

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS E GENÉTICO DE BIÓTIPOS  
DE *Digitaria insularis* RESISTENTE E SUSCETÍVEL AO  
GLYPHOSATE**

**Juliano Francisco Martins**

Engenheiro Agrônomo

2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS E GENÉTICO ENTRE DOIS  
BIÓTIPOS DE *Digitaria insularis* RESISTENTE E  
SUSCETÍVEL AO GLYPHOSATE**

**Juliano Francisco Martins**

**Orientador: Prof. Dr. Pedro Luis da Costa Aguiar Alves**

**Co-orientadores: Profa. Dra. Janete Aparecida Desidério**

**Prof. Dr. Silvano Bianco**

Dissertação apresentada á Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de mestre em Agronomia (Produção Vegetal).

**2013**

Martins, Juliano Francisco  
O48f Aspectos ecofisiológicos e genético de biótipos de *Digitaria insularis* resistente e suscetível ao glyphosate / Juliano Francisco Martins. -- Jaboticabal, 2013  
iii, 63 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013  
Orientadora: Pedro Luis da Costa Aguiar Alves  
Co-orientador: Janete Aparecida Desidério, Silvano Bianco  
Banca examinadora: Leonardo Bianco de Carvalho, Dagoberto Martins  
Bibliografia

1. Germinação. 2. Planta daninha. 3. ISSR. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 633.34:631.54

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**JULIANO FRANCISCO MARTINS** – nascido em São José do Rio Preto, estado de São Paulo, em 15 de setembro de 1984. Ingressou na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) em 2006 e graduou-se Engenheiro Agrônomo no ano de 2010. Durante a graduação foi membro da equipe do ano agrícola da Empresa de Consultoria Junior (CAP Jr.), foi chefe de roteiro do Grupo Integração Empresa Universidade (GIEU) e estagiou junto ao departamento de produção vegetal onde atuou na área de fruticultura e cana-de-açúcar e junto ao departamento de biologia aplicada à agropecuária onde atuou na área de fisiologia vegetal e biologia e manejo de plantas daninhas. Atuou na elaboração e desenvolvimento de pesquisas científicas e foi bolsista de iniciação científica por duas vezes através do programa PIBIC/CNPq. Foi estagiário na área de pesquisa e desenvolvimento de produtos fitossanitários junto à empresa alemã BASF S/A no ano de 2010 e em agosto de 2011 ingressou no curso de mestrado pelo programa Produção Vegetal, na mesma instituição, atuando na área de plantas daninhas resistentes a herbicidas. Iniciou o curso como bolsista do programa CAPES, sendo esta substituída pela FAPESP no ano de 2012. Atualmente atua como pesquisador agrícola da área de regulamentação de produtos agrícolas na empresa Monsanto do Brasil S/A.

**“O entusiasmo é a maior força da alma.  
Conserva-o e nunca te faltará poder para  
consequires o que desejas.”  
(Napoleão Bonaparte)**

## **DEDICO**

Aos meus pais João Alberto Martins e Sibely Teresinha Carrazzone

Ao meu irmão João Alberto Martins Filho

A toda minha família em especial meus avós: paternos - Domingos Francisco Martins (in memorian), Maria Barison Martins (in memorian); maternos – Arnaldo

Antônio Carrazzone e Joana Fuscilla Carrazzone (in memorian).

A minha namorada e parceira Cláudia Meloni, bem como a sua família que tanto me preza.

A todos os meus amigos e colegas

Aos meus amigos de república

Aos amigos do Laboratório de plantas daninhas (LAPDA)

A todos os meus professores

Ao meu orientador Prof. Dr. Pedro Luis da Costa Aguiar Alves e co-orientadores

Profa.Dra. Janete Aparecida Desidério e Prof. Dr. Silvano Bianco

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por guiar todos os meus passos e me dar suporte para a realização deste trabalho.

A CAPES e FAPESP pelo suporte financeiro concedido para a realização desta dissertação.

A todos do LAPDA que auxiliaram, em algum momento, na realização da dissertação: Mariluce, Martins, Mariana, Micheli, Cárita, Paulo, Fernanda Mastrotti, Fernanda Bressanin, Willians, Anne, Rodrigo, Matheus, Rafael, Henrique, Sérgio entre outros que, por ventura, tenha me esquecido.

A todos os professores e funcionários da FCAV.

A todos os amigos da república Arapuka: Kuduro, Dérp, Tripis, Isaac, Riubily, Beaves, Belo, Adógo, Reistart, Roberto, Jorge, Bactéria, Cristiane e a todos que passaram por lá em algum momento, obrigado pela amizade e ensinamentos.

Aos meus pais e irmão pela força e apoio incondicional que sempre me deram.

A minha namorada Claudia Meloni, pelo companheirismo, carinho e apoio.

Aos componentes da banca de defesa (Prof. Dr. Leonardo Bianco de Carvalho e Prof. Dr. Dagoberto Martins) pelas sugestões e contribuições para este trabalho.

Ao meu amigo e orientador Pedro Luis da Costa Aguiar Alves, por todos os ensinamentos, conselhos e constante disponibilidade.

## Sumário

INTRODUÇÃO .....	1
REVISÃO DE LITERATURA .....	4
MATERIAL E MÉTODOS .....	11
4.1. Comprovação de biótipos resistente e suscetível ao glyphosate. ....	11
4.2. Fatores que afetam a germinação e emergência de biótipos de <i>Digitaria insularis</i> resistente e suscetível ao glyphosate .....	12
4.2.1. Temperatura.....	12
4.2.2. Fotoperíodo .....	14
4.2.3. Estresse hídrico .....	14
4.2.4. Profundidade de semeadura .....	15
Crescimento e fenologia.....	16
4.4. Taxa de polimorfismo .....	18
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	20
5.1. Detecção da resistência de <i>Digitaria insularis</i> ao glyphosate .....	20
5.2.Fatores que afetam a germinação e emergência dos dois biótipos de <i>Digitaria insularis</i> (resistente e suscetível).....	22
5.2.1. Temperaturas.....	22
5.2.2. Fotoperíodo .....	36
5.2.3. Estresse hídrico .....	39
5.2.4. Profundidade de semeadura .....	41
5.2.5. Crescimento e fenologia.....	44
5.3. Taxa de polimorfismo .....	51
CONCLUSÕES .....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	56



## ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS E GENÉTICO ENTRE DOIS BIÓTIPOS DE *Digitaria insularis* RESISTENTE E SUSCETÍVEL AO GLYPHOSATE

**RESUMO** – O conhecimento da biologia aliado aos estudos genéticos são ferramentas importantes para o manejo eficaz de plantas daninhas resistentes. Contudo os objetivos do trabalho foram: a) Comprovar existência de biótipo de *Digitaria insularis* resistente a glyphosate por meio de curva dose-resposta obtidas quando as plantas apresentaram de 2 a 4 folhas totalmente expandidas; b) Avaliar efeito da temperatura na presença e na ausência de luz; Avaliar o efeito da duração da luz (fotoperíodo) e disponibilidade hídrica na germinação das sementes de R e S; c) Verificar o efeito da profundidade de semeadura na emergência das plântulas de R e S; d) Estudar e comparar a fenologia e desenvolvimento de R e S; e) Detectar a taxa de polimorfismo entre os biótipos. Para isso, foram utilizadas sementes de *Digitaria insularis* R e S e submetidas às temperaturas constantes: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40°C; Alternadas: 10-20, 15-25, 20-30, 25-35 e 15-35°C; fotoperíodo: 0, 6, 8, 10, 12, 14, 16 e 18 horas; potenciais osmóticos: 0,0, -0,2, -0,4, -0,6, -0,8 e 1,0 MPa; profundidades de semeadura: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10 e 15 cm; além da caracterização dos estádios fenológicos e desenvolvimento, e taxa de polimorfismo. Verificou-se que o fator de resistência (FR) foi de 5,3 para nota de controle, sendo o EC<sub>50</sub> para a porcentagem de controle, de 416,6 g e.a.ha<sup>-1</sup> para o R e 78,5 g e.a.ha<sup>-1</sup> para o S. A temperatura fixa ótima para a germinação de ambos os biótipos foi de 30°C e alternadas de 20-30°C, tanto na presença quanto na ausência de luz, ainda a faixa fotoperiódica ótima foi de 10 a 12 horas de luz. O biótipo R germinou até potencial osmótico de -0,8 MPa enquanto o S até -0,4 MPa. Quando submetidos a diferentes profundidades de semeadura, ambos os biótipos apresentaram alta taxa de emergência até 4 cm. Em todas as variáveis propostas para a germinação e emergência, o biótipo R apresentou melhor desempenho que o S. Além disso, o biótipo R apresentou desenvolvimento mais rápido e vigoroso em relação ao S, atingindo primeiro o estágio reprodutivo. A taxa de polimorfismo verificada entre eles foi de 56,6%.

**Palavras-chave:** taxa de crescimento, germinação, planta daninha, polimorfismo, ISSR.

## ECOPHYSIOLOGICAL AND GENETIC ASPECTS BETWEEN TWO BIOTYPES OF THE *Digitaria insularis* RESISTANT AND SUSCETIBLE TO GLYPHOSATE

**ABSTRACT** The knowledge of the biology ally will genetic studies are important tools for the effective management of resistant weeds. However, the objectives this work were: a) proves the existence of *Digitaria insularis* biotypes resistant to glyphosate through dose-response curve obtained when the plants had 2-4 fully expanded leaves b) Evaluate the effect of temperature in the presence and absence of light; evaluate the effect of light duration (photoperiod) and water availability on germination of the R and S c) to investigate the effect of sowing depth on seedling emergence of the R and S d) to study and compare the phenology and growth the R and S, e) Detecting the polymorphism among biotypes. For this, was used seeds of *Digitaria insularis* R and S which were submitted ace constant temperatures: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 ° C; Alternate: 10-20, 15-25, 20 - 30, 25-35 and 15-35 ° C, photoperiod: 0, 6, 8, 10, 12, 14, 16 and 18 hours; osmotic potential: 0.0, -0.2, -0.4, -0.6, 1.0 and -0.8 MPa; sowing depth: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10 and 15 cm, besides characterization of the growth stages and development, and rate of polymorphism. It was found that the resistance factor (RF) was 5.3 to note control, and the EC<sub>50</sub> for the percentage of control, 416.6 g e.a.ha<sup>-1</sup> to R and 78.5 g e.a.ha<sup>-1</sup> to S. The optimal temperature stationary was 30°C and alternate was 20-30°C both in the presence and absence of light, although the photoperiodic optimum range was 10 to 12 hours of light. The R biotype germinated until the osmotic potential of -0.8 MPa, while the S to -0.4 MPa. When subjected to different sowing depths, both biotypes showed high germination rate up to 4 cm. In all the proposed variables for germination and emergence, the R biotype showed better performance than the S. Furthermore, the R biotype development was faster and strong relative to S, the first reaching the reproductive stage. The rate of polymorphism observed between them was 56.6%.

**Keywords:** Growth rate, germination, weed, polymorphism and ISS.

## 1. INTRODUÇÃO

As plantas daninhas apresentam tanto importância econômica quanto social, pois afetam atividades de produção, causando perdas econômicas com reflexos sociais (CARVALHO, 2013). O conjunto de ações negativas causadas pela presença de plantas daninhas, denominado de interferência, é um dos fatores mais importantes na limitação da produtividade e da qualidade do produto das culturas agrícolas (PITELLI, 1985).

O grau de competição sofrido pela cultura depende de fatores relacionados com a planta daninha (espécie, densidade, agressividade, distribuição e período de convivência) e da cultura (variedade, densidade e espaçamento (BLEASDALE, 1960). Antes que as plantas daninhas causem efeitos deletérios na produção, deve-se fazer uso, de forma integrada, dos diversos métodos de controle de plantas daninhas: físicos, cultural, mecânico, biológico e químico. O controle químico é o método mais utilizado, porém o seu uso de forma irracional está trazendo novos problemas para a agricultura.

Com destaque no cenário agrícola, o gênero *Digitaria* compreende cerca de 300 espécies de plantas distribuídas em diferentes regiões do mundo, tanto tropicais quanto subtropicais (CANTO-DOROW, 2001). O Brasil é o país das Américas com maior diversidade de espécies desse gênero, tendo sido constatada a presença de 26 espécies nativas e de 12 exóticas. Destas, 13 foram identificadas somente no Estado de São Paulo.

Dentre as espécies desse gênero destaca-se a *Digitaria insularis*, uma espécie de gramínea de ciclo perene com metabolismo fotossintético do tipo C4 (Kissmann & Groth, 1997). Após perenizada, forma touceiras e produz várias gerações ao ano, principalmente por sua alta capacidade de produção e disseminação de sementes. Portanto, o capim-amargoso é uma planta perene que tem a capacidade de germinar, crescer e se desenvolver praticamente o ano inteiro. Uma vez estabelecida, com a formação de rizomas, a dificuldade de controle dessa espécie aumenta muito (GEMELLI et al., 2012). Ainda, recentemente foi evidenciada a existência de biótipos de *D. insularis* realmente resistentes ao glyphosate (Carvalho et al., 2011).

O glyphosate é o herbicida mais utilizado no mundo. Sistêmico, não seletivo, altamente solúvel em água, e seu mecanismo de ação baseia-se na interrupção da rota do ácido chiquímico, responsável pela produção dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano, essenciais para a síntese de proteínas e divisão celular nas regiões meristemáticas da planta (Hess, 1994)

Para Galli e Montezuma (2005), o glyphosate é um produto de uso bastante diversificado, que é utilizado de forma isolada e que vem sendo utilizado de forma indiscriminada no meio agrícola por dezenas de anos. O uso intensivo deste herbicida fez com que as comunidades de plantas daninhas dos agroecossistemas criassem mecanismos de resposta nas floras específicas ou seleção de biótipos resistentes (LOPEZ-OVEJERO, 2006).

As características ecológicas das plantas daninhas que favorecem a seleção de biótipos de plantas resistentes em uma área são: ciclo de vida curto, elevada produção de sementes, baixa dormência da semente, várias gerações reprodutivas por ano, extrema suscetibilidade a um determinado herbicida e grande diversidade genética (CHRISTOFFOLETI et al., 1994; VIDAL & FLECK, 1997; VARGAS et al., 1999).

Existem pelo menos três mecanismos gerais que podem explicar o desenvolvimento da resistência a herbicidas e influenciar o modo de ação destes compostos: a) mutação no local de ação do herbicida na planta; b) metabolização ou desintoxicação do herbicida a substâncias menos fitotóxicas; c) redução da concentração do herbicida no local de ação, absorção foliar e/ou translocação do herbicida pelo biótipo resistente (sequestração ou compartimentalização) (CHRISTOFFOLETI, 2008).

O manejo de plantas daninhas resistentes á herbicidas é o novo desafio para a agricultura. Os programas de manejo integrado de plantas daninhas têm como uma das maiores limitações a carência de conhecimentos sobre biologia e ecologia (FERNANDEZ, 1982; CARVALHO, 2005), considerados essenciais para o desenvolvimento de sistemas de manejo viáveis sob os pontos de vista econômicos e ambientais (BHOWMIK, 1997).

Além disso, a biologia das plantas daninha aliada a engenharia genética, podem fornecer informações substanciais para o manejo da resistência. Contudo,

este trabalho tem por objetivos: a) comprovar a existência de biótipo de *D. insularis* resistente ao glyphosate; b) avaliar o efeito da temperatura, fotoperíodo e disponibilidade hídrica na germinação das sementes dos biótipos suscetível e resistente ao glyphosate; c) avaliar o efeito da profundidade de semeadura na emergência de suas plântulas; d) descrever a fenologia e o desenvolvimento de ambos biótipos; e) quantificar a taxa de polimorfismo entre eles.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

O controle de plantas daninhas é uma prática de elevada importância para a obtenção de altos rendimentos em qualquer exploração agrícola. Os métodos mais utilizados para controlar as infestantes são o mecânico, o químico e o cultural. Quando possível, é aconselhável utilizar a combinação de dois ou mais métodos. O método mais utilizado para controlar as plantas daninhas é o químico, isto é, o uso de herbicidas. Suas vantagens são a economia de mão de obra e a rapidez na aplicação (EMBRAPA, 2011).

No entanto, o uso indiscriminado de herbicidas e a falta de planejamento no manejo de plantas daninhas trouxeram um novo problema para a agricultura mundial, a seleção de plantas daninhas resistentes a herbicidas. Segundo Embrapa (2011), a maioria dos casos de seleção e de resistência pode ser esperada quando se utiliza o mesmo herbicida, ou herbicidas com o mesmo mecanismo de ação, consecutivamente.

Prevenir a disseminação e a seleção de espécies resistentes são estratégias fundamentais para evitar esse tipo de problema. A utilização e a rotação de produtos com diferentes mecanismos de ação e a adoção do manejo integrado (rotação de culturas, uso de vários métodos de controle, etc) fazem parte do conjunto de indicações para um eficiente controle das infestantes.

Assim, a resistência implica na sobrevivência das plantas daninhas às doses normalmente aplicadas no campo, como resultado da seleção ou da resposta genética às repetidas exposições aos herbicidas de mesmo mecanismo/local de ação. O biótipo resistente passa a enfrentar menor competição com os suscetíveis, permitindo maior sobrevivência e aumento no número daqueles indivíduos, tornando a população resistente (CHRISTOFFOLETI et al., 2001).

Segundo Heap (2013), 22 espécies de plantas daninhas resistentes já foram detectadas no Brasil. Dentre estas, destaca-se o capim-amargoso (*D. insularis*) uma espécie perene, herbácea, entouceirada, ereta, rizomatosa, de colmos estriados, com 50 a 100 cm de altura (KISSMANN E GROTH, 1997).

Conhecidas popularmente como capim-colchão e capim-amargoso, são plantas de desenvolvimento rápido e agressivo em áreas cultivadas e relatadas

como problema em mais de 60 países, infestando mais de 30 culturas de importância econômica; no Brasil, podem ocorrer regularmente em várias culturas “de primavera” ou “de verão” (KISSMANN, 1997). Atualmente, têm sido consideradas como uma das principais espécies de plantas daninhas que infestam o cultivo de cana-de-açúcar (DIAS et al., 2007).

Entretanto, segundo (MACHADO, 2005) a *D. insularis* apresenta lento crescimento inicial, sendo esta uma característica que pode afetar na competição com outras espécies daninhas. Nesse sentido, no início de desenvolvimento, principalmente em condições de sombreamento ou de baixas temperaturas, por se tratar de uma planta tipo C4, as plantas de *D. insularis* podem ser suprimidas pelo desenvolvimento mais rápido de outras espécies da comunidade infestante. Por sua vez, se a dose do herbicida não for suficiente para controlá-la, ela pode se tornar uma espécie dominante, como acontece em muitos casos em lavouras de café e áreas de plantio direto, em que a dose de glyphosate é eficiente para outras espécies e insuficiente para o efetivo controle de *D. insularis* (MACHADO et al., 2006).

Trata-se de uma planta extremamente competitiva e sua ocorrência é agravada pelo surgimento de biótipos resistentes ao glyphosate (herbicida inibidor da enzima enol-piruvil-shiquimatofosfato-sintase -EPSPS).

O glyphosate é um herbicida não-seletivo utilizado há mais de 40 anos no manejo da vegetação, para formar a palhada no sistema plantio direto. Com a introdução comercial da soja transgênica resistente ao glyphosate, o uso desse herbicida aumentou, e o uso indiscriminado desse herbicida provocou a evolução de muitos casos de resistência (BURNSIDE, 1992).

A enzima 5-enolpiruvilshiquimato 3-fosfato sintase (EPSPS) está presente na rota de síntese dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano. EPSPS ocorre em plantas, fungos e na maioria das bactérias, mas não em animais (KRUSE et al., 2000).

Os inibidores de EPSPS são herbicidas de ação total, de amplo espectro, que controlam plantas mono e dicotiledôneas anuais e perenes. São aplicados em pós-emergência de plantas daninhas e antes da semeadura ou emergência das culturas para o controle da vegetação (manejo ou dessecação) e antes da semeadura no

sistema de plantio direto. Também são utilizados para manejo da vegetação em áreas não cultivadas e para situações de renovação de pastagens (VIDAL E MEROTTO JR., 2001).

Os mecanismos que conferem resistência ao capim-amargoso estão relacionados à mais lenta absorção de glyphosate por plantas do biótipo resistente, assim como com a mais rápida metabolização do glyphosate em AMPA, glioxilato e sarcosina. Além disso, a translocação é muito menor em plantas do biótipo resistente em relação ao susceptível, mesmo em plantas novas, com 3 a 4 folhas (CARVALHO et al., 2011).

Vários fatores influenciam a probabilidade de infestação de uma área, assim como sua adaptabilidade ecológica e prolificidade de indivíduos. Dentre eles, podemos citar a longevidade e dormência das sementes e de outros propágulos, condições para a germinação, desenvolvimento e reprodução, competição intra e interespecífica, frequência na utilização de herbicidas de único mecanismo de ação e sua persistência, eficácia do herbicida e métodos adicionais empregados no controle das espécies daninhas (GRESSEL & SEGEL, 1990).

Além disso, as diferentes práticas de manejo do solo promovem modificações na dinâmica populacional das plantas daninhas. Esse evento está associado a mudanças na composição da comunidade infestante no tempo, considerando o número e a dominância relativa de cada espécie no agroecossistema (ZELAYA et al., 1997). Essas modificações envolvem aspectos da biologia e ecologia das espécies e podem ser alteradas pelas condições de manejo do solo, das culturas e dos métodos de controle (VOLL et al., 2005).

As reservas de sementes viáveis no solo, em profundidade e na sua superfície, são designadas como banco de sementes. Embora a quantidade de sementes de plantas daninhas presentes na camada arável do solo possa variar de 2.000 até 7.000 por metro quadrado, em diferentes agroecossistemas e localidades (JOHNSON & ANDERSON, 1986), a germinabilidade dessas sementes com o decorrer do tempo é variável entre as espécies. Sementes como as de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*) e picão-preto (*Bidens pilosa*) apresentam, de modo geral, alta taxa de germinação e emergência, exaurindo-se no solo em cerca de três a quatro anos, na ausência de reinfestação (VOLL et al., 2001), enquanto outras,



como a trapoeraba (*Commelina benghalensis* L.), podem sobreviver no solo por cerca de 40 anos (VOLL et al., 1997).

No Brasil, poucos estudos relacionados aos mecanismos envolvidos na emergência de plantas daninhas e a profundidade a partir da qual suas sementes são capazes de emergir estão disponíveis. Segundo Toledo et al. (1993) e Brighenti et al. (2003), o conhecimento da profundidade na qual a plântula é capaz de emergir pode permitir a adoção de práticas de manejo pertinentes, como, por exemplo, o emprego de métodos mecânicos associados ou não a métodos químicos.

A profundidade no solo em que uma semente é capaz de germinar e produzir plântula é variável entre as espécies e apresenta importância ecológica e agrônômica (GUIMARÃES et al., 2002; MARTINS 2009).

Assim, como as plantas daninhas de modo direto ou indireto provocam danos às culturas, comprometendo, em última instância, sua produção agrícola, é de particular interesse no manejo dessas populações verificar a dinâmica de sua emergência (YAMASHITA, 2005; MARTINS, 2009).

Sabendo disso, Orzari (2010) verificou que sementes de várias espécies de ipomoeas germinaram satisfatoriamente até os 5 cm de profundidade em diferentes tipos de solos. Sementes de *D. insularis* apresentaram cerca de 80% de germinação em até 3 cm de profundidade; ao serem dispostas a 4 cm de profundidade sua germinação foi reduzida a 10% (MARTINS, 2009).

O conhecimento de aspectos relacionados à germinação, como temperatura, causas da dormência e a profundidade máxima que possibilita a germinação das plantas daninhas, associadas à adoção de práticas adequadas de manejo como, por exemplo, a determinação do momento ótimo para a aplicação de herbicidas em pós-emergência (GUO & AL-KHATIB, 2003) são informações de grande importância para a aplicação de sistemas viáveis de manejo integrado.

A luz, bem como a sua qualidade, a temperatura, a umidade e suas alterações são os mais importantes fatores ambientais para se provocar a superação da dormência das sementes de plantas daninhas (RUEDELL, 1995; GOMES 2008).

A germinação das sementes é regulada pela interação de seu estado fisiológico e das condições de ambiente, sendo que cada espécie vegetal exige um conjunto de requisitos específicos quanto à disponibilidade de água, temperatura, luz

e profundidade de semeadura, para a ocorrência do processo de germinação. A temperatura é considerada ótima para a germinação das sementes quando permite a expressão do potencial máximo de germinação em menor período de tempo (POPINIGIS, 1985; MAYER & POLJAKOFF MAYBER, 1989; MONDO, 2010). Normalmente, essa temperatura está relacionada à temperatura da região de origem geográfica da espécie, considerando a época favorável para a germinação (ANDRADE et al., 2000).

Dessa forma, existem espécies cujo processo germinativo é favorecido por temperatura constante (VARELA et al., 1999; SOUSA et al., 2000; SILVA, 2001), por alternância de temperatura (SANTOS & AGUIAR, 2000; LOPES & SOARES, 2003) ou por um intervalo amplo de temperatura (NASSIF & PEREZ, 2000; SILVA et al., 2002).

A luz é outro fator importante para a germinação das sementes. Tanto a intensidade, o comprimento de onda quanto o fotoperíodo são variáveis conhecidas por exercerem efeito sobre a germinação de sementes que possuem dormência (COPELAND & MCDONALD, 2001). Quando as sementes necessitam da presença de luz para germinar, elas são denominadas fotoblásticas positivas; quando necessitam da ausência de luz, fotoblásticas negativas; e quando a luz não interfere no processo germinativo, fotoblásticas neutras ou não fotoblásticas (MAYER & POLJAKOFF MAYBER, 1989; VÁZQUEZ-YANES & OROZCO-SEGOVIA, 1993). Mondo et al. (2010) não verificaram a necessidade de luz para a germinação da *D. insularis* podendo denominá-las de fotoblásticas neutras.

Na realidade a necessidade de temperaturas alternadas e de luz para a germinação de sementes são exigências para a superação da dormência de algumas sementes. Assim, caso as condições não sejam as ideais para a germinação, as sementes podem permanecer vivas nos solos por longos períodos (STECKEL et al., 2004). O conhecimento das exigências ambientais para germinação das sementes de espécies de plantas daninhas, ainda não disponível para várias espécies, é fundamental para a interpretação do seu comportamento ecológico no campo, além de possibilitar o desenvolvimento de estratégias de redução do banco de sementes nas áreas cultivadas (SOUZA FILHO, 2006).

Gomes e Christoffoleti (2008) constataram que para ocorrer o controle efetivo de plantas daninhas é preciso amplo conhecimento da biologia das espécies e da interferência do meio ambiente sobre a dinâmica populacional das plantas daninhas e do banco de sementes.

Contudo, pouco se conhece sobre as características biológicas de plantas daninhas em nossas condições, tão pouco de biótipos resistentes a herbicidas, e o estudo do comportamento biológico/ecológico se faz fundamental a fim de traçar estratégias de manejo para essas plantas.

Ainda, com o desenvolvimento da biologia molecular, é possível estimar a variabilidade genética dentro da espécie pelo uso de marcadores moleculares, que estão facilitando a realização de estudos de genética, taxonomia e evolução de plantas, proporcionando substancial evolução do conhecimento científico (FALEIRO, 2007).

Caracteres fenotípicos, tradicionalmente usados para estimar a diversidade genética, são limitados, uma vez que são influenciados pelo ambiente e estágio de desenvolvimento da planta (TATINENI et al., 1996). Os marcadores de DNA são independentes das condições ambientais e mostram alto nível de polimorfismo, com herança mendeliana, possibilitando uma descrição mais detalhada da estrutura genética de populações (WILLIAMS et al., 1990).

Entre as técnicas mais utilizadas para caracterização genética de espécies em que se desconhecem maiores informações genéticas encontram-se os marcadores moleculares do tipo *Inter-Simple Sequence Repeats* (ISSR). Os ISSR são marcadores arbitrários altamente informativos multiloci correspondentes a microsatélites produzidos por amplificação da reação de cadeia polimerase utilizando um único iniciador (POWELL et al., 1996). Os ISSR apresentam alto polimorfismo, não requerem prévios conhecimentos genômicos, possuem maior reprodutibilidade e, além disso, são de custo relativamente baixo (ZIETKIEWICZ et al., 1994)

Avaliando a dispersão e variação genética de *Solanum nigrum* resistente e sensível aos herbicidas inibidores de FS II em 25 locais na França, Polônia e Reino Unido, foi verificada elevada similaridade genética entre as várias populações. O resultado dessa pesquisa sugeriu que a dispersão de sementes de *Solanum nigrum*

ocorreu por meio de aves migratórias entre os países amostrados. Todavia, entre três populações, devido à baixa similaridade encontrada, especula-se que a resistência tenha ocorrido de forma independente (STANKIEWICZ et al., 2001).

Ainda, trabalhos que avaliaram a similaridade genética entre biótipos de *Euphorbia heterophylla* demonstraram que a resistência aos herbicidas inibidores de ALS ocorreu de forma independente nos locais avaliados (WINKLER et al., 2002). E, Esselman et al. (1999) e Assefa et al. (2003) utilizaram marcadores ISSR para acessar a diversidade genética de *Calamagrostis porteri* subsp. *Inseparata* (Swallen) e *Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter, todos representantes da família Poaceae, tendo alto nível de polimorfismo.

Assim, estudos sobre a variabilidade genética de espécies são relevantes, e aliados a biologia, podem ajudar a desenvolver estratégias de manejo eficientes das plantas daninhas resistentes aos herbicidas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi subdividido em três etapas: Comprovação da resistência da *D. insularis* ao glyphosate, estudo de fatores que afetam a germinação e emergência, fenologia e desenvolvimento e taxa de polimorfismo entre os biótipos.

#### 3.1. Comprovação de biótipos resistente e suscetível ao glyphosate.

Sementes de *D. insularis* com histórico de resistência (R) foram coletadas em área com cultivo de laranja no município de Matão – SP (21°35'8,35" S e 48°23'12,87" W Gr), enquanto sementes de plantas supostamente suscetíveis (S) foram coletadas no município de Santa Helena do Goiás – GO (17°50'19,04" S e 50°34'14,82" W Gr), em área sem histórico de aplicação de glyphosate

O biótipo R utilizado neste experimento já havia sido detectado resistente ao glyphosate por Carvalho et al, 2011, no entanto foi realizado um novo teste por meio do desenvolvimento de dois experimentos de dose-resposta, onde o primeiro, com seis doses do glyphosate (Roundup Original®) baseado na dose recomendada de 720 g e.a.ha<sup>-1</sup> de glyphosate, serviu de base para o ajuste das doses utilizadas no segundo experimento.

O segundo experimento apresentou delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições, no qual constaram os dois biótipos de capim-amargoso sob sete doses ajustadas de glyphosate (Roundup Original®); o biótipo S foi submetido às doses de 0, 50, 100, 150, 200, 400 e 600 g e.a.ha<sup>-1</sup>, já e o biótipo R, 0, 75, 150, 300, 600, 900, 1200 g e.a.ha<sup>-1</sup>.

A aplicação das doses de glyphosate em ambos os experimentos foi realizada com o auxílio de pulverizador costal a pressão constante de 2,8 kgf cm<sup>-2</sup> (mantida por CO<sub>2</sub> comprimido), munido de barra com duas pontas de pulverização XR 110015, espaçadas em 0,5 m, com consumo de calda equivalente a 150 L ha<sup>-1</sup>. As aplicações foram realizadas quando as plantas de *D. insularis* apresentavam de 2 a 4 folhas totalmente expandidas

Aos 30 dias após a aplicação, foi determinada a matéria seca da parte aérea das plantas de capim-amargoso e atribuídas notas visuais de controle (ALAM, 1974) e os resultados obtidos foram submetidos à análise de regressão.

Os dados foram ajustados à equação não-lienar tipo logística:  $y = a/[1 + (\frac{x}{b})^c]$ , em que y é a matéria seca da parte aérea e/ou a porcentagem de controle; x, dose do herbicida; e a, b, e c, parâmetros estimados da equação (“a” é a amplitude entre o ponto máximo e o ponto mínimo da variável, “b” corresponde a dose do herbicida necessária para causar 50% de resposta da variável “y” e “c” é a inclinação da curva ao redor de b)

### **3.2. Fatores que afetam a germinação e emergência de biótipos de *Digitaria insularis* resistente e suscetível ao glyphosate**

#### **3.2.1. Temperatura**

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Plantas Daninhas, do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária da Universidade Estadual Paulista, em Jaboticabal – SP, onde foi realizado um teste de germinação preliminar para avaliar a viabilidade das sementes coletadas. Foram utilizadas 500 sementes de cada biótipo e submetidas à 30°C e 12 horas de luz. Após 20 dias, o biótipo suscetível apresentou 61% de germinação, enquanto que o biótipo resistente, 68%.

Em seguida, foram realizados dois testes para a determinação da influência de diferentes temperaturas na germinação das sementes dos dois biótipos de *D. insularis*. Para isso, foram dispostas 100 sementes dessa espécie em caixas Gerbox (11,0 x 11,0 x 3,0cm) transparentes sobre duas folhas de papel de germinação (10,5 x 10,5cm) previamente umedecidas com quantidade de água correspondente a 2,5 vezes a massa do papel seco. Para as parcelas conduzidas na ausência de luz, as caixas foram envolvidas com papel alumínio.

Realizou-se o primeiro experimento de germinação em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 repetições, em esquema fatorial 2x8, ou seja, foram utilizados 2 biótipos de *D. insularis* (resistente e suscetível) e 8 temperaturas constante (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40°C).

O segundo teste, onde também se avaliou a germinação das sementes dos dois biótipos, porém desta vez, submetidos à temperaturas alternadas de 10-20°C, 15-25°C, 20-30°C, 25-35°C e 15-35°C, sendo estas combinadas com o fotoperíodo

12/12 (12 horas em cada temperatura). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições, perfazendo um esquema fatorial 2x5.

. As temperaturas propostas para germinação das sementes foram baseadas nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992) para as espécies de *Digitaria* spp, além disso, ambos os experimentos foram submetidos à ausência e presença (12 horas) de luz.

Em seguida, as caixas foram colocadas em CDGs com controle de temperatura específica para cada tratamento e fotoperíodo igual para todos os tratamentos. Cada tratamento foi submetido à ausência total e presença de 12 horas de luz. As câmaras de germinação estavam equipadas com fonte de luz frontal composta por quatro lâmpadas fluorescentes brancas de 15w cada (GE, "daylight") e, realizou-se o rodízio das caixas plásticas diariamente dentro de cada câmara, afim de oferecer de forma homogênea intensidade luminosa para todas as repetições.

A avaliação dos testes de germinação foi realizada diariamente até os 30 dias após a semeadura, com a contagem de sementes germinadas. Foram consideradas sementes germinadas aquelas que apresentaram extensão radicular igual ou superior a 2 mm (DURAN & TORTOSA, 1985). Nos experimentos com ausência de luz as avaliações foram realizadas na presença da luz verde, para que não houvesse interferência dos diferentes comprimentos de onda na germinação.

Os dados resultaram no calculo da porcentagem, tempo médio, velocidade e índice de velocidade de germinação (%G, TMG, VG e IVG), segundo fórmulas descritas por Maguire (1962).

$\%G = (N/100) \times 100$ , em que: N = número de sementes germinadas ao final do teste.

$TMG = (\sum n_i t_i) / \sum n_i$ , onde:  $n_i$  = número de sementes germinadas por dia;  $t_i$  = tempo de incubação;  $i = 0$  a 30 dias.

$VG = (N_1 G_1 + N_2 G_2 + \dots + N_n G_n) / (G_1 + G_2 + \dots + G_n)$ , onde: VG é a velocidade de germinação em dias;  $G_1, G_2, G_n$  é o número de sementes germinadas na primeira contagem, segunda contagem e na última contagem;  $N_1, N_2, N_n$  é o número de dias da semeadura à primeira, segunda e última contagens.

$IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$ , onde: G1, G2, Gn = número de plântulas germinadas na primeira, segunda, até a última contagem e N1, N2, Nn = número de semanas desde a primeira, segunda, até a última contagem.

Para a análise dos dados foi aplicado o teste F. Na ocorrência de efeitos significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com 5% de significância.

### 3.2.2. Fotoperíodo

Após selecionada a temperatura que proporcionou melhor condição para a germinação da *D. insularis*, realizou-se um novo experimento em que avaliou a influência da duração da luz na germinação das sementes dessa espécie. As unidades experimentais foram constituídas de caixas “gerbox” transparentes, sendo que no tratamento com ausência de luz, as caixas foram envolvidas com papel alumínio.

Os tratamentos foram constituídos de oito períodos de luz (0, 6, 8, 10, 12, 14, 16 e 18 horas) para os dois biótipos em questão (R e S). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições, caracterizando um esquema fatorial 2X8, perfazendo o total de 16 tratamentos.

As leituras de germinação se deram através da contagem diária das sementes germinadas até os 30 dias após a semeadura, computando-se como germinadas àquelas com radícula maior ou igual a 2 mm (DURAN & TORTOSA, 1985).

Com os dados obtidos foram calculados a porcentagem, o tempo médio, a velocidade e o índice de velocidade da germinação (%G, TMG, VG e o IVG) das sementes dos dois biótipos, conforme proposto por Maguire (1962). Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

### 3.2.3. Estresse hídrico

Foram determinados os efeitos da disponibilidade de água (estresse simulado) por soluções de polietilenoglicol (PEG 6000) ajustadas para potenciais osmóticos de 0,0, -0,2, -0,4, -0,6, -0,8 e -1,0 MPa, conforme descrito por Villela et al. (1991).



As concentrações de PEG 6000, em gramas/litro de água desmineralizada, utilizadas para obter cada tratamento do efeito da disponibilidade de água a 30°C foram: 0,0 (0,0 MPa), 127,780 (-0,2 MPa), 188,168 (-0,4 MPa), 234,637 (-0,6 MPa), 273,858 (-0,8 MPa), 308,434 (-1,0 MPa).

Todos os tratamentos foram arranjados no delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições, em esquema fatorial 6x2 (6 potenciais osmóticos e 2 biótipos). As parcelas experimentais corresponderam às caixas Gerbox, com papel de filtro autoclavado (substrato) contendo 100 sementes de *D. insularis* (R) e (S). As caixas foram acondicionadas em CDG com fotoperíodo e temperatura ajustados de acordo com os ensaios anteriores.

As avaliações foram realizadas diariamente até os 30 dias após a semeadura, com a contabilização de sementes germinadas, considerando-se como germinadas as plântulas que apresentavam radículas maiores ou iguais a 2 mm (DURAN & TORTOSA, 1985).

A obtenção dos dados de contagem diária de germinação permitiu-se os cálculos da porcentagem, tempo médio, velocidade e o índice de velocidade da germinação (%G, TMG, VG e o IVG), conforme descrito por Maguire (1962).

Para a análise dos dados foi aplicado a análise de variância pelo teste F. Na ocorrência de efeitos significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com 5% de significância.

#### **3.2.4. Profundidade de semeadura**

Para a avaliação do efeito da profundidade de semeadura sobre a emergência de *D. insularis* foram utilizadas unidades experimentais constituídas de vasos plásticos com capacidade para 2 litros de solo mantidos em área externa, anexa ao laboratório de plantas daninhas.

As profundidades de semeadura estudadas para cada biótipo foram: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10 e 15 cm. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições, caracterizando esquema fatorial 2 x 9, perfazendo 18 tratamentos. O desenvolvimento do experimento foi realizado com a semeadura das sementes em substrato latossolo:areia, na proporção 3:1 v/v, com classe textural argilosa, conforme análise granulométrica: 428 g/Kg de argila; 91

g/Kg de silte; 350 g/Kg de areia. Além disso, o solo apresentava  $18 \text{ g/dm}^3$  de matéria orgânica e  $\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$  5,2.

Para cada profundidade foram depositadas 50 sementes de cada biótipo de *D. insularis* por vaso, os quais foram irrigados diariamente de modo a oferecer condições adequadas de umidade para a germinação e emergência das plântulas.

As avaliações foram constituídas de contagem de plântulas emergidas realizadas com um intervalo de dois dias, até 30 dias após a semeadura (DAS). Os dados obtidos foram submetidos ao cálculo da porcentagem de emergência, tempo médio de emergência e índice de velocidade de emergência (IVE), segundo fórmulas descritas por Maguire (1962). Além disso, foram obtidas a frequência de emergência para cada profundidade.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### 3.3. Crescimento e fenologia

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária da Unesp, câmpus de Jaboticabal, SP. Para tanto, foram utilizados vasos plásticos com capacidade para 5 litros preenchidos com substrato na proporção 3:1 v/v (latossolo:areia) cujo pH em  $\text{Ca Cl}_2$  foi 5,5, além de apresentar  $15 \text{ g.dm}^{-3}$  de matéria orgânica e 42,7 de soma de bases. Foi realizada adubação prévia, onde se administrou a cada vaso o equivalente a  $300 \text{ kg ha}^{-1}$  de N,P,K na proporção 4:14:8. A irrigação foi realizada diariamente, mantendo-se o solo úmido.

Cada unidade experimental foi constituída de uma planta, sendo os tratamentos compostos por épocas de coletas das plantas, realizadas em intervalos regulares de sete dias a partir dos 30 dias após a semeadura (DAS) até aos 79 dias após a semeadura, totalizando 8 tratamentos.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 5 repetições, sendo as posições dos vasos alternadas semanalmente.

As plantas ainda foram acompanhadas e caracterizadas quanto ao estágio fenológico (Bleiholder et al., 1991), sendo caracterizado o estágio quando 50% +1 das plantas se apresentavam determinada característica de desenvolvimento.

Também foi determinada, em cada tratamento, a área foliar por meio do medidor de área (modelo LI 3100, LiCor Instruments). Em seguida, a massa seca da parte aérea e da raiz foram obtidas após secagem em estufa com ventilação forçada a 70°C, até massa constante.

Com base nos resultados de área foliar e massa seca acumulada, foram determinadas: taxa de crescimento relativo (TCR), Taxa de crescimento absoluto (TCA), taxa de assimilação líquida (TAL), razão de área foliar (RAF), seguindo fórmulas sugeridas por Benincasa (2003):

**TCR =  $(\ln P_n - \ln P_{n-1}) / (T_n - T_{n-1})$** , em que  $\ln P_n$  é o logaritmo neperiano da biomassa seca acumulada até a avaliação  $n$ ;  $\ln P_{n-1}$  é o logaritmo neperiano da biomassa seca acumulada até a avaliação  $n-1$ ;  $T_n$  é o número de dias após a emergência por ocasião da avaliação  $n$ ; e  $T_{n-1}$  é o número de dias após a emergência por ocasião da avaliação  $n-1$ .

**TAL =  $[(P_n - P_{n-1}) / (T_n - T_{n-1})] \cdot [(\ln A_n - \ln A_{n-1}) / (A_n - A_{n-1})]$** , em que  $A_n$  é a área foliar da planta por ocasião da avaliação  $n$ ; e  $A_{n-1}$  é a área foliar da planta por ocasião da avaliação  $n-1$ .

**RAF =  $A_n / P_n$** , em que  $A_n$  é área foliar da planta por ocasião da avaliação e  $P_n$  é a biomassa seca acumulada até avaliação  $n$

**RPF =  $P_{fn} / P_n$** , em que  $P_{fn}$  é a biomassa secadas folhas por ocasião da avaliação  $n$  e  $P_n$  é a biomassa seca acumulada até a avaliação  $n$ .

As variáveis quantitativas relacionadas com o crescimento da planta foram analisadas estatisticamente com a aplicação do teste F sobre a análise da variância seguido da aplicação de regressões não-lineares do tipo logística, com o objetivo de modelar os dados sob a forma de equações. O modelo logístico adotado foi adaptado por Streibig (1988).

A curva de taxa de crescimento absoluto do biótipo resistente foi melhor ajustada ao modelo não-linear do tipo Lognormal:  $y = a + b \cdot \exp\{-0,5 \cdot [\ln(x/c)/d]^2\}$ , em que  $y$  é a variável de interesse;  $x$ , o número de dias acumulados; e  $a$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $d$ , parâmetros estimados da equação.

### 3.4. Taxa de polimorfismo

Foi coletado 0,1g de folhas frescas de plantas jovens (4 a 5 folhas expandidas) dos dois biótipos, que foi macerado em nitrogênio líquido com a ajuda de um almofariz e um pistilo de porcelana para a extração imediata do DNA. Em seguida, foi adicionado 1 ml de tampão de extração (20 mM EDTA; 100 mM Tris-HCl (pH 8,0); 1,4 M NaCl e 2% (v/v) de CTAB) e 0,2% de  $\beta$ -mercaptoetanol. A mistura foi agitada e transferida para um tubo de microcentrífuga de 2 ml.

Foram adicionados 10 mg de PVP (polyvinylpirrolidone - Sigma) e o tubo foi invertido suavemente por várias vezes para misturar bem o material e depois incubado a 60°C por 25 min e esfriado a temperatura ambiente. Foi adicionado 1ml de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1), agitando-se levemente os tubos, e em seguida centrifugado a 10.621 x g por 15 min à temperatura ambiente.

O sobrenadante (20 mL) foi transferido para um novo tubo ao qual foi adicionado 0,5 volumes de NaCl 5M e 1,0 volume de etanol 95% gelado (-20°C). A solução foi armazenada a -80°C por 20 min, para total precipitação do DNA, e depois centrifugada a 4.460 x g por 5 min e, em seguida, a 10.621 x g por mais 5 min a 4°C para formação do “pellet” (precipitado). O sobrenadante foi descartado e o “pellet” limpo, lavado com etanol 75% gelado (4°C), reagindo aproximadamente por 1 min e, em seguida, centrifugado a 10.621 x g por 5 min a 4°C. Após descartar o etanol, o “pellet” de DNA foi seco e ressuspenso com 50  $\mu$ l de tampão TE 10:1 (Tris 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0), tratado com 10  $\mu$ l de RNase à concentração de 10 mg/ml e incubado a 37°C por 30 min. As amostras de DNA foram estocadas a -20°C.

A análise da qualidade das amostras de DNA extraído foi feita por eletroforese em gel de agarose a 0,8%, utilizando-se o tampão de corrida TBE 1X (Tris 89 mM, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 89 mM, EDTA 2,5 mM, pH 8,2), com brometo de etídio (0,5 gg/ml). Os fragmentos de DNA genômico foram visualizados sob luz UV e documentados em fotodocumentador modelo Gel Doc 2000 (Bio Rad). Para comparação do tamanho das bandas foi usado o padrão de tamanho molecular conhecido “1kb DNA Ladder” (Fermentas).

O DNA plasmidial foi quantificado em espectrofotômetro NanoDrop 2000c, mensurando a absorvância nos comprimentos de onda de 260 e 280 nm, sendo a relação 260/280 nm calculada segundo Sambrook e Russel (2001), para se

determinar a qualidade e a leitura a 260 nm para se calcular a concentração das amostras de DNA.

Para estimar a concentração do DNA total obtido utilizou-se o padrão de que uma unidade de absorvância a 260 nm equivale a 50 ug de DNA por ml de solução (SAMBROOK et al.,1989). A concentração final deixada como solução de trabalho para as análises moleculares foi de 10 ug/gl.

A determinação da distância genética entre os dois biótipos foi realizada com a utilização do marcador molecular ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) e , para tanto, foram selecionados 25 *primers* (Tabela 1).

**Tabela 1.** Sequência de nucleotídeos e temperatura utilizada na amplificação de cada primer.

Primers (UBC)	Sequência	T°C	Primers (UBC)	Sequência	T°C
807	AGA GAG AGA GT	55	842	AGA GAG AGA AYG	55
808	AGA GAG AGA GC	54	843	CTC TCT CTC TRA	55
809	AGA GAG AGA GG	54	855	ACA CAC ACA CYT	55
811	GAG AGA GAG AC	54	856	ACA CAC ACA CYA	54
816	CAC ACA CAC AT	55	857	ACA CAC ACA CYG	55
818	CAC ACA CAC AG	54	861	ACC ACC ACC ACC	55
823	TCT CTC TCT CC	55	864	ATG ATG ATG ATG	54
825	ACA CAC ACA CT	55	884	HBH AGA GAG AG	55
826	ACA CAC ACA CC	55	885	BHB GAG AGA GA	55
827	ACA CAC ACA CG	55	886	VDV CTC TCT CT	55
836	AGA GAG AGA GYA	55	887	DVD TCT CTC TC	55
840	GAG AGA GAG AYT	54	888	BDB CAC ACA CA	55
841	AGA GAG AGA AYC	55			

As seqüências foram alinhadas com auxílio do programa CP ATLAS<sup>®</sup> e submetidas a análise de distância genética com o auxílio do programa PAUP 4.0b10<sup>®</sup>.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

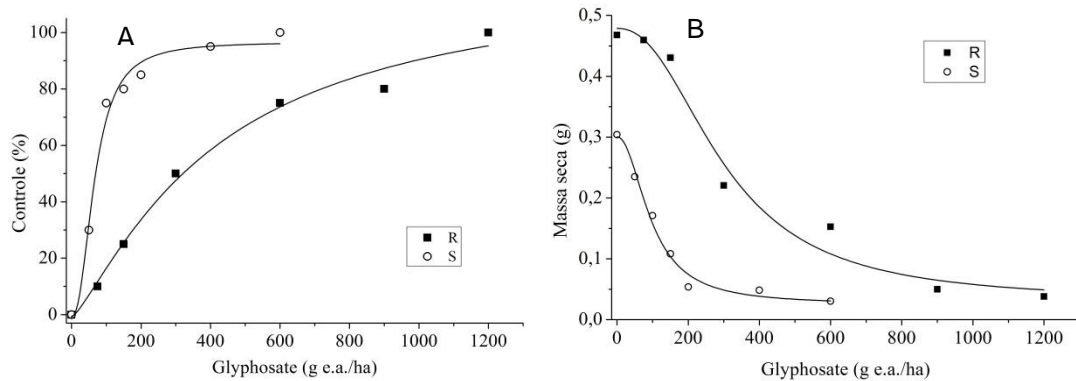
### 4.1. Detecção da resistência de *Digitaria insularis* ao glyphosate

A Figura 1 e as tabelas 2 e 3 mostram as curvas de dose-resposta ajustadas para os dois biótipos de capim-amargoso submetidos ao glyphosate. Observa-se diferença significativa entre os dois biótipos ( $p < 0,01$ ), confirmando a maior tolerância ao glyphosate do biótipo coletado no município de Matão – SP, conforme também constatado por Carvalho et al., 2011 ao realizar curva dose-resposta e acúmulo de ácido chiquímico com o mesmo biótipo.

As curvas de dose-resposta evidenciam que os dados foram ajustados de forma adequada ao modelo logístico proposto, uma vez que todos os valores dos coeficientes de correlação das curvas  $R^2$  foram superiores a 90% e todas as equações tiveram seus parâmetros de ajustes (a, b e c) significativos estatisticamente pelo teste T (Tabela 2 e 3).

Verifica-se nas Figuras 1A e 1B que já na dose de 150 g e.a./ha de glyphosate, ocorreu controle de 75% das plantas do biótipo suscetível e redução de cerca de 65% da sua matéria seca, quando apresentavam de 2 a 4 folhas expandidas. Em contrapartida, o biótipo resistente foi 80% controlado apenas quando se utilizou a dose de 900 g e.a./ha, e a sua matéria seca nessa mesma dose foi semelhante a matéria seca do suscetível submetido á dose de 200 g e.a./ha.

O  $EC_{50}$ , ou seja, a dose capaz de controlar ou reduzir a massa de 50% das plantas de *D.insularis* com 2-4 folhas, do suscetível foi de 78,5 g e.a./ha para nota de controle e 96,7 g e.a./ha, para o acúmulo de matéria seca; já o resistente apresentou  $EC_{50}$  de 416,6 g e.a./ha e 301,7 g e.a./ha, respectivamente.



**Figura 1.** Porcentagem de controle (A) e matéria seca (B) da *D. insularis* (2 a 4 folhas) resistente (R) e suscetível (S), submetidas á doses justadas de glyphosate.

**Tabela 2.** Parâmetros da equação logística usada para calcular a dose de glyphosate requerida para controlar 50% das plantas de *D. insularis*.

Biótipos <sup>a</sup>	a	b/EC <sub>50</sub> <sup>b</sup>	C	R <sup>2c</sup>	FR <sup>d</sup>
R	-0,944	416,6	1,255	0,980**	5,31
S	-0,127	78,5	0,930	0,982**	1,00

<sup>a</sup>S indica biótipo susceptível e R, biótipo resistente ao glyphosate.

<sup>b</sup>EC<sub>50</sub> representa a concentração ou dose de glyphosate que inibe em 50% o acúmulo de matéria seca.

<sup>c</sup>Coefficiente de determinação da curva e \*\* indica a significância de ajuste do modelo de regressão a 1% de probabilidade pelo teste F.

<sup>d</sup> FR é o fator de resistência expresso pela relação entre EC<sub>50</sub>(R) / EC<sub>50</sub>(S).

**Tabela 3.** Parâmetros da equação logística usada para calcular a dose de glyphosate requerida para reduzir em 50% o acúmulo de matéria seca por planta de *D. insularis*.

Biótipos <sup>a</sup>	a	b/EC <sub>50</sub> <sup>b</sup>	c	R <sup>2c</sup>	FR <sup>d</sup>
R	0,03028	301,7	2,271	0,959**	3,12
S	0,02489	96,7	2,085	0,975**	1,00

<sup>a</sup>S indica biótipo susceptível e R, biótipo resistente ao glyphosate.

<sup>b</sup>EC<sub>50</sub> representa a concentração ou dose de glyphosate que inibe em 50% o acúmulo de matéria seca.

<sup>c</sup>Coefficiente de determinação da curva e \*\* indica a significância de ajuste do modelo de regressão a 1% de probabilidade pelo teste F.

<sup>d</sup> FR é o fator de resistência expresso pela relação entre EC<sub>50</sub>(R) / EC<sub>50</sub>(S).

O fator de resistência (FR) corresponde à divisão do EC<sub>50</sub> do biótipo de suscetibilidade desconhecida com o biótipo suscetível (Christoffoleti et al., 2008). A

resistência é confirmada quando o fator  $R/S > 1,0$  (SAARI et al., 1994), mas valores de  $R/S$  menores de 2.0 com certeza representam variabilidade natural de suscetibilidade da população e não caracteriza resistência. Dessa forma, observa-se todos os valores FR foram acima de 2, podendo então classificar a população coletada em Matão (R) como resistente ao glyphosate.

Além de Carvalho et al, (2011), a detecção de um biótipo resistente ao glyphosate no município de Matão também foi observado por outros autores: Nicolai et al. (2010), Correia et al. (2010) e Melo (2011).

## **4.2.Fatores que afetam a germinação e emergência dos dois biótipos de *Digitaria insularis* (resistente e suscetível)**

### **4.2.1. Temperaturas**

A aplicação do teste F na análise da variância indicou a interação fatorial nas diferentes condições de luz (presença e ausência) e das temperaturas constantes para os dois biótipos de *D. insularis*, (Tabelas 4 a 5.5).

Em um exame mais amplo, nota-se que as temperaturas que possibilitaram as maiores taxas de germinação da *D. insularis*, em presença de luz, foram 20, 25 e 30°C, enquanto que na ausência da luz a faixa térmica ótima decresceu, apresentando maiores valores as temperaturas de 25 e 30°C. Assim, verifica-se nas duas condições (presença e ausência de luz) que o biótipo resistente obteve maior porcentagem de germinação que o suscetível ao aglyphosate e, para ambos os biótipos não foi verificada germinação quando submetidos à temperatura de 5°C, sendo que na ausência da luz tal fato se estendeu para os 10°C e 40°C.

As Tabelas 4.1 e 5.1 mostram o desdobramento da interação entre biótipos e temperaturas, nas condições de presença e ausência de luz, respectivamente. Observa-se de um modo geral, que para as duas condições o biótipo resistente apresentou maiores taxas de germinação em relação ao suscetível, sendo que na presença de luz, as maiores porcentagens para o biótipo resistente ocorreram nas temperaturas de 15, 20, 25 e 30°C não havendo diferença significativa entre si, já o biótipo suscetível apresentou maior porcentagem de germinação quando submetido á temperatura de 30°C. Entretanto, na condição de



ausência de luz, os dois biótipos apresentaram as maiores taxas de germinação nas temperaturas de 25 e 30°C.

Além disso, observa-se na Tabela 1.2 e 1.3 que em presença de luz, as sementes de *D. insularis* resistente e suscetível ao herbicida apresentaram menores tempo médio de germinação (TMG) aos 30 e 35°C e maiores velocidades de germinação (VG) aos 30°C. Ainda, ao analisar o efeito de cada temperatura no TMG dos biótipos, verifica-se que quando submetidas a 15, 20, 25 e 40°C as sementes do biótipo resistente apresentaram valores menores que as sementes do biótipo suscetível, sendo maior TMG aos 10°C, enquanto nas temperaturas de 30 e 35°C não houve diferença entre os biótipos.

Registra-se na Tabela 5.2 situação semelhante quando as sementes foram submetidas à ausência de luz, sendo as temperaturas de 30 e 35°C as que proporcionaram menores TMG para o biótipo suscetível e 25, 30 e 35°C para o resistente. Além disso, o biótipo resistente obteve menores TMG, em relação ao biótipo suscetível, em todas as temperaturas analisadas, entretanto não apresentaram diferença significativa quando submetidos à 30 e 35°C. Com relação a VG, também nota-se maiores valores em todas as temperaturas para o biótipo resistente, sendo que à 15°C não houve diferença significativa entre os biótipos.

As temperaturas que proporcionaram maiores VG foram de 25 e 30°C para o biótipo resistente e 30°C para o biótipo suscetível.

Observa-se no índice de velocidade de germinação (IVG), na Tabela 4.4, que na presença de luz o biótipo resistente apresenta maiores valores que o suscetível em todas as temperaturas, porém nas temperaturas de 10, 35 e 40°C eles não se diferenciam significativamente entre si. Ainda, a temperatura que proporcionou maiores valores do IVG foi de 30°C para ambos os biótipos.

Na ausência da luz (Tabela 5.4), verificam-se maiores valores do IVG para o biótipo resistente em todas as temperaturas, com exceção de 15°C que não apresentou diferença entre os biótipos, além disso, observa-se que as temperaturas de 25 e 30°C proporcionaram maiores IVG, entre todas as temperaturas avaliadas, para o biótipo resistente e 30°C para o suscetível.

**Tabela 4.** Análise de variância para porcentagem de germinação (%G), tempo médio de germinação (TMG), velocidade de germinação (VG) e índice da velocidade de germinação (IVG) de *D. insularis* resistente e suscetível ao glyphosate submetidas a diferentes temperaturas, na presença de luz.

	%G <sup>1</sup>	TMG <sup>1</sup>	VG <sup>1</sup>	IVG <sup>1</sup>
Biótipos (B)				
R	51,3 A	7,1 A	14 A	97,8 A
S	40,5 B	7,2 A	9,5 B	66,5 B
Temperaturas - °C (T)				
5	0 E	-	-	-
10	12,4 D	14,8 A	0,3 D	1,9 D
15	68,3 B	8,7 B	8,8 C	61,1 C
20	71,1 AB	7,7 C	10,7 C	76,4 C
25	72,6 AB	6,8 D	17,0 B	116,3 B
30	79,5 A	3,1 E	26,7 A	186,7 A
35	50,8 C	3,1 E	16,7 B	117,2 B
40	12,1 D	6,1 D	2,2 D	15,7 D
F (B)	183,237**	1,734 <sup>NS</sup>	90,484**	90,529**
F (T)	259,132**	1941,416**	167,546**	167,7**
F (BXT)	23,428**	82,529**	12,096**	12,104**
CV (%)	12,83	6,43	12,09	12,61

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade e, <sup>NS</sup> Não significativo pelo teste "F".

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 4.1.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e temperaturas (T) para a variável porcentagem de germinação (%G).

%G <sup>1</sup>	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
R	0Ad	12,5 Ac	80,3 Aa	86,3 Aa	88,3 Aa	85,3 Aa	47,3 Ab	10,3 Acd
S	0Ad	12,3 Acd	56,3 Bb	56,0 Bb	57,0 Bb	73,8 Ba	54,5 Ab	14,0 Ac

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 4.2.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e temperaturas (T) para a variável tempo médio de germinação (TMG).

TMG <sup>1</sup>	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
R	-	18,4 Aa	7,6 Bb	7,0 Bb	5,3 Bc	3,1 Ad	2,8 Ad	5,5 Bc
S	-	11,3 Ba	9,8 Ab	8,5 Ac	8,2 Ac	3,2 Ae	3,3 Ae	6,7 Ad

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 4.3.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e temperaturas (T) para a variável velocidade de germinação (VG).

VG <sup>1</sup>	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
R	-	0,4 Ae	10,9 Ad	14,1 Acd	20,9 Ab	31,5 Aa	17,9 Abc	2,1 Ae
S	-	0,1 Ae	6,8 Bcd	7,2 Bcd	13,0 Bc	21,8 Ba	15,6 Ab	2,4 Bde

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 4.4.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e temperaturas (T) para a variável índice de velocidade de germinação (IVG).

IVG <sup>1</sup>	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
R	-	3,1 Ae	76,1 Ad	99,0 Acd	146,4 Ab	220,5 Aa	125,2 Abc	14,9 Ae
S	-	0,7 Ae	46,1 Bcd	53,7 Bcd	86,3 Bc	152,9 Ba	109,2 Ab	16,5 Ade

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 5.** Análise de variância para porcentagem de germinação (%G), tempo médio de germinação (TMG), velocidade de germinação (VG) e indexada velocidade de germinação (IVG) de *D. insularis* resistente e suscetível ao glyphosate submetidas a diferentes temperaturas, na ausência de luz.

	%G <sup>1</sup>	TMG <sup>1</sup>	VG <sup>1</sup>	IVG <sup>1</sup>
Biótipos (B)				
R	43,0 A	7,5 B	13,6 A	95,5 A
S	37,9 B	8,8 A	9,8 B	68,7 B
Temperaturas - °C (T)				
5	0,0 D	-	-	-
10	0,0D	-	-	-
15	60,8 B	10,2 A	7,4 C	52,0 C
20	61,3 B	10,1 A	8,3 C	58,4 C
25	70,7 AB	7,8 B	14,1 B	98,7 B
30	74,8 A	6,0 C	16,9 A	118,6 A
35	56,3 C	6,6 C	11,8 B	82,8 B
40	0,0 D	-	-	-
F (B)	12,681*	39,567**	39,552**	39,56**
F (T)	215,877**	588,66**	158,992**	158,975**
F (BXT)	2,865*	7,877**	4,846**	4,852**
CV (%)	13,99	8,85	17,93	17,94

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade e, <sup>NS</sup> Não significativo pelo teste "F".

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 5.1.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e temperaturas (T) para a variável porcentagem de germinação (%G).

%G <sup>1</sup>	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
R	0 Ac	0 Ac	66 Ab	67,3 Ab	71,3 Aab	83 Aa	56,7 Abc	0 Ac
S	0 Ac	0 Ac	55,7 Bb	55,3 Bb	70 Aa	66,7 Bab	56 Ab	0 Ac

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 5.2.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e temperaturas (T) para a variável tempo médio de germinação (TMG).

TMG <sup>1</sup>	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
R	-	-	9,7 Ba	9,4 Ba	6,3 Bb	5,9 Ab	6,2 Ab	-
S	-	-	10,8 Aa	10,8 Aa	9,3 Ab	6,2 Ac	6,9 Ac	-

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 5.3.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e temperaturas (T) para a variável velocidade de germinação (VG).

VG <sup>1</sup>	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
R	-	-	8,4 Ac	9,6 Ac	17,3 Aa	19,1 Aa	13,8 Ab	-
S	-	-	6,5 Ac	7,1 Bc	10,9 Bb	14,8 Ba	9,9 Bbc	-

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 5.4.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e temperaturas (T) para a variável índice de velocidade de germinação (IVG).

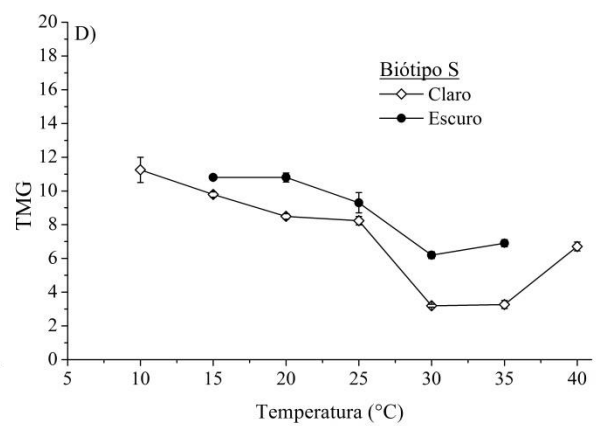
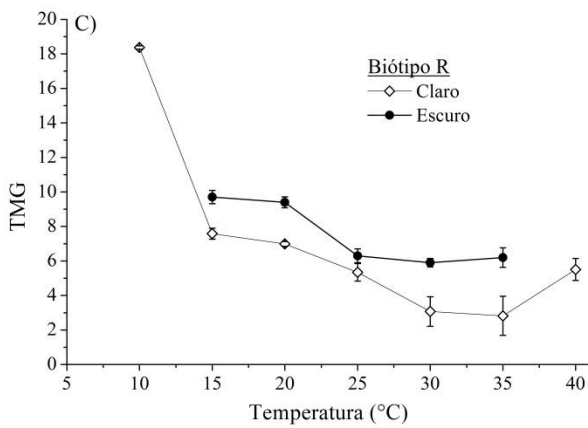
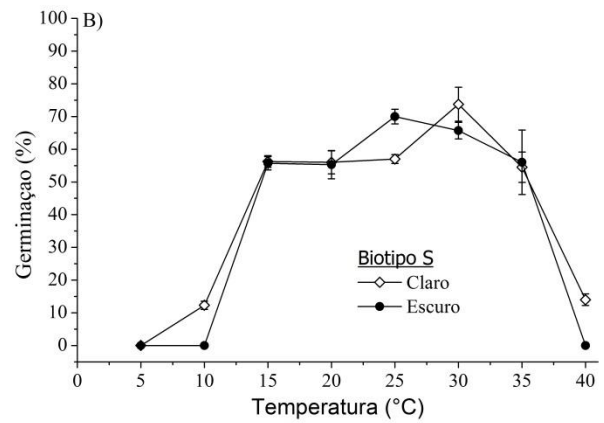
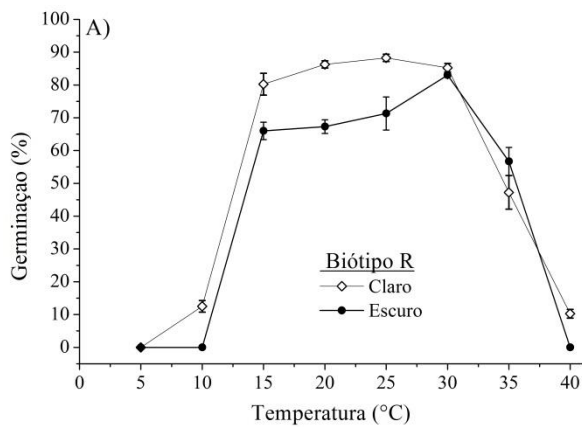
IVG <sup>1</sup>	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
R	-	-	58,9 Ac	67,3 Ac	121,0 Aa	133,6 Aa	96,6 Ab	-
S	-	-	45,2 Ac	49,5 Bc	76,5 Bb	103,5 Ba	69,0 Bbc	-

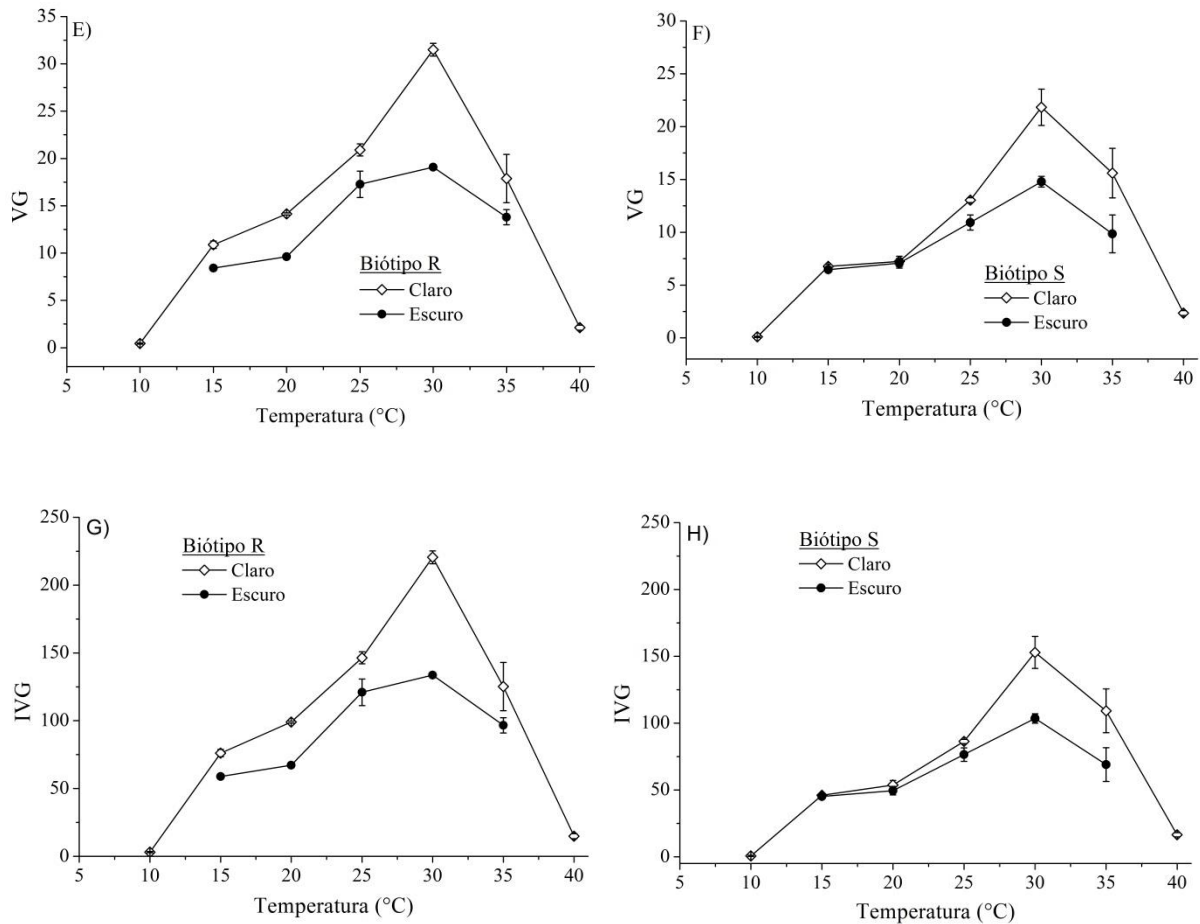
<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

Sendo assim, pode-se afirmar que a temperatura ótima para a germinação das sementes de *D. insularis*, independentemente da sua suscetibilidade ao glyphosate, ficou entre 25°C e 30°C por proporcionar, de um modo geral, menor tempo médio de germinação e maiores taxas, velocidade e índice de velocidade de germinação, tanto para as sementes submetidas a 12 horas de luz, quanto na ausência dela. Tal fato contrapõe o observado por Pyon (1975) ao afirmar que sob condições de temperaturas constantes entre 20 e 30°C a germinação das sementes de capim-amargoso depende da presença de luz.

Apesar de os biótipos apresentarem, de um modo geral, maiores %G, VG e IVG e menores TMG quando em presença de luz, verifica-se na Figura 2 que tais

também apresentaram boas condições de germinação na ausência de luz, sendo que em algumas situações seus valores foram maiores que em presença de luz. Sendo assim, as sementes de ambos os biótipos podem ser classificadas como fotobláticas neutras, de acordo com Mayer e Poljakoff Mayber (1989); Vázquez-Yanes e Orozco-Segovia (1993), por não dependerem da luz para germinarem.





**Figura 2.** Comparativo das condições de presença e ausência de luz (claro e escuro) para o biótipo resistente (R) e suscetível (S) em diferentes temperaturas das variáveis %G (A e B), TMG (C e D), VG (E e F) e IVG (G e H).

A necessidade da variação de temperatura durante a germinação está associada com a dormência de sementes; no entanto, também, existem relatos em que podem acelerar o processo de germinação de sementes não-dormentes (COPELAND E MCDONALD, 2001).

Para tanto, observa-se nas Tabelas 6 e 7 a análise de variância da porcentagem de germinação (%G), tempo médio de germinação (TMG), velocidade de germinação (VG) e o índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes dos dois biótipos submetidas a diferentes temperaturas, alternando-as ao fotoperíodo (claro/escuro). Verifica-se também a interação entre os fatores para todas as variáveis analisadas nas duas condições propostas (presença e ausência de luz).

No desdobramento da interação dos fatores para a %G (Tabelas 6.1 e 7.1) nota-se que o biótipo resistente apresentou maiores taxas de germinação em relação ao suscetível em todas as temperaturas em que foram submetidos, tanto na presença quanto na ausência de luz. Ainda, é possível observar que a variável térmica, 20-30°C proporcionou melhores condições de germinação para o biótipo R nas duas condições de luminosidade, sendo que na presença da luz, não houve diferença significativa da variação 15-25°C. Em contrapartida, o biótipo S apresentou maiores taxas de germinação nas temperaturas 15-25°, 20-30°C e 25-35°C, não se diferenciando significativamente entre si. Na ausência de luz, o biótipo S apresentou maior porcentagem de germinação na temperatura 20-30°C.

Verifica-se nas Tabelas 6.2, 6.3 e 6.4 que na presença de luz a temperatura de 20-30°C proporcionou melhores condições de germinação para o biótipo R. Além da maior %G, ela proporcionou maiores VG e IVG, ainda ofereceu, juntamente com a temperatura de 25-35°C, os menores TMG. No caso do biótipo S, as condições ótimas de germinação na presença de luz, se deram pelas temperaturas 20-30°C e 25-35°C.

Quando submetidas á ausência de luz, a temperatura ótima para a germinação dos dois biótipos foi 20-30°C. Nela, os biótipos apresentaram maiores %G, VG, IVG e menores TMG.



**Tabela 6.** Análise de variância para porcentagem de germinação (%G), tempo médio de germinação (TMG), velocidade de germinação (VG) e índice da velocidade de germinação (IVG) de *D. insularis* resistente e suscetível ao glyphosate submetidas á variações temperaturas, na presença de 12 horas de luz.

	%G <sup>1</sup>	TMG <sup>1</sup>	VG <sup>1</sup>	IVG <sup>1</sup>
Biótipos (B)				
R	66,0 A	5,8 A	11,6 A	81,9 B
S	56,3 B	5,8 A	11,0 A	81,9 A
Alternância de temperaturas - °C (A)				
10-20°C	56,9 B	6,8 A	8,8 C	64,4 C
15-25°C	66,4 A	6,7 A	10,7 B	77,8 B
20-30°C	71,0 A	4,9 B	14,3 A	102,9 A
25-35°C	58,5 B	4,4 B	13,3 A	96,4 A
15-35°C	53,0 B	6,4 A	9,3 BC	67,9 BC
F (B)	47,12**	1,141 <sup>NS</sup>	20,05**	20,056**
F (A)	21,741**	41,761**	38,369**	38,409**
F (BXA)	4,333*	5,848*	7,445**	7,453**
CV (%)	8,7	7	10,86	10,86

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade e, <sup>NS</sup> Não significativo pelo teste "F".

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Mondo et al. (2010) ao estudar o efeito da variação de temperatura e luz na germinação de quatro espécie de *Digitaria*, verificaram que as temperaturas 20-30°C, 20-35°C e 15-35°C resultaram em maiores porcentagens e velocidades de germinação da *D. insularis* em presença de luz, já na ausência de luz as boas condições se restringiu ás 20-35°C e 15-35°C. Neste experimento, tanto na presença quanto na ausência de luz e independentemente da tolerância ao glyphosate, a temperatura ótima para a germinação da *D. insularis* foi 20-30°C. Entretanto, os dados apresentados na Figura 3 mostram que, a presença de luz proporcionou melhores condições para a germinação de ambos os biótipos, mesmo em alguns casos esta situação ter se invertido, como no caso das temperaturas de 20-30°C e 15-35°C para o biótipo S.

Assim, tais resultados confirmam a característica de fotoblastismo neutra das sementes de *D. insularis* R e S.

**Tabela 6.1.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e alternância de temperaturas (A) para a variável porcentagem de germinação (%G).

%G <sup>1</sup>	10-20°C	15-25°C	20-30°C	25-35°C	15-35°C
R	65,3 Abc	70,3 Aab	77,3 Aa	58,3 Ac	59,0 Ac
S	48,5 Bb	62,5 Ba	64,8 Ba	58,8 Aa	47,1 Bb

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 6.2.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e alternância de temperaturas (A) para a variável tempo médio de germinação (TMG).

TMG <sup>1</sup>	10-20°C	15-25°C	20-30°C	25-35°C	15-35°C
R	6,4 Ba	6,3 Ba	4,9 Ab	4,6 Ab	6,8 Aa
S	7,2 Aa	7,2 Aa	4,9 Ac	4,1 Ac	6,0 Bb

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 6.3.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e alternância de temperaturas (A) para a variável velocidade de germinação (VG).

VG <sup>1</sup>	10-20°C	15-25°C	20-30°C	25-35°C	15-35°C
R	9,2 Ac	11,3 Abc	14,7 Aa	13,0 Bb	9,3 Ac
S	8,4 Ac	10,0 Ab	13,8 Aa	13,8 Aa	9,2 Abc

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 6.4.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e alternância de temperaturas (A) para a variável índice de velocidade de germinação (%G).

IVG <sup>1</sup>	10-20°C	15-25°C	20-30°C	25-35°C	15-35°C
R	67,3 Ac	80,2 Abc	106,7 Aa	88,9 Bb	66,3 Ac
S	61,5 Ac	75,3 Ab	99,1 Aa	103,8 Aa	69,6 Abc

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 7.** Análise de variância para porcentagem de germinação (%G), tempo médio de germinação (TMG), velocidade de germinação (VG) e índice da velocidade de germinação (IVG) de *D. insularis* resistente e suscetível ao glyphosate submetidas á variações temperaturas, na ausência de luz.

	%G <sup>1</sup>	TMG <sup>1</sup>	VG <sup>1</sup>	IVG <sup>1</sup>
Biótipos (B)				
R	60,7 A	6,3 B	9,3 A	83,3 A
S	53,5 B	8,0 A	6,9 B	64,3 B
Alternância de temperaturas - °C (A)				
10-20°C	31,0 C	13,3 A	2,6 D	18,4 D
15-25°C	51,0 B	9,2 B	5,8 C	68,5 C
20-30°C	72,0 A	3,3 E	12,2 A	104,5 A
25-35°C	57,5 B	4,7 D	10,0 B	87,5 B
15-35°C	54,0 B	5,4 C	9,9 B	90,1 B
F (B)	19,307**	170,841**	6,63*	6,66*
F (A)	83,944**	1256,48**	256,674**	256,64**
F (BXA)	17,359**	113,73**	13,422**	13,421**
CV (%)	7,79	3,91	8,47	8,47

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade e, <sup>NS</sup> Não significativo pelo teste "F".

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 7.1.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e alternância de temperatura (T) para a variável porcentagem de germinação (%G).

%G <sup>1</sup>	10-20°C	15-25°C	20-30°C	25-35°C	15-35°C
R	44,0 Ac	50,0 Abc	72,3 Aa	59,0 Ab	54,0 Abc
S	18,0 Bc	52,0 Ab	71,6 Aa	56,0 Ab	54,0 Ab

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 7.2.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e alternância de temperaturas (A) para a variável índice de tempo médio de germinação (TMG).

TMG <sup>1</sup>	10-20°C	15-25°C	20-30°C	25-35°C	15-35°C
R	11,5 Ba	7,0 Bb	2,9 Bd	5,1 Ac	5,2 Ac
S	15,1 Aa	11,4 Ab	3,7 Ae	4,4 Bd	5,5 Ac

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 7.3.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e Alternância de temperaturas (A) para a variável velocidade de germinação (VG).

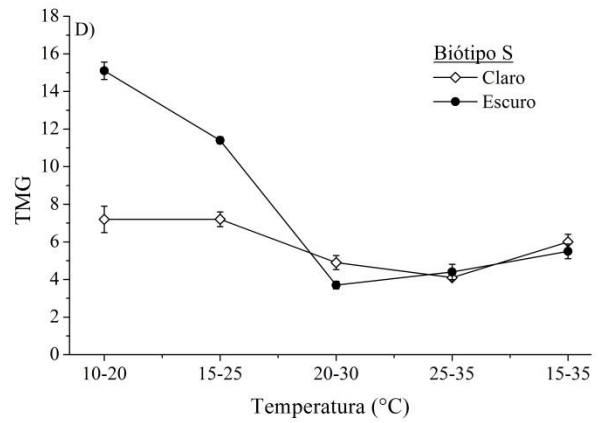
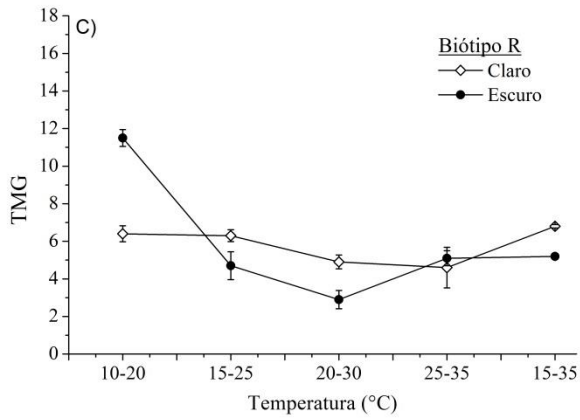
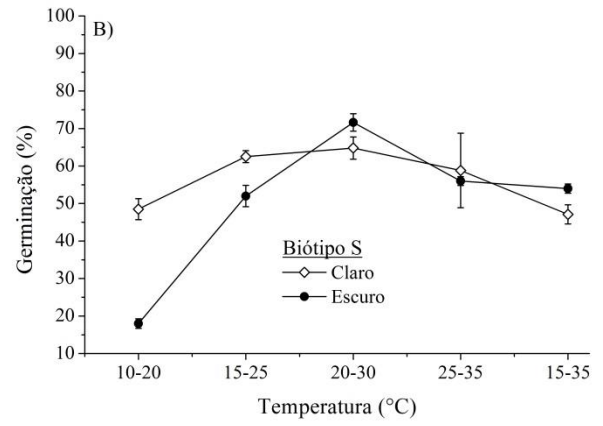
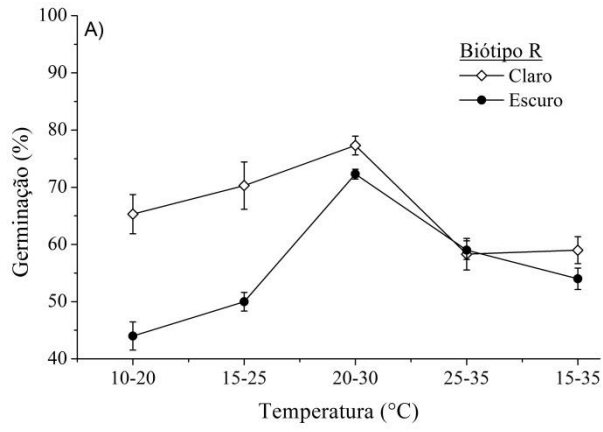
VG <sup>1</sup>	10-20°C	15-25°C	20-30°C	25-35°C	15-35°C
R	4,3 Ad	8,5 Ac	13,0 Aa	10,3 Ab	10,3 Ab
S	1,0 Bd	3,0 Bc	11,3 Aa	9,7 Ab	9,4 Ab

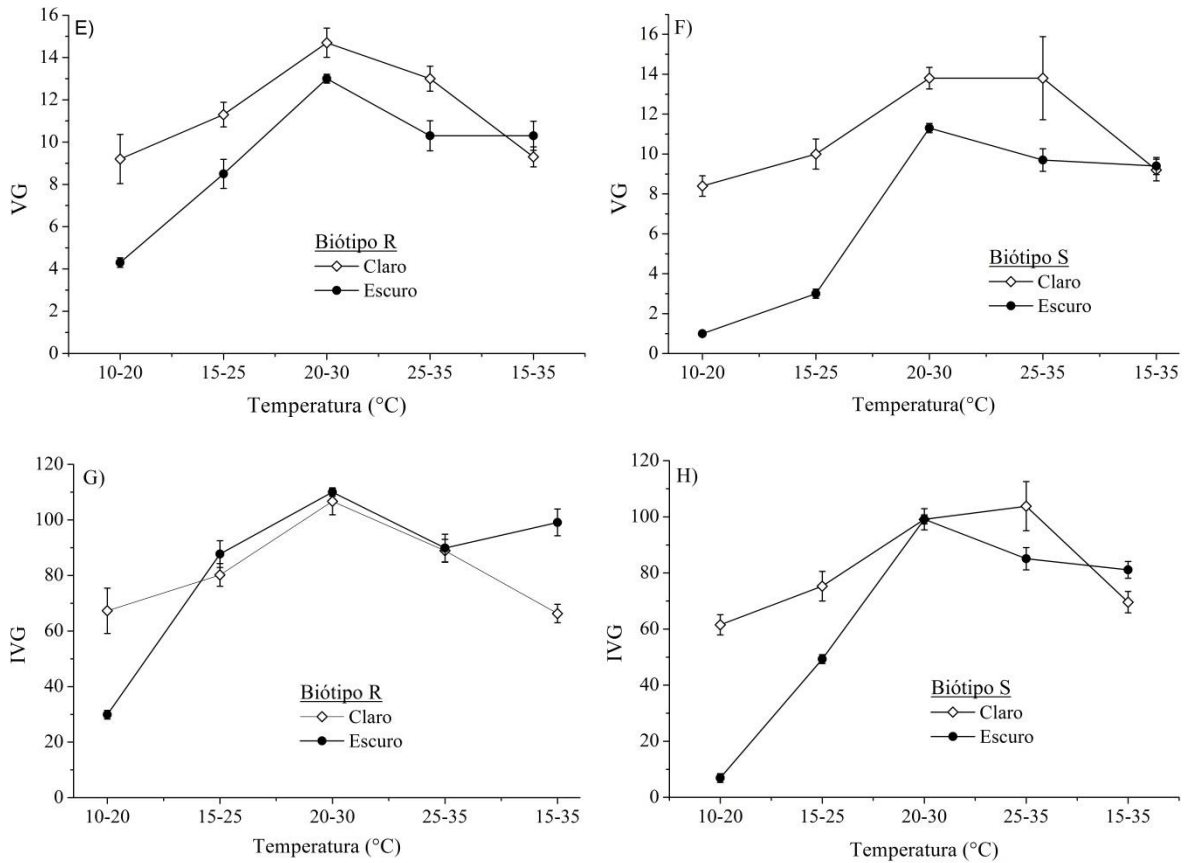
<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

**Tabela 7.4.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e alternância de temperaturas (A) para a variável índice de velocidade de germinação (IVG).

IVG <sup>1</sup>	10-20°C	15-25°C	20-30°C	25-35°C	15-35°C
R	29,9 Ad	87,7 Ac	110,0 Aa	89,9 Ac	99,1 Ab
S	6,9 Bd	49,3 Bc	99,1 Aa	85,1 Ab	81,1 Bb

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.





**Figura 3.** %G (A e B), TMG (C e D), VG (E e F) e IVG (G e H) entre as condições de presença e ausência de luz para os biótipos R e S submetidos a alternância de temperaturas.

#### 4.2.2. Fotoperíodo

A análise de variância realizada para %G, TMG, VG e IVG dos dois biótipos de capim-amargoso submetidas a diferentes fotoperíodos, encontra-se na Tabela 8. Em uma análise independente de cada fator, ao comparar os acessos (A), observa-se que não houve diferença significativa na %G entre eles, no entanto pode-se verificar que o biótipo resistente apresentou menor TMG e maiores VG e IVG que o biótipo suscetível, com diferença significativa entre eles.

Já, em uma análise do fator H (horas de luz), observa-se que os períodos de 10 e 12 horas de luz proporcionaram maiores %G do capim-amargoso, apesar de não ter apresentado diferença significativa dos tratamentos de 8 e 14 horas de luz. Portanto, a faixa fotoperiódica que ofereceu melhores condições de germinação ficou entre 10 e 12 horas de luz, por apresentarem os maiores valores de %G, VG e IVG e menores TMG. Este fato mostra que o capim-amargoso possui alto potencial

germinativo em uma faixa grande de fotoperíodo, podendo então apresentar altas taxas de germinação em diversos períodos do ano.

Mesmo apresentando germinação significativamente inferior aos tratamentos de 10 e 12 horas de luz, a ausência de luz promoveu a germinação de quase 70% das sementes de ambos os biótipos, fato que confere bom potencial germinativo independente da luz. A não necessidade de luz para germinar também foi observada por Mondo et al., (2010) em análise da germinação de quatro espécies do gênero *Digitaria* submetidas a temperaturas alternadas em presença e ausência de luz

Ainda, os altos valores se estenderam para VG e IVG, onde os fotoperíodos de 8, 10, 12 e 14 horas apresentaram maiores valores. Enquanto que, no caso do TMG a faixa que foi de 6 a 16 horas de luz proporcionou menores valores, indicando a baixa influência do fotoperíodo na germinação das sementes de *D. insularis* e explicando a sua ampla distribuição geográfica.

As Tabelas 8.1 e 8.2 exaram o desdobramento da interação entre os fatores (A) e (H) para VG e IVG, respectivamente. Constatou-se que houve influência dos fotoperíodos na germinação dos biótipos de capim-amargoso, sendo que para o biótipo resistente as maiores VG e IVG ocorreram nos tratamentos que ofereceram de 6 a 12 horas de luz, já para o biótipo suscetível foi de 0 a 16 horas de luz, sem apresentarem diferença significativa entre si. Ainda, nota-se que para todos os fotoperíodos analisados, a velocidade de germinação e o índice de volcidade de germinação do biótipo resistente foram iguais ou superiores ao do biótipo suscetível.

**Tabela 8.** Análise de variância para porcentagem de germinação (%G), tempo médio de germinação (TMG), velocidade de germinação (VG) e índice da velocidade de germinação (IVG) de *D. insularis* resistente e suscetível ao glyphosate submetidas a diferentes fotoperíodos.

	%G <sup>1</sup>	TMG <sup>1</sup>	VG <sup>1</sup>	IVG <sup>1</sup>
Biótipos (B)				
R	73 A	4,0 B	25,6 A	175,8 A
S	69,7 A	5,8 A	17,1 B	124,1 B
Horas luz (H)				
0	69,5 B	5,6 AB	17,1 B	119,3 B
6	69,9 B	4,0 B	26,3 A	184,2 A
8	74,1 AB	4,1 B	25,3 A	177,0 A
10	84,6 A	4,7 B	25,5 A	178,1 A
12	86,9 A	3,7 B	29,6 A	207,2 A
14	73,3 AB	5,1 B	20,1 B	140,6 B
16	67,9 B	4,3 B	20,0 B	139,8 B
18	44,6 C	7,8 A	7,6 C	53,4 C
F (B)	1,95 <sup>NS</sup>	23,758**	83,53 **	83,36**
F (H)	15,332**	6,386**	36,56 **	36,53**
F (BxH)	1,21 <sup>NS</sup>	0,785 <sup>NS</sup>	11,87 **	11,84**
CV (%)	13,04	19,99	15,12	15,12

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade e, <sup>NS</sup> Não significativo pelo teste "F".

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 8.1.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e Horas luz (H) para a variável velocidade de germinação (VG).

VG <sup>1</sup>	0	6	8	10	12	14	16	18
R	18,8 Ac	30,3 Aab	33,9 Aa	32,2 Aa	36,7 Aa	24,6 Abc	21,3 Ac	8,2 Ad
S	15,3 Aab	22,4 Ba	16,7 Ba	18,7 Ba	22,5 Ba	15,6 Ba	18,7 Aa	7,0 Ab

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.



**Tabela 8.2.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e horas luz (H) para a variável índice de velocidade de germinação (IVG)

IVG <sup>1</sup>	0	6	8	10	12	14	16	18
R	116,9 Ad	211,9 Aab	237,3 Aa	225,5 Aa	256,6 Aa	171,8 Abc	149,0 Ac	57,6 Ad
S	121,8 Aa	156,5 Ba	116,6 Ba	130,7 Ba	157,8 Ba	109,4 Ba	130,6 Ba	49,3 Ab

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

#### 4.2.3. Estresse hídrico

Ao submeter as sementes dos biótipos de capim-amargoso à diferentes concentrações de polietilenoglicol (PEG), como medida para simular a influência do estresse hídrico sobre a germinação desta espécie, observa-se de um modo geral que o biótipo R obteve maior taxa de germinação que o S, sendo que conforme aumentou-se a concentração do PEG, diminuiu a germinação (Tabela 9). Seguindo a mesma tendência, verifica-se o aumento da VG e do IVG e diminuição do TMG conforme diminuiu a concentração do PEG.

A Tabela 9.1 expressa o desdobramento da interação entre os biótipos e a concentração de PEG, para a porcentagem de germinação dos biótipos. Observa-se que a única concentração que proporcionou diferença significativa entre os biótipos foi a -0,2 MPa, em que a germinação do biótipo R foi de quase 50% enquanto a do S, 22,5%, ou seja, nesta concentração a germinação do biótipo R caiu 23,5% enquanto que a do biótipo S, 66% demonstrando a maior sensibilidade do biótipo S ao estresse hídrico. Resultados semelhantes foi encontrado por Pereira et al., (2012) que verificaram redução de 40,2% na germinação de *Urochloa decumbens* e 23,7% para *Urochloa ruziziensis* em PEG -0,2 MPa quando comparados a testemunha.

Bansal et al. (1980) explicam que a restrição hídrica pode reduzir a velocidade de germinação (IVG) e a porcentagem de germinação à medida que o potencial osmótico se torna menor, pois reduz a velocidade dos processos metabólicos e bioquímicos, o que atrasa ou inibe a germinação das sementes e interfere na embebição e no alongamento celular do embrião.

Ainda, nota-se que para ambos os biótipos a taxa de germinação foi decrescente conforme aumentou a concentração de PEG, tendo em vista que o biótipo R germinou até a concentração de -0,8 MPa, enquanto o S, até -0,4 MPa.

**Tabela 9.** Análise de variância para porcentagem de germinação (%G), tempo médio de germinação (TMG), velocidade de germinação (VG) e índice da velocidade de germinação (IVG) de *D. insularis* resistente e suscetível ao glyphosate submetidas a diferentes concentrações de PEG.

	%G <sup>1</sup>	TMG <sup>1</sup>	VG <sup>1</sup>	IVG <sup>1</sup>
Biótipos (B)				
R	20,5 A	7,9 A	2,2 A	15,64 A
S	16,25 B	7,4 A	2,1 A	14,79 B
Concentração PEG (P)				
0,0	65,1 A	4,1 C	8,9 A	60,15 A
0,2	35,6 B	4,5 C	3,8 B	26,87 B
0,4	8,0 C	6,8 C	0,9 C	4,06 C
0,6	0,75 D	10,5 B	0,02 C	0,15 C
0,8	0,38 D	20 A	0,00625 C	0,043 C
1	0 D	-	-	-
F (B)	11,276**	1,198 <sup>NS</sup>	0,46 <sup>NS</sup>	0,454**
F (P)	295,44**	118,88**	246,10**	246,34**
F (BXP)	12,33**	2,023 <sup>NS</sup>	1,875 <sup>NS</sup>	1,885 <sup>NS</sup>
CV (%)	23,86	23,63	28,86	28,84

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade e, <sup>NS</sup> Não significativo pelo teste "F".

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 9.1.** Desdobramento da interação entre os fatores biótipos (B) e concentração PEG (P) para a variável porcentagem de germinação (%G).

%G <sup>1</sup>	0,0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
R	63,8 Aa	48,8 Ab	8,5 Ac	1,5 Ac	0,75 Ac	0,0 Ac
S	66,5 Aa	22,5 Bb	7,5 Ac	0,0 Ac	0 Ac	0,0 Ac

<sup>1</sup>médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, sendo que as letras maiúsculas comparam os efeitos das temperaturas dentro de cada biótipo e as letras minúsculas comparam os efeitos dos biótipos dentro de cada temperatura.

A sobrevivência de espécies consideradas daninhas como pode ser vistas a espécie em estudo dependendo da situação, pode estar relacionada a não germinação de sementes em condições desfavoráveis do ambiente, pode ter significado ecológico, pois previne o desenvolvimento de plântulas em solos sem os recursos suficientes para suportar o crescimento subsequente (BUHLER et al., 1995; VIDAL & BAUMAN, 1996). Espécies cujas sementes não têm esse mecanismo de controle poderiam germinar todas ao mesmo tempo, após curto período de umedecimento do solo, comprometendo o desenvolvimento dos indivíduos formados

e das futuras gerações (VAN DEN BERG ZENG, 2006; SILVA et al., 2009; PEREIRA et al., 2012).

Contudo, fica caracterizado a maior capacidade do biótipo R de germinar em condições de estresse hídrico quando comparado ao biótipo S, conferindo ainda mais cuidado no manejo desta espécie, principalmente em áreas que apresentam histórico de resistência.

#### 4.2.4. Profundidade de semeadura

As análises de variância para as variáveis porcentagem de emergência (% E), velocidade de emergência (VE) e índice de velocidade de emergência (IVE), estão resumidas na Tabela 10.

Ao se comparar a emergência dos dois biótipos (R e S), observa-se maior %E, VE e IVE das sementes da *D. insularis* resistentes ao glyphosate. Da mesma forma, verifica-se que em todas as variáveis analisadas, ou seja, %E, VE e IVE, foram maiores quando as sementes estavam dispostas nas profundidades de 0, 1, 2, 3 e 4 cm, não havendo diferenças significativas entre si. Martins et al. (2009) verificaram que a porcentagem de germinação e a velocidade de germinação de *D. insularis* foram maiores nas profundidades de 1 a 3 cm.

A Figura 4 mostra que a partir da profundidade de 7 cm as plântulas do capim-amargoso suscetível não emergiram, enquanto para as do biótipo resistente isto aconteceu a partir da profundidade de 10 cm.

Da mesma forma Barbosa et al. (1991) verificaram que os níveis mais altos de porcentagem e índices de velocidade de emergência de plântulas do gênero *Digitaria* encontraram-se na superfície e a 2 cm de profundidade, assim como observado por Souza et al. (2009) em experimento avaliando a emergência de plântulas de picão-preto. Os autores verificaram ainda que, de uma maneira geral, os valores de porcentagens e os índices de velocidade de emergência diminuem estatisticamente à medida que se aumenta a profundidade de semeadura.

**Tabela 10.** Análise de variância para porcentagem de emergência (% E), velocidade de emergência (VE) e índice de velocidade de emergência (IVE) de plântulas de *D. insularis* resistente e suscetível, em diferentes profundidades de semeadura.

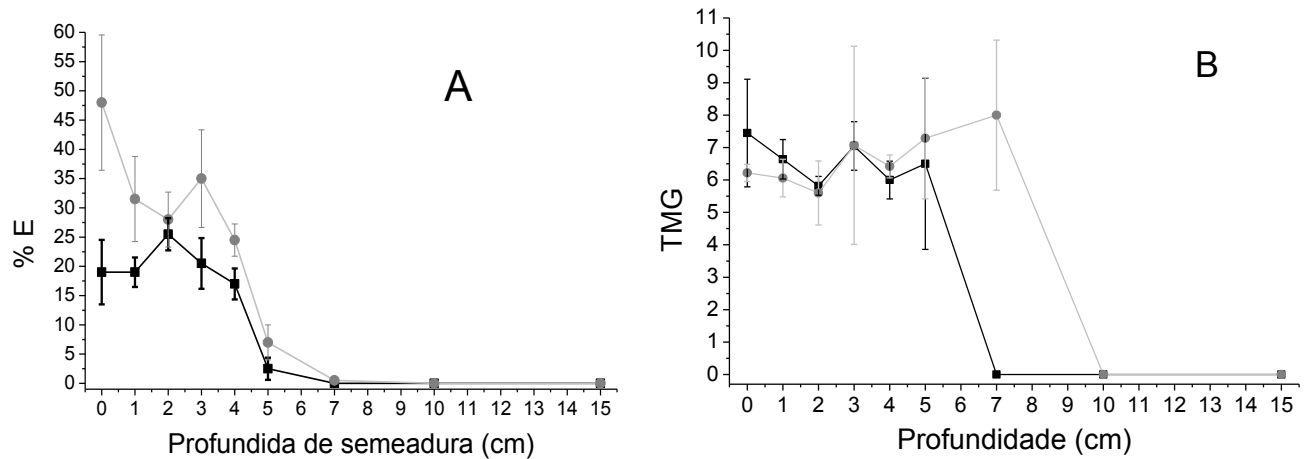
		% E <sup>1</sup>	VE <sup>1</sup>	IVE <sup>1</sup>
Biótipos	R	3,70 A	1,37 A	6,48 A
	S	2,89 B	1,14 B	4,91 B
Profundidades (cm)	0	5,51 A	1,79 A	9,90 A
	1	4,97 A	1,60 A	8,91 A
	2	5,18 A	1,76 A	9,71 A
	3	5,17 A	1,61 A	8,95 A
	4	4,56 A	1,50 A	8,16 A
	5	2,02 B	0,90 B	3,30 B
	7	0,82 B	0,72 B	0,92 B
	10	0,71 B	0,71 B	0,71 B
	15	0,71 B	0,71 B	0,71 B
F <sub>biótipos</sub>		14,38**	14,3**	14,54**
F <sub>profundide</sub>		45,39**	28,78**	45,78**
F <sub>biótipoXprofundidade</sub>		1,62 <sup>NS</sup>	2,1 <sup>NS</sup>	1,8 <sup>NS</sup>
DMS		0,43	0,12	0,82
CV (%)		27,62	20,27	30,6

<sup>1</sup>Dados transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ .

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste "F".

Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O tempo médio de emergência foi semelhante para os dois biótipos. A profundidade de 2 cm proporcionou menor tempo de emergência, em contrapartida as plântulas do biótipo suscetível apresentaram o maior tempo quando suas sementes foram dispostas na superfície (0 cm) e as do biótipo resistente, na profundidade de 7 cm (Figura 4B). Contudo, de um modo geral, o tempo médio de emergência dos dois biótipos, ficou entre 6 e 7 dias, sendo que a curva do biótipo resistente apresentou tendência de aumento do tempo de emergência conforme aumentou a profundidade de semeadura. Isto caracteriza a maior facilidade de proliferação do biótipo resistente quando comparado com o suscetível.

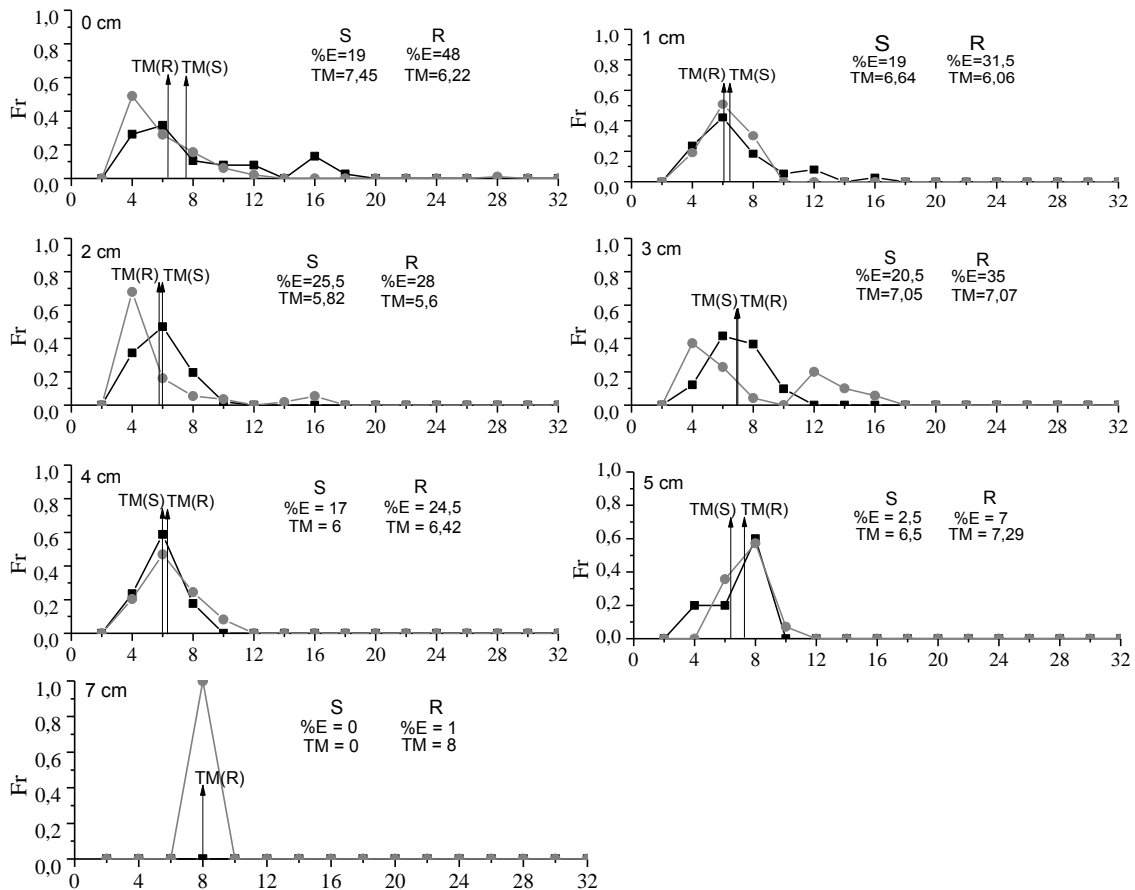


**Figura 4.** Porcentagem de emergência (A) e tempo médio de emergência (B) de plântulas de *D. insularis* resistente (—●—) e suscetível (—■—) em diferentes profundidades de semeadura.

A frequência relativa de emergência dos biótipos de *D. insularis* está representada na Figura 5. De um modo geral, observa-se que a frequência relativa de emergência dos biótipos aconteceu antes dos 20 dias, nas profundidades menores (até 3 cm). A partir de 4 cm de profundidade a frequência de emergência ocorreu nos primeiros 12 dias.

De 0 a 4 cm de profundidade, a maior frequência relativa de emergência das plântulas de capim-amargoso suscetível ocorreu no 6º dia após a semeadura, enquanto em 5 cm de profundidade, a maior frequência aconteceu no 8º dia, evidenciando a dificuldade na emergência conforme se aumenta a profundidade de semeadura. Já para as plântulas de *D. insularis* resistente, as maiores frequências de emergência ocorreram no 4º dia nas profundidades 0, 2 e 3 cm, no 6º dia nas profundidades de 1 e 4 cm e no 8º dia nas profundidades de 5 e 7 cm.

Não foi observada emergência dos dois biótipos nas maiores profundidades de semeadura.



**Figura 5.** Frequência relativa de emergência (Fr) para *D. insularis* suscetível (—■—) e resistente (—●—) nas profundidades de semeadura de 0,1, 2, 3, 4, 5 e 7 cm.

Sendo assim, observa-se que as menores profundidades de semeadura proporcionaram melhores condições de emergência para os dois biótipos, ainda que o biótipo resistente tenha apresentado maior tendência de proliferação, devido a maior taxa de emergência em menor tempo e nas menores profundidades de semeadura.

#### 4.2.5. Crescimento e fenologia

A Tabela 11 mostra a diferença, em dias, entre o biótipo resistente e o suscetível ao glyphosate em relação aos estádios fenológicos. Durante todo o experimento, independentemente das diferenças apresentadas entre os biótipos quanto ao seu desenvolvimento, ambos apresentaram o desenvolvimento rápido.

Verifica-se que o biótipo resistente apresentou desenvolvimento mais lento que o biótipo suscetível até os 34 dias após a semeadura (DAS), após esta data, início do perfilhamento, o acesso resistente passou a se desenvolver mais

rapidamente, atingindo os estádios reprodutivos primeiro, aos 70 DAS. Machado et al., (2006) também observou um rápido desenvolvimento, ao avaliar o crescimento das plantas de *D. insularis*, sendo estas atingindo o período reprodutivo entre 63 e 70 DAS.

Aos 34 DAS os dois acessos já se encontravam em início do perfilhamento, permanecendo sob pleno desenvolvimento vegetativo até o pré-florescimento (emborrachamento), aos 70 DAS para o resistente e 74 para o suscetível.

O início do florescimento ocorreu aos 74 DAS para o biótipo resistente e 78 DAS para o suscetível, quando as plantas emitiram os primeiros racemos florais. Já o florescimento pleno, caracterizado pela emissão do pendão floral e amadurecimento dos ramos, aconteceu aos 79 DAS para o acesso resistente. O acesso suscetível não atingiu o estágio de florescimento pleno até o término do experimento, aos 80 DAS. Tal resultado também foi observado por Melo (2011), ao analisar o crescimento de plantas de *D. insularis* o autor constatou que as plantas resistentes apresentaram desenvolvimento mais rápido que as suscetíveis ao glyphosado, chegando primeiro ao estágio de florescimento

**Tabela 11.** Comparação e caracterização dos estádios fenológicos da *D. insularis* resistente e suscetível ao glyphosate.

DAS R <sup>2</sup>	DAS S <sup>3</sup>	Estádios fenológicos
0	0	Semeadura
5	6	1 <sup>o</sup> folha verdadeira
10	9	2 folhas verdadeiras
15	14	3 folhas verdadeiras
22	21	4 folhas verdadeiras
31	29	5 folhas verdadeiras
34	34	5 folhas verdadeiras e início do perfilhamento
38	39	5 folhas verdadeiras (CP <sup>1</sup> ) e 2 perfilhos
44	48	5 folhas verdadeiras (CP <sup>1</sup> ) e 3 perfilhos
58	60	6 folhas verdadeiras (CP <sup>1</sup> ) e 3 perfilhos
65	66	7 folhas verdadeiras (CP <sup>1</sup> ) e 3 perfilhos
70	74	8 folhas verdadeiras (CP <sup>1</sup> ), 3 perfilhos; Emborrachamento
74	78	8 folhas verdadeiras (CP <sup>1</sup> ), 3 perfilhos; Início do florescimento
79	>80	8 folhas verdadeiras (CP <sup>1</sup> ), 3 perfilhos; florescimento pleno

<sup>1</sup>CP = colmo principal

<sup>2</sup>DAS R = Dias Após a Semeadura do biótipo Resistente

<sup>3</sup>DAS S = Dias Após a Semeadura do biótipo Suscetível

Apesar da pequena diferença entre os dois biótipos, o desenvolvimento inicial um pouco mais lento do biótipo resistente, em relação ao suscetível, pode ser uma estratégia evolutiva, uma vez que a demora pode garantir a melhor formação das suas estruturas morfofisiológicas, implicando em desenvolvimento vegetativo vigoroso, garantindo assim a frutificação antecipada.

As Figuras 6 e 7 fornecem maiores subsídios para a caracterização do desenvolvimento dos dois acessos.

Verifica-se na Figura 9a que as plantas do biótipo resistente apresentaram maior acúmulo inicial de massa seca da parte aérea em relação ao biótipo suscetível, isto ocorreu da primeira avaliação destrutiva, aos 30 DAS, permanecendo até próximo aos 70 DAS, quando as plantas resistentes ao glyphosate atingiram o estágio de emborrachamento. Aspecto semelhante é observado nas curvas da massa seca da raiz e, conseqüentemente na massa seca total (Figuras 6b e 6c).

O biótipo suscetível apresentou MST de 5,7g aos 30 DAS e praticamente dobrou sua massa total em 21 dias ao apresentar 11,5g aos 51 DAS, já o biótipo resistente, que apresentou 4,7g aos 30 DAS quase dobrou o seu peso em apenas 7 dias, apresentando 8,9g aos 37 DAS, evidenciando assim o seu rápido desenvolvimento vegetativo quando comparado ao suscetível. Ao final dos 79 DAS o biótipo resistente apresentou massa de 23,9g e o suscetível, 27,5g, caracterizando uma desaceleração no desenvolvimento do biótipo resistente.

O acúmulo de massa seca de *D. insularis* foi descrito por Machado et al. (2006) que verificou o acúmulo de 30,66 g por planta (98 DAE), sendo superior quando comparado com outra gramínea como *B. plantaginea*, a qual apresentou 23,87 g por planta aos 143 DAE (CARVALHO et al., 2007).

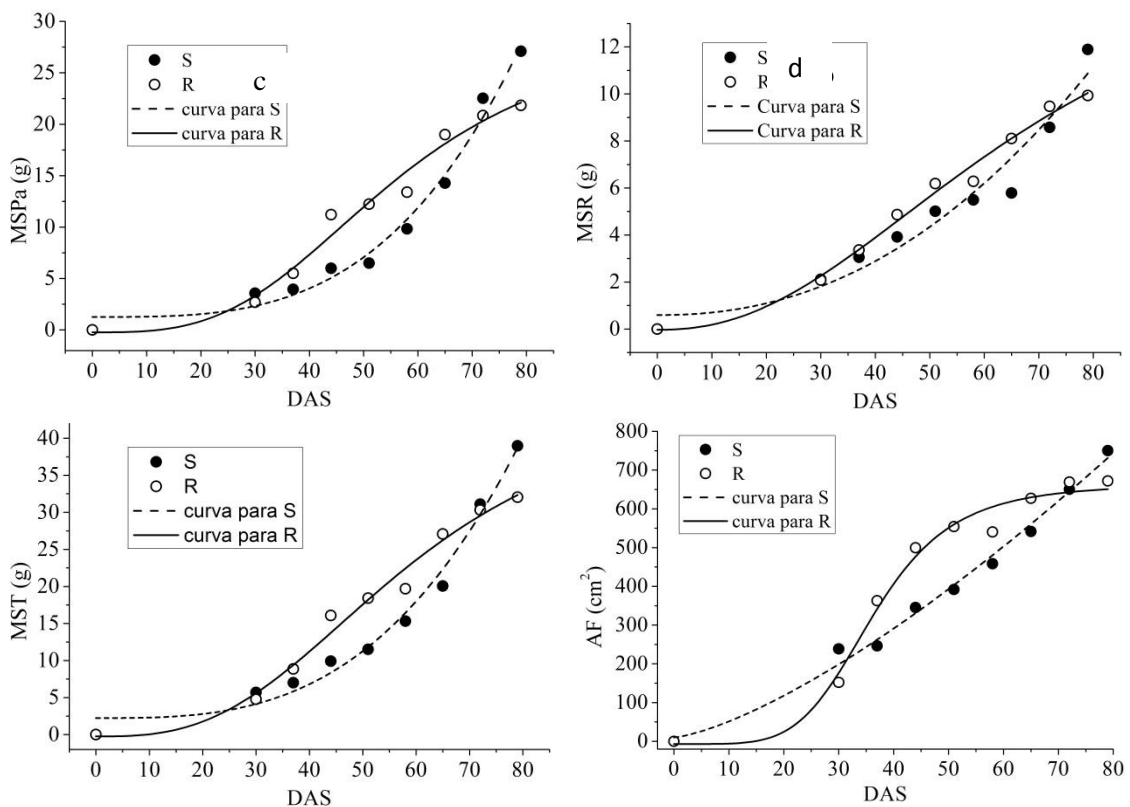
Pode-se verificar na Figura 9d que, além do rápido e constante incremento no índice de área foliar do biótipo resistente, este sofreu tendência de paralisação a partir dos 65 DAS, com tendência de perdurar por todo o período reprodutivo.

Sendo assim, verifica-se que o biótipo resistente apresentou o desenvolvimento, até o florescimento, mais rápido que o biótipo suscetível ao herbicida, o que pode influenciar a eficiência do glyphosate. Oliveira Jr & Inoue (2011) afirmaram que uma planta em desenvolvimento mais acelerado tem



desenvolvimento de tecidos meristemáticos secundários mais rapidamente, infere-se sobre o fato de que a translocação de herbicida fica dificultada mais rapidamente.

Ainda, Rodrigues & Almeida (2011) sugerem a adequação da dose recomendada de herbicida às plantas que possuem o desenvolvimento mais rápido, uma vez que a dose recomendada para o controle da *D. insularis* dos herbicidas com o ingrediente ativo glyphosate, é baseado em plantas suscetíveis, tal fato pode favorecer o escape dos biótipos mais tolerantes.



**Figura 6.** a-Matéria seca da parte aérea (MSPa), b-matéria seca da raiz (MSR), c-matéria seca total (MST) e d-área foliar (AF) por planta durante o ciclo do capim-amargoso (*D. insularis*).

**Tabela 12.** Parâmetros do modelo logístico para as avariáveis matéria seca da parte aérea (MSPa), matéria seca da raiz (MSR), matéria seca total (MST) e área foliar (AF) da *D. insularis*.

Parâmetros	MSPa		MSR		MST		AF	
	R <sup>a</sup>	S <sup>a</sup>	R	S	R	S	R	S
A	29,71	22583	17,59	83356	46,90	142575	664,11	825915
B	56,28	605,7	69,53	4695,2	59,57	1187,4	36,42	67117
C	-0,226	1,265	-0,032	0,596	-0,241	2,238	-6,973	10,22
R <sup>2b</sup>	0,967**	0,975**	0,984**	0,924**	0,976**	0,975**	0,975**	0,987**

<sup>a</sup>S indica biótipo susceptível e R, biótipo resistente ao glyphosate

<sup>b</sup>Coefficiente de determinação da curva e \*\* indica a significância de ajuste do modelo de regressão a 1% de probabilidade pelo teste F.

A Figura 7a exara a taxa assimilatória líquida (TAL) dos dois biótipos, a qual indicou tendência de redução na capacidade fotossintética ao longo do período para os dois biótipos, isto pode ter ocorrido devido ao auto-sobreamento das folhas, tal fato observado por Machado et.al (2006) ao verificar redução da TAL em plantas de *D. insularis* ao longo dos 112 dias.

Ao compararmos a TAL dos dois acessos, observa-se maiores valores para o acesso resistente até aos 65 DAS, sendo a TAL média total de 0,01085 g cm<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup> para o biótipo susceptível e 0,01706 g cm<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup> para o resistente. Tal fato é relacionado ao maior investimento de assimilados para a formação do aparato fotossintético do biótipo resistente, mostrando sua maior eficiência diante dos processos fotossintéticos, o que pode justificar o seu rápido desenvolvimento vegetativo e início do período reprodutivo antecipado em comparação ao acesso susceptível.

Em complementação a TAL, a razão de área foliar (RAF) foi decrescente para ambos os biótipos, ao longo do período analisado (Figura 7b). Os resultados obtidos indicam que ocorreu uma redução da área fotossintética útil para ambos os biótipos ao longo do período analisado, esta redução foi de 38,9 cm<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> para o susceptível e de 35,1 cm<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>, para o resistente. Ainda ao comparar os dois acessos, observa-se menores valores para o biótipo resistente até aos 65 DAS e, a partir dos 72 DAS esta situação se inverte, sobressaindo o susceptível, possivelmente pelo fato das plantas resistentes terem atingido o período reprodutivo, e portanto deslocado seus assimilados para a formação da inflorescência, enquanto o biótipo susceptível

encontra-se no final do período vegetativo, ou seja, ainda concentrando os fotoassimilados para a formação e desenvolvimento de folhas e perfilhos.

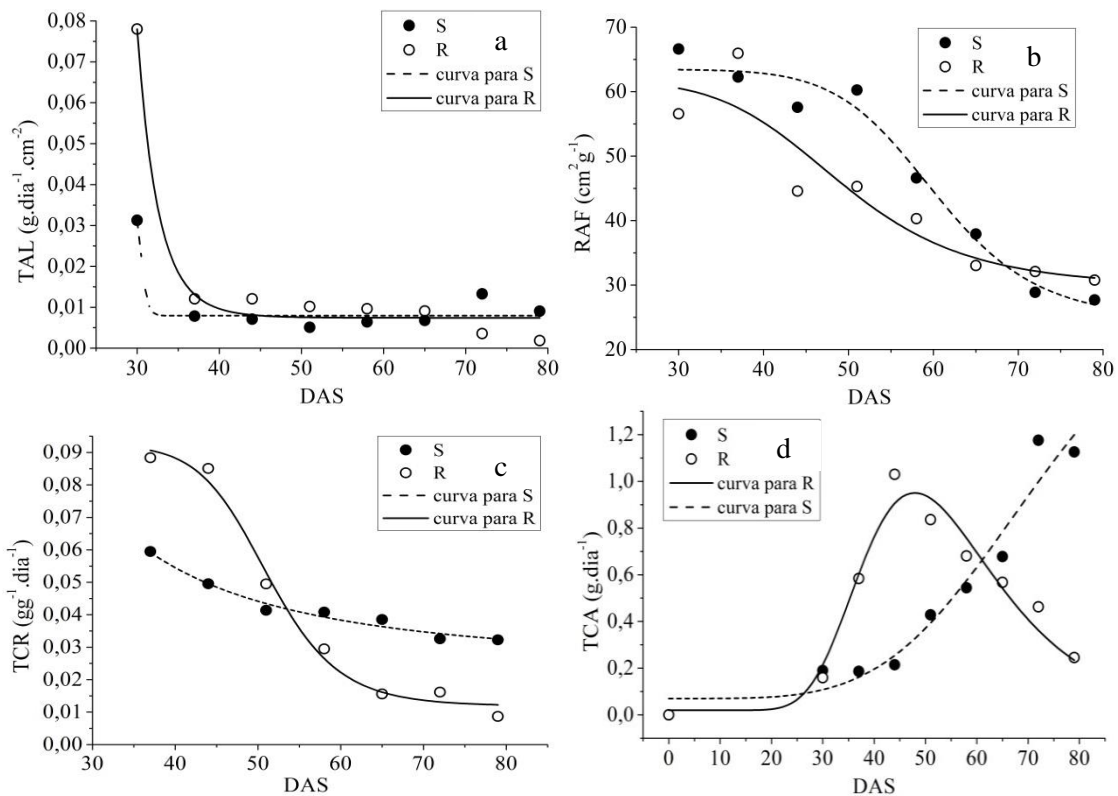
Assim como a massa seca acumulada pela planta, a RAF e a TAL podem ser correlacionadas com a capacidade competitiva das espécies daninhas (ROUSH & RADOSEVICH,1985). Para a RAF, quanto maior o seu valor, menor é a competitividade da espécie, ao passo que para a TAL o comportamento é oposto. É importante destacar que, em diferentes condições de desenvolvimento, ou em condições naturais, outros atributos das plantas e a interação entre fatores ecológicos (bióticos ou abióticos) podem influenciar a capacidade competitiva das espécies (ROUSH & RADOSEVICH,1985). Sendo assim, pode-se relatar o maior potencial competitivo apresentado pelo biótipo resistente, entretanto foram necessários novos estudos para esta comprovação.

Para atestar a comparação do desenvolvimento dos dois biótipos, tem-se a taxa de crescimento absoluto (TCA) que fornece uma estimativa da velocidade média de crescimento das plantas ao longo do ciclo de desenvolvimento, e a taxa de crescimento relativo (TCR) que exprime o aumento em gramas de matéria seca por unidade de material presente em um período de observação (AGUILERA et al., 2004)

Desta forma, observa-se no Figura 10c que a TCR foi decrescente para ambos os biótipos ao longo do período, fato que exprime o decréscimo no ritmo de produção de massa ao longo do tempo. Benincasa (2003) verificou que com o aumento da massa seca acumulada pelas plantas, ocorre a necessidade do aumento de fotoassimilados para a manutenção das estruturas já formadas; assim, a quantidade de fotoassimilados disponível para o crescimento tende a ser menor, e conseqüentemente a TCR é decrescente com o tempo.

Ao comparar a TCR dos dois biótipos, observa-se valores maiores para o resistente até aos 51 DAS dando-lhe a característica de crescimento inicial agressivo, a qual pode ser uma característica evolutiva desenvolvida por este biótipo para dominação do ambiente e perpetuação da espécie. Ainda, plantas daninhas com crescimento inicial rápido exigem que medidas de manejo sejam adotadas sobre plantas jovens para que os melhores resultados sejam obtidos, uma vez que o desenvolvimento da planta dificulta o controle (CAMPOS et.al, 2012).

Por fim, ao observar a taxa de crescimento absoluto (TCA) (Figura 7d), pode-se observar o rápido crescimento do biótipo resistente a partir dos 30 DAS atingindo o pico por volta dos 47 DAS, podendo associar a época de formação de perfilhos e folhas, com posterior decréscimo, caracterizando o modelo de parábola. Já o biótipo suscetível apresentou acúmulo de massa por dia mais lento, atingindo o ponto máximo por volta dos 74 DAS, época em que iniciou o seu período reprodutivo com o “emborrachamento”.



**Figura 7.** a-Taxa assimilatória líquida (TAL), b-razão de área foliar (RAF), c-taxa de crescimento relativo (TCR) e d-taxa de crescimento absoluto (TCA) referentes ao ciclo do capim amargoso (*D. insularis*).

**Tabela 13.** Parâmetros do modelo logístico para as avariáveis taxa assimilatória líquida (TAL), razão da área foliar (RAF), taxa de crescimento relativo (TCR) e taxa de crescimento absoluto (TCA) da *D. insularis*.

Parâmetros	TAL		RAF		TCR		TCA
	R <sup>a</sup>	S <sup>a</sup>	R	S	R	S	S
A	26,5628	0,03887	61,7164	63,4483	0,09222	3,9792	0,07028
B	18,316	30,4453	49,2291	60,3453	51,2230	2,88955	74,4384
C	0,00742	0,00794	29,7491	24,5102	0,01183	0,02372	2,071
R <sup>2b</sup>	0,969**	0,897**	0,870**	0,956**	0,981**	0,949**	0,927**

<sup>a</sup>S indica biótipo susceptível e R, biótipo resistente ao glyphosate

<sup>b</sup>Coefficiente de determinação da curva e \*\* indica a significância de ajuste do modelo de regressão a 1% de probabilidade pelo teste F.

**Tabela 13.1.** Parâmetros do modelo lognormal realizado para a taxa de crescimento absoluto (TCA) para o biótipo resistente de *D. insularis*.

Parâmetros	TCA
	R <sup>a</sup>
X	47,9
R <sup>2b</sup>	0,918**

<sup>a</sup>S indica biótipo susceptível e R, biótipo resistente ao glyphosate

<sup>b</sup>Coefficiente de determinação da curva e \*\* indica a significância de ajuste do modelo de regressão a 1% de probabilidade pelo teste F.

Assim, a análise conjunta das variáveis dos modelos logísticos (Tabelas 12, 13 e 13.1), principalmente quanto ao parâmetro b, revela que o biótipo resistente possui o ciclo vegetativo mais rápido que o biótipo suscetivo, além de ter sido o biótipo que atingiu primeiro 50 % das matérias secas, área foliar e o período máximo de taxa de crescimento absoluto.

### 4.3. Taxa de polimorfismo

A alta variabilidade genética das planta daninhas pode ser responsável pelas diferenças comportamentais entre populações da mesma espécie, aos mais diversos ambientes.

Para tanto, realizou-se análise da distancia genética dos acesos de *D. insularis*, o qual demonstra alta dissimilaridade genética. O padrão de bandas obtidos pela técnica ISSR permitiu identificar o total de 203 bandas em 25 oligonucleotideos, atingindo uma média de 8,12 bandas por primer. Ainda, 115 bandas do total, se apresentaram polimórficas (Tabela 14).

Desses, os nucleotídeos UBC 841 e 861 apresentaram maiores percentuais de bandas polimórficas, acima de 80%, em contrapartida os nucleotídeos UBC 826 e 840, os menores percentuais, abaixo de 30%. A Figura 8 mostra o perfil eletroforético de 2 primers o UBC 887 e UBC 857 destacando uma banda polimórfica e monomórfica em comparação aos dois biótipos.

**Tabela 14.** Variação genética detectada entre dois acessos de *D. insularis* por meio de 25 marcadores moleculares ISSR.

Primers (UBC)	Nº de bandas	Nº de bandas polimórficas	Polimorfismo (%)
807	13	9	69,2
808	14	11	78,6
809	7	4	57,1
811	7	5	71,4
816	8	4	50,0
818	4	2	50,0
823	4	3	75,0
825	9	5	55,6
826	7	2	28,5
827	6	2	33,3
836	15	10	66,7
840	8	2	25,0
841	11	9	81,8
842	7	3	42,9
843	8	2	25,0
855	10	5	50,0
856	8	5	62,5
857	9	7	77,8
861	7	6	85,3
864	12	6	50,0
884	5	2	40,0
885	6	2	33,3
886	5	2	40,0
887	6	3	50,0
888	7	4	57,1
<b>Total</b>	<b>203</b>	<b>115</b>	<b>56,6</b>

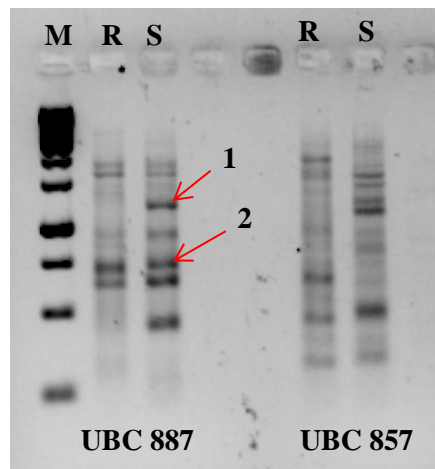


Figura 8. Banda polimórfica (1) e monomórfica (2) em perfis eletroforéticos para os biótipos de *D. insularis* resistente (R) e suscetível (S) ao glyphosate.

A taxa polimórfica geral foi de 56,6%, caracterizando alta dissimilaridade genética entre os dois acessos, isso pode ser explicado pelo fato da *D. insularis* ser uma planta de fecundação cruzada, oferecendo variada carga genética. Vidal et al. (2006) e Lamego et al. (2006) ao estudarem acessos de picão preto com resistência aos herbicidas inibidores da ALS, obtiveram uma similaridade média de 27% e 37% respectivamente, para os acessos avaliados, demonstrando que existe variabilidade genética mesmo dentro de uma mesma população.

Ainda, Souza et al. (2005) ao encontrar uma taxa de 32,7% de polimorfismo entre populações de aveia, verificou em alguns oligonucleotídeos marcadores com ausência somente em famílias tolerantes a ácidos orgânicos, podendo estarem associados a sensibilidade dessa substância. Em contrapartida, Vieira et al (2010) ao estudar acessos de *Digitaria nuda* não observou relação entre a ocorrência de perfis polimórficos e a suscetibilidade à ametrina.

Sendo assim, pode-se afirmar que há alta variabilidade genética entre os dois biótipos, porém não se pode aferir que esta está ligada a suscetibilidade da planta ao glyphosate. Para tanto, serão necessários novos estudos que comprovem tal fato.

Contudo, após a comprovação da resistência do biótipo coletado no município de Matão, verificou-se que o mesmo apresentou crescimento mais rápido e robusto que o biótipo S, atingindo primeiro o estágio de florescimento. Tal fato pode estar

relacionado a alta variabilidade genética desta espécie, uma vez verificada a alta taxa de polimorfismo (56,6%) entre os biótipos analisados. Estes resultados atentam para a necessidade de controle antecipado em áreas com histórico de resistência, além da inerente necessidade de rotação de herbicidas com diferentes modos de ação.



## 5. CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos, pode-se inferir que o biótipo coletado no município de Matão é resistente ao glyphosate.

As sementes de ambos os biótipos se mostraram fotoblásticas neutras, sendo sua germinação favorecida nas temperaturas de 25 e 30°C constantes, 20-30°C e 25-35°C alternadas e em uma faixa de luz de 8 a 12 horas . Além disso, as sementes se mostraram sensíveis ao estresse hídrico e a emergência de suas plântulas não foi afetada nas menores profundidades.

Em todas as condições de germinação e emergência em que foram submetidas, as sementes do biótipo resistente apresentou igual ou melhor desempenho que o suscetível.

Ainda, na análise de crescimento e fenologia, verificou-se o crescimento mais rápido e vigoroso do biótipo resistente em relação ao suscetível, atingindo primeiro o estágio reprodutivo.

A taxa de polimorfismo entre os biótipos foi de 56,6%.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILERA, D.B.; FERREIRA, F.A.; CECON, P.R. Crescimento de *Siegesbeckia orientalis* sob diferentes condições de luminosidade. **Planta Daninha**, Viçosa, v.22, n.1, p. 43-51, 2004.
- ANDRADE, A.C.S.; SOUZA, A.F.; RAMOS, F.N.; PEREIRA, T.S.; CRUZ, A.P.M. Germinação de sementes de jenipapo: temperatura, substrato e morfologia do desenvolvimento pós-seminal. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.35, n.3, p.609-615, 2000.
- ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE MALEZAS – ALAM. Recomendaciones sobre unificación de los sistemas de evaluación en ensayos de control de malezas. *ALAM*, v. 1, n. 1, p. 35-38, 1974.
- ASSEFA, K.; MERKER, A.; TAFERA, H.; Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) analysis of genetic diversity in tef [*Eragrotis tef* (Zucc.) Trotter]. *Hereditas*, Oxford, v.139, p.174-183, 2003.
- BANSAL, R. P., BHATI, P. R. & SEM, D. N. 1980. Differential specificity in water inhibition of Indian arid zone. *Biology Plantarum*, 22(2): 327–331.
- BARBOSA, J. M.; SILVA, T. S.; ANDREANI JÚNIOR, R.; PITELLI, R. A.; BARBOSA, L. M. Germinação e emergência de plântulas para três espécies de gramíneas invasoras de cultura do gênero *Digitaria* Heisler ex Haller. **Acta Botânica Brasileira**, Feira de Santana, v. 1, n. 3, p. 7-13, 1991.
- BLEASDALE, J.KA. Studies on plant competition. In: Harper, J.L. *The Biology of weeds*. Oxford, **Black weel Sci.Publication**, p. 133-142, 1960.
- BLEIHOLDER, H., H. KIRFEL, P. LANGELÜDDECKE, R. STAUSS. Codificação unificada dos estádios fenológicos de culturas e ervas daninhas. **Pesquisa Agropecuária Brasileria**, v. 26, n. 9, p. 1423-1429, 1991
- BENINCASA, M. M. P. Análise de crescimento de plantas (Noções Básicas). Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41 p.
- BHOWMIK, P.C. Weed biology: importance to weed management. **Weed Science**, Lawrence, v.45, p.349-356, 1997.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Produção Vegetal. Coordenação de Laboratório Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 1992. 365p.
- BRIGHENTI, A. M.; VOLL, E.; GAZZIERO, D. L. P. Biologia e manejo do *Cardiospermum halicacabum*. *Planta Daninha*, v. 21, n. 2, p. 229-237, 2003.

BUHLER, D. D.; DOLL, J. D.; PROOST, R. T.; VISOCKY, M. R. Integrating mechanical weeding with reduced herbicide use in conservation tillage corn production systems. **Agronomy Journal**, Madison, v. 87, n.3, p. 507-512, 1995.

BURNSIDE, O. C. Rationale for developing herbicide-resistant crops. *Weed Technol.*, v. 6, n. 3, p. 621-625, 1992.

CAMPOS, L.H.F., MELLO, M.S.C., CARVALHO, S.J.P., NICOLAI, M. e CHRISTOFFOLETI, P.J. Crescimento inicial de *Merremia cissoides*, *Neonotonia wightii* e *Stizolobium aterrimum*. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v. 30, n. 3, p. 497-504, 2012.

CANTO-DOROW, T.S. *Digitaria Heister* ex Haller. In: WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G.J.; GIULIETTI, A.M. (Ed.) *Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo*. São Paulo: HUCITEC, 2001. p.143-150.

CARVALHO, L.B. et al. *Plantas daninhas*. 1ed. Lages, SC, 82 p., 2013.

CARVALHO, L.B. et al. Detection of sourgrass (*Digitaria insularis*) biotypes resistant to glyphosate in Brazil. **Weed Science**, v.59, n.2, p.171-176, 2011.

CARVALHO, L.B. et al. Estudo comparativo do acúmulo de massa seca e macronutrientes por plantas de milho var. BR-106 e *Brachiaria plantaginea*. **Planta Daninha**, v.25, n.2, p.293-301, 2007.

CARVALHO, S.J.P. et al. **Crescimento, desenvolvimento e produção de sementes da planta daninha capim-branco (*Chloris polydactyla*)**. *Planta daninha*. 2005, vol.23, n.4, pp. 603-609.

CHRISTOFFOLETI, P. J. Aspectos da resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas. 3ed. Campinas: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas Daninhas aos Herbicidas (HRAC-BR), 120 p, 2008.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; KEHDI, C.A.; CORTEZ, M.G. Manejo da planta daninha *Brachiaria plantaginea* resistente aos herbicidas da ACCase. *Planta Daninha*, v.19, n.1, p.66-73, 2001.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; VICTORIA FILHO, R.; SILVA, C. B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, v. 12, n. 1, p. 13-20, 1994.

COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B. Principles of seed science and technology. 4.ed. Boston, MA: Kluwer Academic Publishers, 2001. 467p.

CORREIA, N.M.; LEITE, G.J.; GARCIA, L.D. Resposta de diferentes populações da *Digitaria insularis* ao herbicida glyphosate. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, V.28, n.4, p. 769-776, 2010.

DIAS, A.C.R.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Problemática da ocorrência de diferentes espécies de capim-colchão (*Digitaria* spp.) na cultura da cana-de-açúcar. *Planta Daninha*. v.25, n.3, p. 489-499, 2007.

DURAN, R. D.; TORTOSA, M. E. The effect of mechanical and chemical scarification on germination of charlock (*Sinapis arvensis* L.) seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.13, n.1, p.155-163, 1985.

EMBRAPA. Tecnologia de produção de soja. Região central do Brasil 2004. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/controla.htm>, acessado em: 18 ago 2011.

ESSELMAN E. J., JIANQIANG L., CRAWFORD D. J., WINDUS J. L. and WELFE A. D. 1999 Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* spp. *Insperta* (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA and inter-simple sequence repeat markers. *Mol. Ecol.* 8, 443–453.

FALEIRO, F. G. Marcadores genético-moleculares aplicados a programa de conservação e uso de recursos genéticos. Planaltina, DF: Embrapa Carrados, 2007.

FERNÁNDEZ, O.A. Manejo integrado de malezas. *Planta Daninha*, v.5, n.2, p.69-75, 1982

GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. **Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura**. São Paulo: Monsanto do Brasil; 2005. 60 p.

GEMELLI, A., OLIVEIRA JR, R., CONSTANTIN, J., BRAZ, G., JUMES, T., OLIVEIRA NETO, A., DAN, H., BIFFE, D.. Aspectos da biologia de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate e implicações para o seu controle. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Local de publicação (editar no plugin de tradução o arquivo da citação ABNT), 11, set. 2012. Disponível em: <http://www.rbherbicidas.com.br/index.php/rbh/article/view/186>. Acesso em: 21 Set. 2013..

GOMES JR., F.G. & CHRISTOFFOLETI, P.J. Biologia e manejo de plantas daninhas em área de plantio direto. *Planta daninha*, v. 26, n. 4, p. 789-798, 2008.

GRESSEL, J., SEGEL, L.A. Modeling the effectiveness of herbicide rotations and mixtures as strategies to delay or preclude resistance. *Weed Technol.*, v.4, p.186-198, 1990.

GUIMARÃES, S. C.; SOUZA, I. F.; PINHO, E. V. R. V. Emergência de *Tridax procumbens* em função de profundidade de semeadura, do conteúdo de argila no substrato e da incidência de luz na semente. *Planta Daninha*, v. 20, n. 3, p. 413-419, 2002.

GUO, P.; AL-KHATIB, K. Temperature effects on germination and growth of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*), Palmer amaranth (*A. palmeri*), and common waterhemp (*A. rudis*). *Weed Science*, v.51, n.6, p.869-875, 2003.

HEAP, I. **International survey of herbicide-resistant weeds**. Disponível em: <http://www.weedscience.org/Summary/UniqueCountry.asp?lstCountryID=5&FmCountry=Go>, acessado em: 20 ago 2013.

HESS, F. D. Mechanism of action of inhibitors of amino acid biosynthesis. In: Herbicide action: an intensive course on the activity, selectivity, behavior, and fate of herbicides in plants and soil. West Lafayette: Purdue University, 1994.p. 344-365

JOHNSON, R. G.; ANDERSON, R. C. The seed bank of tall grass prairie in Illinois. Am. Midland Natural., v. 115, n. 1, p. 123-130, 1986.

KISSMANN, K.G. Plantas infestantes e nocivas - Tomo I: Plantas inferiores e monocotiledôneas. São Paulo: BASF, 1997. 824p.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. Plantas infestantes e nocivas. São Paulo: BASF Brasileira, 1997. p. 675-678.Tomo I.

KLEIN, A.; FELIPPE, G. M. Efeito da luz na germinação de sementes de ervas invasoras. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 26, n. 7, p. 955-966, 1991.

KRUSE, N. D.; TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A. Herbicidas inibidores de EPSPS: revisão de literatura. Revista Brasileira de Herbicidas, Brasília, v. 1, n. 2, p. 139-146, 2000.

LAMEGO, F. P.; VIDAL, R. A. Resistência ao glyphosate em biótipos de *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis* no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Planta Daninha, v.26, n.2, p.467-471, 2008.

LAMEGO, F. P.; RESENDE, L. V.; SILVA, P. R.; VIDAL, R. A.; NUNES, A. L. Distância genética e geográfica entre acessos de picão-preto suscetíveis e resistentes a herbicidas inibidores da acetolactato sintase. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 41, n. 6, p. 963-968, 2006.

LOPES, J.C.; SOARES, A.S. Germinação de sementes de *Miconia cinnamomifolia* (Dc.) Naud. Brasil Florestal, v.21, n.75, p.31-39, 2003

LÓPEZ-OVEJERO, R. F.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; ABREU, A. G.; GROMBONE-GUARATINI, M.T.; TOLEDO, R.E.B.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistance and differential susceptibility of *bidens pilosa* and *b. subalternans* biotypes to als inhibiting herbicides. **Scientia Agricola**. Piracicaba, SP. v.63, n.2, mar/abr 2006.

LÓPEZ-OVEJERO, R. F.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Recomendações para prevenção e manejo da resistência a herbicidas. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.) Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas. Londrina: Associação Brasileira de Ação a resistência de Plantas aos herbicidas (HRAC-BR), 2003. p. 45-79

MACHADO, A.F.L. **Biologia e controle químico de *Digitaria insularis***. 2005. 45 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

MACHADO, A.F.L. et al. **Análise de crescimento de *Digitaria insularis***. *Planta daninha*. 2006, vol.24, n.4, pp. 641-647.

MAGUIRE, J.D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v.2, p.176-177, 1962.

MARTINS, J.F. Efeito da profundidade de sementeira na emergência do capim-amargoso (*Digitaria insularis*). XXI Congresso de iniciação científica da UNESP, 2009.

MAYER, A.C.; POLJAKOFF MAYBER, A. The germination of seeds. 4.ed. Oxford: Pergamon Press, 1989. 270p

MELO, M.S.C. **Alternativas de controle, acúmulo de chiquimato e curva de crescimento de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) suscetível e resistente ao glyphosate**. 2011. 74f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

MONDO, V.H.V.; CARVALHO, S.J.P.; DIAS, A.C.R.; FILHO, J.M. Efeitos da luz e temperatura na germinação de sementes de quatro espécies de plantas daninhas do gênero *Digitaria*. *Revista Brasileira de Sementes*. vol. 32, nº 1, p.131-137, 2010

NASSIF, S.M.L.; PEREZ, S.C.J.G. Efeitos da temperatura na germinação de sementes de amendoim-do-campo (*Pterogyne nitens* Tul.). *Revista Brasileira de Sementes*, v. 22, n.1, p.1-6, 2000.

NICOLAI, M.; MELO, M.S.C.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETTI, P.J. Monitoramento de infestações de populações de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) suspeitas de resistência ao glifosato. In: Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, 27.,2010. Ribeirão Preto. Resumos expandidos. SBCPD,2010.p.943-946.

OLIVERA, J.R.; INOUE, M.H. **Seletividade de herbicidas para culturas e plantas daninhas**. In: Oliveira JR.;R.S.; Constantin, J.;Inoue, M.H. (Ed.). *Biologia e manejo de plantas daninhas*. Curitiba, PR: Omnpax, 2011. p.243-262.

ORZARI, I. Influência da temperatura na germinação de espécies da família convolvulaceae. XXVII Congresso brasileira da ciência das plantas daninhas, 2010.

PEREIRA, M.R.R.; MARTINS, C.C.; SOUZA, G.S.F.; MARTINS, D. Influência do estresse hídrico e salino na germinação de *Urochloa descumbens* e *Urochloa ruziziensis*. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 28, n. 4, p. 537-545, 2012

PITELLI, R.A. Interferências de plantas daninhas em culturas agrícolas. **Inf. Agropec.**,v.11, n.1, p.16-27, 1985.

POPINIGIS, F. *Fisiologia da semente*. Brasília, DF: AGIPLAN, 1985, 289p.

POWELL, W.; MACHIRAY, G. C.; PROVAN, J. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. **Trends in Plant Science**, v.1, p.215-222, 1996.

PYON, J.Y., WHITNEY, A.S., NISHIMOTO, R.K. Biology of sourgrass and its competition with buffelgrass and guineagrass. **Weed Science**, v.25, n.2, p.171-174, 1977.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 6.ed. Londrina, 2011. P.324-354.

ROUSH, M. L.; RADOSEVICH, S. R. Relationships between growth and competitiveness of four annual weeds. *J. Appl. Ecol.*, v. 22, p. 895-905, 1985.

RUEDELL, J. Plantio direto na região de Cruz Alta.Cruz Alta: FUNDACEP FECOTRIGO, 1995. 134 p.

SAARI, L. L.; COTTERMAN, J. C.; THILL, D. C. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. In: POWLES, S. B.; HOLTUM, J. A. M. *Herbicide resistance in plants: Biology and biochemistry*. Boca Raton: CRC Press, 1994. 353 p.

SAMBROOK, J., FRITSCH, E.F., AND MANIATIS, T. (1989) *Molecular cloning: a laboratory Manual*, vol. 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.

Sambrook, J. Russel, D. W. 2001. *Molecular Cloning*. 3rd edition. 3 vol. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

SANTOS, S.R.G.; AGUIAR, I.B. Germinação de sementes de branquilha (*Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs) em função do substrato e do regime de temperatura. *Revista brasileira de sementes*, Brasília, v.22, n.1, p.120-126, 2000.

SILVA, M.C. Efeito da temperatura na germinação de sementes de manduirana (*Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn. – Caesalpinaceae). *Revista Brasileira de Sementes*, v.23, n.1, p.92-99, 2001

SILVA, L.M.M.; RODRIGUES, T.J.D.; AGUIAR, B.A. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). *Revista Árvore*, v.26, n.6, p.691-697, 2002.

SILVA, J. L.; GUIMARÃES, S. C.;YAMASHITA, O. M. Germinabilidade de sementes de *Chloris barbata* (L.) Sw. Em função de temperatura e nitrato de potássio. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta,v. 7, n. 1, p. 45- 53, 2009.

SOUSA, M.P.S.; BRAGA, L.F.; BRAGA, J.F.; SÁ, M.E.; MORAES, M.L.T. Influência da temperatura na germinação de sementes de sumaúma (*Ceiba pentrandra* (Linn.) Gaertn. – Bombacaceae). *Revista Brasileira de Sementes*, v.22, n.1, p.110-119, 2000.

SOUZA, M. C.; PITELLI, R. A.; SIMI, L. D., OLIVEIRA, M. C. J. Emergência de *Bidens pilosa* em diferentes profundidades de semeadura. **Planta daninha**, Viçosa, v. 27, n.1, p. 29-34, 2009.

SOUZA FILHO, A.P.S. Interferência potencialmente alelopática do capim-gengibre (*Paspalum maritimum*) em áreas de pastagens cultivadas. *Planta Daninha*, v.24, n.3, p.451-456, 2006.

SOUZA, V.Q. et al. Dissimilaridade genética em mutantes de aveia tolerantes e sensíveis a ácidos orgânicos. **Bragantia**, Campinas, v.64, n.4, p.569-575, 2005.

STANKIEWICZ, M.; GADAMSKI, G.; GAWRONSKI. Genetic variation and phylogenetic relationships of triazineresistant and triazine-susceptible biotypes of *Solanum nigrum* – analysis using RAPD markers. **Weed Research**, v. 41, n. 2, p. 287-293, 2001.

STECKEL, L.E.; SPRAGUE, C.L.; STOLLER, E.W.; WAX, L.M. Temperature effects on germination of nine *Amaranthus* species. *Weed Science*, v.52, n.2, p.217-221, 2004.

STREIBIG, J.C. Herbicide bioassay. **Weed Research**, v. 28, n. 6, p. 479-484, 1988.

TATINENI, V.; CANTRELL, R.G.; DAVIS, D. D.; Genetic diversity in elite cotton germplasm determined by morphological characteristics and RAPDs. **Crop Science**, Madison, v.36, p.186-192, 1996

TOLEDO, R. E. B.; KUVA, M.; ALVES, P. L. C. A. Fatores que afetam a germinação e a emergência de *Xanthium strumarium* L.: dormência, qualidade de luz e profundidade de semeadura. *Planta Daninha*, v. 11, n. 1/2, p. 15-20, 1993.

VAN DEN BERG, L.; ZENG, Y. J. Response of South African indigenous grass species to drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 72, n. 2, p. 284-286, 2006.

VARELA, V.P.; FERRAZ, I.D.K.; CARNEIRO, N.B. Efeito da temperatura na germinação de sementes de sumaúma (*Ceiba pentandra* L.Gaertn. – Bombacaceae). *Revista Brasileira de Sementes*, v.21, n.2, p.170-174, 1999.

VARGAS, L. et al. Resistência de plantas daninhas a herbicidas. Viçosa, MG: Jard, 1999. 131p.

VÁZQUEZ-YANES, C.; OROZCO-SEGOVIA, A. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v.24, n.1, p.69-87, 1993.

VIDAL, R. A.; HERNANDES, G. C.; WINKLER, L. M.; FEDERIZZI, L. C.; Da SILVA, P. R. Relação entre distância geográfica e variabilidade genética de uma população de *Bidens* spp. com resistência aos herbicidas inibidores de ALS. *Planta Daninha*, Viçosa, v. 24, n. 1, p. 149-155, 2006.

VIDAL, R.A. Ação dos herbicidas: absorção, translocação e metabolização. Porto Alegre: Evangraf, 2002. 89 p.



- VIDAL, R. A.; MEROTTO JR., A. *Herbicidologia*. Porto Alegre: Evangraf, 2001. 152 p.
- VIDAL, R. A.; FLECK, N. G. Análise do risco da ocorrência de biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas. **Planta Daninha**, v. 15, n. 12, p. 152-161, 1997.
- VIDAL, R. A.; BAUMAN, T. T. Surface wheat (*Triticum aestivum*) residues, giant foxtail (*Setaria faberi*), and soybean (*Glycine max*) yield. **Weed Science**, Champaign, v. 44, n. 4, p. 939-943, 1996.
- VIEIRA, V. C.; Alves, P.L.C.A.; Picchi, S.C.; LEMOS, M.V.F.; SENA, J.A.D. **Molecular characterization of accessions of crabgrass (*Digitaria nuda*) and response to ametryn**. *Acta Scientiarum. Agronomy Maringá*, v. 32, n. 2, p. 255-261, 2010.
- VILLELA, F.A.; FILHO, L.D. & SEQUEIRA, E.L. Tabela de potencialosmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e datemperatura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília. v.26, n.11/12, p.1957-1968. 1991.
- VOLL, E. et al. A dinâmica das plantas daninhas e práticas de manejo. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 85 p.(Documento, 260).
- VOLL, E. et al. Dinâmica de um banco de sementes de plantas daninhas sob diferentes manejos do solo. *Planta Daninha*, v. 19, n. 2, p. 171-178, 2001.
- VOLL, E.; KARAM, D.; GAZZIERO, D. L. P. Dinâmica de populações de trapoeraba (*Comelina benghalensis* L.) sob manejos de solo e de herbicidas. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 32, n. 6, p. 571-578, 1997.
- YAMASHITA, O.M. Efeito de profundidade de semeadura na emergência de picão-preto (*Bidens pilosa*) e fedegoso (*Cassia occidentalis*). *Revista de Ciências Agro-Ambientais, Alta Floresta*, v.3, p.84-91, 2005.
- WILLIAMS JGK, KUBELIK AR, Livak KJ, RAFALSKI JA, TINGEY SV (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.*, 18: 6531–6535
- WINKLER, L. M.; VIDAL, R. A.; BARBOSA NETO, J. F. Aspectos genéticos envolvidos na resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Revista Plantio Direto**, v. 70, n. 4, p. 21-24, 2002.
- ZELAYA, I. A.; OVEN, M. D. K.; PITY, A. Effect of tillage and environment on weed population dynamics in the dry tropics. **Ceiba**, v. 38, n. 2, p. 123-135, 1997.
- Zietkiewicz, E., A. Rafalski & D. Labuda, 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) – anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20: 176–183.