

**Produção de sementes em *Trifolium polymorphum* e *T. argentinense* em ambiente protegido**Ionara Fátima Conterato¹, Jorge Dubal Martins¹, Diego Bitencourt de David¹

Resumo - *Trifolium polymorphum* e *T. argentinense* (Fabaceae) são duas espécies forrageiras anficárpicas nativas das pastagens naturais da metade sul do Rio Grande do Sul, no sul do Brasil. As informações acerca da produção de sementes em ambas espécies são escassas. No presente trabalho foram avaliadas a produção de sementes aéreas em *T. polymorphum* e *T. argentinense* em ambiente protegido e sem acesso de polinizadores. As plantas de *T. polymorphum* produziram significativamente mais inflorescências (63,16) que aquelas de *T. argentinense* (24,84), mas sem diferença na produção total de sementes (8,53 e 1,48, respectivamente). A baixa produção de sementes em ambiente protegido e sem acesso a polinizadores sugere a necessidade de estimulação mecânica para assegurar polinização, que é normalmente realizada por insetos, para formar sementes. Essas informações podem ser usadas para planejar futuros experimentos onde *T. polymorphum* e *T. argentinense* tenham livre acesso a polinizadores para obtenção de uma maior produção de sementes.

Palavras chave: Casa de vegetação. Flores aéreas. Polinizadores. Pastagem natural

Seed production in *Trifolium polymorphum* and *T. argentinense* in a protected environment

Abstract - *Trifolium polymorphum* and *T. argentinense* (Leguminosae) are two amphicarpic forage species native to the natural pastures of the southern half of Rio Grande do Sul, southern Brazil. Information about seed production in both species is scarce. In the present work we evaluated the production of aerial seeds in *T. polymorphum* and *T. argentinense* in a protected environment and without access of pollinators. *T. polymorphum* plants produced significantly more inflorescences (63.16) than those of *T. argentinense* (24.84), but with no difference in total seed production (8.53 and 1.48, respectively). The low seed production in a protected environment and without access to pollinators suggests the need for mechanical stimulation to ensure pollination, usually performed by insects to form seeds. This information can be used to plan future experiments where *T. polymorphum* and *T. argentinense* have free access to pollinators to obtain a higher seed production.

Keywords: Greenhouse. Aerial flowers. Pollinators. Natural grassland.

¹ Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural, Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Anacleto Ávila de Araújo, BR 290, Km 412, 97300-000, São Gabriel, Rio Grande do Sul, RS, Brasil. E-mail: ionara-conterato@agricultura.rs.gov.br



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2020261312-318>

O gênero *Trifolium* é um dos mais importantes da família Fabaceae com aproximadamente 245 espécies, muitas delas amplamente cultivadas como forragem para animais e adubação verde (LEWIS, 2005). Na América do Sul ocorrem 13 espécies (ZOHARY; HELLER, 1984), dentre elas *T. polymorphum* Poir e *T. argentinense* Speg., as duas únicas espécies anficárpicas do gênero, isto é, com a capacidade de produzir flores e frutos aéreos e subterrâneos no mesmo indivíduo (LEV-YADUN, 2000) e que também reproduzem-se vegetativamente pelo rebrote das raízes de reserva (CONTERATO et al., 2013; CONTERATO; SCHIFINO-WITTMANN, 2014; CONTERATO et al., 2019).

T. polymorphum é uma espécie perene que ocorre no sul do Brasil, Uruguai e parte da Argentina (BURKART, 1987; MIOTTO, 2011) sendo amplamente distribuída em uma gama de tipos de solos da metade sul do Estado do Rio Grande do Sul, entre 30° S e 34° S (CONTERATO; SCHIFINO-WITTMANN, 2014). Durante os meses de inverno, representa um importante componente forrageiro (KAPPEL, 1967) devido à palatabilidade e boa qualidade da forragem (SPERONI; IZAGUIRRE, 2003). No Uruguai é considerada uma das espécies forrageiras nativas promissoras, com valores de 15,2% de proteína (COLL; ZARZA, 1992), por responder à fertilização com fósforo, melhorando a cobertura de 10% para 30-60% (FERNANDEZ et al., 1983) e pela ampla adaptação às condições edafoclimáticas (SPERONI; IZAGUIRRE, 2003). *T. argentinense* é uma espécie que ocorre em baixa frequência nas pastagens naturais do Rio Grande do Sul (sul da Campanha Gaúcha e Litoral Sul) (KAPPEL, 1967) e no Uruguai restringe-se a solos úmidos até inundados (SPERONI; IZAGUIRRE, 2003).

As flores aéreas de *T. polymorphum* foram reportadas como de polinização cruzada (BURKART, 1952), com possibilidade de autogamia na espécie (SPERONI; IZAGUIRRE, 2003; SPERONI et al., 2014). Com base em marcadores moleculares, Real et al., (2007) propuseram que a espécie é alógama, auto-compatível que se beneficia de polinizadores para formar sementes. As flores aéreas de *T. argentinense* são preferencialmente alógamas mas a produção de sementes em flores autopolinizadas indica que a espécie é auto-fértil (CONTERATO et al., 2013). A variação na produção de sementes aéreas em *T. polymorphum* sugere influência da herbivoria e de polinizadores (SPERONI; IZAGUIRRE, 2003; CONTERATO et al., 2019). Dada a importância de ambas espécies nas pastagens naturais do Rio Grande do Sul e as escassas informações sobre a produção de sementes, o objetivo desse estudo foi avaliar a produção de sementes aéreas em *T. polymorphum* e *T. argentinense* em ambiente protegido e sem acesso a polinizadores.

Em março de 2018 foram transplantadas 20 raízes de reserva de *T. polymorphum* (população São Gabriel) em floreiras (34 cm x 14 cm x 11,5 cm) preenchidas com substrato comercial composto por casca de pinus, vermiculita, corretivo de acidez e macro nutrientes, sendo uma raiz de reserva em cada floreira. As raízes de reserva foram obtidas de experimento conduzido no ano de 2017, sendo as floreiras mantidas até



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2020261312-318>

março de 2018 para a preservação das raízes de reserva. Em março de 2018 sementes aéreas de *T. argentinense* obtidas de plantas a campo do ano anterior foram escarificadas com lixa e germinadas em placas de Petri sobre papel filtro umedecido e mantidas em temperatura ambiente sob luz difusa até abril. Posteriormente, as plântulas foram transferidas para copos plásticos de 200 ml, preenchidos com o mesmo substrato comercial, e em junho do mesmo ano foi transplantada uma planta para cada floreira (34 cm x 14 cm x 11,5 cm), totalizando 20 floreiras. O experimento foi conduzido no Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária (DDPA), da Secretaria da Agricultura, Pecuária, Irrigação e Desenvolvimento Rural (SEAPDR) em São Gabriel (S30°20'27", W54°19'01"). As plantas das duas espécies foram mantidas em casa de vegetação (12m x 8m), com as laterais e a cobertura em filme de polietileno transparente, para impedir o acesso de polinizadores. Uma das plantas de cada espécie não resistiu e o experimento continuou com 19 plantas. O delineamento utilizado foi completamente ao acaso e cada floreira foi considerada uma repetição. Nenhuma adubação foi realizada durante o experimento e as plantas espontâneas foram manualmente arrancadas das floreiras. As plantas foram irrigadas diariamente, de forma manual, inicialmente com 300 ml de água e posteriormente com o crescimento das plantas com 700-800 ml de água.

Na primeira semana de dezembro de 2018, as inflorescências aéreas de cada planta foram coletadas separadamente, em ambas as espécies, e armazenadas em sacos de papel. Posteriormente, para cada planta foi avaliado o número de inflorescências; de sementes cheias, desenvolvidas e amarelas (provavelmente viáveis); de sementes vazias e de cor marrom escura (provavelmente inviáveis) e o número total de sementes (CONTERATO et al., 2019). Os dados do número médio de sementes aéreas produzidas por planta em ambas as espécies foram comparados usando-se o teste t a 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas usando-se o programa R. Os dados mostraram significativas diferenças no número de inflorescências produzidas ($P 0,0004$), com médias de 63,16 inflorescências por planta em *T. polymorphum* e 24,84 em *T. argentinense* (Tabela 1).

Embora as flores aéreas de *T. polymorphum* se agrupem em inflorescências com 10-20 ou até 40 flores (SPERONI, 2009), o número médio de 5,37 sementes cheias, bem desenvolvidas e amarelas produzidas por planta foi baixo ($P 0,0942$), e não diferiu das 1,16 sementes produzidas em *T. argentinense* (Tabela 1). Esses resultados diferem de Conterato et al., (2019), onde plantas *T. polymorphum* na ausência de herbivoria e mantidas em área aberta, isto é, com possibilidade de serem visitadas livremente por insetos produziram em média 1000 sementes cheias, bem desenvolvidas e amarelas por planta. A baixa produção de sementes na ausência de polinizadores obtida nesse estudo corrobora com Real et al., (2007) onde na ausência de polinizadores, a produção de sementes auto-polinizadas foi limitada a uns poucos casos. Em populações uruguaias de *T. polymorphum*, Speroni et al., (2014) igualmente observaram uma baixa produção de frutos em



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2020261312-318>

auto-polinização espontânea e um aumento no conjunto de frutos e produção de sementes onde polinizadores naturais estavam presentes. Em *T. argentinense*, a produção de sementes cheias, bem desenvolvidas e amarelas foi ainda menor, em média 1,16 sementes por planta (Tabela 1), e diferiu do observado por Conterato et al., (2019), onde plantas de *T. argentinense* mantidas em área aberta produziram em média 39 sementes por planta. Embora escassa, a produção de sementes em ambiente protegido e na ausência de polinizadores, corrobora com a auto-fertilidade das espécies (REAL et al., 2007; CONTERATO et al., 2013; SPERONI et al., 2014).

Tabela 1. Número médio de inflorescências e sementes produzidas em *T. polymorphum* e *T. argentinense*.

Espécie	Plantas avaliadas	Tipo de sementes aéreas			
		Inflorescências	Cheias, desenvolvidas e amarelas	Vazias e/ou marron-escuras	Total de sementes
<i>T. polymorphum</i>	19	63,16 a	5,37 a	3,16 a	8,53a
<i>T. argentinense</i>	19	24,84b	1,16a	0,32a	1,48a
<i>P</i> value		0,0004	0,0942	0,0625	0,0715

Valores seguidos da mesma letra em cada coluna não diferem entre si (teste t a $P=0,05$). Sementes cheias, desenvolvidas amarelas (sementes provavelmente viáveis); sementes vazias e/ou marron-escuras (sementes provavelmente inviáveis).

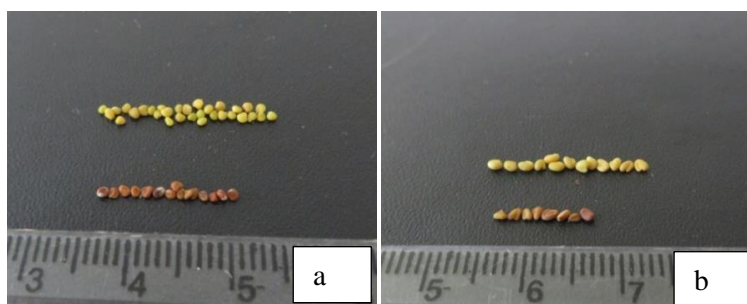


Figura 1. Sementes cheias, bem desenvolvidas e amarelas (parte superior) e sementes vazias e de cor marron escura (parte inferior) em: a) *T. polymorphum* e b) *T. argentinense*.

A produção total de sementes por planta foi baixa e sem diferenças significativas ($P 0,0715$) entre as espécies, com média de 8,53 sementes em *T. polymorphum* e 1,48 sementes em *T. argentinense*. Esses resultados reforçam a necessidade de um vetor polinizador para o transporte do pólen, para uma maior produção de sementes, como sugerido por Real et al. (2007) e Speroni et al. (2014) em *T. polymorphum* e por Conterato et al., (2013) em *T. argentinense*. Além disso, Speroni e Izaguirre (2003) citaram a herbivoria das



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2020261312-318>

inflorescências pelo gado como uma das causas da baixa produção de sementes aéreas e, Speroni et al., (2014) mencionaram que a maioria das flores aéreas de *T. polymorphum* são consumidas pelo gado, enquanto o restante das flores mostra baixa formação de frutos, entre 0,6-12% (SPERONI, 2009). Essas informações sugerem que a ausência de polinizadores foi uma das causas para a baixa produção de sementes em ambas as espécies, sendo elas importantes para planejar futuros experimentos em áreas abertas que permitam às plantas serem visitadas livremente por polinizadores, visto que as flores aéreas se beneficiam dos polinizadores para formar sementes (REAL et al., 2007; CONTERATO et al., 2019). Para Strauss e Zangrel (2002), a herbivoria por insetos precisa ser evitada, pois esta pode ter efeitos negativos severos sobre o crescimento, desenvolvimento e reprodução.

As sementes aéreas de *T. polymorphum* e *T. argentinense* incorporam variabilidade genética às espécies por serem preferencialmente alógamas (REAL et al., 2007; CONTERATO et al., 2013), permitindo tolerar pressões espaciais e temporais (CONTERATO et al., 2013; SPERONI et al., 2014). De acordo com o Ministério do Meio Ambiente (2009), uma produção eficiente de sementes é um requisito importante para a inserção de espécies nativas com potencial de inclusão na matriz agrícola para fins variados, como citado para *T. polymorphum*. Nesse cenário, uma produção eficiente de sementes em *T. polymorphum* e *T. argentinense* pode ser usada para aumentar sua ocorrência nas pastagens naturais do Rio Grande do Sul, melhorando a produtividade e a qualidade nutricional.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo apoio financeiro.

Referências

BURKART, A. **Las leguminosas argentinas silvestres e cultivadas**. Buenos Aires: Acme, 1952. 569p.

BURKART, A. **Flora ilustrada de Entre Rios**. Buenos Aires: Colección Científica del INTA, 1987. 763p.

COLL, J.; ZARZA, A. **Leguminosas nativas promisorias: trébol polimorfo y babosita**. Montevideo: Instituto Nacional de Investigación Agropecuária, 1992. p. 1-19 (Boletín de Divulgación, 22).

CONTERATO, I. F.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; DALL'AGNOL, M. Seed dimorphism, chromosome number and karyotype of the amphicarpic species *Trifolium argentinense* Speg. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 57, p. 727-731, 2010.



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2020261312-318>

CONTERATO, I. F.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; GUERRA, D.; DALL'AGNOL, M. Amphicarpic in *Trifolium argentinense*: morphological characterization, seed production, reproductive behavior and life strategy. **Australian Journal of Botany**, v. 6, p. 119-127, 2013.

CONTERATO, I. F.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T. **Estratégias reprodutivas da espécie anficárpica *Trifolium polymorphum* Poir.** Enciclopédia Biosfera, v. 10, p. 2213-2222, 2014.

CONTERATO, I. F.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; de DAVID, D. B.; MARTINS, J. D. Reproductive strategies and dimorphic seeds germination in *Trifolium argentinense* Spég., an amphicarpic species. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 25, p.66-79, 2019.

CONTERATO, I. F.; OLIVEIRA, P. J. B.; DAVID, D. B.; TRINDADE, J. K.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; MALDANER, J.; AGNOL, M. D.; NUNES, J. R. G. *Trifolium polymorphum*: an amphicarpic species with an interesting reproductive biology. **Brazilian Journal of Botany**, v. 42, p. 681-687, 2019.

FERNANDEZ, J. G.; BENITEZ C. A.; PALLARES O. R. **Principales forrajeras nativas del medio este de la Provincia de Corrientes.** Corrientes: INTA, 1983. p. 68-69 (Série Técnica, 23).

LEWIS, G.; SCHRIRE B.; MACKINDER B.; LOCK M. **Legumes of the world.** Kew: Royal Botanic Gardens, 2005. 577p.

KAPPEL, A. **Os trevos: espécies do gênero *Trifolium*.** Porto Alegre: Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, 1967. 48p.

LEV-YADUN, S. Why are underground flowering and fruiting more common in Israel than anywhere else in the world? **Current Science**, v. 79, p. 289, 2000.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Projeto Plantas para o Futuro.** 2009. Disponível em <http://www.mma.gov.br/sitio>. Acesso em: 28 outubro 2009.



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2020261312-318>

MIOTTO, S. T. M. **Grupos de uso e as espécies prioritárias - Espécies forrageiras – Fabaceae**. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. (Ed.). *Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2011. cap. 5, p. 355-398.

REAL, D.; DALLA RIZZA, M.; REYNO, R.; QUESENBERRY, K. H. Breeding system of the aerial flowers in an amphicarpic clover species: *Trifolium polymorphum*. **Crop Science**, v. 47, p. 1401-1406, 2007.

SPERONI, G.; IZAGUIRRE, P. Características biológicas de la leguminosa nativa promissória forragera *Trifolium polymorphum* Poir. (Fabaceae, Faboideae). **Agrociencia**, v. 7, p. 68-76, 2003.

SPERONI, S.; IZAGUIRRE, P.; BERNARDELLO, G.; FRANCO, J. Intrafloral phenology of *Trifolium polymorphum* Poir. (Leguminosae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, p. 881-888, 2009.

SPERONI, G.; IZAGUIRRE, P.; BERNARDELLO, G.; FRANCO, J. Reproductive versatility in legumes: the case of amphicarpy in *Trifolium polymorphum*. **Plant Biology**, v. 16, p. 690-696, 2014.

STRAUSS, S.Y.; ZANGREL, A. R. **Plant–insect interactions in terrestrial ecosystems**. In: HERRERA, C. M.; PELLMYR, O. (Ed.). *Plant–animal interactions. An evolutionary approach*. Oxford: Blackwell Science, 2002. p. 77-106.

ZOHARY, M.; HELLER, D. **The Genus *Trifolium* L.** The Israel Academy of Sciences and Humanities, 1984, 606p.