorescências, número de racemos por inflorescências, comprimento dos racemos e número de sementes por planta foram avaliadas. Também foi realizada a avaliação do percentual de flores vazias por planta. As sementes colhidas tiveram sua qualidade avaliada no Laboratório Didático de Análise de Sementes da Universidade Federal de Pelotas com a realização dos testes de tetrazólio (verificação da viabilidade) e de germinação das sementes. O peso de mil sementes também foi verificado. Todos estes procedimentos foram realizados conforme metodologias utilizadas na avaliação da qualidade de sementes de grama forquilha.

4. Artigo 1: Produção de sementes de grama forquilha tetraplóide, ecótipo Bagual, em função do arranjo de plantas e do momento de colheita

Artigo escrito conforme as normas do periódico Grass and Forage Science (ISSN 1365-2449)

Produção de sementes de grama forquilha tetraplóide, ecótipo Bagual, em função do arranjo de plantas e do momento de colheita

Título resumido: Produção de sementes de grama forquilha tetraplóide

Gabriel S Bortolin¹, Yutcelia C Galviz², Carlos Eduardo S Pedroso³, João Carlos P Oliveira²

¹Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, RS, Brasil.

²Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, RS, Brasil.

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS, Brasil

Correspondência

Gabriel S. Bortolin, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, RS, Brasil.

E-mail: gabrielbortolin91@gmail.com

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001. Os autores agradecem ao professor Miguel Dall’Agnol (Universidade Federal do Rio Grande do Sul) pela disponibilização das sementes do genótipo estudado, e também ao assistente de pesquisa da Embrapa Pecuária Sul, senhor Harry Ebert, por seu auxílio na condução do experimento em campo.

Resumo

Embora genótipos de grama forquilha tetraplóide sejam caracterizados pela elevada produção de forragem quando comparados com genótipos diploides, trabalhos recentes reportaram que empecilhos vinculados à produção e qualidade de sementes – ao exemplo do momento de colheita – bem como ao estabelecimento inicial são características da espécie que independem do nível de ploidia. Por isto, o presente trabalho objetivou determinar o momento adequado para colheita das sementes de grama forquilha tetraplóide e estudar fatores associados à sementeira (densidade e espaçamento) que proporcionassem elevadas produtividades de sementes logo no primeiro ano de implantação. Os resultados obtidos mostram que a implantação via sementeira de 230 sementes viáveis possibilitou elevado rendimento de sementes no primeiro ano de implantação (315 kg ha^{-1}) e maior colheita de forragem durante o segundo ano de avaliações. No entanto, a produtividade de sementes no segundo ano após a implantação não foi afetada pelos fatores associados a sementeira. A maturação das sementes de grama forquilha tetraplóide é um processo desuniforme e que o momento adequado para colheita das sementes – com base no percentual de sementes viáveis – pode ser determinado a partir de dois indicativos: o primeiro é visual, o qual está vinculado à presença inicial de degrana em aproximadamente 10%, enquanto o segundo é um método direto, com base na umidade das sementes, em que um percentual igual ou inferior a 33% deve ser preconizado. Com o aumento do percentual de sementes viáveis há um aumento linear do percentual de degrana das sementes. Todavia, o percentual de umidade de sementes - importante indicador de colheita - possui baixa variação após este momento e permanece próximo a 33%. Portanto, a densidade de sementeira e a época de colheita das sementes foram fatores determinantes na produtividade de sementes de grama forquilha tetraplóide.

Palavras-chave

Paspalum notatum Flüggé, degrana, densidade de semeadura, qualidade das sementes, maturação de sementes

1. INTRODUÇÃO

Gramma forquilha (*Paspalum notatum* Flüggé) é uma planta rizomatosa - com hábito de crescimento prostrado - que ocupa uma importante função ao ser uma das gramíneas mais frequentes nos campos naturais localizados no cone-sul do continente americano. Este mesmo ambiente – muitas vezes inóspito pelas frequentes restrições hídricas e elevadas temperaturas no verão – exige resiliência das espécies que o habitam; um atributo que parece não faltar a grama forquilha. Esta mesma espécie possui importantes mecanismos – como de exploração do solo pelas raízes – que contribuem para tolerar períodos de déficit hídrico e ao alagamento não prolongado (Severmutlu et al., 2011; Sigua et al., 2012; Boeri et., 2020).

Assim como em diversas espécies, o tema produtividade – com o intuito principal de maior eficiência e sustentabilidade das pastagens - também é motivo de estudos em grama forquilha. Neste tópico, trabalhos recentes têm destacado benefícios sobre este importante item a um fator: o nível de ploidia. Quanto a produção de forragem genótipos tetraploides têm se destacado em relação aos diploides a exemplo dos cultivares Boyero UNNE na Argentina (Urbani et al., 2016) e INIA Sepé no Uruguai (Giorello et al., 2021). No Brasil, o ecótipo tetraplóide Bagual ($2n = 4x = 40$) - com origem no planalto médio do estado do Rio Grande do Sul - apresentou produção de forragem sete vezes superior ao tradicional cultivar diplóide ($2n = 2x = 20$) Pensacola (Weiler et al., 2018).

Embora os genótipos tetraplóides de grama forquilha tenham maior potencial de produção de forragem do que cultivares diploides, os empecilhos vinculados à produção de sementes parecem ser independentes do nível de ploidia. Ao avaliar a produção de sementes do cultivar tetraplóide INIA Sepé durante dois anos experimentais, Bertoncilli (2018) observou altos

índices de degrana, embora não quantificado, indica a necessidade de estudos relacionados ao momento ideal de colheita. Além da degrana, outros problemas dificultam o processo de produção de sementes de grama forquilha, ao exemplo da desuniformidade na emissão de inflorescências (Lopes & Franke, 2011a) e na maturação das sementes na própria inflorescência (Burton, 1942). Identificar o momento adequado para se efetuar a colheita de sementes de grama forquilha tetraplóide poderá contribuir de forma expressiva não somente para a obtenção de elevados rendimentos, mas também para a obtenção de sementes com elevada qualidade. Segundo Leprince et al. (2017), o estágio de maturação na colheita é o principal fator que influencia a longevidade das sementes e o estabelecimento das plântulas.

O processo de implantação também é visto como um empecilho para a grama forquilha. Em contraste a limitação do método de implantação via transplante de mudas, a semeadura em linha permite a abrangência de áreas de maior extensão, embora Busey (1989) ressalte acúmulo lento de biomassa e baixa capacidade competitiva das plantas durante o estabelecimento. Assim como no transplante de mudas, a umidade do solo também é um importante fator para a obtenção de sucesso na implantação via semeadura em linha (Newman et al., 2011), o que também é dependente da qualidade das sementes utilizadas. Sobre este último fator, Souza et al. (2020) relataram que uma boa implantação de grama forquilha pode ser obtida com a semeadura de 250 sementes por metro linear, com espaçamento de linhas de 20 cm. A falta de informações para genótipos tetraplóides – distinguidos de genótipos diploides pelo seu crescimento vigoroso e boa produção de forragem – constitui uma lacuna sobre sua implantação.

Tão relevante quanto a densidade de semeadura, o espaçamento entre linhas de semeadura constitui um importante fator no arranjo das plantas. Embora haja recomendações para a adoção de espaçamentos inferiores (18 - 20 cm), a escolha por espaços maiores entre as linhas de semeadura poderia beneficiar o controle mecânico de espécies invasoras caracterizadas por

possuírem maior velocidade de crescimento inicial que grama forquilha, e até mesmo favorecer a semeadura associada entre espécies do gênero *Paspalum* com forrageiras leguminosas, método promissor que têm se mostrado benéfico não somente ao estabelecimento, mas para a diversificação e resiliência da pastagem (Jaramillo et al., 2018; Sanchez et al., 2019).

Apesar dos diversos estudos que destacam o valor forrageiro de genótipos tetraplóides de grama forquilha, informações sobre o seu estabelecimento via semeadura em linha e também sobre o momento da colheita das sementes são necessárias para beneficiar o importante e fundamental sistema de produção de sementes. Por este motivo, o presente estudo teve como objetivo determinar os impactos da densidade de semeadura - efetuada na primavera - e do espaçamento entre linhas na produção de sementes de grama forquilha tetraplóide logo no primeiro e segundo ano após a implantação, bem como acompanhar a curva de maturação e determinar o momento adequado para efetuação da colheita de sementes de grama forquilha tetraplóide.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Experimento no campo

2.1.1 Local

O experimento foi conduzido em uma área experimental na unidade da Embrapa Pecuária Sul, em Bagé, RS - Brasil (31°21'09"S, 54°01'13"W; altitude de 229 m). O clima da região, segundo a classificação de Köpen, corresponde ao mesotérmico, tipo subtropical, classe Cfa com predominância de períodos de restrição hídrica durante a estação quente do ano. Dados de temperatura e precipitação – presentes na Figura 1 - foram obtidos ao longo do período experimental (outubro de 2017 até maio de 2019) a partir de uma estação meteorológica

automática (código A827) do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) localizada a 860 metros de distância da área experimental.

O solo da área experimental é classificado por Streck et al. (2008) como um Luvissoilo Háptico Órtico Típico, o qual é caracterizado por elevada saturação por bases. Efetuada a determinação química do solo no local, foram obtidos os seguintes valores: pH água: 5,0; Ca: 5,1 cmolc dm³⁻¹, Mg: 2,3 cmolc dm³⁻¹; Al: 0,80 cmolc dm³⁻¹; H+Al: 4,9 cmolc dm³⁻¹; CTC efetiva: 8,6 cmolc dm³⁻¹; matéria orgânica: 2,49 %; argila: 20 %; P (Mehlich): 68 mg dm³⁻¹; K: 117 mg dm³⁻¹; CTC pH7: 12,7 cmolc dm³⁻¹.

2.1.2 Preparo da área, semeadura e fertilização

A preparação da área experimental foi iniciada no mês de agosto de 2017 com a realização de duas gradagens do solo. O processo de semeadura – efetuado no dia 27 de outubro de 2017 – foi precedido pela aplicação de um herbicida de ação total (glifosato) para eliminação de plantas invasoras (elevada frequência de espécies dos gêneros *Digitaria* e *Cyperus*) presentes na área. As sementes do ecótipo tetraplóide Bagual ($2x = 4n = 40$) – originário da região do planalto médio do estado do Rio Grande do Sul, Brasil – utilizadas neste experimento foram colhidas em uma área experimental da Universidade do Rio Grande do Sul e caracterizadas por um peso de mil sementes de 3,17 g e viabilidade de 65%. A semeadura ocorreu em dois espaçamentos entre linhas (20 e 40 cm) e em três níveis de densidade (90, 160 e 230 sementes viáveis m²), procedimento efetuado com uma semeadora manual modelo Multi-Star – ECM (Outils Wolf, Wissembourg – França). Trabalhos anteriormente conduzidos com o objetivo de avaliar a implantação de espécies do gênero *Paspalum* contribuíram na escolha dos níveis dos dois fatores avaliados no presente trabalho (Busey 1989; Hare et al. 2004). Este experimento foi delineado como blocos ao acaso com três unidades experimentais (três blocos) por tratamento. Cada um destes três blocos foi constituído de seis parcelas com 10 m² (5x2 m), resultado da combinação dos níveis de cada fator avaliado (fatorial – 2x3).

A primeira fertilização das plantas foi efetuada a lanço no dia 20 de dezembro de 2017 (54 dias após a semeadura) com a aplicação de 111 kg ha⁻¹ de fosfato diamônico e 86 kg ha⁻¹ de cloreto de potássio, conforme interpretação da análise química do solo e recomendação do Manual de Adubação e Calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2004). No dia posterior a este procedimento, foi efetuada uma fertilização com 50 kg ha⁻¹ de N (111 kg ha⁻¹ de uréia).

A reduzida precipitação após o período de semeadura (Figura 1) exigiu o uso da irrigação para promover um adequado estabelecimento das plantas no primeiro ano. Para isto foi instalado um sistema de gotejamento individual para cada bloco no dia 18 de dezembro de 2017 (dois dias antes da fertilização com P e K) e utilizado até a última semana de fevereiro de 2018. As irrigações foram efetuadas em intervalos de sete dias e o critério de cessamento foi a visível saturação do solo (início do acúmulo de água na superfície).

Devido à desuniformidade na emergência das plântulas, um corte de sincronização foi realizado no dia 22 de fevereiro de 2018 com o objetivo de padronizar a emissão de inflorescências e estimular a ocupação dos espaços entre linhas pelas plantas, as quais apresentavam uma altura média de 25 cm (pré-desfolha) e foram reduzidas para sete cm (pós-desfolha). Uma nova fertilização com N - 50 kg ha⁻¹ na forma de uréia – foi realizada no dia posterior a este procedimento.

2.2 Avaliações efetuadas no campo

2.2.1 Densidade e espaçamento na semeadura

As duas linhas centrais de cada parcela tiveram o comprimento de 1 m - localizado no centro das duas linhas ao longo de seus 5 metros – demarcado para contabilização do surgimento de inflorescências em intervalos de três dias. Este mesmo procedimento foi iniciado juntamente com a seleção de inflorescências para a curva de maturação das sementes no dia 9 de março

de 2018, todavia foi finalizado com a colheita de suas sementes ao final da oitava contabilização (24 dias).

No segundo ano de avaliação, um primeiro procedimento de desfolha foi realizado no dia cinco de outubro de 2018 para remoção da predominante presença de material morto resultante das baixas temperaturas da estação fria. Uma fertilização com P e K – aplicada no dia seguinte da desfolha - foi efetuada na mesma quantidade que a utilizada no primeiro ano de avaliação. Também foram aplicados 100 kg ha^{-1} de N – na forma de uréia – fracionados em duas aplicações de 50 kg ha^{-1} nos dias seis e 27 de outubro.

Uma nova desfolha – agora para remoção do excessivo crescimento vegetativo – foi realizada no dia 8 de janeiro de 2019. Devido a predominante ocupação dos espaços entre as linhas de semeadura (ausência de definição das linhas), um quadro de $1 \times 0.5 \text{ m}$ foi utilizado para as avaliações no segundo ano, o qual foi posicionado no centro de cada parcela em sentido transversal. A colheita de forragem dentro deste quadro foi realizada com auxílio de uma tesoura elétrica de uso manual modelo DK18082x1 (Makita, Nagoia - Japão). Nesta primeira desfolha, as plantas apresentavam uma altura de aproximadamente 30 cm e foram reduzidas até sete cm após este procedimento. Além da colheita de forragem, foi efetuada a contabilização do número de perfilhos dentro de cada quadro e os valores foram expressos em perfilhos totais m^2 . Uma nova fertilização com N (50 kg ha^{-1}) foi realizada no dia posterior à desfolha. As amostras de forragem colhidas em cada parcela foram colocadas em sacos de papel e mantidas em estufa de ar forçado (temperatura de 60°C) por um período de 72 horas. Após a secagem, as amostras foram pesadas e os valores foram convertidos para kg de massa seca de forragem ha^{-1} .

Uma nova colheita de forragem – acompanhada da colheita das sementes – foi efetuada no dia 25 de fevereiro de 2019. Amostras de forragem e a contabilização do número de perfilhos totais - foram efetuados da mesma maneira relatada para a primeira desfolha

(com área de 0,5m x 1m). Previamente a este procedimento, foi efetuada a colheita manual e a contabilização do número de inflorescências. Uma nova fertilização com N (50 kg ha⁻¹) foi efetuada após este procedimento. No dia 12 de abril de 2019 foi realizada uma última desfolha – mas sem colheita de sementes - no segundo ano experimental. Procedimentos de avaliação (colheita de forragem e contabilização de perfilhos) foram realizados da mesma forma citada para as desfolhas anteriores. Este último procedimento foi efetuado com a altura média das plantas de aproximadamente 20 cm.

2.2.2 Curva de maturação das sementes

O monitoramento das características reprodutivas foi iniciado no dia 9 de março de 2018 (ano 1), mais precisamente 15 dias após a desfolha de uniformização. Naquele momento, cada um dos três blocos teve um número de 45 inflorescências - situadas nas linhas laterais de cada parcela - em estágio de desenvolvimento semelhante (predominância de flores com anteras expostas), as quais foram identificadas com fios elétricos coloridos. A escolha por inflorescências situadas na lateral das parcelas teve como objetivo de evitar possíveis efeitos dos fatores vinculados ao arranjo de plantas. A determinação da curva de maturação das sementes foi iniciada três dias após o processo de identificação das 45 inflorescências. Para isso foram colhidas cinco inflorescências – escolhidas aleatoriamente – em cada um dos três blocos. Este mesmo procedimento foi realizado em intervalos de três dias e foi finalizado na colheita número nove (27 dias após a escolha das inflorescências), momento em que o nível médio de degrana foi de 49 %.

2.3 Qualidade das sementes

Metodologias, para determinar a qualidade das sementes colhidas nos dois anos de avaliação, foram efetuadas conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). As cinco inflorescências coletadas em cada bloco ao longo da curva de maturação (a cada três dias) tiveram o percentual de degrana determinado com a contabilização de sementes ausentes ao

longo dos racemos. A contabilização das sementes remanescentes em cada inflorescência - após remoção manual - permitiu obter o percentual de degrana com o auxílio da seguinte fórmula: $(\text{sementes desprendidas} / [\text{sementes desprendidas} + \text{sementes remanescentes}]) \times 100$. A média entre as cinco inflorescências constituiu o percentual de degrana em cada unidade experimental (bloco).

Após o desprendimento manual e contabilização, três sub-repetições contendo 50 sementes de cada bloco foram utilizadas para determinar seu teor de água. Este procedimento consistiu em alocar as sementes em pequenas cápsulas de cerâmica (cadinhos), as quais foram mantidas em uma estufa a 105°C por 24 horas. Para o cálculo do percentual de umidade a seguinte fórmula foi utilizada: $100 \times (\text{peso do recipiente com a semente úmida} - \text{peso do recipiente com a semente seca}) / (\text{peso do recipiente com a semente seca} - \text{peso do recipiente})$. A redução do percentual de umidade (secagem) das sementes remanescentes ocorreu com sua alocação em bandejas que foram mantidas em ambiente de laboratório (20°C e umidade relativa de 50%) por um período de 25 dias.

Após o período de secagem, as sementes de cada unidade experimental foram novamente contabilizadas e também pesadas. O conhecimento destes valores permitiu a obtenção do peso de mil sementes (g), calculado com o uso da seguinte fórmula: $(1000 \times \text{peso da mostra de sementes}) / \text{número de sementes na amostra}$. Os percentuais de sementes viáveis, inviáveis (mortas) e vazias foram determinados com o uso do teste de tetrazólio. Estas mesmas categorias podem ser observadas na Figura 3. Para este procedimento, duas sub-repetições de 50 sementes de cada bloco foram acondicionadas em água por 24 horas e depois divididas no sentido longitudinal com o uso de uma lâmina. Uma das metades de cada semente foi colocada em um frasco de vidro contendo uma solução de tetrazólio (0.05%), os quais foram mantidos em um ambiente com ausência de luz e com temperatura de 41°C. Após este período, os percentuais de viabilidade foram determinados com a verificação da

coloração do embrião (vermelho carmim) em cada uma das sementes. O resultado de cada categoria - viáveis inviáveis e vazias – para cada um dos três blocos foi obtido com a média entre as duas sub-repetições.

O protocolo estabelecido por West (1992) – com adaptações - foi utilizado para o teste de germinação. Quatro sub-repetições de 50 sementes obtidas em cada bloco em cada uma das nove datas de colheita foram primeiramente escarificadas com o uso de uma lixa número 40. Estas mesmas sementes foram submetidas a um envelhecimento precoce (41°C e 100% da umidade relativa do ar) por 96 horas. Após estes procedimentos para superação da dormência, as sementes foram alocadas em caixas de acrílico modelo Gerbox contendo um papel específico para germinação umedecido com uma solução de nitrato de potássio (0.2%) em 2.5 vezes seu peso. Estas caixas contendo as sementes foram alocadas em um germinador com condições de luminosidade (8 horas) e temperatura alternada (35 – 20°C). A contabilização de sementes germinadas – obtida com o critério de plântulas normais - ocorreu aos 28 dias após a instalação do respectivo teste. O valor de cada bloco em cada data de colheita foi obtido com a média das quatro sub-repetições e expresso em percentual.

Amostras contendo 200 mg de sementes colhidas em cada bloco ao longo das nove datas de colheita tiveram seu conteúdo de amido determinado conforme protocolo estabelecido por McCready (1950). Estas mesmas amostras foram maceradas em solução MCW (metanol, clorofórmio e água) na proporção 12:5:3. Depois de centrifugado a 2000 rpm, o sobrenadante foi coletado e o precipitado foi desidratado em estufa a 30°C por 48 horas. Este precipitado foi novamente suspenso em ácido perclórico 30% e agitado em um agitador orbital e novamente centrifugado. O sobrenadante (50 uL) foi adicionado em um tubo de ensaio contendo uma solução de antrona e incubadas em banho (90°C) por 20 minutos. Após a obtenção da temperatura ambiente, leituras foram realizadas em

espectrofotômetro (620 nm). O conteúdo de amido (mg g^{-1}) foi obtido a partir da comparação com valores verificados em uma curva com albumina.

Os protocolos utilizados na curva de maturação para secagem das sementes, seu peso, umidade viabilidade e também germinação foram utilizados para as sementes colhidas para determinar os impactos da densidade de semeadura e do espaçamento entre linhas. No entanto, as sementes colhidas em cada bloco foram submetidas a um procedimento de sopragem para remoção de sementes vazias com auxílio de um soprador modelo South Dakota (Deleo, Porto Alegre-Brasil). Diferente das avaliações conduzidas para determinar a curva de maturação das sementes, todas as variáveis avaliadas – inclusive a produção de sementes e o número médio de sementes por inflorescência – foram determinadas com as sementes remanescentes após a sopragem. Para variáveis em que a contabilização total das sementes foi necessária, um contador eletrônico ESC 2011 Comp (Sanick, Chapecó, Brasil) foi utilizado.

2.4 Análise estatística

Obtidos a partir de um delineamento em blocos casualizados (três blocos), os dados coletados a partir da combinação dos três níveis de densidade e dos dois níveis de espaçamento (fatorial 2×3) - quando significativos na ANOVA - foram submetidos ao teste de Tukey ($P > 0.05$) para comparação de médias. Uma análise de regressão foi efetuada individualmente para cada tratamento para representar a tendência na emissão das inflorescências. Os dados referentes à curva de maturação de sementes foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, havendo significância pelo teste F ($P > 0.05$), análises de regressão e de comparação de médias (Tukey $P > 0.05$) foram utilizadas. Uma análise multivariada de componentes principais (PCA) foi utilizada para detectar possíveis agrupamentos entre variáveis dependentes analisadas e para definir a variável mais importante para distinguir os dias de colheita. As análises foram efetuadas com auxílio do software Sisvar (Ferreira, 2019).

3. RESULTADOS

3.1 Impactos da densidade de semeadura sobre a produção e qualidade das sementes

As características reprodutivas das plantas no primeiro ano de implantação foram influenciadas pelos fatores densidade de semeadura e pelo espaçamento entre linhas. O ajuste de modelos lineares e individuais para cada tratamento ao longo do monitoramento da emissão de inflorescências – iniciado 15 dias após a desfolha de uniformização – permite constatar a partir da equação gerada que no espaçamento de 20 cm entre linhas, para a densidade de semeadura 230 sementes viáveis m^{-2} houve a emissão diária de 6 inflorescências m^{-2} , enquanto que com o tratamento 90 sementes viáveis m^{-2} houve um acréscimo diário de 2,0 inflorescências m^{-2} . No espaçamento 40 cm foram observados acréscimos diários de 2,11, 2,3 e 4,2 inflorescências m^{-2} quando avaliadas as densidades de 90, 160 e 230 sementes viáveis m^{-2} , respectivamente (Figura 2).

Não houve interação entre os fatores densidade e espaçamento para o número final de inflorescências no último dia de monitoramento (dia 24), momento em que a colheita das sementes foi realizada (Tabela 1). A semeadura de 230 sementes viáveis m^{-2} proporcionou o maior número de inflorescências m^{-2} (152 inflorescências), do que o obtido com apenas 90 sementes viáveis m^{-2} (58 inflorescências), sendo semelhante a densidade de 160 sementes m^{-2} . Houve efeito simples de espaçamento no número de inflorescências m^{-2} cujo espaçamento de 20 cm proporcionou um número de inflorescências 32% superior ao 40cm (Tabela 1).

Os tratamentos estudados não influenciaram no número de sementes por inflorescências (59,5) e no peso de mil sementes (3,57 g), já o rendimento de sementes foi afetado apenas pelo fator densidade de semeadura (Tabela 1), cuja densidade de 230 sementes m^{-2} promoveu maior rendimento de sementes (315 $kg\ ha^{-1}$), do que o obtido com a semeadura de 90 sementes m^{-2} (116 $kg\ ha^{-1}$).

Apesar dos expressivos efeitos sobre as variáveis vinculadas ao rendimento, a

qualidade das sementes produzidas não foi afetada pelos tratamentos. Valores médios de 85 e 47 % foram verificados para as variáveis viabilidade e germinação de sementes, respectivamente (Tabela 1).

Rendimento de forragem

As primeiras avaliações conduzidas no segundo ano experimental permitem constatar a presença de efeitos gerados pelos tratamentos aplicados no ano de estabelecimento (Tabela 2). Resultados obtidos na primeira desfolha mostram que a produção de forragem foi beneficiada pelas maiores densidades de semeadura. Plantas provenientes da densidade 230 sementes m^{-2} proporcionaram a produção de 3.250 $kg\ ha^{-1}$ de massa seca de forragem, estatisticamente semelhante ao obtido na densidade de 160 sementes m^{-2} (2.287 $kg\ ha^{-1}$), todavia superior ao obtido na menor densidade (1.922 $kg\ ha^{-1}$). O número de perfilhos totais também foi influenciado por este mesmo fator. Para esta variável, valores de 765.9, 591.3 e 455.9 perfilhos m^{-2} foram obtidos com as densidades de 230, 160 e 90 sementes m^2 , respectivamente (Tabela 2).

Diferente ao verificado na primeira desfolha, a segunda desfolha não foi influenciada pelos tratamentos. Os valores médios foram de 2.493 $kg\ ha^{-1}$ de massa de forragem e de 541 perfilhos m^{-2} . Assim como para a colheita de forragem não foram observados efeitos de tratamento na produção de sementes. Um número médio de 41 inflorescências m^2 foi verificado no segundo ano, seguida de valores médios de 75 sementes por inflorescência, peso de mil sementes de 3.41 g e uma produção de 106 kg de sementes ha^{-1} . A qualidade da semente também não foi influenciada pelos tratamentos. Valores médios de 82 e 22 % foram obtidos para as variáveis de viabilidade e germinação das sementes, respectivamente (Tabela 3).

O último procedimento de desfolha realizado tardiamente (início do outono) no segundo ano de avaliações mostra que a produção de forragem foi significativamente

influenciada pelo fator espaçamento (Tabela 2). Embora a presença de um número estatisticamente similar de perfilhos totais (438.6), parcelas com espaçamento de 40 cm apresentaram uma produção de forragem 22% superior ao produzido com o tratamento 20 cm.

3.2 Qualidade das sementes ao longo da curva de maturação

O primeiro dia de colheita na determinação da curva de maturação (dia 0) proporcionou sementes com um elevado percentual de umidade 47% (Figura 4) e foi caracterizado pelo surgimento das primeiras sementes viáveis (3%) (Figura 5). Esta mesma colheita proporcionou um baixo peso de mil sementes (2.24 g), ao mesmo tempo em que predominou o percentual de sementes inviáveis (Figura 5). Enquanto o segundo dia de colheita (dia 3) tenha mantido percentuais semelhantes aos do dia 0, elevados percentuais de viabilidade foram verificados a partir do sexto dia de colheita (46%), ao mesmo tempo em que uma expressiva redução de 13% foi observada no percentual de umidade das sementes. O ajuste quadrático verificado para viabilidade das sementes permite constatar que o valor de 60% foi o ponto de máxima para esta variável, obtido no 16º dia após o início da colheita. Ajuste quadrático também ocorreu para a umidade das sementes, em que um menor valor para esta variável (30.8%) foi verificado no 19º dia após a primeira colheita. Esta última variável – umidade das sementes – apresentou baixa variação a partir da colheita efetuada no dia 6 (33% de umidade), valor que perdurou com baixa oscilação até último dia de colheita. A obtenção de um ajuste quadrático para a variável peso de mil sementes mostra que o ponto de maior acúmulo de massa (3.27 g) foi obtido com a colheita realizada no dia 14 (Figura 5).

Enquanto percentuais estatisticamente semelhantes de viabilidade foram verificados entre os dias 6 e 21 pelo teste de comparação de médias (Figura 6), é possível verificar no percentual de germinação das sementes que valores expressivos ocorreram a partir da colheita efetuada no dia 9, ao mesmo tempo em que valores superiores foram encontrados entre as colheitas dos dias 18 e 21 (Figura 5). O ajuste quadrático para esta mesma variável – presente

na Figura 4 - permite constatar que o valor máximo de germinação (38%) ocorreu no 19º dia após a primeira colheita. Incremento linear no conteúdo de amido das sementes ocorreu ao longo dos intervalos de colheita (0.064 mg a partir da primeira colheita), embora o percentual de degrana tenha sido superior ao de sementes viáveis na última colheita (Figura 4). Com um ajuste linear a partir da colheita do dia 9 (com 5.7%), a taxa de degrana teve um acréscimo diário de 2.1% a partir deste citado momento. Embora o percentual de degrana possa ser utilizado como um indicativo para colheita das sementes (como verificado na colheita do dia 9), a colheita efetuada no dia 15 mostra que o percentual de sementes viáveis deixa de compor o maior percentual entre os componentes de produção (como verificado em colheitas anteriores) e divide esta colocação (estatisticamente semelhante) com o percentual de sementes perdidas por degrana (Figura 6).

A análise de componentes principais possibilitou estratificar as datas de colheita em grupos distintos (Figura 7). Nesta análise, os dois primeiros componentes apresentaram 76.85 % da variação total. O primeiro componente acumulou 61.55 % da variação e as variáveis percentuais de umidade e de sementes inviáveis estiveram fortemente carregadas (0.43 e 0.42, respectivamente) neste componente e associadas com as duas colheitas iniciais. Enquanto datas intermediárias de colheita (dias 9, 12 e 15) estiveram predominantemente associadas com as variáveis peso de mil sementes (PMS) e sementes viáveis (0.34 e 0.43, respectivamente), datas tardias (21 e 24) foram associadas ao conteúdo de amido (0.57) e ao percentual de degrana (0.34), ambas variáveis fortemente incidindo no segundo componente principal que acumulou 15.30 % da variação.

DISCUSSÃO

4.1 Impactos do arranjo de plantas na produção de sementes ao longo de dois anos

As dificuldades que envolvem a produção de sementes de grama forquilha abrangem não somente atributos reprodutivos durante a colheita. Empecilhos a este processo são atribuídos a partir da semeadura e no seu estabelecimento inicial. Estudos recentes - inclusive com genótipos tetraploides - têm evitado este tipo de problema ao utilizar o transplante de mudas para a área definitiva, método que assegura um adequado estabelecimento e permite avaliações já no primeiro ano de implantação. Todavia, a implantação de áreas com maior extensão é um obstáculo para este método de estabelecimento e, faz com que o processo de semeadura seja a opção viável para esta situação, embora Busey (1989) ressalte acúmulo lento de biomassa e baixa capacidade competitiva das plantas durante o estabelecimento.

A implantação via semeadura linear é tradicionalmente conhecida por proporcionar baixo revolvimento do solo (apenas na linha de semeadura) e possibilitar condições ideais (umidade e também profundidade) para a germinação e adequado estabelecimento de grama forquilha. Sobre este método, Souza et al. (2020) salientam que espaçamentos inferiores facilitam o controle de plantas invasoras e, que 200 a 250 sementes viáveis por metro linear são recomendadas. No presente trabalho, a opção pela maior densidade de semeadura (230 sementes viáveis m^{-2}) proporcionou quase três vezes mais inflorescências m^{-2} ao observado na menor densidade (90 sementes m^{-2}) e proporcionou uma produtividade de 315 kg de sementes ha^{-1} . Estes resultados são positivos quando comparados com outros trabalhos envolvendo a produção de sementes de genótipos tetraplóides de grama forquilha, ao exemplo dos 129 kg de sementes viáveis ha^{-1} , também com o genótipo Bagual, reportados por Souza (2019). Embora os resultados obtidos neste experimento sejam positivos para o primeiro ano, Bertocelli (2018) estudando níveis de adubação nitrogenada e diferentes momentos de desfolha relatou que os melhores tratamentos – aplicados ao genótipo tetraplóide INIA Sepé geraram produções de sementes próximas de 1000 kg ha^{-1} , o que ressalta o elevado potencial de produção de sementes de genótipos tetraplóides de grama forquilha.

A produção de sementes no primeiro ano não foi influenciada pelo espaçamento utilizado no momento da semeadura, no entanto, alguns benefícios da escolha por um maior espaçamento devem ser ressaltados: Maior estabilidade (menor variação) entre unidades experimentais para as variáveis número de inflorescências e produção de sementes. Além disso, sua adoção facilita a utilização de métodos mecanizados de controle de invasoras (Weis et al., 2008). O espaçamento de 40 cm entre linhas associado a densidade de semeadura de 230 sementes m² pode fornecer vantagens no estabelecimento de grama forquilha consorciada com espécies de leguminosas forrageiras, uma interessante ferramenta de diversificação constatada por Hare et al. (2004) com *Paspalum atractum*. Glison et al. (2020) sugerem que a semeadura de espécies de *Paspalum* no início do outono combinada com espécies de estação fria pode ser possível para estabelecer pastagens mistas em regiões temperadas quentes. Inclusive, estudos recentes relatam que implantação associada gera benefícios para a pastagem (Tracy et al. 2018; Sanchez et al. 2019; Santos et al. 2020).

A utilização de técnicas de manejo recomendadas para um adequado estabelecimento de grama forquilha tetraplóide provavelmente foi o principal motivo para uma positiva produção de sementes no primeiro ano de implantação. A semeadura, considerada um momento crítico ao estabelecimento, foi realizada no início da primavera, coincidindo com precipitações favoráveis para a germinação das sementes e para a emergência das plântulas. Gates & Dewald (1998) ressaltaram que esta mesma condição - umidade do solo – possui uma importante contribuição no estabelecimento de grama forquilha, embora diferenças no estabelecimento possam ser observadas entre genótipos (Anderson et al. 2009). O uso da irrigação – a qual permitiu evitar a exposição a baixa disponibilidade de água no verão - juntamente com uma adequada fertilização são práticas de manejo relatadas por Newman et al. (2011) como fundamentais para o sucesso do primeiro ano de estabelecimento.

A desfolha de uniformização – efetuada no primeiro ano após 118 dias da semeadura – juntamente com a fertilização nitrogenada são consideradas práticas de manejo que beneficiam a produtividade de sementes de grama forquilha. Sobre este tema, Adjei et al. (1992) constataram que a remoção de resíduos por queima ou corte antes do primeiro estágio visível do racemo na planta, seguida pela aplicação de 50 kg N ha^{-1} , produziu altos rendimentos de sementes de grama forquilha e com elevada qualidade. Rios et al. (2020) também constataram a partir de um experimento conduzido na Flórida-EUA, que o uso do desfolhamento no final da primavera seguido por uma aplicação de 60 kg N ha^{-1} proporcionam maiores rendimentos de sementes de grama forquilha.

Os impactos negativos da baixa densidade de semeadura (90 sementes viáveis m^2) também ocorreram na primeira desfolha, realizada x meses após a implantação. Todavia, as colheitas de forragem posteriores, bem como a colheita de sementes no início do outono do segundo ano, mostram que o povoamento das plantas em parcelas com menor densidade proporcionou um nivelamento entre os níveis de densidade de semeadura. Estes resultados corroboram com o relatado por Gates & Mullahey (1997), os quais constataram que o aumento da taxa de semeadura de grama forquilha forneceu o único preditor confiável de aumento da taxa de estabelecimento, mas a vantagem foi de curta duração porque povoamentos adequados foram obtidos dentro de dois anos para todas as taxas de semeadura. Quando somada a produção das três desfolhas, a produção total de matéria seca de forragem foi de 5.847 kg . Ao conduzir um estudo por dois anos experimentais, Souza (2019) verificou uma produção média de forragem no verão próximo de 6.000 kg ha^{-1} , enquanto que para produção anual foram verificados valores próximos de $10.000 \text{ kg ha}^{-1}$ evidenciando elevada capacidade de produção de forragem deste genótipo.

A produção de sementes no segundo ano após a implantação não foi afetada pelos tratamentos de densidade e espaçamento de semeadura, corroborando com os valores

verificados na segunda colheita de forragem. Estes resultados ressaltam a eficiência na ocupação dos espaços e do povoamento por grama forquilha, potencial ressaltado por Gates & Mullahey (1997). Embora a produção de sementes no segundo ano tenha sido caracterizada pela estabilização entre os tratamentos, é possível constatar que a produtividade média obtida é inferior ao potencial de produção verificado em genótipos tetraplóides observados por Bertoncelli, 2018 e por Souza, 2019) e, inclusive, inferiores aos melhores resultados no primeiro ano de produção.

A baixa quantidade de inflorescências no segundo ano, uma variável diretamente relacionada com a produção de sementes de grama forquilha (Lopes & Franke, 2001b), provavelmente possa estar vinculada a baixa precipitação após a segunda colheita de forragem no mês de fevereiro, uma vez que estudos com esta mesma espécie relatam que a produtividade é significativamente afetada em anos de baixa precipitação. Ao avaliar por dois anos os impactos ocasionados pela data de desfolha e por níveis de adubação nitrogenada em grama forquilha, Adjei et al. (2000) constataram que a distribuição de chuva no primeiro ano (1989) resultou numa densidade de perfilhos e racemos mais alta, uma melhor resposta ao N e uma maior produção de sementes para os tratamentos de remoção de resíduos no final de abril e final de maio, enquanto que o segundo ano (1990) - caracterizado pela ocorrência de menores pancadas de chuva dispersas durante a fase de produção de perfilhos - proporcionou uma densidade de racemos e rendimento de sementes mais baixos.

Embora as condições presentes no segundo ano tenham afetado negativamente a produtividade, a viabilidade foi superior a 80 %. Os dois anos de estudo mostram que a qualidade não foi influenciada pelos tratamentos envolvidos na semeadura (densidade e espaçamento). O peso de mil sementes de 3.57 no primeiro ano e de 3.41 g no segundo ano, podem ser associados como um indicador de qualidade das sementes colhidas, uma vez que o valor de 3,1 g é considerado um valor mínimo de qualidade na produção de sementes de grama

forquilha tetraplóide (Bertocelli, 2018). Diferente da variável produtividade, a qualidade das sementes colhidas parece ser menos influenciada. Rios et al. (2020), por exemplo, constataram que embora a fertilização com N tenha melhorado o rendimento, as características de qualidade das sementes não foram afetadas.

Apesar da elevada viabilidade nos dois anos de avaliação, a presença de dormência – embora a utilização de um protocolo de sua superação – promoveu percentuais de germinação bastante inferiores aos de viabilidade. Espécies que habitam campos naturais – ao exemplo da grama forquilha – têm a partir da dormência de suas sementes um importante mecanismo de manutenção de sua espécie. No nível populacional, a dormência das sementes permite a formação de um banco de sementes no solo, do qual as plantas podem emergir em diferentes épocas do ano ou em resposta a distúrbios do ecossistema (Penfield, 2017). O protocolo utilizado neste estudo foi definido por West (1992) como uma interessante alternativa para superar a dormência de grama forquilha cultivar Pensacola. De acordo com o mesmo autor, sementes envelhecidas por 96 horas a 41°C tiveram maior germinação (de 50 % no controle para 95% com o uso da técnica) e mantiveram sua qualidade mesmo após um ano de armazenamento. Os percentuais de germinação obtidos neste trabalho com o genótipo tetraplóide ainda foram relativamente baixos (22 e 47% nos anos 1 e 2, respectivamente) em comparação com os valores obtidos por West (1992) com o genótipo diplóide. Possíveis modificações – como o aumento do período de exposição à elevada temperatura – poderiam ser testadas para promover a superação da dormência do elevado número de sementes viáveis de grama forquilha tetraplóide.

4.2 Maturação das sementes

Estudos envolvendo a maturidade das sementes de grama forquilha – até o momento com genótipos diploides - mostram que perdas ocasionadas por degrana ocorrem em um curto intervalo após a antese. Em um estudo detalhado sobre este mesmo tema, Burson et al. (1974)

constatarem que o momento da abscisão da semente ocorre devido a separação do pedicelo em um ponto logo abaixo das glumas. Esta “camada de abscisão” - composta por uma faixa de células de paredes espessas e com cinco a sete células de largura - tende a colapsar aos dez dias após a antese, o que mantém as espiguetas presas ao pedicelo apenas pelas células epidérmicas. De acordo com os mesmos autores, a abscisão da semente ocorre em aproximadamente 13 dias. Esta taxa de abscisão (degrana) foi um importante componente na curva de maturação avaliada ao longo de 27 dias após o surgimento das primeiras sementes viáveis. Foi observado que o avanço da viabilidade ocorre de forma desuniforme, mas é rapidamente acompanhada pela degrana. Seu início coincidiu com a primeira colheita após a obtenção de elevados percentuais de sementes viáveis (52%), momento em que a umidade das sementes manteve a estabilidade já observada na colheita anterior (33%) e que perdurou em valores próximos até o último dia de colheita.

Apesar do início da degrana (10% das sementes totais), o percentual de sementes viáveis de grama forquilha tetraplóide verificado após nove dias do surgimento das primeiras sementes viáveis esteve entre os valores mais elevados entre todas as datas de colheita. Este mesmo momento – início da degrana – é muitas vezes utilizado como um indicativo visual para início da colheita. Em revisão sobre o tema, Souza et al. (2020) relatam que o momento ideal para colher sementes de grama forquilha é aquele no qual se verifica fácil desprendimento de sementes das inflorescências - em cerca de 10% - ao serem esfregadas entre os dedos da mão. Em soma ao início da degrana, Souza et al. (2019) atribuíram como momento da colheita de sementes de grama forquilha o avanço da coloração palha em aproximadamente 50% das sementes. Todavia, os resultados obtidos no presente trabalho indicam que este monitoramento deve ser realizado frequentemente, uma vez que a degrana ocorre de forma linear e pode representar 50% das sementes totais em um breve intervalo (15 dias) após o momento adequado de colheita.

Da mesma forma que o atraso da colheita proporciona perdas expressivas por degrana, a antecipação da colheita pode ocasionar prejuízo não somente ao fator rendimento de sementes (pelo elevado percentual de sementes vazias que serão removidas no beneficiamento), mas também ocasionar redução da qualidade do lote de sementes, o que segundo Souza et al. (2020) não é incomum em lotes desta espécie produzidos no Brasil. Embora não estejam vazias, muitas sementes podem não conter viabilidade devido sua colheita ser realizada em um momento crítico de sua formação. Segundo Leprince et al. (2016), o estágio de maturação na colheita é o principal fator que influencia a longevidade e o estabelecimento das plântulas.

Enquanto o início da degrana (aproximadamente 10%) pode ser utilizado como um indicativo prático para o início da colheita, o monitoramento da umidade se torna mais preciso, uma vez que o percentual de debulha é variável entre diferentes genótipos desta espécie. No presente trabalho, valores de umidade superiores a 40% (verificado nas colheitas dos dias 0 e 3) estiveram fortemente associados ao número de sementes inviáveis. Com o aumento expressivo no percentual de viabilidade (a partir do dia 6), houve estabilização da umidade das sementes em aproximadamente 33%, o qual perdurou até a última colheita e pode ser utilizado como critério para início deste processo. A colheita de sementes de grama forquilha sugere considerar um equilíbrio entre dois extremos: perdas por baixa viabilidade quando efetuada precocemente; e perdas por degrana, quando efetuadas tardiamente. Na necessidade de uma tomada estratégica de decisão, é necessário constatar que colheitas efetuadas de forma precoce podem fornecer problemas não somente de rendimento (elevado percentual de sementes vazias), mas também de um elevado percentual de sementes que não terão sua formação finalizada e apresentarão baixa qualidade. O acúmulo de amido, ressaltado por Aguirre et al. (2018) como um importante componente de reserva na formação de sementes de gramíneas, é

um importante indicativo da qualidade que apresentou aumento linear ao longo da curva de maturação das sementes.

4. CONCLUSÃO

A implantação via semeadura de 230 sementes viáveis associado com o uso de tecnologias (irrigação, controle de daninhas e fertilização) possibilita elevado rendimento de sementes no primeiro ano de implantação e maior produção de forragem na primeira desfolha. No entanto, tanto a produção de forragem como a produção de sementes tendem a ser compensada pelo povoamento de plantas no segundo ano. A qualidade das sementes não é afetada pelos níveis de arranjo de plantas aqui avaliados. A colheita de sementes de grama forquilha tetraplóide ecótipo Bagual pode ser iniciada quando a umidade das sementes estiver em 33%, ou quando constatado aproximadamente 10% de degrana, podendo ser considerado um indicativo visual para colheita das sementes.

REFERÊNCIAS

- Adjei, M. B., Mislevy, P., & Chason, W. (1992). Seed yield of bahiagrass in response to sward management by phenology. *Agronomy Journal*, *84*, 599-603. <https://doi.org/10.2134/agronj1992.00021962008400040011x>
- Adjei, M. B., Mislevy, P., & Chason, W. (2000). Timing, defoliation management, and nitrogen effects on seed yield of ‘Argentine’ bahiagrass. *Agronomy Journal*, *92*, 36-41. <https://doi.org/10.2134/agronj2000.92136x>
- Aguirre, M., Kiegle, E., Leo, G., & Ezquer, I. (2018). Carbohydrate reserves and seed development: An overview. *Plant Reproduction*, *31*, 263-290. <https://doi.org/10.1007/s00497-018-0336-3>
- Anderson, W. F., Gates, R. N., Hanna, W. W., Blount, A. R., Mislevy, P., & Evers, G. (2009). Recurrent restricted phenotypic selection for improving stand establishment of bahiagrass. *Crop Science*, *49*, 1322-1327. <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.09.0556>
- Bertoncelli, P. (2018). *Production and germination of Paspalum notatum seeds: response to nitrogen fertilization and cutting management*. (Doctoral dissertation, Universidade

- Federal do Rio Grande do Sul). Retrieved from
<https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/180105>
- Boeri, P. A., Unruh, J. B., Kenworthy, K. E., Trenholm, L. E., & Rios, E. F. (2020) Above and below ground traits of turf-type bahiagrass (*Paspalum notatum* Flüggé) genotypes under simulated drought. *International Turfgrass Society Research Journal*, 1-12.
<https://doi.org/10.1002/its2.39>
- Brasil. (2009). Regras para Análise de Sementes. Brasília: MAPA/ ACS.
- Burson, B. L., Correa, J., & Potts, H. C. (1978). Anatomical study of seed shattering in bahiagrass and dallisgrass¹. *Crop Science*, 18, 122-125.
<https://doi.org/10.2135/cropsci1978.0011183X001800010032x>
- Burton, G. W. (1942). Observations of the flowering habits of four *Paspalum* species. *American Journal of Botany*, 29, 843-848. <https://doi.org/10.2307/2437653>
- Busey, P. (1989). Genotype selection and seeding rate in bahiagrass establishment. *National Research Council – Transportation Research Board*, 1224, 40-45.
<http://onlinepubs.trb.org/Onlinepubs/trr/1989/1224/1224-006.pdf>
- Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. (2004). Manual de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina Vol. 10) Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Retrieved from: http://www.sbcsnrs.org.br/docs/manual_de_adubacao_2004_versao_internet.pdf
- Ferreira, D. F. (2019). SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. *Revista Brasileira de Biometria*, 37, 529-535.
<https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>
- Gates, R. N., & Mullahey, J. J. (1997). Influence of seeding variables on Tifton 9' bahiagrass establishment. *Agronomy Journal*, 89, 134-139.
<https://doi.org/10.2134/agronj1997.00021962008900010020x>
- Gates, R. N., & Dewald, C. L. (1998). Establishment of 'Tifton 9' bahiagrass in response to planting date and seed coat removal. *Agronomy Journal*, 90, 462-465.
<https://doi.org/10.2134/agronj1998.00021962009000040003x>
- Glison, N., Batlla, D., González Barrios, P., Viega, L., Saldanha, S., Musacchio, E. M., Rush, P., & Speranza, P. R. (2020). Modelling seedling emergence in *Paspalum* species using environmental data from field experiments. *Grass and Forage Science*, 00, 1-15.
<https://doi.org/10.1111/gfs.12515>

- Giorello, D. G., Sbrissia, A. F., & da Silva, S. C. (2021). Herbage accumulation, morphological composition, and nutritive value of *Paspalum notatum* CV. INIA Sepé. *Agrociencia Uruguay*, 25, 348. <https://doi.org/10.31285/AGRO.25.348>
- Hare, M. D., Gruben, I. E., Tatsapong, P., Lunpha, A., Saengkham, M., & Wongpichet, K. (2004). Inter-row planting of legumes to improve the crude protein concentration in *Paspalum atratum* cv. Ubon pastures in north-east Thailand. *Tropical Grasslands*, 38, 167-177.
<https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.516.1128&rep=rep1&type=pdf>
- Jaramillo, D. M., Dubeux Jr, J. C., Mackowiak, C., Sollenberger, L. E., DiLorenzo, N., Rowland, D. L., Blount, A. R. S., Santos, E. R. S., Garcia, L., & Ruiz-Moreno, M. (2018). Annual and perennial peanut mixed with 'Pensacola' bahiagrass in North Florida. *Crop Science*, 58, 982-992. <https://doi.org/10.2135/cropsci2017.09.0542>
- Leprince, O., Pellizzaro, A., Berriri, S., & Buitink, J. (2017). Late seed maturation: drying without dying. *Journal of Experimental Botany*, 68, 827-841.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erw363>
- Lopes, R. R., & Franke, L. B. (2011a). Seed production from four *Paspalum* ecotypes native from Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40, 20-30.
<https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000100004>
- Lopes, R. R., & Franke, L. B. (2011b). Correlation and path coefficient analyses of seed yield components in the bahia grass (*Paspalum notatum* Flüggé var. notatum). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40, 972-977. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000500005>
- McCready R. M., Guggolz J., Silveira V., Owens H. S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical Chemistry*, 22, 1156-1158.
doi:10.1021/ac60045a016.
- Newman, Y., Vendramini, J., & Blount, A. (2011). Bahiagrass (*Paspalum notatum*): overview and management. Fact Sheet SS-AGR-332. Gainesville, FL: University of Florida Cooperative Extension Service, IFAS, University of Florida. Available at: <http://edis.ifas.ufl.edu/ag342>
- Penfield, S. (2017). Seed dormancy and germination. *Current Biology*, 27, R874-R878.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.050>

- Rios, E. F., Zilli, A., Kenworthy, K. E., Mackowiak, C., Quesenberry, K., & Blount, A. (2020). Managing forage and turf-type bahiagrass for seed production. *Crop Science*, *60*, 1569-1579. <https://doi.org/10.1002/csc2.20146>
- Sanchez, J. M., Vendramini, J. M., Silveira, M. L., Sollenberger, L. E., Dubeux Jr, J. C., Moriel, P., Sellers, B., Yarborough, J. K., & Leite de Oliveira, F. C. (2019). Seeding strategies of bahiagrass and pintoï peanut affect pasture establishment under weed competition. *Grass and Forage Science*, *74*, 381-388. <https://doi.org/10.1111/gfs.12413>
- Santos, E. R., Dubeux Jr, J. C., Jaramillo, D. M., Garcia, L., Mackowiak, C. L., Blount, A. R., Pereira-Neto, J. D., Queiroz, L. M. D., & Ruiz-Moreno, M. (2020). Herbage responses and nitrogen agronomic efficiency of bahiagrass–legume mixtures. *Agronomy Journal*, *112*, 4057-4068. <https://doi.org/10.1002/agj2.20278>
- Severmutlu, S., Mutlu, N., Gurbuz, E., Gulsen, O., Hocagil, M., Karaguzel, O., Heng-Moss, T., Shearman, R. C., & Gaussoin, R. E. (2011). Drought resistance of warm-season turfgrasses grown in Mediterranean region of Turkey. *HortTechnology*, *21*, 726-736. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.21.6.726>
- Sigua, G. C., Williams, M., Grabowski, J., Chase, C., & Kongchum, M. (2012). Effect of flooding duration and nitrogen fertilization on yield and protein content of three forage species. *Agronomy Journal*, *104*, 791-798. <https://doi.org/10.2134/agronj2011.0364>
- Souza, C. H. L. (2019). Seed and forage performance for an elite group of *Paspalum notatum* intraspecific hybrids. (Doctoral dissertation, Universidade Federal do Rio Grande do Sul). Retrieved from <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/196397/001096381.pdf?sequence=1>
- Souza, F. H. D., Cavallari, M., & Gusmao, M. (2020). Produção comercial de sementes de *Paspalum notatum* var. notatum. Documentos, *136*. Retrieved from <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1122466/1/Documentos-136.pdf>
- Streck, E. V., Kämpf, N., Dalmolin, R. S. D., Klamt, E., Nascimento, P. D., Schneider, P., Giasson, P., Pinto, L. F. S. (2008). Solos do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: UFRGS: EMATER/RS-ASCAR

- Tracy, B. F., Foster, J. L., Butler, T. J., Islam, M. A., Toledo, D., & Vendramini, J. M. B. (2018). Resilience in forage and grazinglands. *Crop Science*, *58*, 31-42.
<https://doi.org/10.2135/cropsci2017.05.0317>
- Urbani, M. H., Acuña, C. A., Doval, D. W., Sartor, M. E., Galdeano, F., Blount, A. R., Quesenberry, K. H., Mackowiak, C. L., & Quarin, C. L. (2017). Registration of ‘Boyero UNNE’ Bahiagrass. *Journal of Plant Registrations*, *11*, 26-32.
<https://doi.org/10.3198/jpr2016.04.0021crc>
- Weiler, R. L., Dall'Agnol, M., Simioni, C., Krycki, K. C., Pereira, E. A., Machado, J. M., & da Motta, E. A. M. (2018). Intraspecific tetraploid hybrids of *Paspalum notatum*: Agronomic evaluation of segregating progeny. *Scientia Agricola*, *75*, 36-42.
<https://doi.org/10.1590/1678-992x-2016-0354>
- Weis, M., Gutjahr, C., Ayala, V. R., Gerhards, R., Ritter, C., & Schölderle, F. (2008). Precision farming for weed management: techniques. *Gesunde Pflanzen*, *60*, 171–181.
<https://doi.org/10.1007/s10343-008-0195-1>
- West, S. H. (1992). Reducing dormancy in Pensacola bahiagrass. *Journal of Seed Technology*, *16*, 1-8. <https://www.jstor.org/stable/23432783>

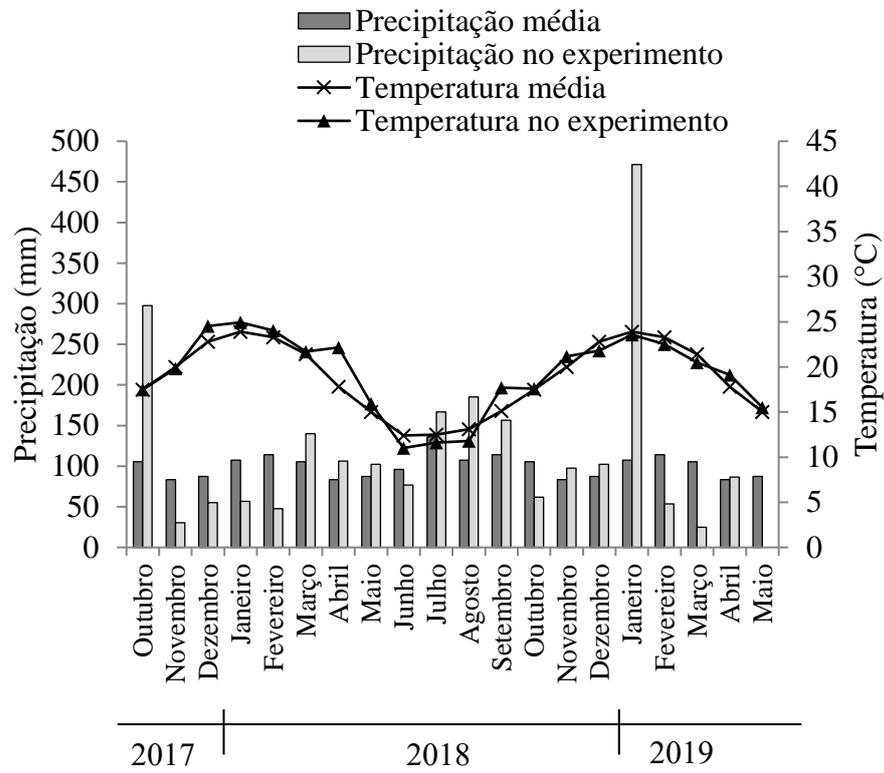


FIGURA 1 Temperatura e precipitação no período experimental, bem como a média dessas variáveis climatológicas nos últimos trinta anos no município de Bagé, RS-Brasil

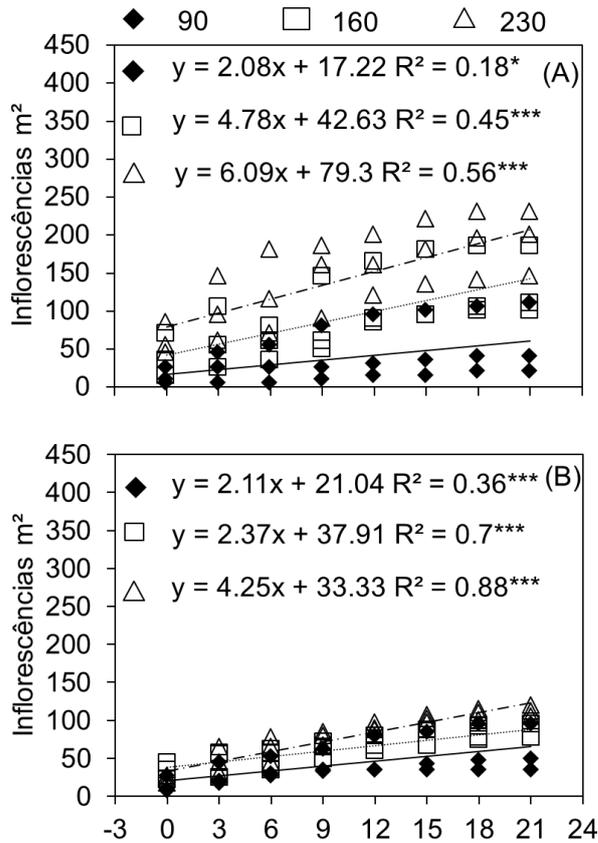


FIGURA 2 Emissões de inflorescências (m^2) a partir da combinação dos níveis de densidade de semeadura 90, 160 e 230 sementes viáveis com os espaçamentos 20 (A) e 40 cm (B). Valores foram contabilizados em intervalos de três dias ao longo de 24 dias. *** e * representam a presença de significância da fonte de variação tratamento aos níveis 0.05 e 0.001, respectivamente, a partir da análise de variância (ANOVA). Cada data de colheita está representada pela média obtida em três unidades experimentais ($n = 3$).

TABELA 1 Número total de inflorescências (m^2), número de sementes por inflorescência, peso de mil sementes (PMS – g), produção ($kg\ ha^{-1}$) viabilidade (%) e germinação (%) de sementes de grama forquilha no primeiro ano de implantação (2018) efetuada a partir de três densidades de semeadura (90, 160 e 230 sementes viáveis m^{-2}) e dois espaçamentos entre linhas (20 e 40 cm).

Sementes m^2	20 cm	40 cm	Média	20 cm	40 cm	Média
	Inflorescências m^2			Sementes por inflorescência		
90	56.6 ± 47.2	60.0 ± 31.2	58.3 B*	45.3 ± 25.2	58.1 ± 6.2	51.7 ns
160	131.6 ± 45.4	83.3 ± 10.1	107.5 AB	63.5 ± 14.8	72.2 ± 16.5	67.8
230	191.6 ± 43.1	112.5 ± 7.5	152.0 A	58.7 ± 6.2	59.2 ± 11.4	59.0
Média	126.6 a*	85.2 b	105.9	55.8 ns	63.2	59.5
CV	36.02 %			26.45 %		
	PMS (g)			Rendimento de sementes ($kg\ ha^{-1}$)		
90	3.62 ± 0.08	3.65 ± 0.08	3.64 ns	118.9 ± 148.6	116.1 ± 30.5	117.5 B
160	3.53 ± 0.14	3.56 ± 0.05	3.55	301.3 ± 151.9	215.6 ± 45.6	258.5 AB
230	3.46 ± 0.13	3.56 ± 0.15	3.51	391.6 ± 114.1	239.0 ± 58.2	315.3 A*
Média	3.54 ns	3.59	3.57	270.6 ns	190.2	230.4
CV	2.78 %			49.2 %		
	Viabilidade (%)			Germinação (%)		
90	86.0 ± 1.0	86.0 ± 2.0	86.0	52.0 ± 7.0	48.0 ± 3.0	50.0
160	87.0 ± 4.0	85.0 ± 3.0	86.0	44.0 ± 2.0	45.0 ± 7.0	44.0
230	85.0 ± 3.0	84.0 ± 2.0	84.0	51.0 ± 7.0	44.0 ± 7.0	47.0
Média	86.0	85.0	85.0	49.0	46.0	47.0
CV	2.44 %			13.39 %		

* Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as densidades de semeadura e letras minúsculas entre os espaçamentos entre linhas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ns representa ausência de significância, enquanto \pm o desvio padrão amostral ($n = 3$).

TABELA 2 Peso seco da forragem colhida (kg ha^{-1}) e perfilhos totais (m^2) verificados em três avaliações realizadas no segundo ano após a implantação de grama forquilha tetraplóide (2019) sob a combinação de três densidades de semeadura (90, 160 e 230 sementes viáveis m^{-2}) e dois espaçamentos entre linhas (20 e 40 cm).

Sementes m^2	20 cm	40 cm	Média	20 cm	40 cm	Média
	Peso seco de forragem colhida (kg ha^{-1})			Número de perfilhos (m^2)		
	Primeira colheita de forragem no ano 2 - 08 de janeiro de 2019					
90	1485.9 ± 301.5	2359.7 ± 1017.3	1922.5 B	410.6 ± 70.4	501.3 ± 61.2	455.9 B
160	1993.3 ± 423.5	2580.9 ± 372.5	2287.1 AB	592 ± 271	590.6 ± 115.5	591.3 AB
230	3616.7 ± 855.4	2884.3 ± 510	3250.5 A*	718.6 ± 115	813.3 ± 136.0	765.9 A*
Média	2368.4 ns	2608.3	2488.3	573.7 ns	635.06	604.3
CV	24.2 %			24.4 %		
	Segunda colheita de forragem no ano 2 - 25 de fevereiro de 2019					
90	2159.3 ± 673.6	2505.5 ± 960.6	2332.4 ns	441.3 ± 50.6	504 ± 125	472.6 ns
160	2381.3 ± 447.1	2660.8 ± 305.8	2521.05	590.6 ± 94.6	538.6 ± 6.1	564.6
230	2702.6 ± 449.3	2549 ± 430	2625.8	636 ± 106	540 ± 27.7	588
Média	2414.4 ns	2571.7	2493.05	555.86 ns	527.5	541.7
CV	20.0 %			13.5 %		
	Terceira colheita de forragem no ano 2 - 12 de abril de 2019					
90	372.3 ± 58.6	508.4 ± 119	440.35 ns	349.3 ± 58.6	433.6 ± 119.3	391.45 ns
160	344.8 ± 60.8	439.9 ± 129	392.35	457.3 ± 60.8	453.3 ± 129.1	455.3
230	420.4 ± 141	512.2 ± 85.4	466.3	436 ± 141	502.6 ± 85.4	469.3
Média	379.1 b	486.8 a*	865.9	414.2 ns	463.1	438.6
CV	22.2 %			14.4 %		

* Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as densidades de semeadura e letras minúsculas entre os espaçamentos entre linhas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ns representa ausência de significância, enquanto \pm o desvio padrão amostral ($n = 3$).

TABELA 3 Número total de inflorescências (m^2), número de sementes por inflorescência, peso de mil sementes (g), produção ($kg\ ha^{-1}$) viabilidade (%) e germinação (%) de sementes de grama forquilha no Segundo ano após a implantação (2019) efetuada a partir de três densidades de semeadura (90, 160 e 230 sementes viáveis m^{-2}) e dois espaçamentos entre linhas (20 e 40 cm).

Sementes m^2	20 cm	40 cm	Média	20 cm	40 cm	Média
	Inflorescências m^2			Sementes por inflorescência		
90	36.6 ± 6.4	50.0 ± 23.5	43.3 ns	81.4 ± 9.7	75.9 ± 3.6	78.7 ns
160	44.0 ± 19.0	38.6 ± 9.4	41.3	69.9 ± 13.7	74.3 ± 24.7	72.1
230	35.3 ± 8.32	44.0 ± 21.6	39.6	83.3 ± 14.1	68.2 ± 8.9	76.0
Média	38.6 ns	44.2	41.4	78.4 ns	72.8	75.6
CV	37.23 %			19.37 %		
	Peso de mil sementes (g)			Produção de sementes ($kg\ ha^{-1}$)		
90	3.44 ± 0.10	3.47 ± 0.15	3.45	103.6 ± 28.8	128.7 ± 49.3	116.1 ns
160	3.26 ± 0.10	3.45 ± 0.05	3.35	105.1 ± 56.3	94.6 ± 17.2	99.8
230	3.38 ± 0.22	3.48 ± 0.05	3.43	102.3 ± 41.1	103.2 ± 44.8	102.8
Média	3.36	3.47	3.41	103.7 ns	108.8	106.2
CV	3.96 %			33.73 %		
	Viabilidade (%)			Germinação (%)		
90	79.0 ± 1.0	84.0 ± 2.0	82.0 ns	27.0 ± 7	23.0 ± 9.0	25.0 ns
160	77.0 ± 1.0	83.0 ± 1.0	81.0	20.0 ± 2	23.0 ± 8.0	22.0
230	85.0 ± 8.0	83.0 ± 5.0	84.0	16.0 ± 2	20.3 ± 1.0	18.0
Média	81.0 ns	83.0	82.0	21.0 ns	22.0	22.0
CV	3.61 %			26.12 %		

* Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as densidades de semeadura e letras minúsculas entre os espaçamentos entre linhas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ns representa ausência de significância, enquanto \pm o desvio padrão amostral ($n = 3$).



FIGURA 3 Exemplos de sementes de grama forquilha tetraplóide categorizadas como sementes vazias, não viáveis e viáveis na interpretação do teste de tetrazólio.

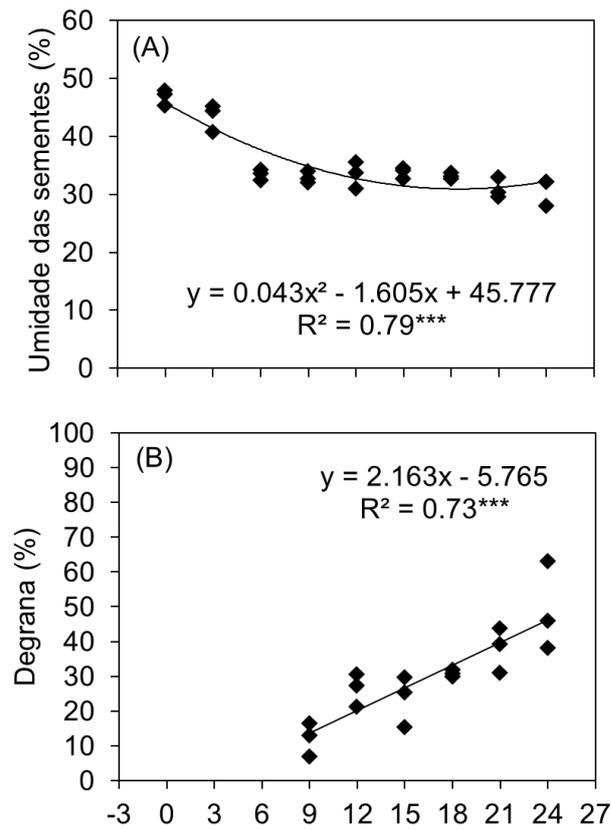


FIGURA 4 Percentuais de umidade (A) e de degrana (B) das sementes de grama forquilha tetraplóide monitorados a cada três dias durante um período de 27 dias (nove colheitas). *** representa a presença de significância para a fonte de variação tratamento ao nível 0.001 na análise de variância (ANOVA). Cada data de colheita está representada pela média obtida em três unidades experimentais ($n = 3$).

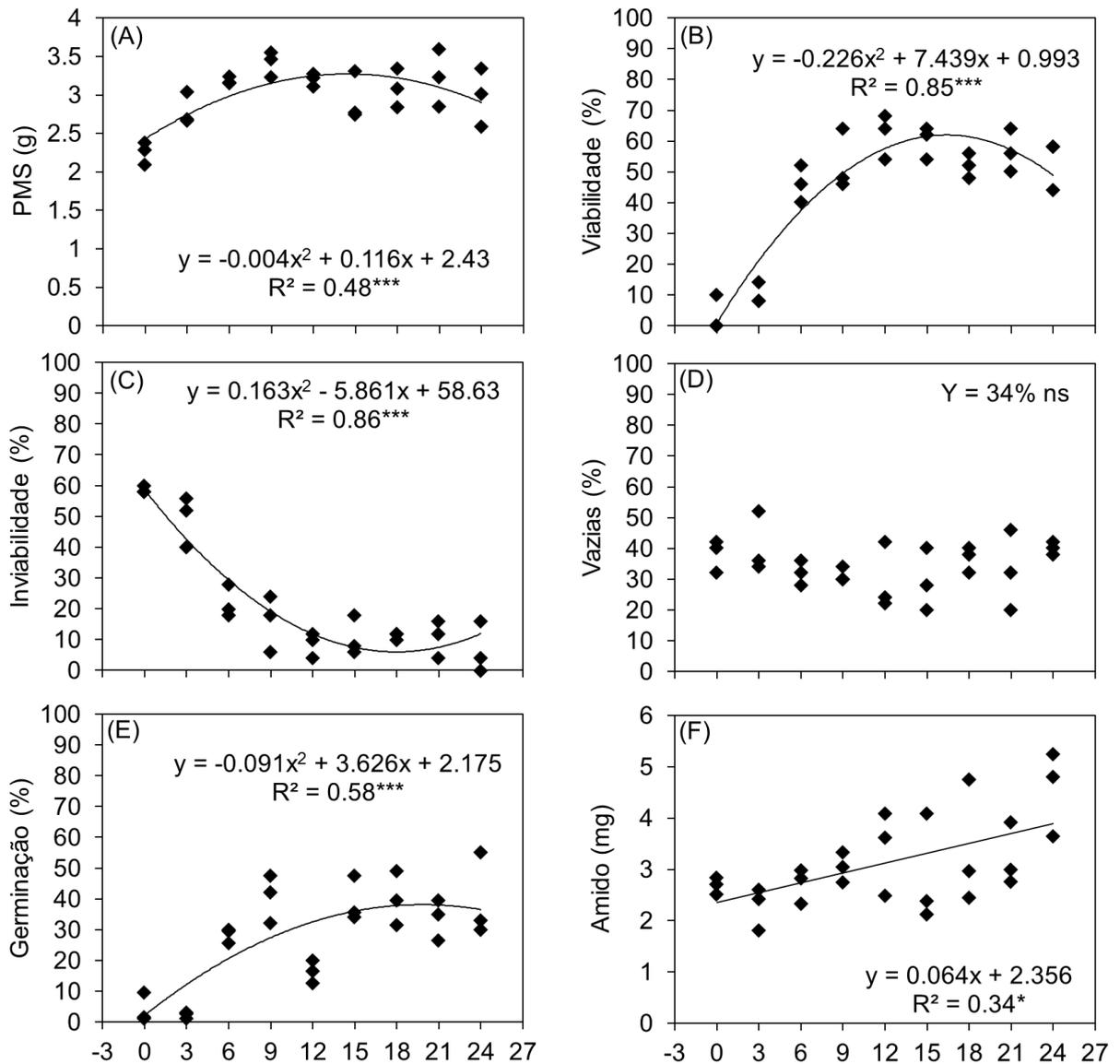


FIGURA 5 Peso de mil sementes de grama (A), percentuais de sementes viáveis (B), inviáveis (C) e vazias (D) pelo teste de tetrazólio, bem como o percentual de germinação (E) e o conteúdo de amido (F) em sementes de grama forquilha tetraplóide monitorados a cada três dias durante um período de 27 dias (nove colheitas). *** e * representam a presença de significância da fonte de variação tratamento aos níveis 0.05 e 0.001, respectivamente, a partir da análise de variância (ANOVA). Cada data de colheita está representada pela média obtida em três unidades experimentais ($n = 3$).

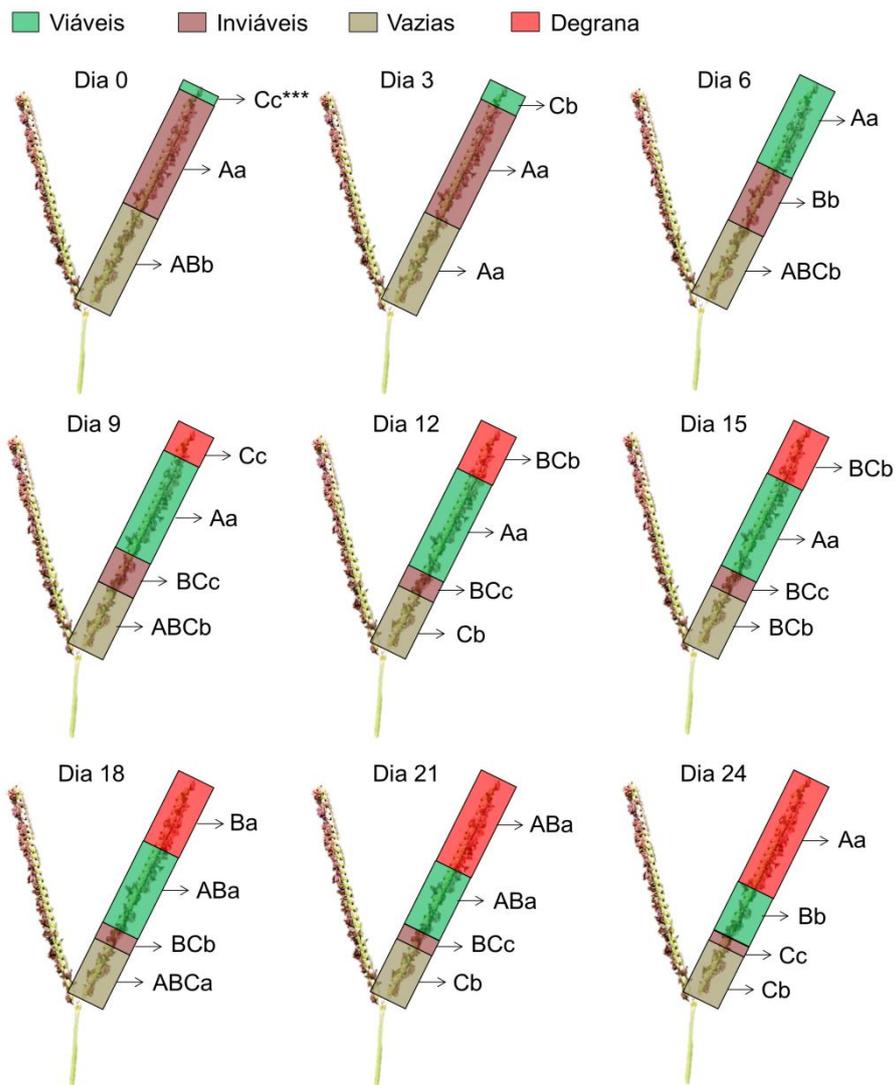


FIGURA 6 Percentuais ocupados pelos componentes sementes viáveis, sementes inviáveis, sementes vazias e sementes ausentes (degrana) em cada uma das nove colheitas efetuadas em intervalos de três dias após o surgimento das primeiras sementes viáveis (dia 0). *** representa a presença de significância para a fonte de variação tratamento ao nível $P > 0.001$ na análise de variância (ANOVA). Letras maiúsculas significam diferença significativa entre um mesmo componente ao longo dos dias de colheita, enquanto que letras minúsculas representam diferença entre os componentes dentro de uma mesma data de colheita, via o teste de Tukey ao nível 0.05 ($n = 3$).

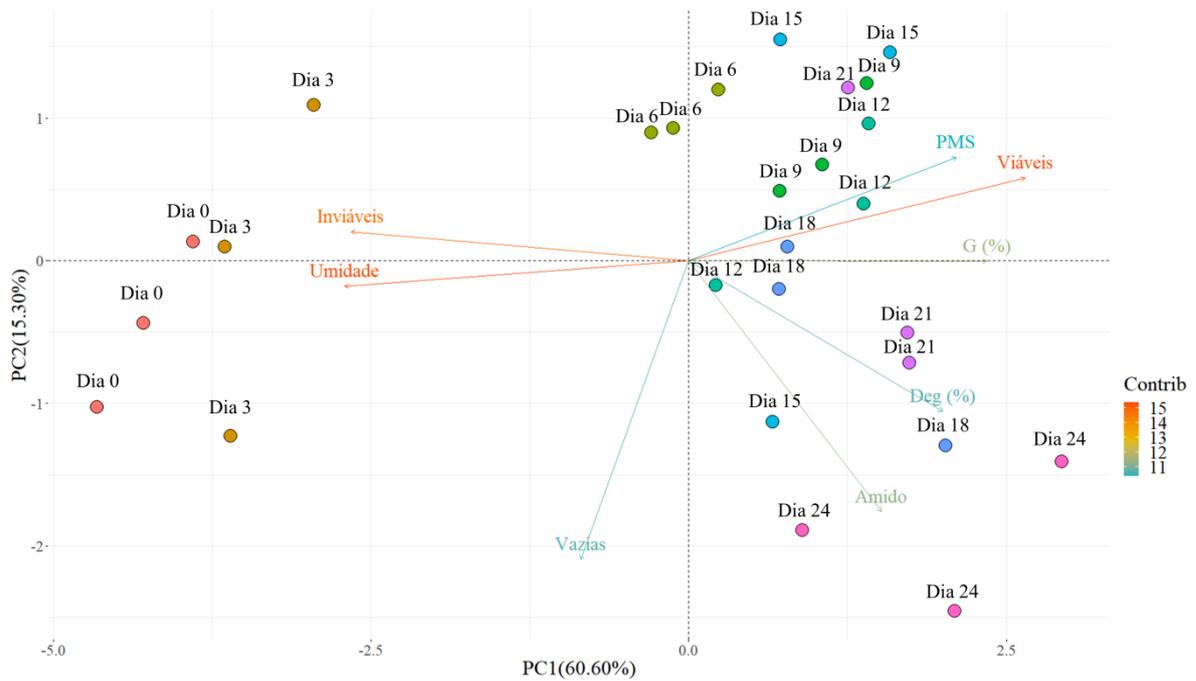


FIGURA 7 Biplot da análise de componentes principais para as variáveis percentual de umidade das sementes, peso de mil sementes (PMS), percentuais de sementes viáveis, inviáveis e vazias, bem como o percentual de degrana e o conteúdo de amido de sementes coletas na curva de maturação ao longo dos dias 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 após o surgimento das primeiras viáveis de sementes de grama forquilha tetraplóide.

5. Artigo 2: Respostas da raiz e parte aérea de grama forquilha à seca e alagamento na fase reprodutiva em função da ploidia do genótipo

Artigo submetido e escrito conforme as normas do periódico Environmental and Experimental Botany (ISSN 0098-8472)

Respostas da raiz e parte aérea de grama forquilha à seca e alagamento na fase reprodutiva em função da ploidia do genótipo

Gabriel Streck Bortolin^{a*}, Yutcelia Carolina Galviz^b, Carlos Eduardo da Silva Pedroso^a and Gustavo Maia Souza^b

^aDepartamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Pelotas, Avenida Eliseu Maciel, Capão do Leão, RS 96160-000, Brasil

^bDepartamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Avenida Eliseu Maciel, Capão do Leão, RS, Brasil

*Autor correspondente. Tel.: +55 51 9 9623-4805

Endereço de E-mail: gabrielbortolin91@gmail.com

Destaques

- Grama forquilha possui adaptações que lhe conferem tolerância ao alagamento
- Ambos os genótipos expostos ao déficit hídrico priorizam o acúmulo de biomassa radicular
- Fenóis, prolina e açúcares solúveis totais são importantes na tolerância à seca
- Plantas tetraplóides são mais estáveis na manutenção de sua aptidão reprodutiva sob seca

Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar os mecanismos associados à tolerância de grama forquilha ao déficit hídrico e ao alagamento no início da fase reprodutiva, seu desempenho na recuperação e também os impactos gerados no rendimento e na qualidade das sementes. Plantas diplóides e tetraplóides cresceram em casa de vegetação sob condições bem irrigadas até o aparecimento das primeiras inflorescências, quando o déficit e o excesso hídrico foram introduzidos e mantidos por dez dias. Ao final desse período, as plantas foram recuperadas e avaliadas após sete dias, enquanto 51 dias após a recuperação, foram avaliadas a produção e a qualidade das sementes. O desempenho fotossintético de plantas diplóides e tetraplóides não foi afetado pelo alagamento. Em contrapartida, a baixa disponibilidade de água diminuiu a condutância estomática, aumentou a temperatura foliar e resultou na diminuição da taxa de assimilação dos dois genótipos. Apesar das maiores atividades da catalase, ascorbato peroxidase e peroxidase - esta última apenas em material diplóide - as raízes inundadas apresentaram maior acúmulo de peróxido de hidrogênio e malondialdeído do que as raízes das plantas controle. Por outro lado, a atividade da superóxido dismutase nas raízes foi semelhante (sob alagamento) e ainda menor (na seca) à observada nas plantas controle. As raízes das plantas expostas ao déficit hídrico mantiveram um acúmulo de biomassa semelhante ao das plantas controle, porém com maiores teores de fenóis totais, açúcares solúveis totais e prolina. Em folhas de plantas previamente expostas à seca, a prolina foi maior mesmo em recuperação. Enquanto as plantas tetraplóides apresentaram maior estabilidade nas características reprodutivas, as plantas diplóides submetidas ao alagamento apresentaram mais inflorescências, porém o número total de sementes formadas por planta foi reduzido pela seca. Os resultados indicam que a síntese de osmoprotetores e a ativação do maquinaria antioxidante são estratégias importantes na tolerância de grama forquilha ao estresse hídrico na fase reprodutiva.

Palavras-chave:

Maquinaria antioxidante; Osmoprotetores; *Paspalum notatum*; Recuperação; Produção de sementes; Estresse Hídrico.

Abreviações: CAA, capacidade de armazenamento de água; CRA, conteúdo relativo de água; A: taxa de assimilação líquida; *gs*, condutância estomática; EUA, eficiência no uso da água; SOD, superóxido dismutase; CAT, catalase; APX, ascorbato peroxidase; POD, peroxidase;

H₂O₂, peróxido de hidrogênio; MDA, malondialdeído; CFT, conteúdo de fenóis totais; Pro, prolina; AST, açúcares solúveis totais; G, percentual final de germinação

1. Introdução

Habitados predominantemente por gramíneas perenes, os campos naturais do Bioma Pampa no Sul do Brasil são suscetíveis a severos déficits hídricos que podem gerar desequilíbrios na flora nativa. Tal condição adversa ao ecossistema promove a redução da biodiversidade do banco de sementes, além de facilitar a entrada de espécies exóticas. (Manea et al., 2016; Basto et al., 2018; Kiss et al., 2018). Os impactos negativos nos campos naturais parecem ser influenciados não apenas pela duração do estresse, mas também pelo momento em que ocorre essa condição desfavorável. Por exemplo, em coincidência com o período reprodutivo das plantas, o estresse hídrico pode reduzir muito a taxa de floração e produção de sementes em nível de comunidade (Dietrich e Smith, 2016; Zeiter et al., 2016).

Tolerar as condições adversas para persistir neste ambiente desafiador requer o uso de mecanismos especializados pelas plantas que habitam os campos naturais. Para contornar os efeitos gerados pelo déficit, a manutenção do turgor celular, importante atributo da tolerância ao déficit hídrico, pode ser alcançada pela síntese de compostos orgânicos que contribuem para o ajuste osmótico da célula, permitindo a manutenção das funções celulares (Singh et al., 2015; Ozturk et al., 2020; Zulfiqar et al., 2020). Por exemplo, ao expor dois genótipos de *Paspalum scrobiculatum* ao déficit hídrico, Ahmad et al. (2013) relataram que teores mais elevados de osmoprotetores (por exemplo, aminoácidos, prolina, açúcares solúveis totais e sacarose) foram encontrados no genótipo com maior tolerância à seca. Da mesma forma, Silva et al. (2020) verificaram em *Paspalum virgatum* a presença de metabólitos secundários relacionados à efeitos osmoprotetores, apoiando a capacidade fisiológica dessa espécie de suportar o excesso ou o déficit hídrico.

Certo número de metabólitos secundários, como àqueles pertencentes à categoria dos compostos fenólicos, contribui para um importante mecanismo que permite que as gramíneas

perenes tolerem o estresse hídrico, melhorando o aparato antioxidante (Fan et al., 2020). Este aparelho atua na defesa contra o dano oxidativo gerado pela superacumulação de espécies reativas de oxigênio (ERO's), incluindo radicais livres como o ânion superóxido (O_2^-) e moléculas não radicais, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio singlete (1O_2). Em *Setaria italica* e *Panicum miliaceum* submetidos ao déficit hídrico, observou-se aumento do teor de compostos fenólicos e redução do teor de H_2O_2 , malondialdeído (MDA) e outros aldeídos (Nematpour et al., 2019), evitando o dano oxidativo.

O aparato de enzimas antioxidantes também parece contribuir para mitigar os efeitos do estresse hídrico nas raízes. Ao expor as plantas ao déficit hídrico, Katuwal et al. (2020a) constataram que as folhas do genótipo UGP113 de *Paspalum vaginatum* apresentaram aumento na atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), peroxidase (POD) e glutathione redutase (GR). Além disso, um aumento simultâneo nas atividades de superóxido dismutase (SOD) e CAT nas raízes manteve os valores de H_2O_2 semelhantes aos das plantas controle (Katuwal et al., 2020b). Resultados como este indicam que a tolerância ao estresse hídrico por gramíneas forrageiras perenes também depende do desempenho da raiz e de sua relação com a parte aérea.

Além dos mecanismos bioquímicos, as alterações morfológicas desempenham um papel importante na tolerância ao alagamento, uma condição adversa comum em áreas baixas dos campos naturais do Bioma Pampa durante os períodos de alta pluviosidade. Em estudos realizados na Argentina com *Paspalum dilatatum*, Vasellati et al. (2001) e Mollard et al. (2008) observaram que a capacidade dessas plantas de tolerar o alagamento estava ligada à formação de aerênquima na bainha foliar e ao aumento do espaço intercelular nas raízes, características que favorecem a aeração dos tecidos submersos.

Da mesma forma, o desempenho de gramíneas forrageiras perenes sujeitas ao déficit hídrico também depende de mecanismos desenvolvidos pelas raízes. Nessa condição, muitas

espécies alocam na raiz um maior conteúdo de assimilados, o que melhora o crescimento e, conseqüentemente, aumenta a superfície de contato com o solo e a captação de água, conforme encontrado por Beneragama e Kumara (2018) em grama forquilha (*Paspalum notatum*), uma espécie caracterizada por boa tolerância ao déficit hídrico e inundações (Severmutlu et al., 2011; Sigua et al., 2012). Assim, Boeri et al. (2020) apontam que raízes de plantas de grama forquilha sujeitas ao déficit hídrico tendem a apresentar crescimento vertical mais rápido, enquanto profundidades menores do solo são priorizadas. Trabalhos desenvolvidos por Katuwal et al. (2020a, 2020b, 2020c) em folhas e raízes de *P. vaginatum* e *Eremochloa ophiuroides* - com o objetivo de desvendar mecanismos de tolerância ao déficit hídrico - apoiam a relevância de uma coordenação adequada entre as respostas de folhas e raízes para melhorar a tolerância ao estresse hídrico.

Vários estudos envolvendo a capacidade de tolerar estresses abióticos mostraram que plantas poliplóides podem ser mais tolerantes a condições desfavoráveis (Deng et al. 2012, Xu et al. 2019; Stevens et al. 2020). Supõe-se que em organismos poliplóides, toda a duplicação do genoma resulta na retenção de mais de dois alelos por loco, e assim os genes duplicados podem desenvolver novas funções que ajudam o organismo a se adaptar melhor a diferentes ambientes estressantes (Liu e Sun 2019). Sabe-se também que a poliploidia aumenta o tamanho e a forma das células, a biomassa dos órgãos (folhas, sementes e raízes) e o conteúdo de metabólitos primários e secundários em várias espécies de plantas (Ruiz et al., 2020). Em grama forquilha, Weiler et al. (2018) constatou que o ecótipo “Bagual” (genótipo tetraplóide) produziu sete vezes mais forragem que o cultivar Pensacola (diplóide). Assim, comparar diferentes ploidias em uma mesma espécie em condições de estresse hídrico, algo ainda não estudado em grama forquilha, pode permitir entender se o maior rendimento do genótipo tetraplóide também é mantido em situações de restrição.

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar as respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas da parte aérea e da raiz de plantas de dois genótipos de grama forquilha (um diplóide e outro tetraplóide) submetidas ao déficit hídrico e ao alagamento no início da fase reprodutiva, bem como avaliar seu desempenho na recuperação e determinar os impactos potenciais sobre os componentes do rendimento que provavelmente influenciam o rendimento de sementes.

2. Materiais e Métodos

2.1. Descrição experimental

O experimento foi conduzido entre os anos de 2019 e 2020 em casa de vegetação. Os dois genótipos de grama forquilha (*Papalum notatum* Flüggé) avaliados neste experimento foram o cultivar Pensacola ($2n = 2x = 20$) e o ecótipo Bagual ($2n = 4x = 40$), este último originado da região do Planalto Médio do estado do Rio Grande do Sul, Brasil e, segundo Weiler et al. (2018), possui potencial de rendimento de forragem sete vezes superior do que o cultivar Pensacola.

Plântulas com duas folhas, obtidas em teste padrão de germinação da espécie (Brasil, 2009), foram transplantadas no dia 21 de outubro de 2019 para vasos com capacidade de 1,8 L preenchidos com solo, colocados sob uma bancada em casa de vegetação com temperatura em torno de 26 ± 4 °C. O solo utilizado apresentava as seguintes características químicas: pH em H₂O: 4,9; Ca: 2,0 cmol_c dm⁻³; Mg: 0,9 cmol_c dm⁻³; Al: 0,5 cmol_c dm⁻³; MO: 1,38 %; Argila: 17 %; S: 10,8 mg dm⁻³; P (Mehlich): 23,1 mg dm⁻³; K: 0,34 mg dm⁻³. A aplicação de calcário calcítico (5,4 g para cada vaso) e a fertilização de base (0,054 g de N, 0,36 g de P e 0,08 g de K para cada vaso) foram realizadas antes do transplante das mudas, conforme recomendado para gramíneas perenes de estação quente (Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2016). Novas fertilizações apenas com nitrogênio ocorreram aos 19, 26 e 57 dias após o transplante das plântulas, totalizando 0,34 g de N por vaso.

A umidade do solo foi mantida a 80% da capacidade de armazenamento de água (CAA) por meio do método gravimétrico (Cooper, 2016), e monitorada por um sensor ECH₂O capacitivo acoplado a um display ECH₂O Check (Decagon Devices, Pullman, WA, EUA) a 34% do teor volumétrico de água, valor este que foi mantido até o surgimento das primeiras inflorescências, momento em que os tratamentos de disponibilidade hídrica foram impostos. Para padronizar todas as plantas, foi realizada uma desfolha com manutenção de um resíduo de cinco cm no dia 15 de janeiro de 2020, aos 86 dias após o transplante das plântulas. Dois dias após este procedimento uma nova fertilização foi realizada com a aplicação de 0,12 g de N e 0,08 g de K por vaso.

A imposição dos níveis de estresse hídrico ocorreu 13 dias após a desfolha (28 de fevereiro de 2020), quando surgiram os primeiros perfilhos reprodutivos. Os tratamentos foram aplicados da seguinte forma: manutenção da CAA do solo em 80% (controle); limitação da disponibilidade hídrica com manutenção da CAA do solo em 25% (déficit hídrico); e imersão completa das raízes enquanto apenas uma parte dos colmos- 5 cm de lâmina de água - foi coberta pela água (alagamento). O nível de 25% da CAA foi estabelecido para simular uma seca moderada (Norton et al. 2016), uma vez que valores abaixo de 20% da CAA induziram seca severa e alta mortalidade de perfilhos em *Paspalum* spp. (Beloni et al., 2017). As plantas foram submetidas ao estresse hídrico por dez dias, quando o nível de 80% da CAA do solo foi reestabelecido (período de recuperação).

2.2. Características fisiológicas

As variáveis fisiológicas foram avaliadas logo após os períodos de estresse hídrico (10º dia), bem como após sete dias de recuperação. Os períodos de exposição das plantas ao estresse hídrico e de recuperação foram baseados em estudos em que plantas do gênero *Paspalum* foram submetidas a condições de estresse hídrico, ao exemplo de Beloni et al. (2017). As medições das trocas gasosas nas folhas foram realizadas com um analisador de gás

infravermelho portátil (modelo LI-6400XT, Li-Cor, Lincoln, NE, EUA) com uma câmara de amostra modelo 6400-40. As variáveis taxa de assimilação líquida de CO₂ (*A*) e condutância estomática (*gs*) foram medidas, e a eficiência do uso de água [EUA como a taxa de *A* pela transpiração foliar (*E*)] foram avaliadas nos dias zero, quatro, oito e dez após o início do estresse hídrico, bem como após 24 horas e sete dias a partir do reestabelecimento da umidade em 80% da CAA do solo (recuperação).

Além disso, as plantas de cada tratamento tiveram sua temperatura registrada por uma câmera termográfica (modelo E6, Flir Systems, Wilsonville, OR, EUA) no 10º dia de estresse hídrico e após 24 horas de recuperação.

Avaliações destrutivas foram feitas apenas no 10º dia do período de estresse hídrico e no 7º dia de recuperação das plantas, a fim de avaliar o conteúdo relativo de água (CRA) das folhas e o extravasamento de eletrólitos (EE) deste mesmo componente. Para o CRA, três segmentos foliares - com um cm - foram cortados ao meio de folhas totalmente expandidas. Estes segmentos foram imediatamente pesados e colocados em uma placa de petry contendo água destilada para embebição por 24 horas. Em seguida, os segmentos túrgidos foram pesados novamente e secos em estufa a 60 °C por 72 horas até a massa constante e pesados para obtenção do peso seco. O CRA, expresso em porcentagem, foi obtido a partir da aplicação dos resultados na seguinte fórmula proposta por González e González-Vilar (2001): $[(\text{peso fresco} - \text{peso seco}) / (\text{peso túrgido} - \text{peso seco})] \times 100$.

Para verificar o EE, foi utilizado o protocolo proposto por Blum e Ebercon (1981), com modificações. Três segmentos foliares de um cm foram colocados em um tubo de ensaio contendo 10 ml de água destilada, mantido selado nesta condição por 24 h no escuro e em temperatura ambiente. Após este período, a condutividade da solução foi determinada com um medidor de condutividade (modelo DM-32, Digimed, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida, os tubos contendo os segmentos foram colocados em um banho a 90 °C por 1 hora para

obtenção da plasmólise completa. Após a saída do banho e a obtenção da temperatura ambiente, as condutividades das amostras foram novamente medidas. Expressos em porcentagem, os valores de EE foram calculados usando a seguinte fórmula: (condutividade inicial / condutividade final) \times 100.

2.3. Determinação dos níveis de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e malondialdeído (MDA)

Junto com a coleta de amostras para determinação do CRA e EE, amostras contendo 200 mg de folhas e raízes foram coletadas para determinação dos teores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e malondialdeído (MDA). A determinação desses compostos foi iniciada com a maceração das amostras em nitrogênio líquido, com adição de 2 mL da solução extratora contendo ácido tricloroacético (TCA) 0,1%. O homogenato foi centrifugado a 10.000 \times g por 20 minutos a 4 °C e o sobrenadante coletado para análise posterior. O conteúdo de H₂O₂ foi estimado em um meio de reação composto de tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0), iodeto de potássio 1 M e extrato vegetal (Velikova et al. 2000). A concentração de H₂O₂ foi avaliada pela comparação de sua absorvância em 390 nm com uma curva de calibração padrão, procedimento realizado em espectrofotômetro Ultrospec™ 8000 (General Electric, Boston, MS, EUA).

Para a mensuração da peroxidação lipídica, foi utilizado o teste TBA (ácido tiobarbitúrico), que determina o MDA como produto final da peroxidação lipídica (Cakmak et al. 1991). Composto por TBA 0,5% (p / v), TCA 10% (p / v) e a amostra, o meio de reação foi incubado a 95 °C por 30 minutos em tubos de ensaio fechados, onde a reação foi então interrompida em um banho de gelo. A absorvância do meio após este procedimento foi medida a 535 nm e corrigida para turbidez não específica a 600 nm. A concentração de MDA (nmol g⁻¹ MF) foi calculada usando Δ OD (A532-A600) e o coeficiente de extinção ($\epsilon = 155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

2.4. Atividade de enzimas antioxidantes

Amostras contendo 200 mg de folhas e raízes também foram coletadas ao final dos períodos de estresse hídrico e recuperação para avaliação da atividade antioxidante. O extrato enzimático foi obtido por maceração em nitrogênio líquido, seguida de homogeneização em de polivinilpolipirrolidona (PVPP) 50% (p / p) e em 1,5 mL do mix de extração, este último composto por tampão fosfato de potássio 200 mM (pH 7,8), ácido etilenodiamina tetra-acético 10 mM (EDTA), ácido ascórbico 200 mM e água destilada. O extrato foi centrifugado a $10.000 \times g$ por 20 minutos a 4 °C e o sobrenadante utilizado para medir a atividade enzimática e determinar o teor de proteína solúvel total, conforme protocolo de Bradford (1976).

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD EC 1.15.1.1) foi quantificada de acordo com Beauchamp e Fridovich, (1971), com base na sua capacidade de inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT), em um meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, EDTA 0,1 mM, NBT 75 μ M e riboflavina 2 mM. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 560 nm, assumindo-se que uma unidade de SOD é a quantidade de enzima capaz de inibir a fotorredução do NBT em 50%.

A atividade da catalase (CAT EC 1.11.1.6) foi determinada com base no consumo de H_2O_2 de acordo com o procedimento usado por Anderson et al. (1995) com adaptações. O meio de reação [composto por tampão 200 mM (pH 7,0) e água destilada] foi incubado a 27 °C por 10 minutos. Após esse período, foram adicionados H_2O_2 12.5 mM e o extrato enzimático. A diminuição da absorbância a cada 10 segundos durante o período de 1,5 minutos foi medida a 240 nm, a 25 °C.

Para quantificar a atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX EC 1.11.1.11) foi utilizado o protocolo proposto por Nakano e Asada (1981), por meio da avaliação da taxa de

oxidação do ascorbato em 290 nm. O meio de reação, composto por tampão de fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), ácido ascórbico 10 mM e água, foi incubado a 27 °C por 5 minutos. Após este período, 2,0 mM de H₂O₂ e a amostra foram adicionados. A diminuição da absorvância foi lida a cada 10 segundos durante o período de 1,5 minutos.

A atividade da enzima peroxidase (POD EC 1.11.1.7) foi determinada de acordo com o protocolo de Zhang e Kirkham (1996) com adaptações. O meio de reação foi composto por tampão de fosfato de potássio 100 mM (pH 6,5), guaiacol 15 mM, H₂O₂ 3 mM e o extrato enzimático. O aumento na absorvância foi acompanhado por leituras em um comprimento de onda de 470 nm em intervalos de 15 segundos por 1 minuto.

2.4. Conteúdo de fenóis totais, prolina, açúcares solúveis e amido

Amostras contendo 200 mg de folhas e raízes também foram coletadas para determinar o teor de compostos orgânicos que contribuem para o ajuste osmótico. O processo de extração foi iniciado com a maceração das amostras em nitrogênio líquido. O material pulverizado foi colocado em um tubo de ensaio contendo 2 ml de etanol 80%, o qual foi agitado, fervido por 10 minutos e centrifugado a 10.000 × g por dez minutos. O sobrenadante foi coletado em um novo tubo, enquanto o precipitado foi lavado com 2 ml de etanol 80% para uma segunda coleta do sobrenadante.

O conteúdo de fenóis totais (CFT) foi determinado de acordo com Isfendiyaroglu e Ozeker (2001). Neste procedimento, o extrato etanólico foi adicionado a um meio de reação contendo o reagente folin 50% e carbonato de cálcio 5%. Nesta etapa, as amostras foram mantidas na ausência de luz por 1 hora e o CFT foi medido a 725 nm em espectrofotômetro. A concentração de CFT foi calculada de acordo com uma curva padrão e expressa em µg g⁻¹ PF.

O conteúdo prolina (Pro) foi obtido de acordo com o método descrito por Carillo e Gibbon (2011). O extrato etanólico foi adicionado a um meio contendo nihindrina 1% (c / v),

ácido acético 60% (v/v) e etanol 20% (v/v). As amostras foram incubadas em um banho de 95 °C por 20 minutos, centrifugadas e resfriadas. A absorbância foi medida a 520 nm usando um espectrofotômetro e a concentração de Pro foi baseada em uma curva padrão e expressa como $\mu\text{mol g}^{-1}$ PF.

O método proposto por McCready et al. (1950) foi utilizado para determinar o conteúdo de açúcares solúveis totais (AST). Uma alíquota contendo 50 μL do extrato etanólico foi adicionada a 950 μL de uma solução de antrona. Os tubos foram colocados em água fervente por dez minutos e após o resfriamento as amostras foram submetidas à leitura em um espectrofotômetro a um comprimento de onda de 650 nm. A concentração de AST foi calculada a partir de uma curva padrão feita com glicose. O precipitado do procedimento etanólico de extração foi utilizado para determinar o teor de amido. Os tubos de ensaio contendo o precipitado tiveram a adição de 4 ml de ácido perclórico 30% (v/v) e foram colocados em um banho a 90 °C por 60 minutos. Após o resfriamento, as amostras foram centrifugadas a $6.000 \times g$ por dez minutos. O extrato coletado foi armazenado e utilizado para determinar o nível de amido utilizando o método de antrona utilizado e descrito na determinação dos AST.

2.5. Área foliar, peso da parte aérea e raiz e rendimento de sementes

As avaliações relacionadas ao desenvolvimento das plantas foram realizadas no último dia de aplicação dos tratamentos de estresse hídrico (10º dia) e no 7º dia de recuperação. Em um primeiro momento, foi contabilizado o número de perfilhos vegetativos, férteis e totais de cada planta. Em seguida, foram separados os componentes folha, perfilho mais rizoma, raiz e material morto. Durante esse procedimento, a área foliar foi medida em cm^2 com o auxílio de um medidor de área (modelo LI-3100C, Li-Cor, Lincoln, NE, EUA). Os componentes de cada planta foram colocados individualmente em sacos de papel e deixados secar em estufa a 60 °C por 72 horas até massa constante.

Aos 58 dias após o término da imposição dos tratamentos de estresse hídrico - que coincidiu com a cessação da emissão de novas inflorescências - as sementes foram colhidas para avaliação da produtividade. Além das variáveis ligadas ao desenvolvimento vegetativo, também foi determinado o número de inflorescências por planta. Nesse momento, foi contabilizado o número de racemos por inflorescência e avaliado seu comprimento médio com o uso de uma régua milimetrada. As sementes de cada planta foram retiradas manualmente dos racemos e colocadas em sacos de papel. A retirada do excesso de umidade das sementes ocorreu colocando-as em estufa de ar forçado a 32 °C por 24 horas. Após a secagem, o número total de sementes de cada planta (flores vazias e preenchidas) foi medido com contador eletrônico de sementes (modelo ESC 2011 Comp, Sanick, Chapecó, SC, Brasil). espiguetas vazias foram retiradas com auxílio de soprador de ar forçado Dakota do Sul (De Leo, Porto Alegre, RS, Brasil), e sua porcentagem no total de sementes por planta foi obtida com nova contagem, seguida de sua aplicação na seguinte fórmula: $100 - [(espiguetas \text{ após a soproagem} / espiguetas \text{ totais}) \times 100]$.

A pesagem do número total de sementes (flores preenchidas) após o sopro permitiu a determinação do peso de 1000 sementes (PMS) e sua viabilidade foi determinada pelo teste de tetrazólio, o qual foi obtido conforme o protocolo estabelecido pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Nesse procedimento, 50 sementes foram divididas longitudinalmente com lâmina e apenas uma das partes foi colocada em frasco de vidro contendo solução de tetrazólio 0,1%. Os frascos foram mantidos a uma temperatura de 40 °C no escuro por 6 horas. As sementes retiradas desta condição foram lavadas e sua viabilidade determinada através da intensidade da coloração vermelha apresentada pelos embriões.

O teste de germinação foi precedido pela utilização da técnica de superação de dormência relatada por West (1992), na qual as sementes foram escarificadas e expostas por 96 horas à temperatura de 41 °C em ambiente com 100% de umidade relativa com ausência

de luz. Para cada unidade experimental, duas subamostras contendo 100 sementes foram semeadas individualmente em caixas do tipo gerbox contendo papel de germinação umedecido com solução de nitrato de potássio 0,2%. As caixas foram colocadas em um germinador do tipo BOD ajustado com fotoperíodo de oito horas de luz, sob temperatura alternada de 35-20 °C. O teste foi concluído com a contagem das sementes germinadas no 28º dia após o início do teste (Brasil, 2009) e os resultados foram expressos em porcentagem.

2.6. Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e esquema fatorial 2×3 , resultante da combinação de dois genótipos (diplóide e tetraplóide) com os três níveis da condição hídrica (controle, seca e alagamento), totalizando seis tratamentos. Ao longo das etapas de estresse hídrico, recuperação e também no desempenho ao final do ciclo, quatro unidades experimentais ($n = 4$) foram avaliadas para cada tratamento na determinação de todas as variáveis. Os resultados das trocas gasosas nas folhas sobre o estresse hídrico e a recuperação foram avaliados pela diferença significativa mínima de Fischer a 5% de probabilidade. Para todas as demais variáveis, também foi realizada análise de variância (ANOVA) e, com a presença de significância pelo teste F, foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação de médias entre os tratamentos. O software Sisvar (Ferreira et al. 2011) foi utilizado para realizar essas análises.

Além disso, a análise de componentes principais com variáveis analisadas no final do período de estresse e durante a colheita das sementes foi realizada a fim de detectar possíveis agrupamentos entre os tratamentos e detectar quais variáveis (autovetores) foram mais importantes para fazê-lo; em seguida, foi construído um gráfico biplot mostrando as taxas do primeiro e do segundo componentes (autovalores).

3. Resultados

3.1. Desempenho fotossintético e temperatura foliar (TF) das plantas

Após dois dias da interrupção do fornecimento de água, a CAA do solo atingiu 25% em comparação com a situação de controle (Fig. 1a-b). A partir deste momento, após quatro dias de déficit hídrico, os valores líquidos de assimilação de CO₂ (*A*) foram reduzidos de 20,3 para -0,35 em plantas diplóides e de 18,8 para 1,54 em plantas tetraplóides, acompanhados de menor condutância estomática (*gs*) (64 e 82% menor em diploides e tetraploides, respectivamente) e uma menor eficiência do uso de água (EUA) (Fig. 2a, f). As imagens termográficas mostraram que aos 10 dias de déficit hídrico, as plantas dos dois genótipos apresentavam TF maior que o ambiente (Fig. 1c, d). Em contraste, as plantas diplóides e tetraplóides submetidas ao alagamento tiveram desempenho fotossintético semelhante às plantas de controle (Fig. 2a-f).

O potencial de recuperação da grama forquilha foi verificado logo nas primeiras 24 horas após a restauração da CAA do solo em 80%. Plantas previamente submetidas ao déficit hídrico apresentaram valores de TF, *A* e *gs* semelhantes aos observados em plantas controle e plantas previamente alagadas (Fig. 2a-d). Um maior desempenho fotossintético foi significativo aos 7 dias de recuperação. Neste momento, as plantas diplóides e tetraplóides previamente sujeitas ao déficit hídrico mostraram *A*'s superiores de 36% e 34% do que as plantas controle, respectivamente (Fig. 2a-b).

3.2. Conteúdo relativo de água (CRA) e extravasamento de eletrólitos (EE)

No final do período de estresse hídrico, as plantas diplóides e tetraplóides sujeitas ao déficit hídrico apresentaram redução do conteúdo relativo de água (CRA) em 20 e 17%, respectivamente, enquanto as plantas submetidas ao alagamento tiveram CRA semelhantes às plantas controle (Tabela 1). O CRA em todos os tratamentos foi totalmente restabelecido no período de recuperação, com média de 93%. Independentemente do tempo ou condição de estresse, não houve efeito do fator genótipo para o CRA.

Para a variável extravasamento de eletrólitos (EE), indicativo de integridade de membranas, foi verificado efeito isolado dos fatores genótipo e estresse hídrico (Tabela 1). A avaliação isolada do fator estresse hídrico (seca) mostra que plantas submetidas à condição de déficit apresentaram um EE 33.6 % e 34.4 % inferior as plantas controle e alagadas, respectivamente, enquanto que na avaliação isolada do fator genótipo é possível constatar que plantas diploides apresentaram um EE 22.5% superior ao de plantas tetraploides. Esta diferença entre os dois genótipos foi novamente evidenciada aos sete dias de recuperação, enquanto que não houve efeito do fator estresse hídrico neste segundo momento (Tabela 1).

3.3. Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e malondialdeído (MDA)

Ao final do período de estresse (10^o dia), os teores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e malondialdeído (MDA) nas folhas das plantas foram afetados apenas pelo fator estresse hídrico, em que valores significativamente inferiores ocorreram em plantas alagadas (Fig. 3a, e). Efeitos da interação genótipo × estresse hídrico no conteúdo de H₂O₂ da raiz foram verificados. Enquanto as plantas tetraplóides apresentaram um aumento de 90 e 92% no conteúdo deste composto com déficit hídrico e alagamento, as plantas diplóides tiveram um aumento semelhante (88%) apenas com o alagamento (Fig. 3c, g). Níveis mais elevados de MDA nas raízes foram observados nas plantas submetidas ao déficit hídrico (12,8 nmol g⁻¹), seguido de plantas expostas ao alagamento (7,3 nmol g⁻¹) e a condição controle (5,0 nmol g⁻¹).

Efeito isolado dos fatores genótipo e estresse hídrico foi verificado para H₂O₂ e MDA em folhas aos sete dias de recuperação (Fig. 3 b,f). Plantas tetraplóides apresentaram maior conteúdo desses compostos em comparação com plantas diplóides, enquanto níveis mais baixos foram encontrados em plantas previamente sujeitas ao déficit hídrico. Resultados obtidos em raiz no 7^o dia de recuperação apontam a presença de interação entre os fatores estudados (Fig. 3 d,h). Os níveis inferiores de H₂O₂ em raízes de plantas de ambos os

genótipos anteriormente submetidas ao déficit hídrico mostram uma tendência semelhante ao ocorrido em parte aérea, apesar do maior conteúdo de MDA em plantas tetraploides.

3.4 Atividade antioxidante

Apesar das mudanças geradas pela seca nos níveis de H_2O_2 e MDA, as plantas expostas ao déficit hídrico apresentaram atividades ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) semelhantes, e menores atividades de superóxido dismutase (SOD), tanto nas folhas quanto nas raízes, do que o verificado em plantas controle (Tabela 2). Não houve efeito dos tratamentos sobre a atividade de guaiacol peroxidase (POD) nas folhas, mas sua atividade nas raízes das plantas submetidas ao déficit hídrico foi 8 vezes maior que o controle (Tabela 2).

Em contrapartida, houve aumento da atividade de APX nas folhas (26,4%) e raízes (26,6%) das plantas alagadas em relação às plantas controle. As folhas das plantas tetraplóides alagadas apresentaram alta atividade de SOD, enquanto as plantas diplóides expostas a esta condição tiveram um aumento na atividade de CAT. Efeitos remanescentes do estresse hídrico ainda foram observados no período de recuperação, como a menor atividade da SOD nas folhas das plantas previamente expostas à seca e a maior atividade do APX na parte aérea das plantas tetraplóides após o alagamento. Nas raízes, esse efeito prolongado ocorreu com maior atividade POD em plantas previamente expostas ao déficit hídrico.

3.5 Osmoprotetores, compostos fenólicos totais (CFT) e amido

Plantas dos dois genótipos expostas ao déficit hídrico apresentaram aumento na síntese de compostos orgânicos que contribuem para o ajuste osmótico da célula. Houve efeito isolado do fator estresse hídrico sobre prolina (Pro) e açúcares solúveis totais (AST) nas folhas. As plantas expostas ao déficit hídrico mostraram aumentos de 5 e 2 vezes nos teores de Pro e AST em comparação com as plantas controle, respectivamente (Tabela 3). Plantas tetraplóides apresentaram maior teor de amido nas folhas do que diplóides, enquanto a redução desse composto ocorreu sob baixa disponibilidade hídrica. Nas raízes, a baixa

disponibilidade de água aumentou não só o teor de Pro, mas também os teores de compostos fenólicos totais - CFT - (+ 19%), AST (+ 30%) e amido (+ 18%). Em contraste, as raízes submetidas ao alagamento apresentaram redução nos teores de amido e CFT.

Os efeitos do estresse hídrico ainda foram evidentes na recuperação (Tabela 3). As folhas de plantas previamente submetidas ao déficit hídrico apresentaram maiores níveis de Pro do que as plantas controle (+ 22%), enquanto menores valores de AST, tanto na raiz quanto nas folhas, foram encontrados em plantas submetidas à seca. As plantas do tratamento controle apresentaram maiores níveis de CFT nas raízes em comparação com ambos os estresses hídricos.

3.6 Caracterização estrutural de plantas durante estresse e recuperação

Efeito marcante do fator genótipo – com valores superiores de plantas diploides - ocorreu para as variáveis vinculadas ao número de perfilhos, tanto no 10º dia de estresse quanto no 7º dia de recuperação (Tabela 4). Enquanto as plantas alagadas apresentaram maior número de perfilhos férteis ao final do estresse hídrico, essa mesma variável foi influenciada apenas pelo fator genótipo (maior nos diplóides) ao final da recuperação. No entanto, os efeitos isolados dos fatores genótipo e estresse hídrico mostraram que as plantas tetraplóides apresentaram maior área foliar do que as diplóides nos dois momentos de avaliação (final do estresse e recuperação); enquanto o déficit hídrico (seca) induziu uma menor área foliar em relação ao controle, tanto no final dos tratamentos de estresse (-45%) quanto na recuperação (-27%). Efeito isolado dos dois fatores foi novamente verificado no peso seco de folhas; mas com peso superior em plantas tetraplóides apenas na recuperação.

Plantas submetidas ao alagamento apresentaram maior peso seco de perfilhos mais rizomas ao final do período de estresse hídrico, enquanto o fator genótipo, com maior número de perfilhos em plantas diplóides, não afetou esta variável. Já o efeito isolado do fator

genótipo mostrou que as plantas tetraplóides apresentaram maior peso seco de raízes (31%) em relação às diplóides (Tabela 4).

3.7 Componentes do rendimento de sementes

Efeitos causados por ambos os tratamentos de estresse hídrico (seca e alagamento) foram observados nos componentes do rendimento de sementes (Tabela 5). A existência de interação entre os fatores para área (cm²) e peso de folhas permite constatar desempenho superior de plantas tetraplóides. Plantas diplóides previamente alagadas apresentaram menor peso seco de folhas, enquanto plantas tetraplóides apresentaram maior área foliar e massa seca de perfilhos mais rizomas. Em todos os tratamentos do fator estresse hídrico, as plantas tetraplóides apresentaram maior peso seco de raízes em comparação às plantas diplóides.

As estruturas reprodutivas no momento da colheita das sementes também foram influenciadas pelos tratamentos de estresse hídrico. As plantas diplóides anteriormente alagadas exibiram um maior número de inflorescências em comparação com as plantas controle. As plantas diplóides também apresentaram maior número de racemos em cada inflorescência. No entanto, o efeito isolado dos fatores genótipo e estresse hídrico mostram que o comprimento médio dos racemos foi superior em plantas tetraploides e, ao mesmo tempo, plantas anteriormente alagadas tiveram racemos com um comprimento médio 9 % superior ao de plantas controle (Tabela 5).

Em relação ao rendimento de sementes, as porcentagens de 50 e 43% de flores vazias ocorreram em plantas diplóides e tetraplóides, respectivamente, enquanto a maior porcentagem de flores vazias ocorreu em plantas submetidas ao déficit hídrico. Essa mesma condição reduziu o número de flores preenchidas (sementes bem formadas) apenas em plantas diplóides. As plantas diplóides produziram um número de sementes 71% maior do que as tetraplóides, porém, com um peso de 1000 ementas (PMS) 47% menor (Tabela 5). As porcentagens de viabilidade e germinação das sementes não foram afetadas pelos níveis de

estresse hídrico, mas sim pelo fator genótipo. Enquanto as plantas diplóides apresentaram viabilidade e germinação de 85 e 80%, respectivamente, valores de 93 e 56% foram obtidos nas plantas tetraplóides.

3.7 Análise de componentes principais (ACP)

Os resultados da ACP mostram que a separação dos seis tratamentos no gráfico biplot foi obtida nesta análise (Fig. 4). Os dois componentes principais explicaram 52,52% da variância total dos dados, correspondendo a 32,41% para CP1 e 20,11% para CP2. Entre as variáveis que mais contribuíram para distinguir os tratamentos no primeiro componente estão a área foliar (AF) (0,24), o peso seco de folhas (0,23), *A* (0,24), *g_s* (0,23), CRA (0,22), teores de Pro (0,22; 0,23) e amido (0,21; 0,21) nas folhas e raízes, respectivamente, CFT (0,21) e atividade da enzima POD (0,21) nas raízes. Pelo primeiro componente foi possível separar os tratamentos de déficit hídrico de ambos os genótipos do lado direito do eixo Y. As variáveis que mais influenciaram o CP2 foram àquelas relacionadas à produção e biomassa na última avaliação (colheita das sementes): PMS (0,30), número (0,29) e germinação (0,28) de sementes, AF (0,30), peso seco de folhas (0,28), peso seco de raiz (0,27). Nesse componente, podem ser observadas diferenças entre os genótipos diplóide e tetraplóide, com os tratamentos deste último distribuídos na parte inferior do eixo X.

4. Discussão

Períodos de limitação de água e chuvas excessivas que geram alagamentos em áreas baixas representam condições climáticas adversas às quais os campos naturais do Bioma Pampa estão frequentemente sujeitos. Nesse ambiente desafiador, predomina uma espécie conhecida não só pela rusticidade, mas também pelo valor forrageiro: a grama forquilha. Avaliar os mecanismos utilizados por esta espécie para tolerar o estresse hídrico durante a fase reprodutiva deve contribuir para o entendimento de sua persistência em ambientes com condições climáticas adversas.

Períodos de limitação de água fornecem restrições severas ao desenvolvimento da planta. Os primeiros efeitos em gramíneas forrageiras C4 incluem a redução do CRA foliar, fechamento estomático e redução da taxa de assimilação de CO₂ (Carmo-Silva et al., 2008; Jespersen et al., 2019), bem como redução de pigmentos fotossintéticos (Ahmad et al., 2013; Katuwal et al., 2020c). O menor crescimento de plantas de grama forquilha foi relatado por Ribeiro et al. (2006), causado pela redução da atividade fotossintética das plantas. Eles também descobriram que a *g_s* foi um dos principais fatores limitantes para a fotossíntese, o que é verificado pela relação inversa da direção dos vetores *A* e *g_s* com os tratamentos de seca distribuídos de forma oposta no biplot (Fig. 4).

Após a aplicação dos tratamentos de estresse hídrico, houve redução nos valores de *A* e *g_s* em plantas diplóides e tetraplóides especialmente submetidas ao déficit hídrico. A baixa disponibilidade de água também foi investigada em *Leimus chinensis* por Xu et al. (2009), que verificaram que plantas submetidas ao estresse (35-25% da capacidade de retenção de água do solo) tiveram reduções de 75 e 65% em *A* e *g_s*, respectivamente. O desempenho fotossintético mais baixo, mesmo no início do estresse, pode caracterizar uma importante estratégia de tolerância ao déficit. Ao avaliar as respostas da grama bermuda (*Cynodon* spp.) ao estresse hídrico, Zhou et al. (2013a) relataram que genótipos com maior tolerância apresentaram menor condutância estomática nos estágios iniciais de limitação de água.

A manutenção da atividade fotossintética sob déficit hídrico, observada em plantas diplóides e tetraplóides aos 8 e 10 dias após o início do estresse, parece ser um importante indicador de tolerância à seca em gramíneas perenes C4 (Zhou et al., 2013b; Katuwal et al., 2020c). Em contraste com os efeitos causados pelo déficit hídrico, taxas de *A* e *g_s* semelhantes às das plantas controle ocorreram em plantas diplóides e tetraplóides alagadas. Em *Paspalum dilatatum* - outra espécie com importante papel nos campos naturais do Bioma

Pampa - o alagamento aumentou gs , o potencial hídrico foliar e também A (Insausti et al., 2001).

Avaliar o desempenho de gramíneas forrageiras C4 após estresse é uma abordagem que permite distinguir genótipos pelo potencial de recuperação (Beloni et al., 2017). O uso de tal abordagem mostrou que plantas diplóides e tetraplóides previamente submetidas ao déficit exibiram A maior do que plantas controle e inundadas. A taxa de crescimento relativo, fotossíntese foliar e o potencial para uso de luz foram relatados por Xu et al. (2009) como variáveis marcadamente estimuladas pela seca imposta a *L. chinensis*. Embora estudos sugiram que a poliploidia pode melhorar a capacidade fotossintética, não foram observadas diferenças entre os dois genótipos (Ruiz et al., 2020).

Outro conjunto de variáveis fisiológicas associadas à tolerância ao estresse hídrico é aquele relacionado à prevenção de danos oxidativos. As espécies reativas de oxigênio (ERO's) atuam como sinalizadores para vários processos biológicos (Baxter et al., 2013; Petrov et al., 2015; Mittler, 2017). Quando as plantas são submetidas a uma condição desfavorável, as ERO's regulam diferentes vias durante o processo de aclimação, mas também são subprodutos tóxicos do metabolismo do estresse (Choudhury et al., 2017). Sun et al. (2020) realizaram uma metanálise sobre este tópico e descobriram que a superprodução de ERO's foi o principal mecanismo por trás das respostas das plantas ao estresse hídrico que, por exemplo, é frequentemente relatado em espécies do gênero *Paspalum* (Ahmad et al., 2013; Rios et al., 2020; Katuwal et al., 2020b).

Os níveis de H_2O_2 e MDA verificados no último dia de estresse mostram que as raízes dos dois genótipos foram mais sensíveis ao dano oxidativo em relação à parte aérea. Em dois genótipos de *P. vaginatum* submetidos à seca, Katuwal et al. (2020b) encontraram um aumento no conteúdo de MDA de 47 e 197% em comparação com plantas controle dos genótipos Seastar e UGP113, respectivamente. O aumento do teor de MDA foi observado no

presente trabalho em folhas das plantas expostas à seca, embora em menor proporção do que o observado em raiz. Comumente relacionado a gramíneas C4 submetidas à seca, o nível de MDA permite não apenas avaliar o dano oxidativo dessa condição adversa, mas também contribui para distinguir genótipos por níveis de tolerância (Katuwal et al., 2020d). A maior sensibilidade da raiz aos danos oxidativos também ocorreu nas plantas alagadas. Em uma revisão recente sobre os efeitos de estresses abióticos em gramíneas utilizadas em paisagismo (uma categoria de plantas com predominância do metabolismo C4) Fan et al. (2020) destacaram que o alagamento desencadeia um aumento na atividade de enzimas antioxidantes como resultado de danos às membranas celulares e o aumento na produção de ERO's. Por exemplo, plantas de *Agrostis stolonifera* submetidas ao alagamento por 21 dias tiveram um aumento na atividade SOD nas raízes, mas não em glutathione redutase e POD (Wang e Jiang, 2007).

Sete dias após a recuperação, as plantas de ambos os genótipos avaliados no presente trabalho ainda apresentavam efeitos dos tratamentos de estresse, com destaque para menores níveis de H₂O₂ e MDA em plantas previamente submetidas à seca. Da mesma forma, após a reidratação de plantas de *P. densum* e *Setaria parviflora* submetidas à seca, Rios et al. (2020) encontraram diminuição nas concentrações de MDA, aumento na atividade da catalase e, conseqüentemente, diminuição nas concentrações de H₂O₂ nas folhas de ambas as espécies.

Como parte das principais respostas ao estresse hídrico, as plantas acumulam certas moléculas que auxiliam na homeostase do estado da água. Moléculas que atuam no ajuste osmótico das células têm papel fundamental na tolerância das plantas ao déficit hídrico (Ozturk et al., 2020). O aumento na síntese desses “osmoprotetores” é uma resposta comumente relatada em espécies do gênero *Paspalum* quando submetidas à seca (Ahmad et al., 2013; Elansary e Yessoufou, 2015; Silva et al., 2020). Os maiores danos causados pela baixa disponibilidade de água podem ser atribuídos ao menor ajuste osmótico das plantas com

o uso de uma grande quantidade de metabólitos de alto custo para o crescimento das plantas (Katuwal et al. 2020a).

No presente estudo, folhas e raízes de plantas diplóides e tetraplóides expostas ao déficit hídrico tiveram um aumento significativo nos níveis de Pro, um chaperona molecular que atua na regulação de atividades enzimáticas e proteção da integridade de proteínas (Zulfiqar et al., 2020). Aqui, o conteúdo de Pro mostrou uma forte associação com os níveis de AST, um grupo de osmoprotetores que regulam o ajuste osmótico, fornecendo proteção de membrana e eliminando ERO's excessivos contra vários tipos de tensões (Singh et al., 2015). Marimuthu e Murali (2018) também encontraram aumento na concentração de osmoprotetores em plantas de *Paspalum scrobiculatum* submetidas à seca, condição que também promoveu redução no teor de amido. Ao revisar o papel desse carboidrato em uma condição de estresse, Thalmann e Santelia (2017) relataram que as plantas frequentemente remobilizam sua reserva de amido para liberar energia, açúcares e metabólitos derivados para apoiar a mitigação dos efeitos do estresse. Em nosso estudo, maior teor de amido foi encontrado nas folhas de plantas tetraplóides.

Além disso, os compostos fenólicos são considerados um grupo quimicamente diverso de metabólitos secundários que desempenham um papel importante na proteção contra o estresse. Ao avaliar as defesas contra fotoinibição por luz visível e estresse UV nas folhas, Csepregi e Hideg (2017) relataram que, entre todos os compostos estudados, os flavonóides foram os principais eliminadores de oxigênio singlete e H₂O₂. Nesse sentido, resultados obtidos por Silva et al. (2020) demonstraram que metabólitos secundários foram responsáveis por alguma capacidade fisiológica de *P. virgatum* em suportar o excesso ou déficit hídrico.

Variáveis como Pro, AST, CFT e amido contribuíram notavelmente no CP1 da análise de componentes principais e permitiram distinguir os tratamentos de acordo com a condição da água. Aos sete dias de recuperação, ainda é possível encontrar diferenças no teor de Pro

nas folhas e CFT nas raízes de plantas previamente expostas à seca. Estudos recentes apontam que a manutenção de níveis mais elevados de metabólitos secundários e até mesmo de enzimas antioxidantes pode ajudar as plantas a tolerar um possível novo estresse. Sobre esse assunto, Lukić et al. (2020) descobriram que plantas da gramínea *Alopecurus pratensis* previamente submetidas à seca tiveram melhor desempenho do que plantas controle sob um segundo estresse.

Apesar das respostas fisiológicas e bioquímicas semelhantes observadas durante o estresse e a recuperação, as plantas tetraplóides confirmaram seu desempenho superior - conforme relatado anteriormente por Weiler et al. (2018) - ao apresentar maior área foliar e maior peso seco de raiz do que plantas diplóides. No entanto, a falta de interação entre os fatores genótipo e estresse hídrico sugere que as características estruturais não foram o principal fator de influência à tolerância ao déficit hídrico. Em genótipos de *P. vaginatum* submetidos a essa mesma condição adversa, Katuwal et al. (2020c) constataram que os níveis de resistência observados à baixa disponibilidade de água não tiveram relação significativa com características morfológicas, como largura da folha e comprimento do entrenó, mas foram associados a várias características fisiológicas.

Os principais efeitos do estresse hídrico mostraram que a exposição das plantas ao déficit no início da fase reprodutiva reduziu o peso seco das folhas, perfilhos e rizomas (estes últimos apenas em recuperação). No entanto, não afetou o peso seco de raiz, componente que parece ter papel importante na tolerância à baixa disponibilidade hídrica. Shahba e Abbas (2014) atribuíram a resistência dos cultivares de *P. vaginatum* ao estresse hídrico a uma prática de desfolha menos drástica, que poderia favorecer o crescimento radicular por meio do aumento da fixação de carbono. Além do ajuste osmótico e do aparato antioxidante, Katuwal et al. (2020d) relataram que melhores desempenhos em espécies do gênero *Cynodon* sob seca

podem ser atribuídos à características de prevenção de dessecação, como a partição de massa total para raízes e sua viabilidade.

As plantas de grama forquilha alagadas tiveram um desempenho semelhante ao das plantas controle ao final dos períodos de estresse e de recuperação. Ao final do ciclo, essa condição promoveu aumento na massa seca das raízes em ambos os genótipos, bem como nas folhas, rizomas e perfilhos totais apenas nas plantas tetraplóides. Embora o período prolongado de alagamento não tenha afetado a peso seco total das plantas aqui avaliadas, Sigua et al. (2012) observaram um ligeiro aumento no crescimento de plantas de grama forquilha quando submetidas a esta condição. A tolerância ao alagamento por plantas de grama forquilha parece ser um atributo sujeito ao desempenho das raízes. Segundo Xiao e Jespersen (2019), a morfologia radicular, a taxa respiratória e o teor de carboidratos solúveis em água foram as variáveis que contribuíram para a maior tolerância do *P. vaginatum* ao alagamento quando comparado a plantas de *Cynodon*. A tolerância à inundação em *P. dilatatum* foi atribuída a um conjunto de respostas em níveis anatômicos, morfológicos e fisiológicos, com destaque para o aumento da porosidade radicular e a formação de aerênquima na bainha foliar (Insausti et al., 2001).

A rusticidade da grama forquilha em resposta às flutuações ambientais também inclui alta tolerância à seca (Severmutlu et al., 2011). No entanto, os efeitos dessas condições adversas durante o início da fase reprodutiva da grama forquilha precisam ser avaliados. Em nosso trabalho, plantas de grama forquilha sujeitas ao déficit hídrico apresentaram aumento na porcentagem de flores vazias e menor número de sementes preenchidas (formadas) por planta (esta última apenas em diploides). Uma metanálise conduzida por Cohen et al. (2020) mostra que os impactos gerados pelo déficit hídrico e pelo calor são mais severos quando aplicados durante a fase reprodutiva das plantas. Em um estudo sobre os efeitos da redução da

disponibilidade de água em uma pastagem seminatural, Zeiter et al. (2016) relataram que a seca do verão reduziu a densidade de sementes de gramíneas em 44%.

A ausência do efeito do déficit hídrico nas sementes bem formadas de grama forquilha tetraplóide corrobora com estudos que atribuem às plantas poliplóides maiores vantagens para minimizar os impactos de condições desfavoráveis (Stevens et al. 2020). Godfree et al. (2017) concluíram através de sua pesquisa com a gramínea perene *Themeda triandra* que a vantagem poliplóide está ligada à manutenção homeostática da produção reprodutiva sob estresse abiótico crescente, bem como a diferenças fixas no tamanho e morfologia da semente que aumentam a aptidão e mobilidade do propágulo. Embora não tenha sido um fator decisivo no presente estudo, a maior atividade antioxidante é relatada como um dos possíveis motivos que permitem maior tolerância em poliplóides em condições desfavoráveis (Deng et al. 2012, Xu et al. 2019).

O possível motivo para maior estabilidade do rendimento de sementes em plantas tetraplóides pode estar relacionado ao nível de reservas, uma vez que essas mesmas plantas apresentavam maior teor de amido nas folhas ao final dos tratamentos de estresse. Sob estresse, as reservas - como o suprimento de sacarose - desempenham um papel importante na manutenção do enchimento das sementes e na redução do aborto de flores (Hiyane et al., 2010). Também é possível observar que o maior acúmulo de biomassa - expresso por uma maior área foliar e massa seca de folhas e raízes - contribuíram para a separação dos grupos de acordo com a ACP.

5. Conclusões

Nossos resultados mostraram que plantas diplóides e tetraplóides submetidas ao alagamento no início da fase reprodutiva apresentaram desempenho semelhante e até superior em relação às plantas controle no final do período de estresse hídrico, bem como na recuperação e colheita de sementes. As altas atividades de CAT e APX na raiz foram

provavelmente os principais fatores que contribuíram para sua tolerância. Apesar da redução significativa no crescimento da parte aérea, as plantas de ambos os genótipos submetidas ao déficit hídrico foram capazes de sustentar uma atividade fotossintética positiva e acompanhar o crescimento radicular com o suporte de uma maior síntese de compostos fenólicos totais, prolina e açúcares solúveis. De modo geral, apesar das diferenças morfológicas entre os dois genótipos, as respostas fisiológicas e bioquímicas sob condições de estresse e recuperação mostraram que plantas diplóides e tetraploides tiveram desempenho semelhante. No entanto, o rendimento de sementes de plantas diplóides expostas à seca foi reduzido, enquanto o tetraplóide foi capaz de manter o mesmo número de sementes produzidas, independentemente da condição da água, confirmando o desempenho de rendimento superior previsto do genótipo tetraplóide.

Declaração do Autor:

GSB e YCG estiveram envolvidos na concepção do experimento, sua instalação e avaliações, bem como na análise dos dados e elaboração do manuscrito. A CESP participou da concepção do experimento e da preparação do manuscrito. GMS participou da análise dos dados e da preparação do manuscrito. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito.

Declarações de conflito de interesses: nenhum

Agradecimentos

Os autores agradecem ao professor Miguel Dall'Agnol (Universidade Federal do Rio Grande do Sul) e ao pesquisador João Carlos Pinto Oliveira (Embrapa Pecuária do Sul), que contribuíram com a disponibilização das sementes dos dois genótipos. Os autores também gostariam de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), instituição que concedeu bolsas de doutorado (Código Financeiro 001) para os dois primeiros autores.

Referências

- Ahmad, M.A., Murali, P.V., Panneerselvam, R., 2013. Drought stress induced biochemical alterations in two varieties of *Paspalum scrobiculatum* L. *Int J Curr Sci.* 7, 80-96. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20133416875>
- Anderson, M.D., Prasad, T.K., Stewart, C.R., 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiol.* 109, 1247-1257. <https://doi.org/10.1104/pp.109.4.1247>
- Basto, S., Thompson, K., Grime, J. P., Fridley, J.D., Calhim, S., Askew, A.P., Rees, M., 2018. Severe effects of long-term drought on calcareous grassland seed banks. *NPJ Clim Atmos Sci.* 1, 1-7. <https://doi.org/10.1038/s41612-017-0007-3>
- Baxter, A., Mittler, R., Suzuki, N., 2014. ROS as key players in plant stress signalling. *J Exp Bot.* 65, 1229-1240. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert375>
- Beauchamp, C., Fridovich, I., 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem.* 44, 276-287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
- Beloni, T., Pezzopane, C.D.G., Rovadoscki, G.A., Fávero, A.P., Dias-Filho, M.B., Santos, P.M., 2017. Morphological and physiological responses and the recovery ability of *Paspalum* accessions to water deficit and waterlogging. *Grass Forage Sci.* 72, 840-850. <https://doi.org/10.1111/gfs.12281>
- Beneragama, C.K., Kumara, G.D.K., 2018. Evaluation of Bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) and Bahiagrass (*Paspalum notatum* Flüggé) for short-term drought tolerance targeting low-maintenance landscaping. *Int J Appl Sci Biotechnol.* 6, 12-16. <https://doi.org/10.3126/ijasbt.v6i1.19304>
- Blum, A., Ebercon, A., 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat¹. *Crop Sci.* 21, 43-47. <https://doi.org/10.2135/cropsci1981.0011183X002100010013x>
- Boeri, P.A., Unruh, J.B., Kenworthy, K.E., Trenholm, L.E., Rios, E.F., 2020. Above and below ground traits of turf-type bahiagrass (*Paspalum notatum* Flüggé) genotypes under simulated drought. *Int Turfgrass Soc Res.* <https://doi.org/10.1002/its2.39>
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 72, 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

- Brasil., 2009. Regras Para Análise de Sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária.
- Cakmak, I., Horst, W.J., 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiol Plant*. 83, 463-468. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb00121.x>
- Carillo, P., Gibbon, Y., 2011. PROTOCOL: extraction and determination of proline. PrometheusWiki 01/2011.
- Carmo-Silva, A.E., Powers, S.J., Keys, A.J., Arrabaça, M.C., Parry, M.A., 2008. Photorespiration in C4 grasses remains slow under drought conditions. *Plant Cell Environ*. 31, 925-940. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01805.x>
- Choudhury, F.K., Rivero, R.M., Blumwald, E., Mittler, R., 2017. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *Plant J*. 90, 856-867. <https://doi.org/10.1111/tpj.13299>
- Cooper, J.D., 2016. Water content, in: Cooper, J.D. (Ed.), *Soil Water Measurement: A Practical Handbook*. John Willey & Sons, Chichester, pp. 23-152.
- Csepregi, K., Hideg, E., 2018. Phenolic compound diversity explored in the context of photo-oxidative stress protection. *Phytochem Anal*. 29, 129-136. <https://doi.org/10.1002/pca.2720>
- Deng, B., Du, W., Liu, C., Sun, W., Tian, S., Dong, H., 2012. Antioxidant response to drought, cold and nutrient stress in two ploidy levels of tobacco plants: low resource requirement confers polytolerance in polyploids? *Plant Growth Regul*. 66, 37-47. <https://doi.org/10.1007/s10725-011-9626-6>
- Dietrich, J.D., Smith, M.D., 2016. The effect of timing of growing season drought on flowering of a dominant C4 grass. *Oecol*. 181, 391-399. <https://doi.org/10.1007/s00442-016-3579-4>
- Elansary, H.O., Yessoufou, K., 2015. Growth regulators and mowing heights enhance the morphological and physiological performance of Seaspray turfgrass during drought conditions. *Acta Physiol Plant*. 37, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1986-5>
- Fan, J., Zhang, W., Amombo, E., Hu, L., Kjorven, J. O., Chen, L., 2020. Mechanisms of environmental stress tolerance in turfgrass. *Agronomy* 104, 522. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040522>
- Ferreira, D.F., 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciênc Agrotec*. 35, 1039-1042. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- Godfree, R.C., Marshall, D J., Young, A.G., Miller, C.H., Mathews, S., 2017. Empirical evidence of fixed and homeostatic patterns of polyploid advantage in a keystone grass

exposed to drought and heat stress. *R Soc Open Sci.* 4, 170934.

<http://dx.doi.org/10.1098/rsos.170934>

González, L., González-Vilar, M., 2001. Determination of relative water content. In: Roger, M.J.R (Ed.), *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*. Springer, Dordrecht, pp. 207-212.

Hiyane, R., Hiyane, S., Tang, A.C., Boyer, J.S., 2010. Sucrose feeding reverses shade-induced kernel losses in maize. *Ann Bot.*, 106, 395-403. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq132>

Insausti, P., Grimoldi, A.A., Chaneton, E. J., Vasellati, V., 2001. Flooding induces a suite of adaptive plastic responses in the grass *Paspalum dilatatum*. *New Phytol.* 152, 291-299.

https://doi.org/10.1111/j.0028-646X.2001.257_1.x

Isfendiyaroglu, M., Ozeker, E., 2001. The relations between phenolic compounds and seed dormancy in *Pistacia* spp. *Cah Options Mediterr.* 56, 227-232. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=QC2001600181>

Jespersen, D., Leclerc, M., Zhang, G., Raymer, P., 2019. Drought performance and physiological responses of bermudagrass and seashore paspalum. *Crop Sci.* 59, 778-786.

<https://doi.org/10.2135/cropsci2018.07.0434>

Katuwal, K.B., Xiao, B., Jespersen, D., 2020a. Physiological responses and tolerance mechanisms of seashore paspalum and centipedegrass exposed to osmotic and iso-osmotic salt stresses. *J Plant Physiol.* 248, 153154. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153154>

Katuwal, K.B., Xiao, B., Jespersen, D., 2020b. Root physiological and biochemical responses of seashore paspalum and centipedegrass exposed to iso-osmotic salt and drought stresses.

Crop Sci. 60, 1077-1089. <https://doi.org/10.1002/csc2.20029>

Katuwal, K.B., Tishchenko, V., Jespersen, D., 2020c. Assessing drought resistance in seashore paspalum genotypes using leaf gas exchange, osmotic adjustment, and rooting characteristics. *Crop Sci.* <https://doi.org/10.1002/csc2.20420>

<https://doi.org/10.1002/csc2.20420>

Katuwal, K.B., Schwartz, B., Jespersen, D., 2020d. Desiccation avoidance and drought tolerance strategies in Bermudagrasses. *Environ Exp Bot.* 171, 103947.

<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103947>

Kiss, R., Deák, B., Török, P., Tóthmérés, B., Valkó, O., 2018. Grassland seed bank and community resilience in a changing climate. *Restor Ecol.* 26, S141-S150.

<https://doi.org/10.1111/rec.12694>

- Liu, B., Sun, G., 2019. Transcriptome and miRNAs analyses enhance our understanding of the evolutionary advantages of polyploidy. *Crit Rev Biotechnol.* 39(2), 173-180.
<https://doi.org/10.1080/07388551.2018.1524824>
- Lukić, N., Kukavica, B., Davidović-Plavšić, B., Hasanagić, D., Walter, J., 2020. Plant stress memory is linked to high levels of anti-oxidative enzymes over several weeks. *Environ Exp Bot.* 178, 104166. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104166>
- Manea, A., Sloane, D.R., Leishman, M.R., 2016. Reductions in native grass biomass associated with drought facilitates the invasion of an exotic grass into a model grassland system. *Oecol.* 181, 175-183. <https://doi.org/10.1007/s00442-016-3553-1>
- Marimuthu, G., Murali, P.V., 2018. Effect of drought stress in *Paspalum Scrobiculatum* L. biochemical and compatible solute accumulation. *Int J Sci Res.* 4, 618-622.
- McCready, R. M., Guggolz, A., Silveira, V., Owens, H. S., 1950. Determination of starch and amylase in vegetables; application to peas. *Anal Chem.* 22, 1156-1158.
<https://doi.org/10.1021/ac60045a016>
- Mittler, R., 2017. ROS are good. *Trends Plant Sci.* 22, 11-19.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>
- Mollard, F.P., Striker, G.G., Ploschuk, E.L., Vega, A.S., Insausti, P., 2008. Flooding tolerance of *Paspalum dilatatum* (Poaceae: Paniceae) from upland and lowland positions in a natural grassland. *Flora.* 203, 548-556. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2007.10.003>
- Nakano, Y.; Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22, 867-880.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
- Nematpour, A., Eshghizadeh, H.R., Zahedi, M., 2019. Drought-tolerance mechanisms in foxtail millet (*Setaria italica*) and proso millet (*Panicum miliaceum*) under different nitrogen supply and sowing dates. *Crop Pasture Sci.* 70, 442-452. <https://doi.org/10.1071/CP18501>
- Norton, M.R., Malinowski, D.P., Voltaire, F., 2016. Plant drought survival under climate change and strategies to improve perennial grasses. A review. *Agron Sustain Dev.* 36, 29.
<https://doi.org/10.1007/s13593-016-0362-1>
- Ozturk, M., Turkyilmaz Unal, B., García-Caparrós, P., Khursheed, A., Gul, A., Hasanuzzaman, M., 2020. Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. *Physiol Plant*, in press. <https://doi.org/10.1111/ppl.13297>

- Petrov, V., Hille, J., Mueller-Roeber, B., Gechev, T.S., 2015. ROS-mediated abiotic stress-induced programmed cell death in plants. *Front Plant Sci.* 6, 69.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00069>
- Ribeiro, R.V., Lyra, G.B., Santiago, A.V., Pereira, A.R., Machado, E.C., Oliveira, R.F., 2006. Diurnal and seasonal patterns of leaf gas exchange in bahiagrass (*Paspalum notatum* Flüggé) growing in a subtropical climate. *Grass Forage Sci.* 61, 293-303.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2006.00533.x>
- Rios, C.O., Siqueira-Silva, A.I., Pereira, E.G., 2020. How does drought affect native grasses' photosynthesis on the revegetation of iron ore tailings? *Environ Sci Pollut Res.* 1-15.
<https://doi.org/10.1007/s11356-020-11599-x>
- Ruiz, M., Oustric, J., Santini, J., Morillon, R., 2020. Synthetic Polyploidy in Grafted Crops. *Front Plant Sci.* 11, 540894. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.540894>
- Severmutlu, S., Mutlu, N., Gurbuz, E., Gulsen, O., Hocagil, M., Karaguzel, O., Heng-Moss, T., Shearman, R.C., Gaussoin, R.E., 2011. Drought resistance of warm-season turfgrasses grown in Mediterranean region of Turkey. *HortTechnology* 21, 726-736.
<https://doi.org/10.21273/HORTTECH.21.6.726>
- Shahba, M.A., Abbas, M.S., Alshammary, S.F., 2014. Drought resistance strategies of seashore *Paspalum* cultivars at different mowing heights. *HortScience* 49, 221-229.
<https://doi.org/10.21273/HORTSCI.49.2.221>
- Sigua, G.C., Williams, M.M., Chase Jr, C.C., Albano, J., Kongchum, M., 2012. Yield and uptake of bahiagrass under flooded environment as affected by nitrogen fertilization. *Agric Sci.* 3, 491-500. <https://doi.org/10.4236/as.2012.34058>
- Silva, P.C.L., Yamashita, O.M., da Silva, I.V., da Rocha, A.M., de Brito, B.Z., de Andrade Royo, V., Saldanha, K.L.A., Carvalho, M.A.C., Cândido, A.C.T.F., Felito, R.A., Andrea, M.C.S., Rossi, A.A.B., 2020. Qualitative characterization of secondary metabolites of *Paspalum virgatum* weed under different water conditions. *Aust J Crop Sci.* 14, 1563-1567.
<https://doi.org/10.21475/ajcs.20.14.10.p2200>
- Singh, M., Kumar, J., Singh, S., Singh, V.P., Prasad, S.M., 2015. Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review. *Rev Environ Sci Biotechnol.* 14, 407-426. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9372-8>
- Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Comissão de Química e Fertilidade do Solo, 2004. Manual de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina 10, Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.

- Stevens, A.V., Nicotra, A.B., Godfree, R.C., Guja, L.K., 2020. Polyploidy affects the seed, dormancy and seedling characteristics of a perennial grass, conferring an advantage in stressful climates. *Plant Biol.* 22, 500-513. <https://doi.org/10.1111/plb.13094>
- Sun, Y., Wang, C., Chen, H.Y., Ruan, H., 2020. Response of plants to water stress: a meta-analysis. *Front Plant Sci.* 11, 978. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00978>
- Thalman, M., Santelia, D., 2017. Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress. *New Phytol.* 214, 943-951. <https://doi.org/10.1111/nph.14491>
- Vasellati, V., Oesterheld, M., Medan, D., Loreti, J., 2001. Effects of flooding and drought on the anatomy of *Paspalum dilatatum*. *Ann Bot.* 88, 355-360. <https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1469>
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci.* 151, 59-66. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
- Wang, K., Jiang, Y., 2007. Antioxidant responses of creeping bentgrass roots to waterlogging. *Crop Sci.* 47, 232-238. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.07.0498>
- Weiler, R.L., Dall'Agnol, M., Simioni, C., Krycki, K.C., Pereira, E.A., Machado, J.M., Motta, E.A.M., 2018. Intraspecific tetraploid hybrids of *Paspalum notatum*: agronomic evaluation of segregating progeny. *Sci Agric.* 75, 36-42. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2016-0354>
- West, S.H., 1992. Reducing dormancy in Pensacola bahiagrass. *J. Seed Technol.* 16, 1-8. <https://www.jstor.org/stable/23432783>
- Xiao, B., Jespersen, D., 2019. Morphological and physiological responses of seashore paspalum and bermudagrass to waterlogging stress. *J Am Soc Hortic Sci.* 144, 305-313. <https://doi.org/10.21273/JASHS04737-19>
- Xu, Z., Zhou, G., Shimizu, H., 2009. Are plant growth and photosynthesis limited by pre-drought following rewatering in grass? *J Exp Bot.* 60, 3737-3749. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp216>
- Xu, J., Jin, J., Zhao, H., Li, K., 2019. Drought stress tolerance analysis of *Populus ussuriensis* clones with different ploidies. *J For Res.* 30, 1267-1275. <https://doi.org/10.1007/s11676-018-0729-z>
- Zeiter, M., Schärer, S., Zweifel, R., Newbery, D.M., Stampfli, A., 2016. Timing of extreme drought modifies reproductive output in semi-natural grassland. *J Veg Sci.* 27, 238-248. <https://doi.org/10.1111/jvs.12362>

- Zhang, J., Kirkham, M.B., 1996. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New Phytol.* 132, 361-373. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1996.tb01856.x>
- Zhou, Y., Lambrides, C.J., Fukai, S., 2013a. Drought resistance of bermudagrass (*Cynodon* spp.) ecotypes collected from different climatic zones. *Environ Exp Bot.* 85, 22-29. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.07.008>
- Zhou, Y., Lambrides, C.J., Roche, M.B., Duff, A., Fukai, S., 2013b. Temporal and spatial patterns of soil water extraction and drought resistance among genotypes of a perennial C4 grass. *Funct Plant Biol.* 40, 379-392. <https://doi.org/10.1071/FP12270>
- Zulfiqar, F., Akram, N. A., Ashraf, M., 2020. Osmoprotection in plants under abiotic stresses: New insights into a classical phenomenon. *Planta* 251, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03293-1>

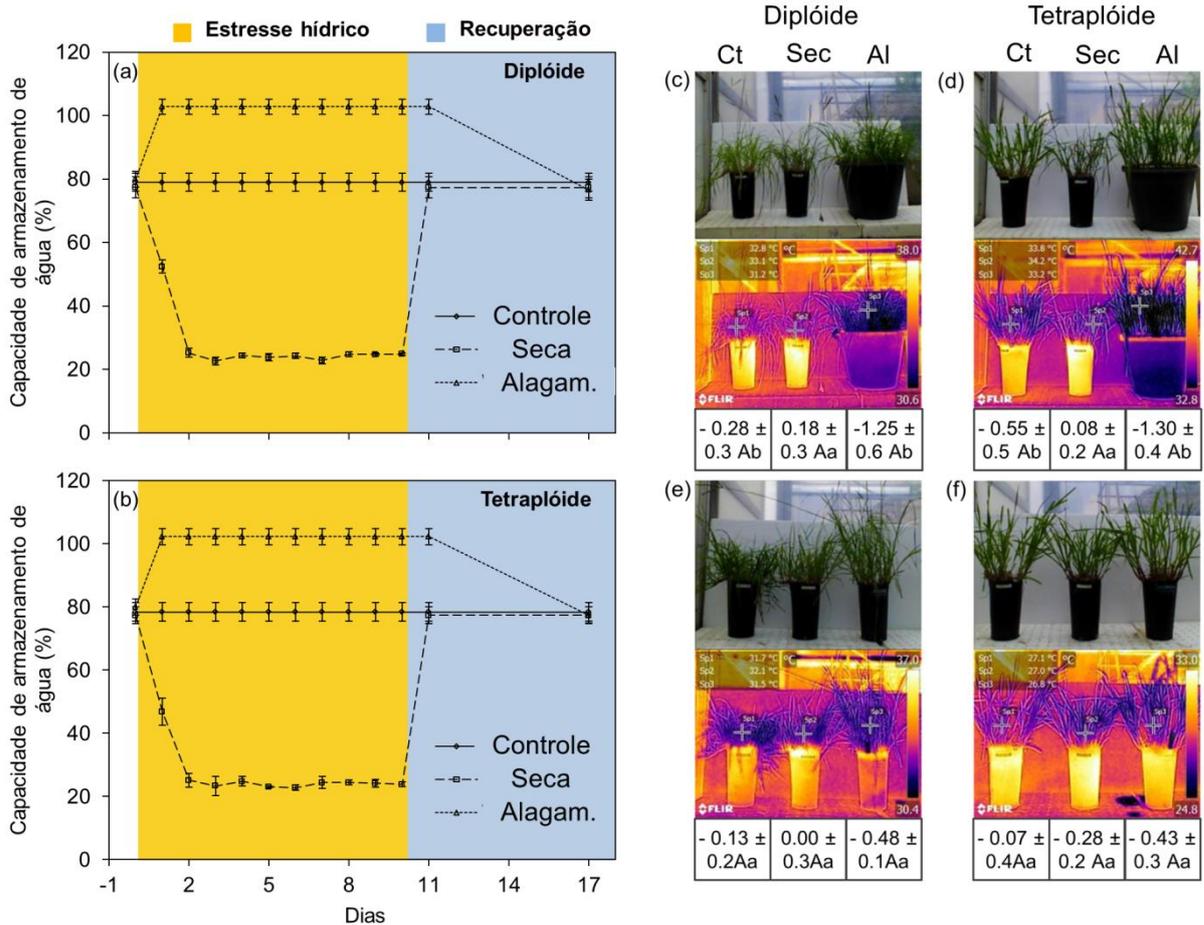


Fig. 1. Capacidade de armazenamento de água (%) em condição bem irrigada (controle - 80% CAA), seca e alagamento durante os períodos de estresse hídrico (amarelo) e recuperação (azul) em que plantas de dois genótipos de grama forquilha - um diplóide (a) e outro tetraplóide (b) - foram submetidas. Imagens térmicas representaram controle (Ct), seca (Sec) e inundação (Al) de plantas diplóides (c, e) e tetraplóides (d, f) sob dez dias de estresse hídrico (c-de), e às 24h de recuperação (e-f). Os valores (que representam a média \pm desvio padrão ($n = 4$)) de ΔT ($^{\circ}C$) para a temperatura do ar seguidos pelas mesmas letras minúsculas nos tratamentos e maiúsculas nos genótipos de grama forquilha não indicam diferenças significativas em $P \leq 0,05$ pelo Teste de Tukey.

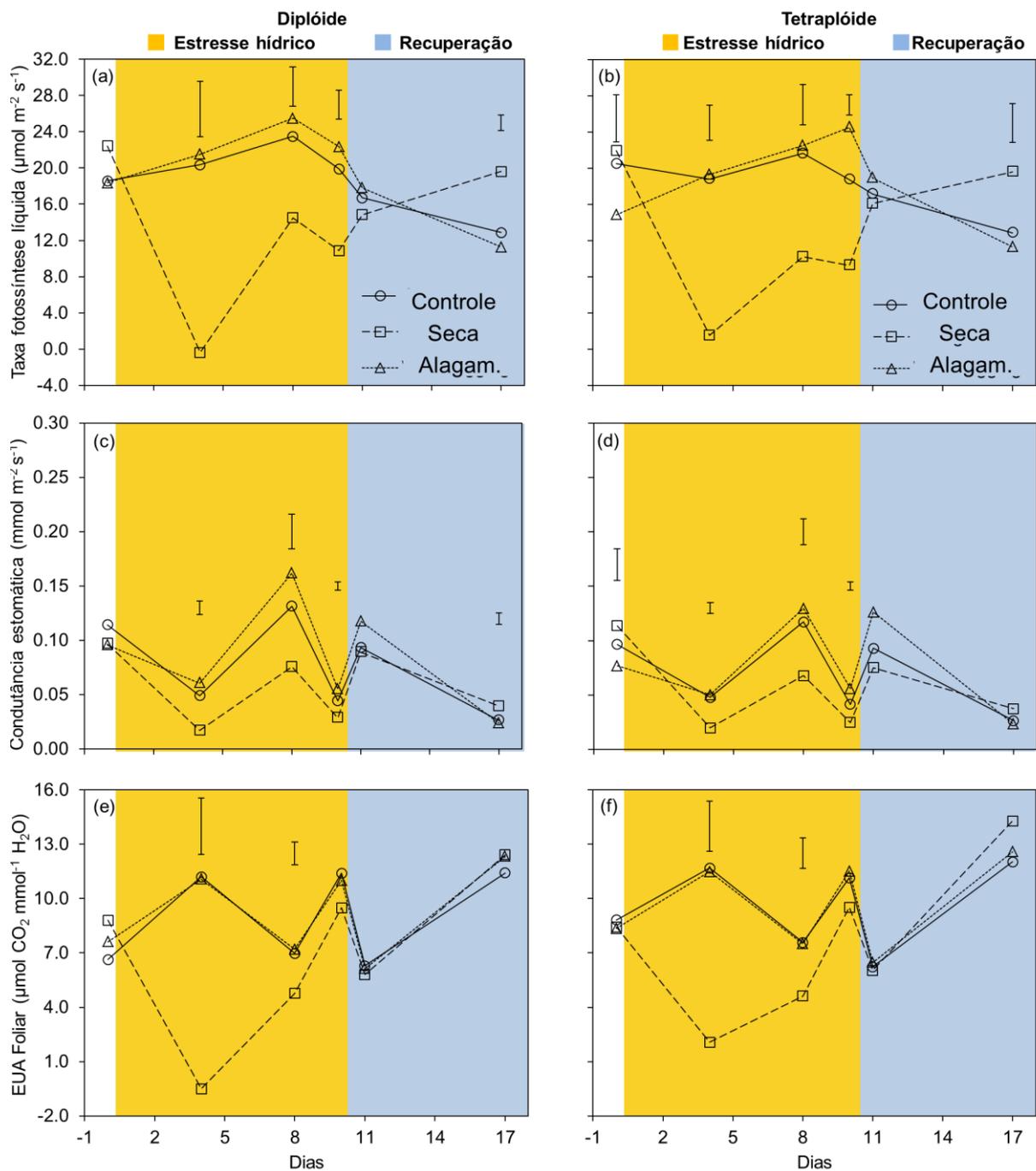


Fig. 2. Taxa de fotossíntese líquida (a-b), condutância estomática (c-d) e eficiência do uso da água pela folha (e-d) de um genótipo diplóide (à esquerda) e outro tetraplóide (à direita) de plantas de grama forquilha submetidas às condições irrigação adequada (controle), seca e alagamento por 10 dias (amarelo), seguido por um período de recuperação de 7 dias (azul). Barras verticais representam os valores da menor diferença significativa ($P \leq 0,05$) para comparação das médias em um determinado dia de avaliação.

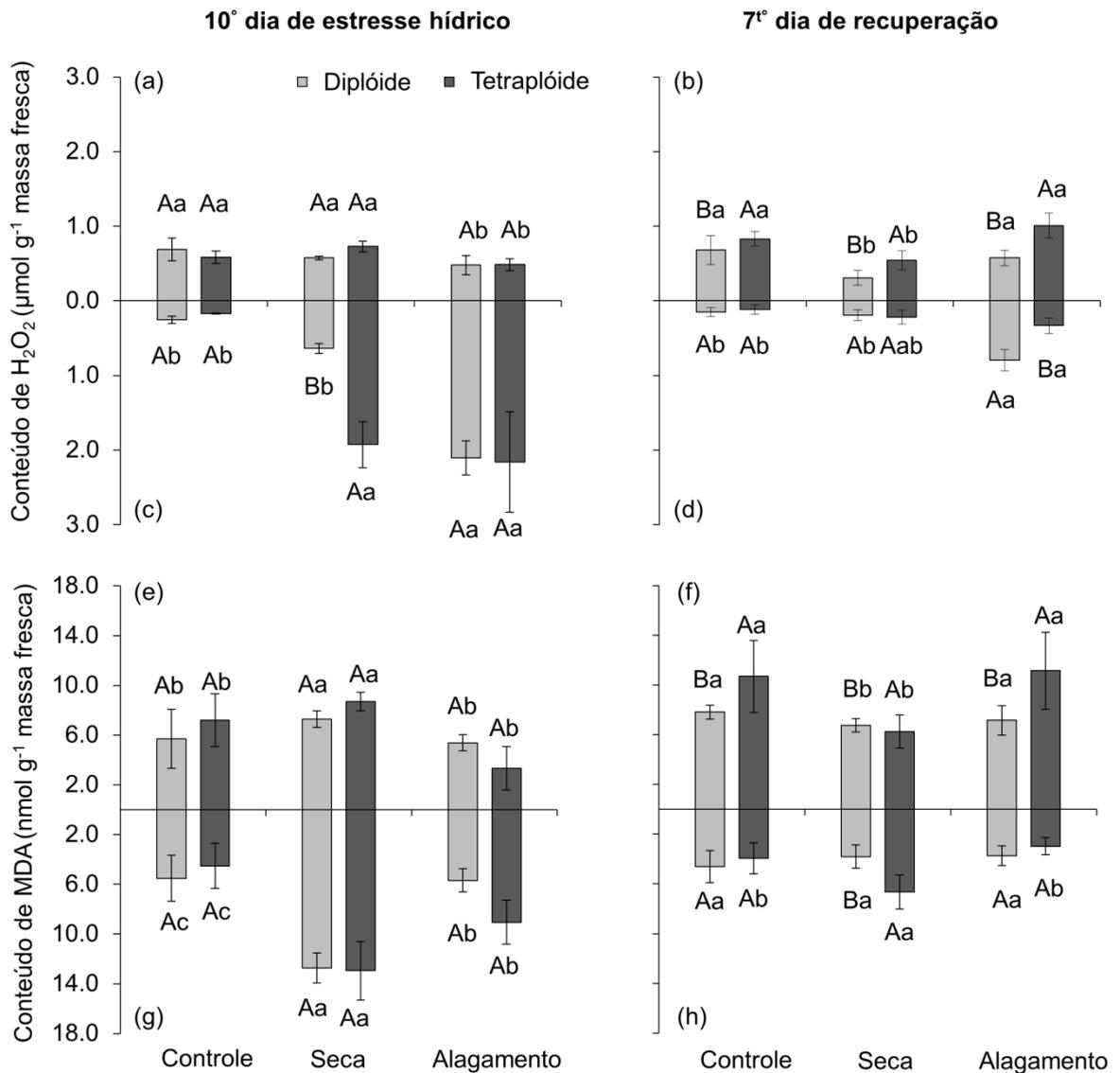


Fig. 3. Teores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e malondialdeído (MDA) nas folhas (a-b; e-f) e raízes (c-d; g-h) de plantas de um genótipo de grama forquilha diplóide e outro tetraplóide submetidas às condições irrigação adequada (controle), seca e alagamento por 10 dias (esquerda) no início da fase reprodutiva, bem como no 7º dia de recuperação (direita). Os valores seguidos pelas mesmas letras minúsculas nos tratamentos e maiúsculas entre genótipos de grama forquilha não indicam diferenças significativas em $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey. As barras de erro representam o desvio padrão ($n = 4$).

Tabela 1. Teor relativo de água e extravasamento de eletrólitos avaliados em folhas de um plantas de dois genótipos de grama forquilha – um diplóide e outro tetraplóide - submetidas às condições irrigação adequada (controle), seca e alagamento por 10 dias, bem como no 7º dia de recuperação.

Tratamento	Estresse hídrico – 10 ^o dia		Recuperação – 7 dia	
	Diplóide	Tetraplóide	Diplóide	Tetraplóide
Conteúdo relativo de água (%)				
Controle	97.01 ± 0.19 Aa [†]	96.03 ± 2.75 Aa	93.65 ± 3.22 Aa	95.03 ± 2.71 Aa
Seca	77.60 ± 0.49 Ab	79.59 ± 6.12 Ab	89.85 ± 1.26 Aa	92.36 ± 2.59 Aa
Alagamento	92.89 ± 4.30 Aa	95.13 ± 2.79 Aa	92.92 ± 3.82 Aa	95.04 ± 2.57 Aa
Extravasamento de eletrólitos (%)				
Controle	20.08 ± 2.83 Aa	13.93 ± 1.72 Ba	18.84 ± 6.00 Aa	12.10 ± 1.95 Ba
Seca	12.54 ± 1.04 Ab	9.61 ± 0.37 Bb	17.11 ± 2.20 Aa	14.30 ± 0.60 Ba
Alagamento	16.72 ± 3.06 Aa	15.47 ± 2.39 Ba	22.3 ± 2.53 Aa	14.45 ± 2.23 Ba

[†] Os valores seguidos pelas mesmas letras minúsculas nos tratamentos e maiúsculas nos genótipos de grama forquilha não indicam diferenças significativas em $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey. \pm representa o desvio padrão ($n = 4$).

Tabela 2. Atividades específicas das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e guaiacol peroxidase (POD) em folhas e raízes de plantas de dois genótipos de grama forquilha - um diplóide e outro tetraplóide - submetidas às condições irrigação adequada (controle), seca e alagamento por 10 dias no início da fase reprodutiva, bem como no 7º dia de recuperação.

Tratamento	Estresse hídrico – 10º dia				Recuperação – 7º dia			
	Folhas		Raízes		Folhas		Raízes	
	Diplóide	Tetraplóide	Diplóide	Tetraplóide	Diplóide	Tetraplóide	Diplóide	Tetraplóide
	Atividade de SOD (unidades mg ⁻¹ proteína min ⁻¹)							
Controle	99.63 ± 39 Aa [†]	99.09 ± 13.40 Ab	219.30 ± 61.40 Ba	247.76 ± 21.77 Aa	86.40 ± 28.60 Aab	83.78 ± 16.4 Aab	295.77 ± 66.8 Aa	243.66 ± 71.7 Aa
Seca	81.70 ± 6.88 Aa	108.50 ± 9.30 Aab	123.90 ± 28.50 Bb	190.76 ± 33.3 Ab	73.10 ± 25.43 Ab	89.64 ± 12.7 Ab	150.76 ± 17.2 Aa	273.67 ± 106.94 Aa
Alagamento	73.20 ± 15.3 Ba	138.50 ± 12.12 Aa	175.96 ± 35.60 Bab	216.62 ± 58.23 Aab	104.81 ± 16.00 Aa	112.50 ± 11.8 Aa	176.25 ± 58.3 Aa	219.40 ± 38.91 Aa
	Atividade de CAT (µmol H ₂ O ₂ mg ⁻¹ proteína min ⁻¹)							
Controle	0.347 ± 0.083 Bb	0.793 ± 0.183 Aa	0.680 ± 0.052 Ab	0.654 ± 0.129 Ab	0.646 ± 0.103 Aa	0.759 ± 0.229 Ab	1.280 ± 0.362 Aa	0.852 ± 0.270 Aa
Seca	0.348 ± 0.020 Bb	0.718 ± 0.082 Aa	0.634 ± 0.193 Ab	0.461 ± 0.093 Ab	0.528 ± 0.154 Ba	1.119 ± 0.275 Aa	0.924 ± 0.297 Aa	1.240 ± 0.409 Aa
Alagamento	0.759 ± 0.205 Aa	0.676 ± 0.324 Aa	1.017 ± 0.258 Aa	0.986 ± 0.392 Aa	0.798 ± 0.274 Ba	1.550 ± 0.058 Aa	0.983 ± 0.387 Aa	0.794 ± 0.030 Aa
	Atividade de APX (µmol ASA mg ⁻¹ proteína min ⁻¹)							
Controle	6.36 ± 0.99 Ab	10.09 ± 2.75 Ab	20.88 ± 2.96 Ab	24.08 ± 6.19 Ab	10.89 ± 2.67 Ba	9.91 ± 2.59 Bb	43.34 ± 13.66 Aa	30.12 ± 6.84 Aa
Seca	6.42 ± 0.75 Ab	9.09 ± 2.04 Ab	18.49 ± 5.84 Ab	16.57 ± 2.87 Ab	8.08 ± 2.69 Ba	14.82 ± 3.72 Aab	24.53 ± 8.81 Bb	38.96 ± 13.13 Aa
Alagamento	11.69 ± 2.83 Aa	10.66 ± 2.90 Aa	31.28 ± 3.94 Aa	30.05 ± 9.20 Aa	13.00 ± 1.95 Ba	17.83 ± 3.04 Aa	26.62 ± 4.16 Aab	31.08 ± 3.91 Aa
	Atividade de POD (mmol TG mg ⁻¹ proteína min ⁻¹)							
Controle	0.092 ± 0.036 Aa	0.101 ± 0.025 Aa	0.053 ± 0.021 Ab	0.045 ± 0.031 Aa	0.141 ± 0.040 Aa	0.095 ± 0.022 Aa	0.058 ± 0.012 Ab	0.033 ± 0.031 Ab
Seca	0.105 ± 0.018 Aa	0.104 ± 0.010 Aa	0.428 ± 0.136 Aa	0.155 ± 0.047 Ba	0.124 ± 0.057 Aa	0.101 ± 0.021 Aa	0.201 ± 0.030 Aa	0.100 ± 0.020 Ba
Alagamento	0.086 ± 0.034 Aa	0.121 ± 0.055 Aa	0.060 ± 0.044 Ab	0.053 ± 0.029 Aa	0.154 ± 0.031 Aa	0.128 ± 0.026 Aa	0.084 ± 0.013 Ab	0.036 ± 0.004 Bb

[†] Os valores seguidos pelas mesmas letras maiúsculas nos genótipos de grama forquilha e letras minúsculas nos tratamentos não indicam diferenças significativas em $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey. \pm representa o desvio padrão ($n = 4$).

Tabela 3. Teores de compostos fenólicos totais, prolina, açúcares solúveis totais e amido em folhas e raízes de plantas de dois genótipos de grama forquilha - um diplóide e outro tetraplóide – submetidas às condições irrigação adequada (controle), seca e alagamento por 10 dias no início da fase reprodutiva, bem como no 7º dia de recuperação.

Tratamento	Estresse hídrico – 10º dia					Recuperação – 7º dia			
	Folhas		Raízes			Folhas		Raízes	
	Diplóide	Tetraplóide	Tratamento	Diplóide	Tetraplóide	Tratamento	Diplóide	Tetraplóide	
Compostos fenólicos totais ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco)									
Controle	0.055 \pm 0.013 Bb [†]	0.118 \pm 0.020 Aa	0.039 \pm 0.005 Ab	0.030 \pm 0.004 Ab	0.106 \pm 0.018 Aa	0.087 \pm 0.012 Aa	0.053 \pm 0.014 Aa	0.036 \pm 0.010 Aa	
Seca	0.048 \pm 0.005 Bb	0.103 \pm 0.013 Aa	0.042 \pm 0.004 Aa	0.042 \pm 0.006 Aa	0.094 \pm 0.007 Aa	0.115 \pm 0.025 Aa	0.030 \pm 0.007 Ab	0.028 \pm 0.006 Ab	
Alagamento	0.119 \pm 0.010 Aa	0.090 \pm 0.042 Aa	0.013 \pm 0.003 Ac	0.012 \pm 0.007 Ac	0.120 \pm 0.031 Aa	0.109 \pm 0.037 Aa	0.023 \pm 0.003 Ab	0.030 \pm 0.002 Ab	
Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ peso fresco)									
Controle	2.42 \pm 0.39 Ab	2.36 \pm 0.32 Ab	0.98 \pm 0.60 Ab	0.31 \pm 0.29 Ab	1.87 \pm 0.48 Ab	2.39 \pm 0.21 Ab	0.58 \pm 0.40 Aa	0.83 \pm 1.17 Aa	
Seca	13.81 \pm 5.33 Aa	10.89 \pm 3.84 Aa	17.87 \pm 2.94 Aa	14.58 \pm 7.0 6 Aa	2.79 \pm 0.19 Aa	2.74 \pm 0.15 Aa	0.63 \pm 0.51 Aa	0.56 \pm 0.39 Aa	
Alagamento	2.02 \pm 0.32 Ab	2.09 \pm 0.16 Ab	0.08 \pm 0.1 Ab	0.11 \pm 0.15 Ab	2.04 \pm 0.26 Ab	1.87 \pm 0.21 Ab	0.31 \pm 0.31 Aa	0.14 \pm 0.04 Aa	
Açúcares solúveis totais (mg g^{-1} peso fresco)									
Controle	0.26 \pm 0.08 Ab	0.21 \pm 0.01 Ab	0.38 \pm 0.08 Ab	0.25 \pm 0.06 Ab	0.24 \pm 0.07 Aa	0.35 \pm 0.10 Aa	0.36 \pm 0.08 Ab	0.29 \pm 0.10 Ab	
Seca	0.52 \pm 0.02 Aa	0.46 \pm 0.00 Aa	0.47 \pm 0.04 Aa	0.43 \pm 0.06 Aa	0.16 \pm 0.02 Ab	0.19 \pm 0.02 Ab	0.32 \pm 0.06 Ab	0.33 \pm 0.06 Ab	
Alagamento	0.23 \pm 0.07 Ab	0.26 \pm 0.01 Ab	0.50 \pm 0.02 Aa	0.44 \pm 0.04 Aa	0.26 \pm 0.04 Aa	0.26 \pm 0.03 Aa	0.45 \pm 0.06 Aa	0.42 \pm 0.03 Aa	
Amido (mg g^{-1} peso fresco)									
Controle	1.90 \pm 0.20 Ba	2.31 \pm 0.38 Aa	1.51 \pm 0.11 Ab	1.23 \pm 0.22 Ab	2.17 \pm 0.03 Aa	2.40 \pm 0.30 Aa	2.64 \pm 0.60 Aa	3.04 \pm 1.09 Aa	
Seca	1.48 \pm 0.22 Bb	1.51 \pm 0.02 Ab	1.67 \pm 0.08 Aa	1.69 \pm 0.05 Aa	2.11 \pm 0.35 Aa	2.14 \pm 0.28 Aa	2.90 \pm 1.06 Aa	2.31 \pm 0.38 Aa	
Alagamento	2.06 \pm 0.23 Ba	2.32 \pm 0.07 Aa	0.89 \pm 0.19 Ac	0.99 \pm 0.39 Ac	2.33 \pm 0.21 Aa	2.41 \pm 0.24 Aa	2.19 \pm 0.52 Aa	2.31 \pm 0.21 Aa	

[†] Os valores seguidos pelas mesmas letras minúsculas nos tratamentos e maiúsculas nos genótipos de grama forquilha não indicam diferenças significativas em $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey. \pm representa o desvio padrão ($n = 4$).

Tabela 4. Número de perfilhos, área e peso seco das folhas, peso seco dos perfilhos mais rizomas, raízes e material morto de plantas de dois genótipos de grama forquilha – um diplóide e outro tetraplóide - submetidas às condições irrigação adequada (controle), seca e alagamento por 10 dias no início da fase reprodutiva das plantas, bem como no 7º dia de recuperação.

Tratamento	Estresse hídrico - 10 ^o dia		Recuperação - 7 th dia		Estresse hídrico - 10 ^o dia		Recuperação - 7 th dia	
	Diplóide	Tetraplóide	Diplóide	Tetraplóide	Diplóide	Tetraplóide	Diplóide	Tetraplóide
	----- Área foliar (cm ²) -----							
Controle	665.8 ± 21.5 Ba	780.4 ± 95.5 Aa	598 ± 91.5 Ba	832.2 ± 118.9 Aa	3.79 ± 0.5 Aa	4.01 ± 0.6 Aa	3.19 ± 0.7 Ba	4.23 ± 0.6 Aa
Seca	391.9 ± 70.6 Bb	398 ± 33.6 Ab	449.2 ± 115 Bb	657.1 ± 58.7 Ab	1.8 ± 0.8 Ab	2.03 ± 0.1 Ab	2.17 ± 0.54 Bb	3.06 ± 0.4 Ab
Alagamento	753.7 ± 176.7 Ba	870.8 ± 110.4 Aa	766.8 ± 88.4 Ba	800.1 ± 91.1 Aa	3.71 ± 0.3 Aa	4.64 ± 0.52 Aa	3.89 ± 0.76 Ba	3.98 ± 0.43 Aa
	----- Número de perfilhos vegetativos -----							
Controle	28.5 ± 3.5 Aa	19.3 ± 3.6 Ba	39.2 ± 7.2 Aa	26.5 ± 6.8 Ba	6.3 ± 3.1 Aab	2.5 ± 2.1 Aab	8.0 ± 5.3 Aa	2.5 ± 1.9 Ba
Seca	43.0 ± 15.7 Aa	23 ± 7.6 Ba	32.5 ± 6.1 Aa	23.7 ± 3.4 Ba	1.0 ± 2.0 Ab	1.5 ± 1.3 Ab	12.75 ± 4.7 Aa	3.75 ± 0.9 Ba
Alagamento	24.3 ± 8.3 Aa	25.5 ± 3.8 Ba	33.2 ± 3.7 Aa	22.5 ± 5.4 Ba	5.5 ± 3.3 Aa	5.5 ± 2.4 Aa	8.0 ± 5.3 Aa	4.75 ± 0.5 Ba
	----- Número total de perfilhos -----							
Controle	34.7 ± 1.5 Aa	21.7 ± 5.2 Ba	47.2 ± 4.8 Aa	29.0 ± 8 Ba	11.5 ± 3.43 Ab	10.09 ± 4.3 Ab	11.66 ± 2.17 Aa	13.26 ± 3.0 Aa
Seca	44 ± 16.8 Aa	24.5 ± 8.1 Ba	45.2 ± 4.9 Aa	27.5 ± 3.1 Ba	6.82 ± 1.19 Ab	8.9 ± 1.61 Ab	8.38 ± 1.54 Ab	8.99 ± 0.59 Ab
Alagamento	29.7 ± 11.2 Aa	31 ± 3.1 Ba	41.2 ± 2.7 Aa	27.2 ± 5.7 Ba	13.39 ± 1.2 Aa	16.91 ± 4.4 Aa	13.96 ± 1.08 Aa	13.67 ± 1.59 Aa
	----- Peso de raiz (g) -----							
Controle	7.11 ± 2.3 Ba	8.84 ± 2.82 Aa	8.16 ± 1.66 Ba	9.56 ± 1.94 Aa	1.76 ± 0.83 Aa	1.45 ± 1.09 Aa	2.49 ± 0.7 Bab	3.09 ± 0.44 Aab
Seca	5.78 ± 0.6 Ba	10.71 ± 1.5 Aa	5.95 ± 1.09 Ba	9.12 ± 1.05 Aa	1.83 ± 0.84 Aa	2.32 ± 0.66 Aa	3.04 ± 0.73 Ba	3.53 ± 0.5 Aa
Alagamento	6.9 ± 1.31 Ba	9.42 ± 2.29 Aa	6.87 ± 2.62 Ba	10.79 ± 1.9 Aa	1.09 ± 0.41 Aa	2.1 ± 0.68 Aa	1.73 ± 0.75 Bb	2.83 ± 0.22 Ab
	----- Peso seco de perfilhos e rizomas (g) -----							
Controle	7.11 ± 2.3 Ba	8.84 ± 2.82 Aa	8.16 ± 1.66 Ba	9.56 ± 1.94 Aa	1.76 ± 0.83 Aa	1.45 ± 1.09 Aa	2.49 ± 0.7 Bab	3.09 ± 0.44 Aab
Seca	5.78 ± 0.6 Ba	10.71 ± 1.5 Aa	5.95 ± 1.09 Ba	9.12 ± 1.05 Aa	1.83 ± 0.84 Aa	2.32 ± 0.66 Aa	3.04 ± 0.73 Ba	3.53 ± 0.5 Aa
Alagamento	6.9 ± 1.31 Ba	9.42 ± 2.29 Aa	6.87 ± 2.62 Ba	10.79 ± 1.9 Aa	1.09 ± 0.41 Aa	2.1 ± 0.68 Aa	1.73 ± 0.75 Bb	2.83 ± 0.22 Ab

† Os valores seguidos pelas mesmas letras minúsculas nos tratamentos e maiúsculas nos genótipos de grama forquilha não indicam diferenças significativas em $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey. \pm representa o desvio padrão ($n = 4$).

Tabela 5. Área e peso seco das folhas, peso seco dos rizomas mais perfilhos totais e também da raiz, bem como o número de inflorescências por planta, racemos por inflorescência, comprimento dos racemos, percentual de flores vazias e número de sementes formadas por planta, peso de 1000 sementes, viabilidade e germinação de sementes de dois genótipos de grama forquilha – um diplóide e outro tetraplóide - submetidas às condições irrigação adequada (controle), seca e alagamento no início da fase reprodutiva.

Tratamento	Diplóide	Tetraplóide	Diplóide	Tetraplóide	Diplóide	Tetraplóide
	Área foliar (cm ²)		Peso seco de folhas (g)		Peso seco de rizomas mais perfilhos totais (g)	
Controle	412.0 ± 99 Bab	623.7 ± 71.6 Ab	3.14 ± 0.6 Ba [†]	4.43 ± 0.6 Ab	24.08 ± 7.96 Aa	21.63 ± 2.92 Ab
Seca	551.4 ± 59 Ba	757.19 ± 103 Aab	3.98 ± 0.6 Ba	5.14 ± 0.9 Aab	22.31 ± 4.03 Aa	22.94 ± 2.91 Aab
Alagamento	364.4 ± 140.6 Bb	869.5 ± 73.8 Aa	2.78 ± 1.06 Ba	6.23 ± 0.5 Aa	26.43 ± 4.96 Aa	30.28 ± 2.14 Aa
	Peso seco de raiz (g)		Número de inflorescências por planta		Racemos por inflorescências	
Controle	12.93 ± 1.47 Aa	14.86 ± 1.28 Ab	15.67 ± 2.35 Ab	7.0 ± 2.16 Ba	2.51 ± 0.18 Aa	2.13 ± 0.08 Ba
Seca	9.49 ± 1.89 Bb	15.64 ± 1.63 Aab	14.67 ± 3.85 Ab	7.25 ± 2.63 Ba	2.45 ± 0.3 Aa	2.08 ± 0.16 Ba
Alagamento	9.17 ± 1.83 Bb	18.05 ± 1.94 Aa	24.0 ± 4.54 Aa	5.5 ± 1.29 Ba	2.20 ± 0.12 Aa	2.14 ± 0.10 Ba
	Comprimento médio dos racemos (cm)		Flores vazias por plantas (%)		Número de sementes por planta	
Controle	9.05 ± 0.39 Bb	10.11 ± 0.58 Ab	32.9 ± 2.6 Bb	46.1 ± 7.1 Ab	1749.3 ± 296.76 Aa	524.75 ± 196.88 Ba
Seca	8.64 ± 0.68 Bb	10.56 ± 1.44 Ab	54.7 ± 4.8 Ba	53.1 ± 12.7 Aa	1129.67 ± 403.37 Ab	485.75 ± 148.42 Ba
Alagamento	9.25 ± 0.54 Ba	12.06 ± 0.68 Aa	40.3 ± 4.9 Bab	50.7 ± 10.4 Aab	2151.3 ± 455.66 Aa	443.5 ± 157.9 Ba
	Peso de 1000 sementes (g)		Viabilidade das sementes (%)		Germinação das sementes (%)	
Controle	1.77 ± 0.11 Ba	3.16 ± 0.21 Aa	79.5 ± 11 Ba	92 ± 7 Aa	84 ± 11 Aa	53 ± 14 Ba
Seca	1.57 ± 0.05 Ba	3.21 ± 0.27 Aa	88 ± 4 Ba	95 ± 4 Aa	74 ± 10 Aa	53 ± 6 Ba
Alagamento	1.72 ± 0.06 Ba	3.25 ± 0.28 Aa	88 ± 3 Ba	91 ± 2 Aa	84 ± 4 Aa	61 ± 8 Ba

[†] Os valores seguidos pelas mesmas letras maiúsculas nos genótipos de grama forquilha e letras minúsculas nos tratamentos não indicam diferenças significativas em $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey. \pm representa o desvio padrão ($n = 4$).

6. Conclusões

A implantação via semeadura de 230 sementes viáveis associado com o uso de tecnologias (irrigação, controle de daninhas e fertilização) possibilita elevado rendimento de sementes no primeiro ano de implantação. Apesar dos efeitos remanescentes da densidade de semeadura na primeira desfolha, a produção de sementes de grama forquilha tetraploide não é influenciada no segundo ano após a implantação pela densidade ou pelo espaçamento de semeadura. A qualidade das sementes não é afetada pelos níveis de arranjo de plantas aqui avaliados. A colheita de sementes de grama forquilha tetraplóide pode ser iniciada quando a umidade das sementes estiver em 33%. O início da degrana – em aproximadamente 10% - pode ser considerado um indicativo visual para colheita das sementes. Com a avaliação dos mecanismos de tolerância ao estresse hídrico durante o estágio reprodutivo foi possível constatar que plantas diplóides e tetraplóides submetidas ao apresentaram desempenho semelhante e até superior em relação às plantas controle no final do período de estresse hídrico, bem como na recuperação e colheita de sementes. As altas atividades de CAT e APX na raiz foram provavelmente os principais fatores que contribuíram para sua tolerância. Plantas de ambos os genótipos submetidas ao déficit hídrico foram capazes de sustentar uma atividade fotossintética positiva e acompanhar o crescimento radicular com o suporte de uma maior síntese de osmoprotetores. O rendimento de sementes de plantas diplóides expostas à seca foi reduzido, enquanto o tetraplóide foi capaz de manter o mesmo número de sementes produzidas, independentemente da condição da água, confirmando o desempenho de rendimento superior previsto do genótipo tetraplóide.

Referências

- ADJEI, M. B., MISLEVY, P., & CHASON, W. Seed yield of bahiagrass in response to sward management by phenology. **Agronomy Journal**, v.84, p.599-603, 1992
- ADJEI, M. B., MISLEVY, P., & CHASON, W. Timing, defoliation management, and nitrogen effects on seed yield of 'Argentine' bahiagrass. **Agronomy Journal**, v.92, p.36-41, 2000.
- AGUIRRE, M., KIEGLE, E., LEO, G., & EZQUER, I. Carbohydrate reserves and seed development: An overview. **Plant Reproduction**, v.31, p.263-290, 2018.
- AHMAD, M.A., MURALI, P.V., PANNEERSELVAM, R. Drought stress induced biochemical alterations in two varieties of *Paspalum scrobiculatum* L. **International Journal of Current Science**, v.7, p.80-96, 2013.
- ANDERSON, M.D., PRASAD, T.K., STEWART, C.R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. **Plant Physiology**, v. 109, p.1247-1257, 1995.
- ANDERSON, W. F., GATES, R. N., HANNA, W. W., BLOUNT, A. R., MISLEVY, P., & EVERS, G. Recurrent restricted phenotypic selection for improving stand establishment of bahiagrass. **Crop Science**, v.49, p.1322-1327, 2009.
- BASTO, S., THOMPSON, K., GRIME, J. P., FRIDLEY, J.D., CALHIM, S., ASKEW, A.P., REES, M. Severe effects of long-term drought on calcareous grassland seed banks. **npj Climate and Atmospheric Science**, v.1, p.1-7, 2018.
- BAXTER, A., MITTLER, R., SUZUKI, N. 2014. ROS as key players in plant stress signalling. **Journal of Experimental Botany**, v.65, p.1229-1240, 2014
- BEAUCHAMP, C., FRIDOVICH, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v.44, p.276-287, 1971.
- BELONI, T., PEZZOPANE, C.D.G., ROVADOSCKI, G.A., FÁVERO, A.P., DIAS-FILHO, M.B., SANTOS, P.M. Morphological and physiological responses and the recovery ability of *Paspalum* accessions to water deficit and waterlogging. **Grass and Forage Science**, v.72, p.840-850, 2017.
- BENERAGAMA, C.K., KUMARA, G.D.K. Evaluation of Bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) and Bahiagrass (*Paspalum notatum* Flügge) for short-term drought tolerance targeting low-maintenance landscaping. **International Journal of Applied Sciences and Biotechnology**, v.6, p.12-16, 2018.
- BERTONCELLI, P. Production and germination of *Paspalum notatum* seeds: response to nitrogen fertilization and cutting management. (Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul), 2018. Disponível em <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/180105>
- BLUM, A., EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat¹. **Crop Science**, v.21, p.43-47. 1981.

BOERI, P.A., UNRUH, J.B., KENWORTHY, K.E., TRENHOLM, L.E., RIOS, E.F. Above and below ground traits of turf-type bahiagrass (*Paspalum notatum* Flüggé) genotypes under simulated drought. **International Turfgrass Society Research Journal**. 2020.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BRASIL. **Regras Para Análise de Sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009.

BURSON, B. L., CORREA, J., & POTTS, H. C. Anatomical study of seed shattering in bahiagrass and dallisgrass¹. **Crop Science**, v.18, p.122-125, 1978.

BURTON, G. W. Observations of the flowering habits of four *Paspalum* species. **American Journal of Botany**, v.29, p.843-848, 1942.

BUSEY, P. **Genotype selection and seeding rate in bahiagrass establishment**. National Research Council – Transportation Research Board, 1224, 40-45, 1989.

CAKMAK, I., HORST, W.J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v.83, p.463-468, 1991.

CARILLO, P., GIBBON, Y. **PROTOCOL: extraction and determination of proline**. PrometheusWiki 01/2011, 2011.

CARMO-SILVA, A.E., POWERS, S.J., KEYS, A.J., ARRABAÇA, M.C., PARRY, M.A. Photorespiration in C4 grasses remains slow under drought conditions. **Plant, Cell & Environment**, v.31, p.925-940, 2008.

CHOUDHURY, F.K., RIVERO, R.M., BLUMWALD, E., MITTLER, R. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **The Plant Journal**. 90, 2017.

COOPER, J.D. **Water content, in: Cooper, J.D. (Ed.), Soil Water Measurement: A Practical Handbook**. John Willey & Sons, Chichester, pp. 23-152, 2016.

CSEPREGI, K., HIDEG, E. Phenolic compound diversity explored in the context of photo-oxidative stress protection. **Phytochemical Analysis**, v.29, p.129-136, 2018.

DENG, B., DU, W., LIU, C., SUN, W., TIAN, S., DONG, H. Antioxidant response to drought, cold and nutrient stress in two ploidy levels of tobacco plants: low resource requirement confers polytolerance in polyploids? **Plant Growth Regulation**, v.66, p.37-47, 2012.

DIETRICH, J.D., SMITH, M.D. The effect of timing of growing season drought on flowering of a dominant C4 grass. **Oecologia**, v.181, p.391-399. 2016.

ELANSARY, H.O., YESSOUFOU, K. Growth regulators and mowing heights enhance the morphological and physiological performance of Seaspray turfgrass during drought conditions. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.37, p.1-11, 2015.

FAN, J., ZHANG, W., AMOMBO, E., HU, L., KJORVEN, J. O., CHEN, L. Mechanisms of environmental stress tolerance in turfgrass. **Agronomy**, v.104, 522. 2020.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência & Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.

GATES, R. N., MULLAHEY, J. J. Influence of seeding variables on Tifton 9' bahiagrass establishment. **Agronomy Journal**, v.89, p.134-139. 1997.

GATES, R. N., DEWALD, C. L. Establishment of 'Tifton 9' bahiagrass in response to planting date and seed coat removal. **Agronomy Journal**, v.90, p.462-465, 1998.

GLISON, N., BATLLA, D., GONZÁLEZ BARRIOS, P., VIEGA, L., SALDANHA, S., MUSACCHIO, E. M., RUSH, P., SPERANZA, P. R. Modelling seedling emergence in *Paspalum* species using environmental data from field experiments. **Grass and Forage Science**, v.00, p.1-15, 2020.

GIORELLO, D. G., SBRISSIA, A. F., Da SILVA, S. C. Herbage accumulation, morphological composition, and nutritive value of *Paspalum notatum* CV. INIA Sepé. **Agrociencia Uruguay**, v.25, 348, 2021.

GODFREE, R.C., MARSHALL, D J., YOUNG, A.G., MILLER, C.H., MATHEWS, S., 2017. Empirical evidence of fixed and homeostatic patterns of polyploid advantage in a keystone grass exposed to drought and heat stress. **Royal Society Open Science**, v.4, 170934, 2017.

GONZÁLEZ, L., GONZÁLEZ-VILAR, M. Determination of relative water content. In: Roger, M.J.R (Ed.), **Handbook of Plant Ecophysiology Techniques**. Springer, Dordrecht, p.207-212, 2001.

HARE, M. D., GRUBEN, I. E., TATSAPONG, P., LUNPHA, A., SAENKHAM, M., WONGPICHET, K. Inter-row planting of legumes to improve the crude protein concentration in *Paspalum atratum* cv. Ubon pastures in north-east Thailand. **Tropical Grasslands**, v.38, p.167-177, 2004.

HIYANE, R., HIYANE, S., TANG, A.C., BOYER, J.S., 2010. Sucrose feeding reverses shade-induced kernel losses in maize. **Annals of Botany**, v.106, p.395-403, 2010.

INSAUSTI, P., GRIMOLDI, A.A., CHANETON, E. J., VASELLATI, V. Flooding induces a suite of adaptive plastic responses in the grass *Paspalum dilatatum*. **New Phytologist**, v.152, p.291-299, 2001.

ISFENDIYAROGLU, M., OZEKER, E. The relations between phenolic compounds and seed dormancy in *Pistacia* spp. **Cahiers Options Méditerranéennes**, v.56, p.227-232, 2001.

JARAMILLO, D. M., DUBEUX JR, J. C., MACKOWIAK, C., SOLLENBERGER, L. E., DILORENZO, N., ROWLAND, D. L., BLOUNT, A. R. S., SANTOS, E. R. S., GARCIA, L., RUIZ-MORENO, M. (2018). Annual and perennial peanut mixed with 'Pensacola' bahiagrass in North Florida. **Crop Science**, v.58, p.982-992, 2018.

JESPERSEN, D., LECLERC, M., ZHANG, G., RAYMER, P. Drought performance and physiological responses of bermudagrass and seashore paspalum. **Crop Science**, v.59, p.778-786, 2019.

KATUWAL, K.B., XIAO, B., JESPERSEN, D. Physiological responses and tolerance mechanisms of seashore paspalum and centipedegrass exposed to osmotic and iso-osmotic salt stresses. **Journal of Plant Physiology**, v.248, 153154, 2020a.

KATUWAL, K.B., XIAO, B., JESPERSEN, D. Root physiological and biochemical responses of seashore paspalum and centipedegrass exposed to iso-osmotic salt and drought stresses. **Crop Science**, v.60, p.1077-1089, 2020b

KATUWAL, K.B., TISHCHENKO, V., JESPERSEN, D. Assessing drought resistance in seashore paspalum genotypes using leaf gas exchange, osmotic adjustment, and rooting characteristics. **Crop Science**, 2020c.

KATUWAL, K.B., SCHWARTZ, B., JESPERSEN, D. Desiccation avoidance and drought tolerance strategies in Bermudagrasses. **Environmental and Experimental Botany**, v.171, 103947. 2020d.

KISS, R., DEÁK, B., TÖRÖK, P., TÓTHMÉRÉSZ, B., VALKÓ, O. Grassland seed bank and community resilience in a changing climate. **Restoration Ecology**, v.26, S141-S150, 2018.

LEPRINCE, O., PELLIZZARO, A., BERRIRI, S., BUITINK, J. Late seed maturation: drying without dying. **Journal of Experimental Botany**, v.68, p.827-841, 2017.

LIU, B., SUN, G. Transcriptome and miRNAs analyses enhance our understanding of the evolutionary advantages of polyploidy. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.39, p.173-180, 2019.

LOPES, R. R., FRANKE, L. B. Seed production from four *Paspalum* ecotypes native from Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.20-30, 2011a.

LOPES, R. R., FRANKE, L. B. Correlation and path coefficient analyses of seed yield components in the bahia grass (*Paspalum notatum* Flüggé var. *notatum*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.972-977, 2011b.

LUKIĆ, N., KUKAVICA, B., DAVIDOVIĆ-PLAVŠIĆ, B., HASANAGIĆ, D., WALTER, J. Plant stress memory is linked to high levels of anti-oxidative enzymes over several weeks. **Environmental and Experimental Botany**, v.178, 104166, 2020.

MANEA, A., SLOANE, D.R., LEISHMAN, M.R. Reductions in native grass biomass associated with drought facilitates the invasion of an exotic grass into a model grassland system. **Oecologia**, v.181, p.175-183, 2016.

MARIMUTHU, G., MURALI, P.V. Effect of drought stress in *Paspalum Scrobiculatum* L. biochemical and compatible solute accumulation. **International Journal of Science and Research**, v.4, p.618-622, 2018.

McCREADY, R. M., GUGGOLZ, A., SILVEIRA, V., OWENS, H. S. Determination of starch and amylase in vegetables; application to peas. **Analytical Chemistry**, v.22, p.1156-1158, 1950.

MITTLER, R. ROS are good. **Trends in Plant Science**, v.22, p.11-19, 2017

MOLLARD, F.P., STRIKER, G.G., PLOCHUK, E.L., VEGA, A.S., INSAUSTI, P., Flooding tolerance of *Paspalum dilatatum* (Poaceae: Paniceae) from upland and lowland positions in a natural grassland. **Flora**, v.203, p.548-556, 2008.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v.22, p.867-880, 1981.

NEMATPOUR, A., ESHGHIZADEH, H.R., ZAHEDI, M. Drought-tolerance mechanisms in foxtail millet (*Setaria italica*) and proso millet (*Panicum miliaceum*) under different nitrogen supply and sowing dates. **Crop and Pasture Science**, v.70, p.442-452. 2019.

NEWMAN, Y., VENDRAMINI, J., BLOUNT, A. **Bahiagrass (*Paspalum notatum*): overview and management**. Fact Sheet SS-AGR-332. Gainesville, FL: University of Florida Cooperative Extension Service, IFAS, 2011, University of Florida. Available at: <http://edis.ifas.ufl.edu/ag342>

NORTON, M.R., MALINOWSKI, D.P., VOLAIRE, F. Plant drought survival under climate change and strategies to improve perennial grasses. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.36, 29, 2016.

OZTURK, M., TURKYILMAZ UNAL, B., GARCÍA-CAPARRÓS, P., KHURSHEED, A., GUL, A., HASANUZZAMAN, M. Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. **Physiologia Plantarum**, in press, 2020.

Penfield, S. Seed dormancy and germination. **Current Biology**, v.27, R874-R878, 2017.

PETROV, V., HILLE, J., MUELLER-ROEBER, B., GECHEV, T.S. ROS-mediated abiotic stress-induced programmed cell death in plants. **Frontiers in Plant Science**, v.6, 69. 2015.

RIBEIRO, R.V., LYRA, G.B., SANTIAGO, A.V., PEREIRA, A.R., MACHADO, E.C., OLIVEIRA, R.F. Diurnal and seasonal patterns of leaf gas exchange in bahiagrass (*Paspalum notatum* Flüggé) growing in a subtropical climate. **Grass and Forage Science**, v.61, p.293-303, 2006.

RIOS, C.O., SIQUEIRA-SILVA, A.I., PEREIRA, E.G. How does drought affect native grasses' photosynthesis on the revegetation of iron ore tailings? **Environmental Science and Pollution Research**, p.1-15, 2020.

RIOS, E. F., ZILLI, A., KENWORTHY, K. E., MACKOWIAK, C., QUESENBERRY, K., BLOUNT, A. Managing forage and turf-type bahiagrass for seed production. **Crop Science**, v.60, p.1569-1579, 2020.

RUIZ, M., OUSTRIC, J., SANTINI, J., MORILLON, R., Synthetic polyploidy in grafted crops. **Frontiers Plant Science**, v.11, 540894, 2020.

SANCHEZ, J. M., VENDRAMINI, J. M., SILVEIRA, M. L., SOLLENBERGER, L. E., DUBEUX JR, J. C., MORIEL, P., SELLERS, B., YARBOROUGH, J. K., LEITE DE OLIVEIRA, F. C. Seeding strategies of bahiagrass and pinto peanut affect pasture establishment under weed competition. **Grass and Forage Science**, v.74, p.381-388, 2019.

SANTOS, E. R., DUBEUX JR, J. C., JARAMILLO, D. M., GARCIA, L., MACKOWIAK, C. L., BLOUNT, A. R., PEREIRA-NETO, J. D., QUEIROZ, L. M. D., RUIZ-MORENO, M. Herbage responses and nitrogen agronomic efficiency of bahiagrass–legume mixtures. **Agronomy Journal**, v.112, p.4057-4068, 2020.

SEVERMUTLU, S., MUTLU, N., GURBUZ, E., GULSEN, O., HOCAGIL, M., KARAGUZEL, O., HENG-MOSS, T., SHEARMAN, R.C., GAUSSOIN, R.E. Drought resistance of warm-season turfgrasses grown in Mediterranean region of Turkey. **HortTechnology**, v.21, p.726-736, 2011.

SHAHBA, M.A., ABBAS, M.S., ALSHAMMARY, S.F. Drought resistance strategies of seashore *Paspalum* cultivars at different mowing heights. **HortScience**, v.49, p.221-229, 2014.

SIGUA, G.C., WILLIAMS, M.M., CHASE JR, C.C., ALBANO, J., KONGCHUM, M. Yield and uptake of bahiagrass under flooded environment as affected by nitrogen fertilization. *Agricultural Sciences*, v.3, p.491-500, 2012

SILVA, P.C.L., YAMASHITA, O.M., DA SILVA, I.V., DA ROCHA, A.M., DE BRITO, B.Z., DE ANDRADE ROYO, V., SALDANHA, K.L.A., CARVALHO, M.A.C., CÂNDIDO, A.C.T.F., FELITO, R.A., ANDREA, M.C.S., ROSSI, A.A.B. Qualitative characterization of secondary metabolites of *Paspalum virgatum* weed under different water conditions. **Australian Journal of Crop Science**, v.14, p.1563-1567, 2020.

SINGH, M., KUMAR, J., SINGH, S., SINGH, V.P., PRASAD, S.M. Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v.14, p.407-426, 2015.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO. **Manual de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**, Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2004.

SOUZA, C. H. L. **Seed and forage performance for an elite group of *Paspalum notatum* intraspecific hybrids**. 2019 (Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul). Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/196397/001096381.pdf?sequence=1>

SOUZA, F. H. D., CAVALLARI, M., GUSMAO, M. Produção comercial de sementes de *Paspalum notatum* var. notatum. **Documentos**, v.136, 2020. Disponível em

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1122466/1/Documentos-136.pdf>

STEVENS, A.V., NICOTRA, A.B., GODFREE, R.C., GUJA, L.K. Polyploidy affects the seed, dormancy and seedling characteristics of a perennial grass, conferring an advantage in stressful climates. **Plant Biology**, v.22, p.500-513, 2020.

STRECK, E. V., KÄMPF, N., DALMOLIN, R. S. D., KLAMT, E., NASCIMENTO, P. D., SCHNEIDER, P., GIASSON, P., PINTO, L. F. S. **Solos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: UFRGS: EMATER/RS-ASCAR, 2008.

SUN, Y., WANG, C., CHEN, H.Y., RUAN, H. Response of plants to water stress: a meta-analysis. **Frontiers in Plant Science**, v.11, 978, 2020.

THALMANN, M., SANTELIA, D. Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress. **New Phytologist**, v.214, p.943-951, 2017.

TRACY, B. F., FOSTER, J. L., BUTLER, T. J., ISLAM, M. A., TOLEDO, D., & VENDRAMINI, J. M. B. Resilience in forage and grazinglands. **Crop Science**, v.58, p.31-42, 2018.

URBANI, M. H., ACUÑA, C. A., DOVAL, D. W., SARTOR, M. E., GALDEANO, F., BLOUNT, A. R., QUESENBERRY, K. H., MACKOWIAK, C. L., & QUARIN, C. L. Registration of 'Boyero UNNE' Bahiagrass. **Journal of Plant Registrations**, v.11, p.26-32, 2017.

VASELLATI, V., OESTERHELD, M., MEDAN, D., LORETI, J. Effects of flooding and drought on the anatomy of *Paspalum dilatatum*. **Annals of Botany**, v.88, p.355-360, 2001.

VELIKOVA, V., YORDANOV, I., EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, v.151, p.59-66, 2000.

WANG, K., JIANG, Y. Antioxidant responses of creeping bentgrass roots to waterlogging. **Crop Science**, v.47, p.232-238, 2007.

WEILER, R.L., DALL'AGNOL, M., SIMIONI, C., KRYCKI, K.C., PEREIRA, E.A., MACHADO, J.M., MOTTA, E.A.M. Intraspecific tetraploid hybrids of *Paspalum notatum*: agronomic evaluation of segregating progeny. **Scientia Agricola**, v.75, p.36-42, 2013.

WEIS, M., GUTJAHR, C., AYALA, V. R., GERHARDS, R., RITTER, C., & SCHÖLDERLE, F. Precision farming for weed management: techniques. **Gesunde Pflanzen**, v.60, p.171–181, 2008.

WEST, S.H. Reducing dormancy in Pensacola bahiagrass. **Journal of Seed Technology**, v.16, p.1-8, 1992

XIAO, B., JESPERSEN, D. Morphological and physiological responses of seashore paspalum and bermudagrass to waterlogging stress. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.144, p.305-313, 2019.

XU, Z., ZHOU, G., SHIMIZU, H. Are plant growth and photosynthesis limited by pre-drought following rewatering in grass? **Journal of Experimental Botany**, v.60, p.3737-3749, 2009.

XU, J., JIN, J., ZHAO, H., LI, K. Drought stress tolerance analysis of *Populus ussuriensis* clones with different ploidies. **Journal of Forestry Research**, v.30, p.1267-1275, 2019.

ZEITER, M., SCHÄRRER, S., ZWEIFEL, R., NEWBERY, D.M., STAMPFLI, A. Timing of extreme drought modifies reproductive output in semi-natural grassland. **Journal of Vegetation Science**, v.27, p.238-248, 2016.

ZHANG, J., KIRKHAM, M.B. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. **New Phytologist**, v.132, p.361-373, 1996.

ZHOU, Y., LAMBRIDES, C.J., FUKAI, S., 2013a. Drought resistance of bermudagrass (*Cynodon* spp.) ecotypes collected from different climatic zones. **Environmental and Experimental Botany**, v.85, p.22-29, 2013a.

ZHOU, Y., LAMBRIDES, C.J., ROCHE, M.B., DUFF, A., FUKAI, S., Temporal and spatial patterns of soil water extraction and drought resistance among genotypes of a perennial C4 grass. **Functional Plant Biology**, v.40, p.379-392. 2013b.

ZULFIQAR, F., AKRAM, N. A., ASHRAF, M. Osmoprotection in plants under abiotic stresses: New insights into a classical phenomenon. **Planta** 251, 1-17, 2020.