

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA - FEIS - UNESP**

“Diferenças no metabolismo das plantas que determinam resistência a
herbicidas em *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.”

Talita Breda Moretti

Dissertação apresentada à
Faculdade de Engenharia de Ilha
Solteira – UNESP, Campus de
Ilha Solteira, como parte das
exigências para obtenção do título
de Mestre em Agronomia
(Produção Vegetal).

Março de 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA - FEIS - UNESP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

“Diferenças no metabolismo das plantas que determinam
resistência a herbicidas em
Brachiaria plantaginea (Link) Hitchc.”

TALITA BREDA MORETTI

Orientador: Prof. Dr. Fernando Tadeu de Carvalho

Coorientador: Pedro Jacob Christoffoleti

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia - UNESP – Campus de Ilha
Solteira, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia.

Especialidade: Sistemas de Produção

ILHA SOLTEIRA - SP

Março de 2011

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da UNESP - Ilha Solteira.

M845d Moretti, Talita Breda.
Diferenças no metabolismo das plantas que determinam resistência a herbicidas em *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc. / Talita Breda Moretti. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2011
57 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2011

Orientador: Fernando Tadeu de Carvalho
Co-orientador: Pedro Jacob Christoffoleti
Inclui bibliografia

1. Capim marmelada. 2. Seletividade. 3. Fluorômetro.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Diferenças no metabolismo das plantas que determinam resistência a herbicidas em *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc

AUTORA: TALITA BREDA MORETTI

ORIENTADOR: Prof. Dr. FERNANDO TADEU DE CARVALHO

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. PEDRO JACCOB CRISTOFOLETTI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA ,
Área: SISTEMAS DE PRODUÇÃO, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. FERNANDO TADEU DE CARVALHO
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Prof. Dr. EDSON LAZARINI
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de
Engenharia de Ilha Solteira

Prof. Dr. FRANCISCO DE ASSIS ROLIM PEREIRA
Departamento de Agronomia / Universidade Anhanguera

Data da realização: 01 de março de 2011.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

TALITA BREDA MORETTI – Nasceu no dia 14 de dezembro no ano de 1982, na cidade de Araçatuba, SP. Gradou-se em Agronomia pela Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Ilha Solteira, SP, em janeiro de 2007. Em março de 2008 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, curso de Agronomia, UNESP, Campus de Ilha Solteira, SP.

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais Osvaldo e Susette que sempre me apoiaram, incentivaram, compreenderam e deram todas as condições necessárias para que pudesse alcançar meus objetivos. A vocês meu sincero e eterno amor, carinho e respeito.

À minha irmã Taiane, pelo apoio, incentivo, carinho, companheirismo e confiança em minha jornada. E a todos meus familiares.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por permitir concluir mais uma etapa de minha formação profissional e pessoal.

Ao Professor Dr. Fernando Tadeu de Carvalho, orientador desse trabalho, pela dedicação, confiança, apoio, paciência e principalmente, pela amizade, pela grande contribuição à minha vida acadêmica e profissional.

Aos funcionários dos laboratórios de Biologia e Zootecnia, Análises de Sementes, Análise Genética de Populações e Silvicultura, Fertilidade do Solo pela amizade e auxílio na realização de análises em seus respectivos laboratórios.

Aos amigos de pós-graduação: Adriana Avelino, Ana Eliza da Silva Lima, Ana Paula Ribeiro, Carlos Alessandro Chioderoli, Carolina Santos Batista Bonini, Cleiton Gredson Sabin Benett, Cristiano M. Pariz, Christian Luís Berti, Danilo Marcelo Aires dos Santos, Flávio Hiroshi Kaneko, Juliana Mariano Carvalho, Kelly Cristine Gomes Gonçalves, Leandro Spegiorin Marques, Luciano Seidi Chinen, Luiz Gustavo Ares Kabbach, Roberta Leopoldo Ferreira, Ronaldo Cintra Lima, Ronaldo de Oliveira Casoti, William Takao, e a todos os outros pelos momentos de risadas e descontrações provindos da grande e sincera amizade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Produção Vegetal, e à Universidade Estadual Paulista - Campus de Ilha Solteira, seu corpo docente e funcionários, pela formação de Engenheiro Agrônomo e pela valiosa oportunidade proporcionada para a realização deste curso.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pelos ensinamentos e amizade.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, Márcia, Onilda e Rafael, pelo excelente atendimento em todos os momentos.

A todos meus amigos de graduação e pós-graduação, que durante esses anos estiveram comigo e que não foram mencionados, mas foram de igual importância para tornar os dias mais agradáveis em todas as ocasiões aqui vividas.

À Capes, pela bolsa de estudos concedida.

A todas as pessoas que direta e indiretamente, contribuíram na realização deste trabalho.

A todos os meus sinceros agradecimentos.

DIFERENÇAS NO METABOLISMO DAS PLANTAS QUE DETERMINAM
RESISTÊNCIA A HERBICIDAS EM *Brachiaria Plantaginea* (Link) Hitchc.

RESUMO

A *Brachiaria plantaginea* está entre as espécies de maior ocorrência como plantas daninhas em diversas culturas. O objetivo do presente trabalho foi estudar as características morfofisiológicas da espécie *B. plantaginea* quanto à resistência a herbicidas. Os experimentos foram conduzidos no período de janeiro à agosto do ano de 2009 em casa de vegetação com as plantas em vasos plásticos pretos de 3,0 L contendo substrato Plantimax® e em laboratório de análises foram realizadas conforme cada exigência necessária realizadas na Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Campus II UNESP de Ilha Solteira. Foi usado delineamento experimental, sendo: teste de germinação, teste de vigor, transpiração em folhas destacadas hidratadas e estimativa da área foliar: fatorial de 2x2, sendo duas massas de sementes e dois biótipos de *B. plantaginea* (susceptível e resistente a herbicidas), e o teste de seletividade dos materiais aos herbicidas: fatorial de 2x3, sendo dois biótipos (susceptível e resistente a herbicidas), dois herbicidas (ametrina, imazapic) e uma testemunha sem herbicida. Observou-se que tanto a massa das sementes como o caráter resistência ao herbicida influenciaram no comportamento morfofisiológico da espécie *B. plantaginea*. Sementes com massas maiores apresentaram maiores respostas de germinação, mesmo após um período de envelhecimento da semente. O cultivar resistente apresentou menor desenvolvimento em relação às plantas susceptíveis, sendo um fator importante em se tratando de uma eliminação de plantas daninhas. Plantas de *Brachiaria plantaginea* resistente possuem maior transpiração apenas nas primeiras seis horas dificultando a eliminação por herbicida. O herbicida imazapic controlou o biótipo susceptível mesmo após a uma aplicação de pós-emergência. O biótipo resistente possui um maior transporte de elétrons podendo ser este o seu fator de resistência em relação ao biótipo susceptível

Palavras-chave: capim-marmelada, seletividade, fluorômetro

DIFFERENCES IN THE METABOLISM OF THE PLANTS THAT DETERMINE
RESISTANCE TO HERBICIDES IN *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.

ABSTRACT

Brachiaria plantaginea is among the most common species as weeds in many cultures. The objective of this work was to study the morphological and physiological characteristics of species *B. plantaginea* for resistance to herbicides. The experiments were conducted from January to August of 2009 in a greenhouse with plants grown in pots of 3.0 L black plastic substrate Plantimax ® and in laboratory tests were performed according to each requirement necessary in Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Campus II UNESP de Ilha Solteira. Experimental design was used, with a germination test, vigor test, transpiration in detached leaves hydrated and estimation of leaf area: 2x2 factorial, with two masses of seed and two biotypes of *B. plantaginea* (susceptible and resistant to herbicides), and test materials to the selectivity of herbicides: 2x3 factorial, two biotypes (susceptible and resistant to herbicides), two herbicides (ametryne imazapic) and no herbicide. It was observed that both seed mass as the character resistance to herbicide influence the behavior of the species *B. plantaginea* morphophysiological. Seeds with larger masses showed higher germination responses, even after an aging period of the seed. The resistant cultivar showed less developed compared to susceptible plants being an important factor when it comes to removing a weed. *Brachiaria plantaginea* resistant have a higher transpiration only for six hours making it difficult to eliminate by the herbicide. The imazapic controlled biotype likely even after the application of a post-emergence. The resistant biotype has a higher electron transport and this may be your resistance factor relative to susceptible biotype.

Keywords: grass-marmalade, selectivity, fluorometer

SUMÁRIO

	Página
1	INTRODUÇÃO 08
2	REVISÃO DE LITERATURA 10
2.1	<i>Brachiaria plantaginea</i> 10
2.2	Herbicidas e Resistência de Plantas Daninhas 11
2.3	Ametrina 13
2.4	Imazapic 14
2.5	Resistência de <i>Brachiaria plantaginea</i> a herbicidas 15
2.6	Fotossíntese 15
2.7	Fotossistema II 19
2.8	Fluorescência (emissão de fluorescência no fotossistema II) 21
2.9	Medidor de fluorescência: Fluorômetro 23
2.10	Perda de água em folhas destacadas 24
3	MATERIAL E MÉTODOS 30
3.1	Análise das sementes 31
3.1.1	Classificação e separação das sementes por massa 31
3.1.2	Teste de germinação 31
3.1.3	Teste de vigor de sementes 32
3.1.3.1	Envelhecimento acelerado 32
3.1.3.2	Teste de tetrazólio 32
3.2	Biometria das plantas 32
3.3	Estudo morfo-fisiológico 33
3.3.1.	Transpiração em folhas destacadas hidratadas e estimativa da área foliar 33
3.3.2.	Seletividade dos cultivares aos herbicidas 34
3.4	Análise Estatística 35
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO 37
4.1	Teste de germinação e vigor 37
4.2	Biometria das plantas 40
4.3	Estudo morfo-fisiológico 42

4.3.1	Transpiração em folhas destacadas hidratadas e estimativa da área foliar	42
4.3.2	Seletividade dos cultivares aos herbicidas	43
5	CONCLUSÕES	49
	REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

As culturas agrícolas como a soja, o milho, a cana-de-açúcar e outras, estão sujeitas às ações de vários fatores abióticos e bióticos que afetam direta ou indiretamente sua rentabilidade. Um dos fatores de redução de rendimento das culturas é a interferência negativa causada pela infestação das plantas daninhas. Para que esta interferência seja reduzida ou até mesmo eliminada é necessária a adoção de medidas de controle executadas com eficiência, já que representam um percentual significativo no custo de produção da cultura.

As plantas daninhas podem interferir diretamente no crescimento e na produção da cultura por competirem por recursos essenciais, além da possibilidade de causarem efeitos alelopáticos e, indiretamente, por atuarem como plantas hospedeiras e intermediárias de pragas e patógenos.

As plantas da família botânica *Poaceae*, conhecidas popularmente por gramíneas, com cerca de 650 gêneros e 10.000 espécies, distribuídas no mundo, são consideradas infestantes em muitas culturas agrícolas (PEREIRA, 2007). Já as gramíneas do gênero *Brachiaria* estão entre as espécies de maior frequência nas principais lavouras de interesse econômico e, a espécie *Brachiaria plantaginea* conhecida popularmente por capim-marmelada, é uma das principais plantas daninhas do gênero, ocorrendo com frequência em lavouras de soja, milho e cana-de-açúcar.

Segundo Gazziero et al. (2004), a grande dependência do controle químico de plantas daninhas nas culturas proporcionou a ocorrência do fenômeno da resistência, que foi observada a partir dos anos de 1960 e ganhou importância nos anos de 1970 com as triazinas e nos anos de 1980 com os inibidores da enzima acetolactatosintase (ALS) e da enzima acetil coenzima A carboxilase (ACCCase), cuja manifestação ocorreu após sete a dez anos da

introdução desses herbicidas no mercado, sendo que atualmente, no mundo, existe registro de pelo menos 172 espécies que apresentam biótipos resistentes a esses produtos.

A pesquisa e o desenvolvimento de novos herbicidas exigem altos investimentos, algo como US\$ 100 a 150 milhões e assim existe uma grande preocupação das indústrias químicas que pesquisam, produzem e vendem defensivos agrícolas com o problema do desenvolvimento de resistências em plantas daninhas. Também a FAO (Organização para Agricultura e Alimentação, das Nações Unidas) considera o problema da resistência de pragas, doenças e plantas daninhas uma das grandes preocupações para a defesa sanitária vegetal, portanto há a necessidade de se estudar as causas dessas possíveis resistências antes mesmo de investir em pesquisas com novos produtos químicos (KISSMANN, 2009).

O capim-marmelada (*B. plantaginea*) é uma dessas espécies que tem apresentado resistência a herbicidas. Considerando a hipótese de que nestes casos podem existir alterações no metabolismo das plantas, há a necessidade de estudos básicos envolvendo aspectos relacionados à sua reprodução, crescimento, dormência de sementes e outras características anatômicas que apontem os seus mecanismos de resistência.

Desta forma, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de estudar as características morfofisiológicas da espécie *B. plantaginea* quanto à resistência aos herbicidas, analisada pela germinação e vigor de sementes, biometria, transpiração e fluorescência da clorofila.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Brachiaria plantaginea*

O gênero *Brachiaria* é constituído por cerca de cem espécies que ocupam cerca de 85% das pastagens brasileiras (BARBOSA, 2006), sendo as principais a *B. decumbens* (50% a 55%), *B. brizantha* (20% a 30%) e a *B. humidicola* (9% a 10%) (MACEDO, 1995).

Uma das espécies de braquiária, a *B. plantaginea*, popularmente conhecida como capim-marmelada ou papuã, de provável origem africana, foi introduzida no Brasil em tempos coloniais, sendo utilizada como camas de palha pelos escravos em porões de navios que eram limpos no desembarque já em território brasileiro (KISSMANN, 1997). Segundo o autor, o capim-marmelada é uma planta anual reproduzida por semente, sendo que na região meridional do Brasil a germinação ocorre na primavera e verão, desde que haja umidade e que as sementes estejam próximas à superfície do solo, caso contrário, elas permanecem dormentes até que ocorra tal condição.

Planta de porte ereto ou ocasionalmente ascendente com 1m de estatura com colmos cilíndricos, herbácea, glabra, formados de nós e entrenós. Perfilha intensamente formando touceiras e quando em contato com o solo úmido, pode ocorrer a formação de raízes a partir dos nós inferiores (Figura 1). Folhas estriadas, verde pálidas ou alvas de margens frequentemente onduladas e ligeiramente serradas. Possui inflorescência e panículas ascendentes formadas por três a oito racemos que se inserem alternadamente na parte superior do eixo, com espiguetas inseridas de forma alternada e imbricada sobre a raque. A plântula possui coleóptilo lanceolado com ápice agudo, glabro, folhas com bainha esbranquiçada,

estriada e com pêlos curtos, lígula membranácea e com colar de curtos pêlos, colmo cilíndrico, ereto de pigmentação verde claro arroxeadada (LORENZI 2000, KISSMANN 1997).

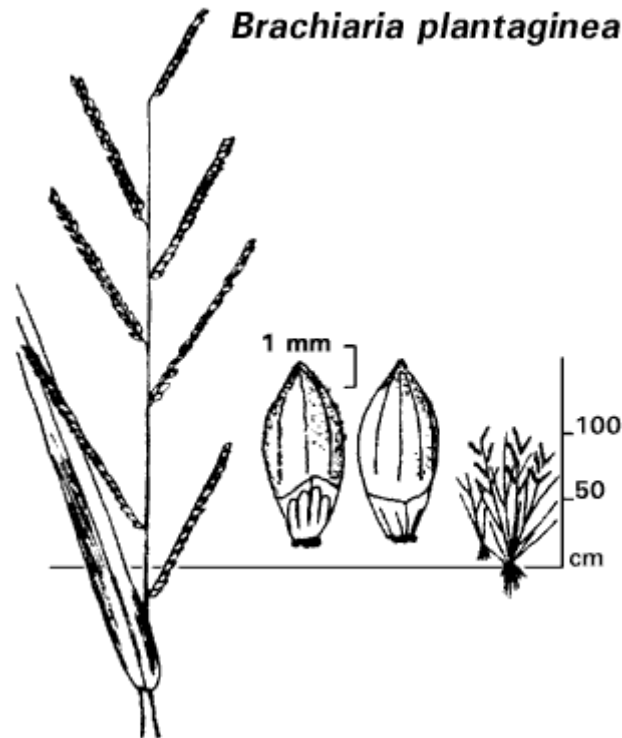


Figura 1. Características morfológicas de *Brachiaria plantaginea*. Fonte: Kissmann (1997).

Melo et al. (2008) demonstraram que a competição de capim-marmelada com a cultura da soja foi significativa, sendo que a *B. plantaginea* foi mais eficiente em capturar os recursos de crescimento (água, luz, nutrientes) disponíveis no meio. Lazaroto (2007) em sua pesquisa comprovou que a produtividade de grãos de soja é muito afetada pela interferência desta planta daninha nos estádios V7 à V8 e que o uso de medidas de controle culturais e químicas combinadas, permitem diminuir a dose de herbicidas usados sem afetar a produtividade da cultura.

2.2 Herbicidas e Resistência de Plantas Daninhas

Até a metade do século XIX, a retirada manual em trabalho intensivo e de pouca eficiência, era a única forma de controle das plantas daninhas. Ao final daquele século, o controle mecânico foi introduzido, mas apenas a descoberta de herbicidas seletivos no século XX eliminou a tediosa e complicada tarefa do controle em muitos países (SBCPD, 2010).

Os herbicidas evitam, reduzem ou eliminam as plantas daninhas, por isso, substituem a retirada mecânica das mesmas e, diminuindo a necessidade de manipulação da terra. Contudo, a intensa utilização de herbicidas pode acarretar em resistências de plantas daninhas.

Atualmente, tem sido comum se verificar que, quando da ocorrência da manifestação da resistência de uma planta daninha a um determinado produto, o problema se estende aos demais produtos que possuem o mesmo mecanismo de ação. Observações de campo em áreas comerciais de produção têm mostrado que o nível da resistência poderá variar com o produto ou até mesmo que, para certos produtos, a resistência pode não se manifestar (GAZZIERO, 2004).

O gerenciamento químico de plantas daninhas conduzido sem causar danos à plantação é chamado de controle "seletivo". Herbicidas seletivos são derivados de uma ampla variedade de classes químicas diferentes, com diversos modos de ação, e constituem-se numa parte essencial da prática moderna de agricultura no mundo proporcionando um método altamente eficiente, econômico, flexível e conveniente de controle de plantas infestantes em culturas agrícolas (SYNGENTA, 2010).

Atualmente existem pelo menos três mecanismos gerais básicos que podem explicar o desenvolvimento da resistência a herbicidas e influenciar o modo de ação dos compostos encontrados nos herbicidas, sendo: a perda de afinidade do herbicida pelo local de ação na enzima; a desintoxicação ou metabolização do herbicida a substâncias de menor fitotoxicação; a diminuição da concentração do herbicida no local de ação, translocação do herbicida e/ou absorção foliar pelo biótipo resistente. Entre as pesquisas desenvolvidas sobre este fenômeno no Brasil, são poucos os trabalhos relacionados com as causas fisiológicas e/ou bioquímicas do desenvolvimento de biótipos resistentes de plantas daninhas (CORTEZ, 2000).

Estão registrados doze parâmetros para a resistência de plantas daninhas a herbicidas, sendo eles: resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS (grupo B); aos inibidores da ACCase (grupo A); aos mimetizadores das auxinas (grupo O); aos inibidores da protox (grupo E); aos inibidores da EPSPs (grupo G); aos inibidores do fotossistema II (Grupo C); aos inibidores do fotossistema I (Grupo D); aos inibidores da biossíntese de carotenos (Grupo F); aos inibidores da glutamina sintetase (Grupo H); aos inibidores da formação dos microtúbulos (Grupo K1); aos inibidores da divisão celular (Grupo K3); e aos inibidores da fosforilação oxidativa (Grupo Z)(CHRISTOFFOLETI, 2008).

A Weed Science Society of American - WSSA (2010) definiu resistência de plantas daninhas a herbicidas como a habilidade de uma planta sobreviver e reproduzir, após exposição a uma dose de herbicida normalmente letal para um biótipo normal da planta.

De acordo com Christoffoletti, Medeiros, Monqueiro e Passini (2000), qualquer população em que os indivíduos mostram uma base genética variável quanto à tolerância a uma medida de controle, irá, com o tempo, mudar sua composição populacional como mecanismo de fuga para sobrevivência, diminuindo a sua sensibilidade a esta medida de controle. Segundo o autor, um exemplo é o uso contínuo dos métodos mecânicos para a eliminação das plantas daninhas, que em primeiro momento eliminam praticamente todas, mas que com o passar dos tempos, as plantas vão se adaptando àquela situação e voltam a infestar as culturas.

As plantas daninhas são organismos biológicos evoluindo em resposta às mudanças ambientais (distúrbio e estresse) que resulta na mudança de espécies e resistência a herbicidas. Neste caso, o uso intensivo de herbicidas na agricultura é uma das maiores causas da pressão de seleção, proporcionando os fenômenos de mudança de espécies na área e resistência a herbicidas, devido à menor eficácia e controle seletivo (CHRISTOFFOLETI, 2008).

Os principais fatores que afetam a evolução da resistência de plantas daninhas aos herbicidas têm sido agrupados em: genéticos, bioecológicos e agrônômicos. Os genéticos são inerentes aos indivíduos de uma mesma população de plantas daninhas: frequência inicial de resistência, dominância e número de alelos resistentes, tipo de fecundação e adaptação. Os fatores bioecológicos são resultantes de uma interação entre as características dos indivíduos e a ação do ecossistema sobre essa população (espécie, número de gerações, longevidade das sementes, densidade da espécie e suscetibilidade ao herbicida) e os agrônômicos são resultantes da seleção proporcionada pelas práticas agrícolas (CHRISTOFFOLETI, 2008).

2.3 Ametrina

A ametrina ou ametryn é uma s-triazina onde os substituintes são compostos por tiometil, etil e isopropil, formando a estrutura que leva o nome de “[N2-ethyl-N4-isopropyl-6-methylthio-1,3,5-triazine-2,4-diamine]” que está registrada para o controle em pré e pós-emergência de *B. plantaginea* e outras plantas daninhas. É um herbicida de ação no fotossistema II, classificado como seletivo para as culturas de cana-de-açúcar, abacaxi, milho, café, citros, uva e banana, sendo registrado no Brasil com diferentes nomes comerciais. É comercializado na formulação de suspensão concentrada com 500 gramas de ingrediente ativo por litro de produto e pertence à classe toxicológica III (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005).

É absorvido quando aplicado ao solo, translocando-se pelo xilema até as folhas, e quando aplicado em pós-emergência, praticamente não sofre translocação, atuando

praticamente como produto de contato. Como pertence ao grupo químico dos herbicidas inibidores da fotossíntese, fotossistema II, há uma inibição da fotossíntese das plantas e do transporte de elétrons, sendo que nas plantas suscetíveis os sintomas começam com clorose foliar, evoluindo para necrose e morte. Nas plantas tolerantes a desintoxicação ocorre pela oxidação do grupo metiltio da molécula do herbicida. O herbicida apresenta resistência para mais de 60 espécies de plantas daninhas, que desenvolveram resistência ao grupo das triazinas em todo o mundo (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005).

O herbicida ametrina é um inibidor da fotossíntese que se liga à proteína D₁, não permitindo a transferência de elétrons entre as Q_A e Q_B no PSII. Uma vez ligado à proteína e estando a planta submetida a elevadas taxas de radiação fotossinteticamente ativa, ocorre um acúmulo de elétrons que acabam reagindo com os oxigênios formados na fotólise, resultando em oxigênio no estado “singlet”, altamente energético e letal ao peroxidar as membranas das paredes celulares (YAMAMOTO, 2001).

Gravena (2004) em estudo sobre controle de plantas daninhas através da palha de cana-de-açúcar e mistura de herbicidas, observou que as espécies de plantas daninhas *Senna obtusifolia*, *Ipomoea nil*, *I. hederifolia* e *I. grandifolia*, só foi controlada pela mistura dos herbicidas, trifloxysulfuron-sodium + ametrina em doses de 1,75 e 2,00 kg.ha⁻¹.

Segundo Dias, Christoffoleti e Tornisielo (2005) em experimento com espécies infestantes da cultura da cana-de-açúcar observaram que a espécie *Digitaria nuda* foi selecionada pela aplicação contínua de herbicidas para o controle de capim-colchão, sendo que a ametrina pode apresentar boa eficácia de controle até os 60 dias após aplicação (DAA) e também ser controlada em níveis abaixo do esperado pelos herbicidas diuron, tebuthiuron, diuron + hexanone, imazapyr e imazapic.

Alves, Martins e Souza (2002) observaram que a aplicação de ametrina em doses reduzidas (625g.ha⁻¹) em pré-emergência de *B. decumbens* provocou uma redução de 44% no acúmulo de matéria seca de plantas adultas. Em doses maiores (superior a 1250 g.ha⁻¹) Victória Filho e Lima (1999) observaram elevados sintomas de fitotoxicidade para plantas de *B. decumbens* cv. Basilisk.

2.4 Imazapic

O imazapic ou imazapique “[ácido 2-[4,5-dihidro-4-metil-(1-metiletil)-5-oxo-1 H-imidazol-2-il]-5metil-3 piridina carboxílico]” registrado no Brasil sob o número de 02298 do MAPA, para controle de mono e dicotiledôneas nas culturas de amendoim e cana-de-açúcar,

em pré ou pós-emergência, conforme a cultura, pertence ao grupo dos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS). A ação deste herbicida é resultado da redução dos níveis de três aminoácidos alifáticos de cadeia ramificada: valina, leucina e isoleucina, através da inibição da ALS, uma enzima comum na via biossintética desses aminoácidos. Esta inibição interrompe a síntese protéica, que por sua vez interfere na síntese de DNA e no crescimento celular. Embora a interrupção no crescimento e a morte das regiões meristemáticas ocorram logo após a aplicação, a clorose das folhas novas e a necrose dos tecidos podem demorar em algumas espécies até duas semanas (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005).

Pertence ao grupo químico das imidazolininas, é comercializado na formulação de granulado dispersível com 700g de ingrediente ativo por quilograma de produto e pertence à classe toxicológica III. Apresenta absorção radicular e foliar, translocando-se pelo xilema e floema, acumulando-se nos meristemas de crescimento (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005).

2.5 Resistência de *Brachiaria plantaginea* a Herbicidas

No Brasil, as primeiras manifestações de resistência foram citadas por Ponchio (1996) e Christoffoleti (1996) para os biótipos de picão-preto (*Bidens pilosa*) e Gazziero et al. (1998) para os biótipos de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*). Para o capim-marmelada, os casos foram relatados por Gazziero (1997) no Estado do Paraná e Vidal e Fleck (1997) no Estado do Rio Grande do Sul.

Assim como a grande maioria das braquiárias, a *B. plantaginea* é controlada pelos herbicidas graminicidas. Os sintomas das plantas sob efeito dos produtos inibidores da ACCase (graminicidas) são paralisação do crescimento e amarelecimento dos meristemas e das folhas jovens e morte das plantas em uma a três semanas. Nos casos em que ocorre resistência, considera-se que as plantas que resistem aos herbicidas tenham maior importância econômica, devido à área infestada e ao número restrito de mecanismos de ação de herbicidas alternativos para controle dos biótipos resistentes (HEAP, 1997).

Sendo uma planta que tem apresentado resistência, há uma grande necessidade de aprofundar estudos sobre esta questão, para que se possa entender e estabelecer estratégias específicas para a situação brasileira e se possível tentar impedir a multiplicação e a disseminação dos genes para outras populações. Por outro lado, ainda há poucos cientistas que estão se dedicando a esta área no Brasil, e a maioria das informações de que se dispõe são relacionadas a experiências de outros países, com outras espécies que poucas vezes, podem ser generalizadas para as condições de clima e solos brasileiros.

2.6 Fotossíntese

Um fator sustentável para a sobrevivência de quase toda a vida do planeta está na energia produzida na reação química da fotossíntese. O mais ativo dos tecidos fotossintéticos das plantas superiores é o mesófilo e a bainha do feixe vascular para plantas do tipo C_3 e C_4 , respectivamente (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A fotossíntese consiste em dois processos acoplados. Um deles é de caráter fotoquímico e compreende a absorção de luz e o transporte de elétrons e o outro é bioquímico, com a captação do gás carbônico e a formação de compostos que encadeiam os átomos de carbono e retêm a energia absorvida a partir da luz nas ligações químicas das moléculas formadas. A captação da luz é efetuada pelo Complexo de Captação de Luz (CCL) que consiste de uma proteína à qual as clorofilas se associam formando uma espécie de antena que maximiza a energia absorvida. Através de um processo de ressonância, várias moléculas de clorofila transferem a energia para um centro de reação que desestabiliza eletronicamente as clorofilas. Moléculas de água são quebradas e os elétrons dos átomos de hidrogênio são utilizados para o processo de transporte de elétrons. Os CCL estão acoplados a uma série de proteínas de membrana presentes nos tilacóides, que ao transferirem elétrons acabam reduzindo (adicionando prótons) o NADP transformando-o em NADPH. ATP é também formado durante este processo. A energia contida neste ATP e no NADPH será usada na síntese orgânica de carboidratos também chamada de ciclo de Calvin e Benson ou síntese orgânica (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A síntese orgânica consiste de um ciclo semi-aberto de reações químicas que executa uma série de adições de moléculas de carbono, utilizando o C do CO_2 para alongar moléculas de 3 carbonos (ácido 3 fosfoglicérico – 3PGA) até moléculas de 6 carbonos (frutose-6-fosfato, um açúcar). A maior parte da frutose-6-fosfato formada será utilizada no metabolismo para a produção de amido no cloroplasto e uma outra parte será descarboxilada (isto é, perderá o equivalente a uma molécula de CO_2), formando novamente o composto Ribulose 1,5 bisfosfato (RuBP), que entrará no ciclo de carboxilação novamente e reiniciará o ciclo. É por isto que o ciclo de Calvin e Benson é considerado semi-aberto. O CO_2 penetra no mesófilo através dos estômatos, sendo, portanto, essencial que estes estejam abertos. A partir da câmara subestomática, o CO_2 entra nas células e é capturado por um complexo enzimático altamente sofisticado chamado de Ribulose 1,5 bisfosfato carboxilase (RUBISCO) que fica nas

membranas dos tilacóides. Este complexo enzimático tem dois substratos, o CO_2 e a RuBP, sendo portanto o elemento que fecha o ciclo de carboxilação (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Há dois caminhos de carboxilação, sendo que em um deles tem início com um composto de 3 carbonos (3PGA) e por isto é chamada de via C_3 (plantas como soja e feijão). As gramíneas (cana-de-açúcar, braquiárias e parte das bromélias) desenvolveram um sistema complementar à via C_3 chamado de via C_4 . Este sistema permite à folha o armazenamento de ácidos com 4 carbonos antes de serem captados pela RUBISCO. Neste caso há uma mudança morfológica importante que é a existência de uma bainha vascular, uma camada adicional de células que envolvem os feixes vasculares. O CO_2 é captado nestas células do mesófilo pela enzima Fosfo Enol Piruvato Carboxilase (PEPc), presente nas células do mesofilo, formando um composto de 4 carbonos que poderá ser descarboxilado a 3PGA e usado pela RUBISCO, presente nas células da bainha vascular. Nas células da bainha vascular, o ácido (malato ou aspartato) é descarboxilado, formando CO_2 novamente. Este mecanismo causa um aumento considerável na concentração de CO_2 na célula da bainha em relação à do mesofilo. Enquanto a pressão parcial de CO_2 no mesófilo é da ordem de 150 μbar , na bainha vascular chega a ser dez vezes maior (1500 μbar). Com isto, a RUBISCO fica em uma situação em que a concentração de substrato é muito alta, evitando a competição do oxigênio que leva à fotorrespiração. Como um dos grandes problemas das plantas é a perda de água pelos estômatos quando estes estão abertos para permitir a entrada do CO_2 , o mecanismo C_4 , ao aumentar em dez vezes a concentração deste gás nas células da bainha vascular, acaba evitando a perda de água, pois o aproveitamento do CO_2 é muito melhor do que em plantas C_3 (LANCASTER; ERMLER; MICHEL, 1995).

A existência da via C_4 é um exemplo da relação estrutura-função nas espécies de plantas em que a bainha vascular e seus mecanismos bioquímicos acoplados à via C_3 criaram, durante a evolução, uma espécie de “bomba” que torna o sistema fotossintético mais eficiente em certas situações, praticamente eliminando a fotorrespiração. Há várias consequências importantes da presença desta bainha vascular e uma delas é que as taxas de absorção de CO_2 são muito mais altas, pois o sistema pode armazenar mais carbono tornando a planta relativamente menos dependente de controlar a abertura e fechamento de estômatos para prevenir a perda de água. O resultado é que quando se compara o rendimento quântico de plantas C_3 e C_4 em diferentes temperaturas, nota-se que as diferenças entre o desempenho dos dois sistemas em diferentes temperaturas têm vantagens e desvantagens que dependerão do clima onde vivem. Enquanto as plantas C_4 têm desempenho constante em temperaturas que variam entre 10 e 40°C, as C_3 apresentam uma queda linear de desempenho quando se

umenta a temperatura. Analisando-se as duas em um mesmo gráfico, observa-se que as plantas C_3 levam vantagem até cerca de 28°C , mas que, devido ao fato das C_4 não apresentarem queda de rendimento em temperaturas mais altas, estas passam a ter maior eficiência relativa acima de 28°C . O fato das plantas C_4 lidarem melhor com temperaturas mais altas também permite que seus sistemas de captação de luz possam suportar intensidades luminosas maiores. Com isto, enquanto as plantas C_3 funcionam bem entre 400 a 500 μmoles de $\text{fotons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, as C_4 podem funcionar em intensidades maiores do que 2000 μmoles de $\text{fotons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Considerando as intensidades luminosas normalmente encontradas em condições naturais, fica claro que plantas C_3 como as árvores tropicais, por exemplo, se adaptam bem a condições mais sombreadas, enquanto as gramíneas C_4 ou bromélias que crescem em campos rupestres conseguem se desenvolver melhor em altas intensidades luminosas e em altas temperaturas. Outra questão importante é que as plantas C_4 são bem mais eficientes que as C_3 na utilização da água e isto se deve à maior eficiência em captar e armazenar o carbono oriundo do CO_2 , o que novamente está relacionada à bomba de armazenamento do ácido de quatro carbonos, que permite às plantas C_4 um gerenciamento melhor da abertura estomática, processo fundamental no controle da transpiração foliar (LANCASTER; ERMLER; MICHEL, 1995).

Tais características são extremamente importantes se considerar, por exemplo, a ocorrência de situações climáticas com temperaturas altas e baixa umidade durante o dia. Assim, as plantas C_4 tendem a se beneficiar de suas vantagens em relação às C_3 em condições extremas, para invadir regiões mais áridas do planeta como os desertos australianos, as savanas africanas e americanas e os campos de gramíneas do noroeste da América do Norte (LANCASTER; ERMLER; MICHEL, 1995).

Desta forma, o estudo do funcionamento do fotossistema tem sido muito pesquisado, pois este complexo permite na natureza a evolução do oxigênio pela divisão da água, onde as reações primárias da fotossíntese em plantas, algas e cianobactérias, ocorrem no processo do fotossistema I e II, que estão localizados nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos (RENGER, 1993).

Em plantas superiores é o mesófilo o tecido fotossintético mais ativo, onde as células possuem muitos cloroplastos, que contêm os pigmentos verdes especializados na absorção da luz, ou seja, as clorofilas. É neste processo que a planta utiliza-se da energia solar para oxidar a água liberando oxigênio e produzindo grandes compostos carbonados, como os açúcares (TAIZ; ZEIGER, 2009).

O resultado do transporte de elétrons da fotossíntese ocorrida nos tilacóides é a formação de ATP e NADPH, que são utilizados para a síntese de açúcares nas reações de fixação do carbono no estroma do cloroplasto. Estes fotoassimilados, produzidos na fotossíntese, são direcionados para o crescimento das plantas principalmente para os órgãos reprodutivos que são os responsáveis pela produtividade da planta (BACARIN; MOSQUIM, 2002).

A energia luminosa é convertida em energia química nos cloroplastos por meio de unidades funcionais chamadas de fotossistemas (Fotossistema I e Fotossistema II). A luz absorvida é utilizada para impulsionar a transferência de elétrons por uma série de compostos que atuam como doadores e aceptores destes elétrons. Os elétrons desencadeados participam da reação que reduz NADP^+ a NADPH, oxidando H_2O a O_2 . Essa energia luminosa também é utilizada para gerar uma força motora de prótons através da membrana do tilacóide na qual será utilizado para formar ATP (TAIZ; ZEIGER, 2009).

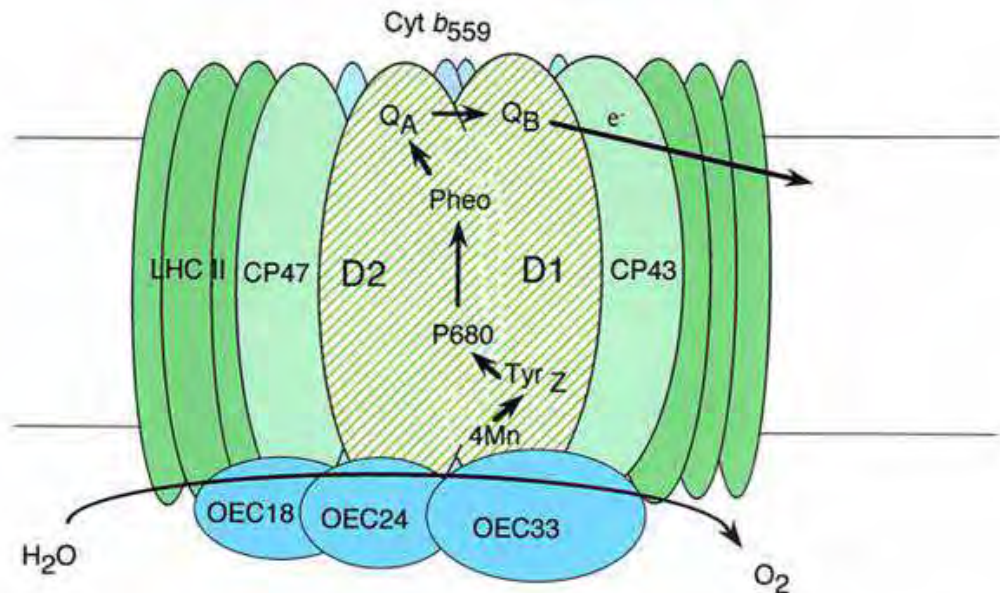
A energia luminosa absorvida no fotossistema excita as moléculas de clorofilas ali presentes para impulsionar a fotossíntese, que passam para um estado instável e rapidamente liberam parte de sua energia ao meio como calor, sem a emissão de fóton. Entretanto, a clorofila excitada pode perder energia por fluorescência, reemitindo fótons e, assim, retornando ao estado basal. Outra parte da energia pode ser utilizada pelas reações fotoquímicas ou ainda ser transferida fracamente para o PSI, pelo contato entre moléculas de clorofilas (ARALDI, 2010).

2.7 Fotossistema II

O PSII é o local de oxidação da água na fotossíntese. A energia luminosa, capturada pelas clorofilas e carotenóides localizadas na região chamada antena, é finalmente transferida para o centro de reação do PSII, onde ocorre a separação de cargas entre o doador e o receptor de elétrons (DINER; BABCOCK, 1996).

O PSII é um complexo de multi-subunidades, localizado nos tilacóides dos cloroplastos, e é composto por mais de 30 proteínas codificadas por genomas do núcleo e cloroplasto (BARBER, 1998). Dessas subunidades de proteínas, as proteínas intrínsecas D_1 e D_2 são codificadas pelo cloroplasto, ambas com massa molecular de 32 kDa, sendo de importância especial, além dos componentes redox necessários nas reações fotoquímicas, como o grupo de quatro manganês, duas tirosina, quatro a seis moléculas de clorofila a , duas feofinas, e plastoquinona Q_A e Q_B . Um Fe não heme, localizado entre Q_A e Q_B não participa

diretamente na transferência de elétrons, mas é vital para o processo de transferência. Um β -caroteno também pode ser encontrado no centro de reação e se comporta como um protetor (Figura 2).



Complexo do fotossistema II

Figura 2. Diagrama esquemático representando a estrutura do complexo do PS II. Fonte: Yamamoto (1998).

De acordo com a cristalografia, as proteínas D_1 e D_2 consistem cada uma de cinco hélices de membranas interconectadas por dobras, com caudas contendo N terminal e C terminal expostas para o estroma e lumem do tilacóide, respectivamente. A região da D_1 voltada para o estroma estende da hélice IV do C terminal até a hélice V do N terminal (IV-V loop), da qual participa na ligação com a Q_B e muitas classes de herbicidas que inibem o transporte de elétrons (TREBST, 1986). A região do loop VI-V é dividida em duas partes, uma esta envolvida com a degradação da D_1 e a outra funciona ligando-se a herbicidas e quinonas (PEREWOSKA et al., 1994).

O grupo de quatro átomos de Mn acumula equivalentes oxidativos produzidos nas reações fotoquímicas e é responsável pela oxidação da água. O grupo de Mn aparece ligado à proteína D_1 no sítio luminal. Há também três proteínas externas do PSII, OEC33, OEC24 e OEC18, que unem a parte central do PSII na superfície do lúmen para regular o processo de oxidação da água.

Um destaque pronunciado do PSII é a susceptibilidade aos danos causados pelo excesso de luz. As proteínas D_1 danificadas são degradadas rapidamente (OHAD; KYLE; ARNTZEN, 1984) e substituídas por novas proteínas sintetizadas (MATOO et al., 1984). Esse

processo é muito importante para superação do PSII. A degradação das proteínas D₁ pelas proteases foi sugerida por Virgin, Ghanotakis e Andersson (1990), baseado em observações em que a proteína CP43 do complexo PSII possui atividade protease, que participa na degradação da proteína D₁.

As clorofilas a e β -carotenos são encontradas, vinculadas principalmente às proteínas CP47 e CP43. As CP43 são facilmente liberadas no complexo PSII durante a fotoinibição, isso possibilita que a CP43 atue como transportadora da proteína D₁ danificada (RINTAMÄKI; KETTUNEN; ARO, 1996).

O desempenho do PSII em converter energia luminosa em química para o uso na redução de CO₂ em carboidratos pode ser alterado em função de estresses externos, tais como a atuação de herbicidas inibidores do PSII.

A inibição do fluxo de elétrons no PSII, quando da aplicação de alguns herbicidas que se ligam ao sítio de ação Q_B, foi identificada na proteína D₁ do PSII pela fotoafinidade dos herbicidas inibidores do transporte de elétrons (PFISTER et al., 1981). A fotoafinidade tornou-se um potente método para identificar aminoácidos em ligações com inibidores e com o entendimento do mecanismo de ação, os herbicidas inibidores da fotossíntese (diuron, atrazine, simazine) tornaram-se as principais ferramentas para se avaliar o funcionamento do PSII (OETTMEIER, 1992).

Muitas moléculas de herbicidas inibem o transporte de elétrons da fotossíntese pela ligação à proteína D₁, localizada no PSII do cloroplasto (METS; THIEL, 1989). Esses herbicidas aparentemente competem pelo sítio de ligação com a plastoquinona (Q_B) que é o acceptor natural de elétrons (TISCHER; STROTMANN, 1977). Esse sítio de ligação na proteína D₁ é sensível a muitas classes de produtos químicos com características estruturais diferentes como as triazinas (EGNER; HOYER; SAENGER, 1992) e uréias substituídas (CAMILLERI et al., 1987).

Usando o pacote de modelo molecular SYBYL, foi conduzida uma série de análises de ligações de herbicidas no PSII (MACKAY; O'MALLEY, 1993). A interação intermolecular de muitos herbicidas com o PSII indica que a força de Van Der Waals é a principal responsável pela estabilização dos herbicidas no domínio da Q_B (LANCASTER; ERMLER; MICHEL, 1995).

2.8 Fluorescência (emissão de fluorescência no fotossistema II)

A emissão de fluorescência fornece informações sobre os processos fotoquímicos do PSII. Sob condição de baixa luz, ao redor de 95,0% dos fótons absorvidos são usados na fotoquímica, 4,5% são transformados em calor e 0,5% são reemitidos como luz fluorescente. Se todos os centros de reação do PSII estiverem fechados por um bloqueio da fotossíntese, 95-97% da energia pode ser dissipada como calor e 2,5-5,0% dissipada via fluorescência (BOLHÀR-NORDENKAMPF; OQUIST, 1993).

A medida da fluorescência das clorofilas do PSII, entretanto, é muito variável, pois é extremamente influenciada pelo estado fisiológico do vegetal, podendo, assim, ser utilizada como técnica para monitoramento de coberturas vegetais ou para prever a fixação fotossintética de CO₂. A capacidade fotossintética, entretanto, diminui em proporção ao tamanho e severidade do dano sofrido pela planta. Dependendo do tipo de dano, pode haver recuperação da capacidade fotossintética em poucas horas ou dias ou mesmo a morte do tecido.

No processo fotossintético, a luz é absorvida por pigmentos do complexo antena, que excitados, transferem energia para os centros de reação dos fotossistemas II e I (YOUNG; FRANK, 1996). Quando ocorre excesso de energia, esta pode ser dissipada na forma de fluorescência (KRAUSE; WINTER, 1996), portanto, uma das formas de monitoramento da inibição ou redução na transferência de elétrons entre os fotossistemas da planta sob aplicação de herbicidas, que pode ser observada ainda em folhas intactas, é a medição da fluorescência da clorofila (MAXWELL; JOHNSON, 2000).

A análise da fluorescência da clorofila vem sendo largamente utilizada no entendimento dos mecanismos da fotossíntese propriamente dito, bem como na avaliação da capacidade fotossintética alterada por estresses bióticos ou abióticos pelos quais as plantas possam passar, como temperatura (OLIVEIRA; ALVES; MAGALHÃES, 2002), radiação (MAZZA et al., 2000), deficiência hídrica (RODEN; BALL, 1996), salinidade (BELKHODJA, 1994), presença de insetos (BOWN; HALL; MACGREGOR, 2002) ou fungos (PETERSON; AYLOR, 1995) e herbicidas (IRELAND; PERCIVAL; BAKER, 1986). Para esse tipo de avaliação são utilizados fluorômetros em aplicações que variam desde a rápida identificação de injúrias causadas ao sistema fotossintético, mesmo quando o sintoma ainda não é visível, até a análise detalhada da alteração da capacidade fotossintética da planta. Uma das grandes vantagens do uso deste método é o fato de a medição não ser destrutiva, sendo possível de se realizar tanto em laboratório quanto em campo.

Após muitos anos de estudos, a fluorescência da clorofila tem sido representada pelas mudanças na sanidade e funcionamento do processo fotossintético quando plantas são

submetidas a herbicidas. Isso inclui alterações nas reações da oxidação da água, separação de cargas, transporte de elétrons, desenvolvimento do gradiente eletroquímico, mecanismo de fotoproteção e mudanças do pH no lúmen do tilacóide. Ou seja, cada mudança na planta afetada pela abertura do estômato e trocas gasosas com a atmosfera, reflete em mudanças nas características de fluorescência da folha (OLIVEIRA; ALVES; MAGALHÃES, 2002).

Outras consequências com a aplicação dos herbicidas inibidores do PSII são as moléculas de clorofila carregadas mais energeticamente. Nesse estado, a clorofila dá origem a uma reação em cadeia formando radicais livres (R^*) como: oxigênio singlete (1O_2), superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH^*) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que irão peroxidar os lipídios das membranas dos tilacóides, formando novos radicais lipídicos, também capazes de oxidar outros lipídios de membranas dos cloroplastos, das células levando assim as plantas à morte (FUERST; NORMAN, 1991; VIDAL, 1997).

Em trabalhos de Gronwald (1994); Salisbury e Ross (1994) foram verificados que apesar das plantas apresentarem os mecanismos que evitam o estresse oxidativo (através de enzimas antioxidantes) produzido normalmente em pequeno grau durante a fotossíntese, a aplicação dos herbicidas (inibidores do PSII) vai causar uma produção de radicais que ultrapassa a capacidade de destoxificação desses mecanismos.

2.9 Medidor de fluorescência: fluorômetro

Em plantas sob condições de estresse, a menor eficiência fotossintética pode ser causada pela menor dissipação de energia através do transporte de elétrons, ocasionando um declínio na eficiência quântica do PSII e na taxa de transporte de elétrons (ETR), sendo às vezes associados ao aumento na extinção não-fotoquímica da fluorescência (HAVAUX; NIYOGI, 1999; OSMOND, 1994).

A análise das mudanças da fluorescência da clorofila oferece muitas possibilidades não só para determinar o local de inibição do transporte de elétrons pelo herbicida, mas também para relacionar as injúrias do herbicida com a taxa de absorção e/ou concentração aplicada. Isso tem uma particularidade desejável com herbicidas pós-emergentes, visto que o desempenho do herbicida pode ser afetado por adjuvantes, condições ambientais e a idade da folha (RICHARD JR; GOSS; ARNTZEN; SLIFE, 1983).

Em trabalho desenvolvido por Dayan, Trindade e Velini (2009), foi monitorado o ETR em plantas de *Zea mays*, *Digitaria sanguinalis* e *Abutilon theophrasti*, quando submetidas à aplicação de amicarbazone e atrazine. A taxa de transporte de elétrons para *D. sanguinalis* e

A. theophrasti foi completamente inibida com oito horas após a aplicação do herbicida, enquanto o milho manteve uma redução de aproximadamente 70% e 30% do ETR fotossintético com 24 horas após a aplicação do amicarbazone e atrazine, respectivamente, o que demonstrou a maior tolerância do milho aos herbicidas testados quando comparado às plantas daninhas.

Van Oorschot e Van Leeuwen (1992) conduziram experimento com folhas destacadas de *Alopecurus myosuroides* (planta daninha bastante prejudicial aos cereais de inverno da Inglaterra e de difícil controle devido à seleção de biótipos resistentes) submetidas ao chlortoluron. As folhas das plantas resistentes mostraram de parcial a completa recuperação da inibição do transporte de elétrons, enquanto as plantas susceptíveis não mostraram qualquer recuperação do transporte de elétrons no PSII.

2.10 Perda de água em folhas destacadas

O ciclo da água é um fenômeno global de circulação fechada da água entre a superfície terrestre e a atmosfera, impulsionado fundamentalmente pela energia solar associada à gravidade e à rotação terrestre (SILVEIRA, 1993).

De acordo com Macedo (2000) a evapotranspiração é a somatória da perda de água de um ecossistema pelos processos de evaporação (das superfícies de água e solo) e de transpiração (das plantas principalmente e animais) em área (mm ou cm) por tempo (dia). A evapotranspiração potencial é um índice da taxa máxima teórica na qual a água do déficit de pressão de vapor no ar, a velocidade do vento e a temperatura influenciam.

A distribuição da vegetação sobre a superfície da terra é controlada mais pela disponibilidade de água do que qualquer outro fator. Cerca de 80% a 90% da massa fresca de uma planta herbácea e aproximadamente 50% das espécies lenhosas estão representados pela água. Além disso, ela é o solvente que permite que gases, minerais e outras substâncias possam penetrar nas células e fluir entre as mesmas e entre os vários órgãos do vegetal. Também é o reagente em muitos processos fisiológicos, incluindo a fotossíntese e a hidrólise do amido em açúcar. Além do seu papel na turgescência da célula e, conseqüentemente, no crescimento do vegetal (SILVA; FREITAS, 1998).

Através de estudos anatômicos de espécies vegetais ocorrentes nos diferentes ecossistemas do globo, podem-se observar caracteres estruturais ou modificações presentes nas plantas, que refletem o tipo de hábitat das mesmas. No transcorrer do tempo, muitas espécies vegetais têm-se adaptado ao hábitat, tanto em suas características estruturais como

fisiológicas, principalmente em relação aos fatores do meio como solo, temperatura, intensidade luminosa e disponibilidade de água (SILVA; FREITAS, 1998).

A água tem propriedades que lhe permite atuar como um solvente e ser prontamente transportada ao longo do corpo da planta. A água é indispensável para a manutenção da turgescência das células do tecido vegetal e permite que a planta se mantenha ereta e exponha suas folhas túrgidas com estômatos abertos à radiação solar (PAIVA; OLIVEIRA, 2006).

Segundo Costa (2001), as principais funções da água nas plantas podem ser analisadas de acordo com sua estrutura, crescimento, transporte, metabolismo e outras. Na estrutura das plantas, a água é a substância mais abundante em plantas em crescimento ativo, podendo constituir cerca de 90 % do massa fresco de muitos órgãos. Embora em sementes e em tecidos muito lignificados possam ter valores muito inferiores, 15% ou mesmo menos. Também é o constituinte principal do protoplasma, formando um meio contínuo através da planta. Devido às suas propriedades (viscosidade, tensão superficial, grandes forças de adesão e coesão) a água penetra na maioria dos espaços capilares, estabelecendo um meio contínuo através das paredes celulósicas e permeando totalmente o corpo da planta. Este volume de água atua como absorvente de calor e permite, em parte, a tamponização da temperatura interna.

A água também permite o desenvolvimento de pressão de turgescência que dá um elevado grau de rigidez ao conteúdo celular e à parede celular envolvente. Nas plantas herbáceas é esta pressão que representa, em parte, o “esqueleto” que fornece suporte aos caules. A entrada e saída de água de certos tecidos ou células é responsável por uma série de micro-movimentos nas plantas, como exemplo, nas células guarda dos estomas, e no movimento dos folíolos. Além de ser o meio onde se processa o transporte de várias substâncias nas plantas, é também o veículo de transporte através do qual os gametas móveis efetuam a fertilização (COSTA, 2001).

A água nas plantas é um dos meios mais importantes na dissiminação de esporos, frutos, sementes, etc. A entrada de água na planta ocorre por meio da absorção. As plantas absorvem água em toda a sua superfície, mas a maior parte do suprimento de água vem do solo (PAIVA; OLIVEIRA, 2006).

É pelas raízes que a planta absorve água e sais minerais da solução do solo. Mas, se a absorção é possível ao longo de toda a raiz, é, no entanto, através dos pêlos radiculares (zona pilosa da raiz) que a absorção é maior. Os pêlos radiculares são células epidérmicas com prolongamentos que se estendem por entre as partículas do solo. A existência de pêlos radiculares aumenta consideravelmente a superfície de absorção. A planta pode retirar água

do solo desde que o potencial hídrico das suas raízes mais finas seja mais negativo que o da solução do solo na rizosfera (LARCHER, 1995).

O movimento da água das células mais externas da raiz até o xilema radicular pode ocorrer via apoplasto (através dos espaços intercelulares) ou via simplasto (entre células via plasmodesmos). Até a endoderme, a rota principal para o movimento da água é via apoplasto. Da endoderme até o xilema o movimento ocorre via simplasto (PAIVA, 2000).

-Fatores que condicionam a absorção de água:

A quantidade de água absorvida pelo sistema radicular depende da quantidade de água do solo disponível para a planta, do arejamento, da temperatura do solo, da concentração da solução e da taxa de transpiração (COSTA, 2008).

A água que está disponível para a planta vai diminuindo à medida que a planta a utiliza, os espaços capilares vão-se esvaziando e as partículas do solo retêm cada vez mais energeticamente a água que resta. Os solos encharcados, no entanto, também prejudicam a absorção. Eles são pouco arejados e, portanto deficientes em oxigênio. O processo respiratório é afetado e não se forma energia suficiente para o transporte ativo. Concentrações muito elevadas de íons em solução do solo também dificultam a absorção através de inversão no fluxo osmótico. As baixas temperaturas fazem diminuir a absorção, podendo levar à congelação da água do solo e a absorção ser então nula. As temperaturas elevada, mas dentro de valores compatíveis com a vida, favorecem a absorção, verificando-se uma relação entre as taxas de absorção e transpiração (LEITE, 1998).

- Transporte no xilema:

Na maioria das plantas, o xilema constitui a parte mais longa da via de condução da água no seu interior. O xilema consiste de quatro tipos de células: os traqueídios, os elementos xilêmicos, as fibras e o parênquima xilêmico. As células do parênquima, sobretudo nas plantas lenhosas, são as únicas que estão vivas. Estas células ocorrem essencialmente nos raios que aparecem radialmente na madeira das árvores, mas também existem células do parênquima espalhadas pelo xilema. As fibras são células de esclerênquima dispostas ao longo dos feixes e que lhes conferem resistência; os traqueídios e os elementos xilêmicos dispostos verticalmente são as células que estão envolvidas no transporte da solução xilêmica. Quando a água e os seus minerais atingem os vasos xilêmicos, são transportados até as folhas. Para explicar este movimento surgiram duas teorias: pressão-radicular e coesão-tensão (COSTA, 2001).

- Teoria da pressão-radicular:

Sempre que por qualquer motivo uma planta não estiver transpirando desenvolve-se uma pressão positiva nos vasos xilêmicos da raiz e da base dos caules. Os íons minerais são acumulados ativamente pelas células da raiz e são bombeados para dentro do xilema, onde, devido à ausência de transpiração, o movimento de água é negligível causando um aumento da concentração dos sais. Este aumento em sais provoca uma diminuição do potencial osmótico no xilema, o que causa uma entrada de água por osmose (TAIZ; ZEIGER, 1998). O movimento da água, através dos tecidos da raiz para o cilindro central, ocorre através das paredes das células. No entanto, a água tem de passar pelas membranas e protoplastos das células da endoderme, porque as suas paredes são impermeáveis à água. Todo o anel formado pelas células da endoderme atua como uma simples membrana, com uma solução concentrada no lado do xilema, e uma solução diluída no lado do córtex. Assim, a raiz funciona como um osmômetro, com a água difundindo-se em resposta a uma diferença de concentrações, do solo através da “membrana” endoderme para o xilema. Isto causa o aumento da pressão nas células do xilema. A parede impermeável da endoderme também impede que os sais bombeados para o xilema se difundam de novo para o córtex e para o exterior da raiz (COSTA, 2001).

Quando se destaca, ao nível do solo, o caule de uma planta que não esteja transpirando, a superfície de corte exuda grande quantidade de fluido. Neste caso um aparelho de manômetro colocado na extremidade cortada, mostrará que as raízes estão produzindo uma pressão que é chamada de pressão radicular (TAIZ; ZEIGER, 1998).

- Teoria da coesão-tensão:

Nesta teoria, o movimento ascensional de soluto xilêmico explica-se do seguinte modo: a planta, através das folhas, perde água por transpiração; o conteúdo celular fica mais concentrado e a falta de água é repostada com água vinda das células vizinhas. Eventualmente, esta água pode provir diretamente dos vasos xilêmicos; as folhas passam a exercer uma tensão ou força de sucção que se faz sentir ao longo da coluna de xilema do caule. Sujeitos a esta força de sucção, a água e os sais minerais circulam desde a raiz até as folhas, numa coluna contínua; a continuidade da coluna de líquido é explicada pelas forças de coesão (união de moléculas idênticas) das moléculas de água e adesão (atração e união de moléculas diferentes) das moléculas de água às paredes dos vasos estreitos do xilema, conforme representa a Figura 3 (LEITE, 1998).

O que determina a ascensão de soluto xilêmico é, portanto, a sucção transpiratória, já demonstrada por Dixon e Joly no princípio do século (1914). Este mecanismo é conhecido por teoria de Dixon, por mecanismo de coesão-adesão-tensão ou sucção transpiratória.

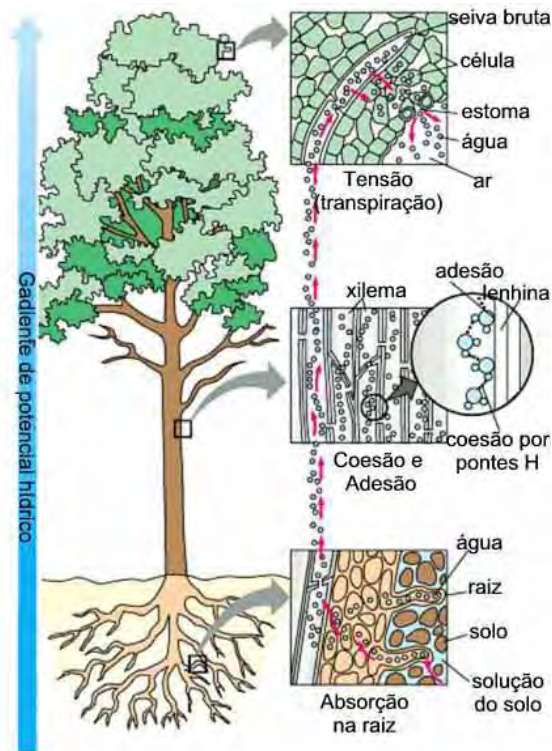


Figura 3: Teoria tensão-coesão-adesão. Fonte: Leite 1998.

- As perdas de água pela planta - Transpiração:

De toda a água absorvida pelo sistema radicular apenas uma pequena fração fica retida na planta. A maior parte é evaporada pela parte aérea para o ar circundante. A esta perda de água pelas plantas, na forma de vapor, dá-se o nome de transpiração. A transpiração nas plantas pode ser cuticular, lenticular e estomática. A primeira é uma interface líquido-vapor na qual ocorre a evaporação, as outras duas são uma via estrutural para o movimento do vapor que existe entre um espaço já preenchido com vapor de água e a atmosfera (SALISBURY; ROSS, 1992).

-Tipos de Transpiração nas Plantas:

A transpiração cuticular, é aquela que ocorre nas paredes exteriores das células da epiderme de todos os órgãos da parte aérea de plantas herbáceas, nas folhas e caules jovens das restantes plantas, existe uma estrutura chamada cutícula. A cutícula apresenta duas zonas:

a mais exterior e que constitui a cutícula propriamente dita, formada essencialmente por cutina e a camada cuticular constituída por placas de celulose e cutina.

Na cutícula propriamente dita podem existir depósitos de ceras e cristais de outras substâncias lipídicas; a camada cuticular pode conter quantidades variáveis de água dependendo da hidratação da cutícula e assim, a transpiração cuticular ocorre a uma taxa que depende não só do déficit de vapor de água da atmosfera, mas também da área da superfície da água exposta ao ar (MAZLIAK, 1975).

A perda de água pela cutícula é geralmente muito pequena, com exceção das plantas sem estômatos funcionais, como os musgos. Nas coníferas e nas árvores de folha caduca, a transpiração cuticular pode representar, respectivamente, de 1/30 a 1/40 e de 1/8 a 1/12 da transpiração estomática. Nas folhas jovens, a transpiração cuticular pode constituir 1/3 a 1/2 da transpiração total (SEBANEK, 1992).

A transpiração lenticular é aquela que ocorre na grande maioria das plantas que existem zonas da periderme, quer dos caules, quer das raízes, em que as células têm um arranjo menos estruturado, podendo ou não ter as paredes suberizadas. A estas zonas dá-se o nome de lentículas. As células, de maiores dimensões, do tecido complementar apresentam numerosos espaços intercelulares o que indica que a função das lentículas está relacionada com as trocas gasosas, embora a sua importância a nível da planta, como um todo, seja aparentemente diminuta (COSTA, 2001).

A transpiração estomática, que consiste na saída de vapor de água da planta, através dos estômatos situados na epiderme das folhas ou caule verde, representa um dos processos de maior importância na interação entre a planta e o ambiente, por esta razão, e considerando a transpiração como um todo, a componente estomática é largamente dominante (COSTA, 2001).

Os principais fatores que influenciam a transpiração dos vegetais, segundo Kramer (1995); Salisbury e Ross (1992), podem ser separados em fatores ambientais (radiação solar, temperatura, umidade relativa do ar e vento) e fatores da própria planta (características anatômicas e gutação).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no período de janeiro à agosto do ano de 2009 em casa de vegetação (Figura 4) e laboratório de análises da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Campus II UNESP de Ilha Solteira, com dois biótipos da espécie *Brachiaria plantaginea*, sendo um susceptível e outro resistente a herbicidas inibidores de enzima ACCase. As sementes foram adquiridas da empresa AgroCosmos Produção e Serviços Rurais Limitada (município de Engenheiro Coelho, SP).



Figura 4. Área de estufas e casa de vegetação da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS), UNESP - Campus de Ilha Solteira, 2011.

A casa de vegetação estava regulada para temperatura em 25° C, umidade relativa do ar em 100%, fotoperíodo de 14 horas de luz, com as plantas em vasos plásticos pretos de 3,0 L contendo substrato Plantimax® sendo regadas manualmente uma vez por dia durante todo o período de condução do experimento, e em laboratório foram realizadas conforme cada exigência necessária das análises realizadas.

Foram realizadas as seguintes avaliações: classificação e separação das sementes por diferentes massas, testes de germinação e vigor, biometria das plantas e estudo morfo-fisiológico (transpiração em folhas destacadas hidratadas e seletividade dos biótipos aos herbicidas).

3.1. Análise das Sementes

As análises das sementes foram realizadas com intuito de se conhecer os materiais a serem utilizados no trabalho. Visando proporcionar uma calibração inicial da pesquisa.

3.1.1 Classificação e separação das sementes por massa: as sementes foram pesadas e separadas por massas uma a uma e se estabeleceu o seguinte padrão para classificação: sementes leves = 0,0030 a 0,0045 g e sementes pesadas = 0,0046 a 0,0060 g (Figura 5). As sementes com peso inferior a 0,0030 g não germinaram e, por isso, foram retiradas do trabalho

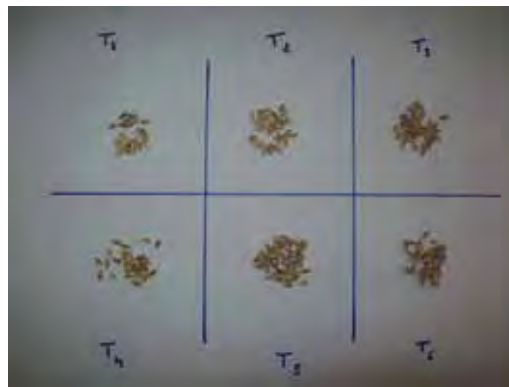


Figura 5. Sementes separadas e classificadas por massa, onde T1, T2 e T3 são sementes do material susceptível e T4, T5 e T6 são sementes do material resistente. T1 e T4 (massa < 0,0030 g), T2 e T5 (massa de 0,0030 a 0,0045 g) e T3 e T6 (massa de 0,0046 a 0,0060 g). FEIS, UNESP, 2009.

3.1.2 Teste de Germinação

Utilizou-se quatro sub-amostras de 50 sementes por tratamento, utilizando-se caixas tipo Gerbox e papel toalha tipo Germitest, e água destilada para umedecer o papel, na proporção de três vezes a massa do papel seco. Utilizou-se um germinador, regulado para manter a temperatura constante de 25°C e UR de 90% e reposição de água destilada conforme sua necessidade de umidade. As contagens foram realizadas aos oito e quinze dias (considerando a possibilidade de ocorrência de dormência), seguindo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

3.1.3 Testes de Vigor

3.1.3.1 Envelhecimento acelerado

Utilizando-se quatro sub-amostras de 50 sementes por tratamento que foram colocadas em caixas plásticas do tipo Gerbox com tela metálica, foi colocado água destilada no fundo das caixas e levadas à câmara de envelhecimento (BOD), regulada à temperatura constante de 42°C e UR de 100%. As sementes permaneceram na câmara por 72 horas e posteriormente semeadas, de forma semelhante ao teste de germinação, com a contagem sendo realizada no 8º dia após a semeadura.

3.1.3.2 Teste de Tetrazólio

Utilizou-se quatro sub-amostras de 50 sementes por tratamento previamente umedecidas colocadas em substrato de papel e levadas ao germinador por dezesseis horas a 30°C. Em seguida as sementes foram cortadas longitudinalmente e medianamente através do embrião e separadas utilizando-se apenas uma das metades a ser imersas em solução de Tetrazólio por aproximadamente 4 horas em condições de escuro e temperatura de 37°C e, após isso, as soluções foram descartadas, as sementes lavadas em água corrente e examinadas em microscópio estereoscópio e classificadas em viáveis ou não viáveis de acordo com sua coloração conforme os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

3.2 Biometria das Plantas

As plantas foram desenvolvidas em casa de vegetação em vasos plásticos pretos de 3,0 L contendo o substrato Plantimax® com plantio de 3 sementes por vaso, sendo realizadas as análises de crescimento das plantas através das avaliações de altura e de número de folhas aos 60 dias após a semeadura, idade em que a planta está em florescimento e tamanho final de crescimento. As plantas foram separadas em quatro tratamentos com seis repetições: sementes de massa leve em biótipos suscetíveis a herbicidas; sementes mais pesadas em biótipos suscetíveis a herbicidas; sementes de massa leve em biótipos resistentes a herbicidas e sementes mais pesadas em biótipos resistentes a herbicidas. A análise de altura foi selecionada a maior haste de um perfilho de cada vaso e medido da base acima do solo do vaso até o topo da planta e o contado o número de folhas da mesma.

3.3 Estudo morfofisiológico

3.3.1. Transpiração em folhas destacadas hidratadas e estimativa da área foliar

As plantas utilizadas neste teste foram desenvolvidas em casa de vegetação, sob condições ideais de temperatura e umidade, também em vasos plásticos pretos de 3,0 L contendo o substrato Plantimax® (Figura 6). Na fase de pré-florescimento (aproximadamente aos 50 dias) foram destacadas as folhas para a realização do teste. No final do período da tarde do dia da análise, destacou-se as terceiras folhas de uma haste do maior perfilho de cada tratamento, a partir da base da bainha, sendo constituído de 5 repetições cada, que foram inseridas em tubos eppendorfs (2 mL) contendo água destilada e deixadas “over night” (Figura 7), ou seja, deixadas imóveis durante a noite. Na manhã seguinte, realizou-se as pesagens do sistema (folha + eppendorf) após 12, 14, 16, 18, 20 e 22 horas após a retirada destas folhas da planta, em ambiente com circulação do ar. No final do período de pesagem, mediu-se a área foliar, através do software Quant-101p. O cálculo para obtenção da perda de água da folha foi a divisão da perda de água nos intervalos pelo valor da área foliar.



Figura 6. Disposição dos vasos plásticos pretos de 3,0 L contendo o substrato Plantimax®, utilizados no experimento. FEIS, UNESP, 2009.



Figura 7. Folhas destacadas hidratadas inseridas em tubos eppendorfs (2 mL). FEIS, UNESP, 2009.

3.3.2. Seletividade dos biótipos aos herbicidas

Os dados de seletividade foram analisados através do aparelho Multi-Mode Chlorophyll Fluorometer OS5p (Opti-Sciences) (Figura 8) para medição da fluorescência da clorofila (fluorômetro) conforme a metodologia de Genty, Briantais e Baker (1989), que avalia a emissão da fluorescência da clorofila na superfície superior das folhas, permitindo uma análise detalhada da fitossanidade pontual de cada material após a aplicação dos herbicidas testados. As avaliações foram realizadas as 2hs, 4hs e 6hs após a aplicação dos herbicidas e os valores são apresentados em $\mu\text{Mols elétrons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ que corresponde a taxa de ETR (taxa de elétrons refletidos). Os tratamentos utilizados neste experimento foram: planta suscetível (testemunha sem herbicida, com imazapic e com ametrina) e planta resistente (testemunha sem herbicida, com imazapic e com ametrina), com quatro repetições, analisando sempre a mesma folha mais nova (marcadas com caneta permanente) da maior haste de um perfilho. Os tratamentos foram aplicados em pós-emergência das plantas (aos 40 dias após a semeadura) utilizando-se um pulverizador costal com pressão constante (CO_2) de 45 lb/pol², com barra equipada com bicos do tipo leque. Os vasos foram dispostos no solo em uma área de 20 m² para a aplicação dos herbicidas com o pulverizador pressurizado regulado para volume de calda de 200 L/ha. Os herbicidas foram utilizados nas seguintes doses: ametrina (1500 g i.a./ha) e imazapic (150g i.a/ha).



Figura 8. Painel frontal do fluorômetro portátil OS5p. Fonte: Araldi 2010.

3.4 Análise Estatística

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados, no esquema fatorial 2 x 2 para análise das sementes, biometria e teste de transpiração, e 2 x 3 para estudo de seletividade dos biótipos aos herbicidas. Os esquemas de análise de variância proposto para os experimentos estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Esquema de análise de variância proposto para os experimentos de análise de sementes, biometria e transpiração em folhas destacadas. FEIS, UNESP, 2010.

Causas de Variação	GL para qualidade de sementes	GL para biometria das plantas	GL para dados de transpiração
Biótipos (C)	1	1	1
Massa de Sementes (MS)	1	1	1
C x MS	1	1	1
(Tratamentos)	3	3	3
Blocos	3	5	4
Resíduo	9	15	12
Total	15	23	19

Tabela 2. Esquema de análise de variância proposto para o experimento de seletividade aos herbicidas. FEIS, UNESP, 2010.

Causas de Variação	GL para dados de ETR
Biótipos (C)	1
Herbicida (H)	2
C x H	2
(Tratamentos)	5
Blocos	3
Resíduo	15
Total	23

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Testes de Germinação e Vigor

Diante das análises obtidas, foram encontrados os dados médios relativos à qualidade das sementes dos biótipos de *B. plantaginea* utilizadas no trabalho, na qual estão apresentados na Tabela 3. Observa-se que para os dados de germinação em sementes, os valores de F apontam que houve significância dentro dos fatores, ou seja, ocorreu diferença significativa entre os biótipos e entre as massas de sementes, já para a interação entre os fatores houve significância apenas no tratamento com teste de Tetrazólio.

Já para os dados de envelhecimento, houve significância apenas no fator massa de sementes. Para os dados de vigor de sementes no teste de Tetrazólio, houve significância dentro dos fatores.

Lorenzi (2006) cita que o capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*) é uma planta daninha anual, altamente prolífica. Kissmann (1997) condiciona a germinação desta espécie à existência de altas temperaturas e umidade no solo. A hidratação das sementes interfere na dormência devido a fatores físicos (KHAN; KARSSSEN, 1980) e químicos, como a ativação de enzimas (FOOTITT; COHN, 1995) e o aumento no metabolismo das sementes (LI; FOLEY, 1996). Para Theisen e Vidal (1999), o capim-marmelada é uma das principais infestantes das lavouras de verão no Rio Grande do Sul, que é uma época de temperaturas típicas de um clima tropical, o que para o Estado de São Paulo é uma planta que ocorre com infestação durante todo o ano, onde o clima é um pouco mais quente do que na região Sul do país.

As análises de germinação podem ser um indicativo do potencial de infestação que a planta pode causar demonstrando a porcentagem de germinação que a semente possui. Segundo Dias e Alves (2008) os testes de tetrazólio e germinação podem ser considerados como complementares, e em conjunto, permitem avaliar a qualidade fisiológica das sementes de *Brachiaria sp.*

Os resultados do teste de Tukey aplicado às variáveis isoladas ou interações cujos valores de F foram significativos, para dados relativos à qualidade das sementes, estão apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Quadro de análise de variância com valores de F e dados médios de porcentagem de germinação e vigor nos testes de qualidade das sementes. FEIS, UNESP, 2011.

TRATAMENTOS	% Germinação em sementes	% Germinação em sementes envelhecidas	% Vigor das sementes (teste de tetrazólio)
suscetível sementes leves	B 19,5 b	B 22,5 a	B 35,0 b
suscetível sementes pesadas	A 29,0 b	A 39,0 a	A 59,5 b
resistente sementes leves	B 50,0 a	B 28,5 a	B 83,0 a
resistente sementes pesadas	A 56,5 a	A 42,5 a	A 91,5 a
Fator A = Biótipos	98,46**	1,77 ^{NS}	224,56**
Fator B = Massa de Sementes	7,49*	18,21**	38,21**
Interação A x B	0,26 ^{NS}	0,12 ^{NS}	8,98*
Coeficiente de variação	15,08%	21,58%	7,94%

** resultado significativo ao nível de 1% de probabilidade.

* resultado significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Obs.: médias seguidas de letras iguais minúsculas (à direita) referente a biótipo e maiúsculas (à esquerda) referente à massa de sementes, não diferem entre si pelo teste de Tukey.

A porcentagem de germinação entre biótipos nesta análise mostrou que o biótipo resistente obteve as maiores médias em todos os testes realizados, sendo uma diferença de média de 54,46%, 13,38% e 45,84% para os testes de germinação, envelhecimento acelerado e teste Tetrazólio, respectivamente.

Para a diferença de massas, as sementes mais pesadas obtiveram uma diferença de 18,71% e 21,85%, para os testes de germinação e Tetrazólio, respectivamente, maiores em relação aos mesmos testes com sementes de massas leves.

Segundo trabalhos de Voll et al. (1997), que a germinação das sementes de capim-marmelada está diretamente associada à idade das sementes, ou ao estado de dormência em que elas se encontram. Diante disto pode-se dizer que o tempo associada ao fator massa, como mostra o teste de envelhecimento e germinação, pode ser um fator diferencial da diferença entre biótipos susceptível e resistente das sementes dentro da mesma espécie, pois o teste de

tetrazólio é o indicador de que estas sementes possuem uma maior porcentagem de embriões potencialmente germinativos.

Tabela 4. Desdobramento da interação significativa entre os fatores biótipos e massa de sementes para % vigor das sementes (teste de tetrazólio). FEIS, UNESP, 2011.

TRATAMENTOS	% Vigor das sementes (teste de tetrazólio)	
	Biótipo Suscetível	Biótipo Resistente
Semente leve	b 35,00 B	a 83,00 B
Semente pesada	b 59,50 A	a 91,50 A

Obs.: médias seguidas de letras iguais minúsculas (à esquerda) nas linhas e maiúsculas (à direita) nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey.

Analisando as médias obtidas nos experimentos de germinação, envelhecimento acelerado, e teste Tetrazólio, foram observados que a espécie considerada resistente ao herbicida teve uma maior média de germinação em relação à espécie suscetível e quanto a massa de sementes as mais pesadas apresentaram maior germinação e vigor. Segundo Novembre, Chamma e Gomes (2006) o teste de tetrazólio é eficiente para estimar a viabilidade de sementes de *Brachiaria brizantha*, reforçando a sua comparação com os testes de germinação.

O teste tetrazólio revela que apesar da baixa germinação das sementes leves, para os dois biótipos analisados, que estas estão viáveis para a germinação, sendo uma possível dormência apresentada pela espécie, inclusive para o biótipo resistente que apresentou uma maior germinação no teste de envelhecimento acelerado, reforçando a sua capacidade de dormência.

Em trabalho realizado por Freitas, Carvalho e Alvarenga (1990) foi observado que sementes em armazenamento em altas temperaturas sofre uma influente relação no aumento de sua germinação, chegando a triplicar sua capacidade germinativa. Em respostas similares foram encontradas para *Sorghum halepense* (Huang; Hsiao, 1987), indicando que há a possibilidade de que um fator de pós-maturação possa estar envolvido.

Outra questão analisada, conforme mostra a Figura 9, foi que os biótipos resistentes de massas leves e pesadas obtiveram uma maior germinação comparada com o teste de envelhecimento acelerado, demonstrando que seu potencial de germinação pode estar relacionado com a sua massa, pois as de menor massa podem possuir dormência talvez por apresentar uma menor reserva nutritiva.

Apesar das diferenças entre plantas, em trabalho de Klein et al. (2007) foi observado que, aos 60 dias após sementeira, as sementes de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) com maiores massas apresentaram as maiores médias para porcentagem de emergência (92%) e as menores médias foram obtidas a partir das sementes com menor massa. Costa et al. (2006) estudaram a germinação em sementes de jambo-vermelho e obtiveram maiores médias para porcentagem de emergência de plântulas com uso de sementes pesadas. Resultados parecidos foram encontrados por Giomo, Razera e Gallo (2004) em sementes de café, que apresentaram maior qualidade fisiológica em sementes de maior tamanho e maior densidade.

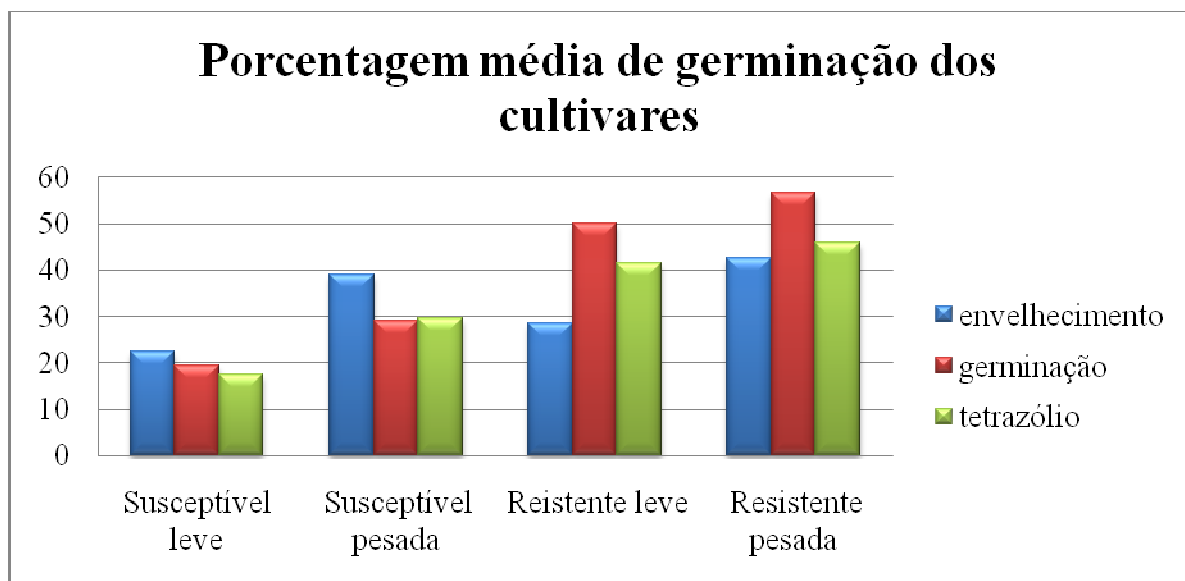


Figura 9. Porcentagem das médias dos testes de Germinação, Envelhecimento acelerado e Tetrazólio, de *Brachiaria plantaginea* separadas por massa de sementes (leve e pesada), para os biótipos resistente e susceptível. FEIS, UNESP, 2011.

4.2 Biometria das Plantas

Os dados médios de biometria da *B. plantaginea* estão apresentados na Tabela 5. Observa-se que para os dados de altura de plantas, os valores de F apontam que houve significância dentro do fator biótipo, e não houve significativa dentro do fator massa de sementes e na interação entre os fatores. Para os dados de número de folhas, não houve significância nos fatores e na interação.

Os efeitos das plantas daninhas podem ser prejudiciais mesmo antes da competição por água e nutrientes, onde efeitos de variações na qualidade da luz podem ser alteradas pelas folhas do dossel, e pode servir como um importante sinal entre as plantas da comunidade (SCHIMITT; WULFF, 1993). Dessa forma, a eliminação de plantas daninhas desde a

emergência da cultura é importante para a diminuição dos seus efeitos sobre o rendimento da cultura em destaque (BEDMAR; MANETTI; MONTERUBBIANESI, 1999). A tradicional indicação de que os efeitos das plantas daninhas somente passam a acontecer algumas semanas após a emergência da cultura pode não ser válida para todas as situações (HOLT, 1995), principalmente em se tratando de uma espécie que possui resistência.

Em resultados encontrados por Zagonel, Venâncio e Kunz (2000), verificaram a diminuição do número de espiga por planta de milho ao atraso na época de controle das plantas daninha em consequência da mato-competição. A convivência da cultura do milho com a *B. plantaginea*, de maneira geral, afetou o número de grãos por fileira, observando-se que, quanto maior a permanência da cultura com a espécie infestante mais elevado foram os danos. Assim, operações de controle realizadas precocemente (0 DAE) ou mais tardias (após 14 DAE) podem interferir no processo de formação dos componentes da espiga, afetando a produtividade de grãos da cultura do milho.

Em se tratando da altura de plantas daninhas, as plantas de crescimento rápido se sobressaem em relação às outras, competindo com estas. Mas se seu estágio fenológico também estiver em estágio avançado em relação às outras, logo elas diminuirão seu potencial de competição ao alcançar o estágio de granação, onde a planta se concentra em fornecer nutrientes para a formação e maturação das sementes e diminui o ritmo de crescimento expansivo da planta.

Os resultados do teste de Tukey aplicado às variáveis isoladas ou interações cujos valores de F foram significativos, para dados de biometria, estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Quadro de análise de variância com valores de F e dados médios de Biometria das plantas. FEIS, UNESP, 2011.

TRATAMENTOS	Altura de plantas (cm)	Número de folhas
suscetível sementes leves	66,5 a	8,2
suscetível sementes pesadas	67,6 a	8,3
resistente sementes leves	43,8 b	8,2
resistente sementes pesadas	48,5 b	8,2
Fator A = Biótipo	30,52**	0,02 ^{NS}
Fator B = Massa de Sementes	0,56 ^{NS}	0,02 ^{NS}
fator A x B	0,23 ^{NS}	0,02 ^{NS}
Coeficiente de variação	16,39	15,84

** resultado significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Obs.: médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre pelo teste de Tukey.

Sendo não significativo para o fator número de folhas, nota-se que tanto as plantas resistentes quanto as plantas susceptíveis em suas diferentes massas não as tornam um fator comparativo para diferenciar um possível motivo de sua resistência entre mesmas espécies.

Já o biótipo susceptível diferiu significativamente em média de 20,92 cm em relação ao biótipo resistente, em tamanho de plantas, demonstrando que este pode ser um fator relacionado à diferença entre elas na questão resistência ao herbicida, onde uma planta de maior porte apresenta uma maior área de absorção aumentando também sua área de contato com o herbicida aplicado, acarretando seu aumento de potencial do produto usado.

4.3 Estudo morfofisiológico

4.3.1 Transpiração em folhas destacadas hidratadas e estimativa da área foliar

Os dados médios relativos à transpiração das plantas analisadas estão apresentados na Tabela 6. Observa-se que houve significância apenas no fator biótipo, nos períodos 12, 14 e 16, e não houve significativa no fator massa de sementes e na interação entre os fatores. Os resultados do teste de Tukey aplicado às variáveis isoladas ou interações cujos valores de F foram significativos, para dados de transpiração, estão apresentados em letras na Tabela 6.

Tabela 6. Quadro de análise de variância com valores de F e dados de transpiração em folhas destacadas. FEIS, UNESP, 2011.

TRATAMENTOS	Médias de transpiração = perda de água (mg/cm ²)					
	12 Horas	14 Horas	16 Horas	18 Horas	20 Horas	22 Horas
suscetível leves	0,01598 b	0,01718 b	0,01584 b	0,01484	0,01269	0,01101
suscetível pesadas	0,01622 b	0,02003 b	0,01815 b	0,01581	0,01264	0,01094
resistente leves	0,02210 a	0,02371 a	0,02080 a	0,01821	0,01390	0,01169
resistente pesadas	0,02173 a	0,02315 a	0,02001 a	0,01830	0,01394	0,01159
Fator A = Biótipo	24,42**	26,36**	10,05**	0,35 ^{NS}	2,68 ^{NS}	0,78 ^{NS}
Fator B = Massa de Sementes	0,003 ^{NS}	1,48 ^{NS}	0,50 ^{NS}	0,44 ^{NS}	0,001 ^{NS}	0,01 ^{NS}
Interação A x B	0,07 ^{NS}	3,29 ^{NS}	2,08 ^{NS}	0,53 ^{NS}	0,003 ^{NS}	0,004 ^{NS}
Coefficiente de variação	13,83%	10,00%	12,86%	25,09%	12,92%	15,06%

** resultado significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Obs.: médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey.

Observa-se que as plantas resistentes obtiveram uma alta taxa de transpiração em relação às plantas susceptíveis. Em experimentos com milho segundo Mahmoud Talha (2006)

as folhas destacadas embebidas em água ou soluções de ácido abscísico - ABA (10^{-8} e 10^{-5} M) através de suas bases de corte, a transpiração das folhas diminuiu gradualmente para um nível baixo em 24 horas, sendo que o ABA provocou uma diminuição acentuada e rápida da taxa de transpiração em relação às folhas testemunhas. Depois de algumas horas, a transpiração das folhas tratadas diminuiu a um ritmo inferior ao da testemunha, aproximando entre os tratamentos. Após 35 h, a transpiração das folhas imersas em solução com ABA foi quase o mesmo que nas folhas não tratadas.

O fato da perda de água na transpiração das plantas susceptíveis ter sido mais baixa demonstra que as plantas susceptíveis foram mais eficientes no uso da água e por isso cresceram mais. Este é um fator facilmente explicado pela teoria de coesão-tensão (TAIZ; ZEIGER, 1998), onde a maior perda de água por transpiração pode auxiliar na desintoxicação da planta. Tendo em vista que as plantas resistentes, conforme a análise, possuem uma maior taxa de transpiração a tensão-coesão será menor dentro destas plantas, diminuindo a circulação contínua do herbicida nos vasos xilêmicos, dando-lhes uma vantagem de maior sobrevivência em relação às plantas de mesma espécie consideradas susceptíveis.

4.3.2 Seletividade dos biótipos aos herbicidas

A análise de mudanças na fluorescência da clorofila, detectada pelo fluorômetro, oferece muitas possibilidades não só para determinar a inibição do transporte de elétrons pelo herbicida, mas também para relacionar essas injúrias com a taxa de absorção do herbicida e/ou concentração aplicada (RICHARD JR; GOSS; ARNTZEN; SLIFE, 1983).

Com a inibição do ETR nas plantas ocorre o comprometimento da taxa de assimilação de carbono pela não formação de ATP e NADPH nos cloroplastos das plantas. Ao final, com a diminuição da fotossíntese líquida induzida pela ação de herbicida, o balanço de carbono da folha tende a ser cada vez menos positivo até o esgotamento da planta (SOUZA; PRADO, 2008).

Neste caso temos que os dados médios relativos à taxa de ETR das plantas estão apresentados na Tabela 7, onde observa-se que houve significância em todos os períodos analisados, dentro dos fatores biótipos e herbicida, e na interação entre os fatores, indicando que a ETR é um fator importante a ser analisado. Os resultados do teste de Tukey aplicado às variáveis isoladas ou interações cujos valores de F foram significativos para dados de ETR estão também apresentados nas Tabelas 8, 9 e 10.

Tabela 7. Quadro de análise de variância com valores de F e dados de ETR. FEIS, UNESP, 2011.

TRATAMENTOS	ETR		
	2 horas após aplicação	4 horas após aplicação	6 horas após aplicação
planta suscetível: testemunha	A 138,6 b	A 138,0 b	A 138,2 b
planta suscetível: com imazapic	B 66,3 b	B 38,1 b	B 24,5 b
planta suscetível: com ametrina	C 0,0 b	C 0,3 b	C 2,7 b
planta resistente: testemunha	A 120,2 a	A 120,8 a	A 120,3 a
planta resistente: com imazapic	B 116,8 a	B 102,8 a	B 99,5 a
planta resistente: com ametrina	C 1,7 a	C 2,5 a	C 8,8 a
Fator A = Biótipo	7,23*	6,64*	35,44**
Fator B = Herbicida	332,52**	132,70**	406,46**
fator A x B	23,93**	14,81**	61,91**
Coeficiente de variação	13,86%	23,45%	13,21%

** resultado significativo ao nível de 1% de probabilidade.

* resultado significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Obs.: médias seguidas de letras iguais minúsculas (à direita) referente ao fator biótipo e maiúsculas (à esquerda) referente ao fator herbicida, não diferem entre pelo teste de Tukey.

As plantas consideradas resistentes possuíram uma média com alta taxa de transporte de elétrons em todos os períodos em relação ao biótipo susceptível, considerando a primeira avaliação como inicial, no período de 4 horas após a aplicação do herbicida houve uma diminuição na média de 5,28% da taxa de transporte de elétrons e após 6 horas esta teve uma pequena recuperação passando para apenas 4,22% a sua perda de taxa de transporte de elétrons.

Já nas plantas susceptíveis a diminuição dos valores das taxas de transporte de elétrons foram um pouco maiores em relação ao biótipo resistente, chegando nas 4 horas após aplicação com 13,9% inferiores ao valor coletado nas 2 horas após a aplicação e novamente diminuindo após 6 horas da aplicação 19,3% em relação ao período inicial.

Dayan, Trindade e Velini (2009) trabalhando com milho, *Digitaria sanguinalis* e *Abutilon theophrasti* correlacionaram o comportamento do ETR com a quantidade de amicarbazone interceptada pelas plantas e verificaram com o estudo que o ETR de ambas as espécies daninhas *Digitaria sanguinalis* e *Abuthilon theophrasti* foi mais afetado em relação ao milho.

Já Souza (2009) buscou avaliar a tolerância de biótipos de cana-de-açúcar a herbicidas aplicados em pós-emergência na soqueira da cultura, onde foi detectada uma pequena redução no transporte de elétrons do PSII na fase inicial de desenvolvimento da cultura. Korres (2003) investigou a influência do chlortoluron em dois biótipos de trigo, que se destacavam por exibir diferença na resposta ao herbicida. Com a detecção da fluorescência do PSII foi

possível verificar a resposta diferencial do herbicida entre as cultivares de trigo. Yordanova (2001) mostrou também que plantas de tabaco não transgênica (susceptível ao chlortoluron) apresentaram uma maior inibição do transporte de elétrons em relação as plantas transgênicas, plantas essas que se destacavam pela tolerância ao chlortoluron.

Analisando o fator herbicida verifica-se que para cada tratamento houve uma diferença significativa, pois cada um comportou-se de forma diferente em relação às análises obtidas em cada período, ou seja, o tratamento testemunha possui uma média alta de taxa de transporte de elétrons em relação aos os outros dois tratamentos, que também diferem entre si (Tabela 7).

As pequenas oscilações do ETR ocorridas ao longo do período avaliado devem-se às condições do ambiente, visto que a capacidade fotossintética das plantas pode ser alterada por estresses bióticos ou abióticos pelos quais as plantas podem passar como temperatura, radiação, deficiência hídrica, salinidade, presença de insetos ou fungos, dentre outros (BOWN; HALL; MACGREGOR, 2002; OLIVEIRA; ALVES; MAGALHÃES, 2002; MAZZA et.al., 2000).

Tabela 8. Desdobramento da interação significativa entre os fatores biótipo e herbicidas para ETR (2 horas após aplicação). FEIS, UNESP, 2011.

TRATAMENTOS	ETR ($\mu\text{Mols elétrons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) 2 horas após aplicação	
	Biótipo Suscetível	Biótipo Resistente
Testemunha sem herbicida	a 138,58 A	b 120,15 A
Herbicida: imazapic	b 66,32 B	a 116,82 A
Herbicida: ametrina	a 0,00 C	a 1,68 B

Obs.: médias seguidas de letras iguais minúsculas (à esquerda) nas linhas e maiúsculas (à direita) nas colunas, não diferem entre pelo teste de Tukey.

No período de 2 horas após a aplicação nota-se que os biótipos diferem entre si no tratamento testemunha, com uma diferença de taxa de transporte de elétrons (ETR) de 13,3%, onde o biótipo resistente possui a menor taxa, proporcionando uma menor fotossíntese comparada com o biótipo susceptível.

No tratamento com aplicação de imazapic os biótipos diferenciam entre si com uma diferença de 43,23% em média na sua taxa de transporte de elétrons, sendo que o biótipo resistente possui uma alta ETR mesmo após a aplicação do herbicida, demonstrando certa resistência ao herbicida aplicado, mesmo sendo este um inibidor de ALS, pois não diferiu do tratamento testemunha, ou seja, sem herbicida, sendo necessária uma nova avaliação para determinar esta hipótese. Enquanto que no tratamento com ametrina a diferença entre os biótipos é nula, onde sua ETR em relação ao tratamento testemunha foi de 100% para o

biótipo susceptível e 98,6% para o biótipo resistente, devendo-se ao fato de que este herbicida é inibidor de fotossíntese, diminuindo sua taxa de transporte de elétrons (ETR).

Tabela 9. Desdobramento da interação significativa entre os fatores biótipos e herbicidas para ETR (4 horas após aplicação). FEIS, UNESP, 2011.

TRATAMENTOS	ETR ($\mu\text{Mols elétrons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) 4 horas após aplicação	
	Biótipo Suscetível	Biótipo Resistente
Testemunha sem herbicida	a 138,00 A	a 120,75 A
Herbicida: imazapic	b 38,12 B	a 102,80 A
Herbicida: ametrina	a 0,30 C	a 2,50 B

Obs.: médias seguidas de letras iguais minúsculas (à esquerda) nas linhas e maiúsculas (à direita) nas colunas, não diferem entre pelo teste de Tukey.

No período de 4 horas após a aplicação comportou-se da mesma forma em relação aos tratamentos testemunha, imazapic e ametrina para o biótipo resistente. Segundo Araldi (2010) as plantas de *I. grandifolia* com após 4 horas da aplicação de amicarbazone, a disponibilidade do herbicida em solução ocorreu uma redução de 34% do ETR em relação ao valor de ETR inicial da planta sem herbicida.

No tratamento testemunha entre biótipo susceptível e biótipo resistente não diferiram entre si, pois apresentaram-se com uma alta taxa de transporte de elétrons. Já o tratamento com herbicida ametrina também não houve diferença significativa entre os biótipos, mas a ETR apresentou-se muito baixa, chegando a 99,8% e 98,0% de diminuição para os biótipos susceptível e resistente, respectivamente, em relação ao tratamento testemunha que não foi aplicado herbicida.

Para o tratamento com imazapic os biótipos susceptível e resistente apresentaram uma diminuição de 72,4% e 14,86%, onde apenas no biótipo susceptível houve significância, demonstrando que este teve uma diminuição da sua capacidade fotossintética nos tratamentos com herbicidas em relação ao biótipo resistente, que só se apresentou significativo para o herbicida ametrina.

Tabela 10. Desdobramento da interação significativa entre os fatores biótipo e herbicidas para ETR (6 horas após aplicação). FEIS, UNESP, 2011.

TRATAMENTOS	ETR ($\mu\text{Mols elétrons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) 6 horas após aplicação	
	Biótipo Suscetível	Biótipo Resistente
Testemunha sem herbicida	a 138,18 A	b 120,25 A
Herbicida: imazapic	b 24,48 B	a 99,50 B
Herbicida: ametrina	a 2,70 C	a 8,82 C

Obs.: médias seguidas de letras iguais minúsculas (à esquerda) nas linhas e maiúsculas (à direita) nas colunas, não diferem entre pelo teste de Tukey.

Após as 6 horas da aplicação do herbicida os valores obtidos diferem entre si em todos os parâmetros de avaliação, exceto entre biótipos no tratamento ametrina. Comparando a taxa de ETR entre os biótipos susceptível e resistente no tratamento testemunha, estes apresentaram uma diferença de 13%, enquanto que no tratamento com o herbicida imazapic houve uma diferença de 75,4%.

Já entre tratamentos dentro do biótipo susceptível, houve uma diferença de 82,3% e 98,1% para o tratamento imazapic e ametrina, respectivamente, em relação ao tratamento testemunha, onde não foi aplicado herbicida. E nos tratamentos dentro do biótipo resistente houve uma diferença de diminuição da taxa de transporte de elétrons de 17,25% e 92,7% para os tratamentos com imazapic e ametrina respectivamente, em relação ao tratamento sem herbicida. Na Figura 10 está apresentado o comportamento da taxa de transporte de elétrons (ETR) da fotossíntese para os seis tratamentos com os biótipos de *Brachiaria plantaginea* em relação ao tempo.

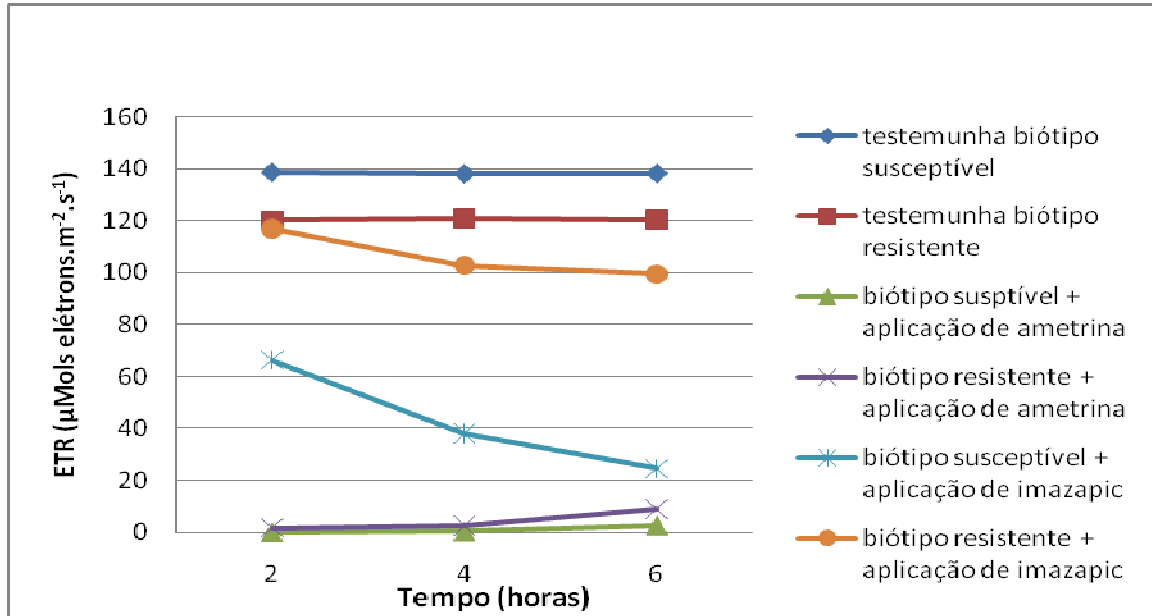


Figura 10: Comportamento da taxa de transporte de elétrons (ETR) da fotossíntese para os seis tratamentos com os biótipos de *Brachiaria plantaginea* em relação ao tempo, em horas. FEIS, UNESP, 2011.

5 CONCLUSÕES

Considerando-se as condições em que o trabalho foi realizado concluiu-se que:

- A massa das sementes influenciaram apenas nos comportamentos de germinação dos biótipos, não afetando no desenvolvimento final da planta.
- O biótipo susceptível possui um crescimento em tamanho de plantas maior que o biótipo resistente facilitando a seleção natural dos biótipos em um ambiente sem interferência.
- Plantas de *Brachiaria plantaginea* de biótipo resistente possuem maior transpiração apenas nas primeiras seis horas que o biótipo susceptível dificultando a eliminação por herbicida.
- O herbicida imazapic controlou o biótipo susceptível mesmo após a uma aplicação de pós-emergência.
- O biótipo resistente possui um maior transporte de elétrons podendo ser este o seu fator de resistência em relação ao biótipo susceptível.

REFERÊNCIAS

- ALVES, E.; MARTINS, D.; SOUZA, F. H. D. Seletividade de herbicidas pré-emergentes para gramíneas forrageiras tropicais. **Planta daninha**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, p. 457-464, 2002.
- ARALDI, R. **Avaliação da absorção do amicarbazone e intoxicação em cana-de-açúcar e plantas daninhas**. 2010. 83 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.
- BACARIN, M. A.; MOSQUIM, P. R. Cinética de emissão de fluorescência das clorofilas de dois genótipos de feijoeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 4, p. 705-710, 2002.
- BARBER, J. Photosystem two. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1365, p. 269-277, 1998.
- BARBOSA, R. A. **Morte de pastos de braquiária**. Campo Grande: EMBRAPA/Gado de Corte, 2006. 206 p.
- BEDMAR, F.; MANETTI, B.; MONTERUBBIANESI, G. Determination of the critical period of weed control in corn using a thermal basis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 2, p. 187-183, 1999.
- BELKHODJA, R. Chlorophyll fluorescence as a possible tool for salinity tolerance screening in barley (*Hordeum vulgare* L.). **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 104, n. 2, p. 667-673, 1994.
- BOLHAR-NODENKAMPF, H. R.; OQUIST, G. O. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: HALL, D. O.; SCURLOCK, J. M. O.; BOLHARNODENKAMPF, H. R.; LEEFOOD, R. C.; LONG, S. P. (Ed.). **Photosynthesis and production in a changing environment**. London: Chapman & Hall, 1993. p. 193-206.
- BOWN, A. W.; HALL, D. E.; MACGREGOR, K. B. Insect footsteps on leaves stimulate the accumulation of 4-aminobutyrate and can be visualized through increased chlorophyll fluorescence and superoxide production. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 129, p. 1430-1434, 2002.
- BRASIL Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.
- CAMILLERI, P.; BOWYER, J. R.; GILKERSON, T.; ODELL, B.; WEAVER, R. C. Structure-activity relationships in the Hill inhibitory activity of substituted phenylureas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 35, p. 479-483, 1987.
- CHRISTOFFOLETI, P. J. Imidazolinone resistant *Bidens pilosa* biotypes in Brazilian soybean areas. In: MEETING OF THE WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, 36., 1996, Norfolk. **Abstracts...** Champaign: WSSA, 1996. p. 10.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; MEDEIROS, D.; MONQUEIRO, P. A.; PASSINI, T. Plantas daninhas da cultura da soja: controle químico e resistência a herbicidas. In: CAMARA, G. M. S. (Ed.). **Soja: tecnologia da produção**. Piracicaba: ESALQ, 2000. p. 179-202.

CHRISTOFFOLETI, P. J. **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 2.ed. Campinas: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas aos Herbicidas (HRACBR), 2004. 100 p.

CHRISTOFFOLETI, P. J. **Aspectos de resistência de plantas daninhas à herbicidas**. 3. ed. Piracicaba: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas aos Herbicidas (HRACBR), 2008. 120 p.

CORTEZ, M. G. **Resistência de biótipos de *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc. A herbicidas inibidores da Acetil Coenzima A Carboxilase**. 2000. 214 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

COSTA, A. R. **Texto acadêmico: as relações hídricas das plantas vasculares**. Evora: Ed. da Universidade de Evora, 2001. 75 p.

COSTA, R. S.; OLIVEIRA, I. V. M.; MORO, F. V.; MARTINS, A. B. G. Aspectos morfológicos e influencia do tamanho da semente na germinação do jambo-vermelho. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 117-120, 2006.

COSTA, R. D. A. **Texto acadêmico: interações entre solo – planta – atmosfera**. Coimbra: Ed. da Universidade de Coimbra, 2008.

DAYAN, F.E.; TRINDADE, M.L.B.; VELINI, E.D. Amicarbazone, a new photosystem II inhibitor. **Weed Science**, Champaign, v. 57, p. 579-583, 2009.

DIAS, M. C. L. L.; ALVES, S. J. Avaliação da viabilidade de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich) Stapf pelo teste de tetrazolol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 30, n. 3, p. 145-151, 2008.

DIAS, N. M. P.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; TORNISIELO, V. L. Identificação taxonomica de espécies de capim-colchão infestantes da cultura da cana-de-açúcar no estado de São Paulo e eficácia de herbicidas no controle de *Digitaria nuda*. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 3, p. 389-396, 2005.

DINER, B. A.; BABCOCK, G. T. Structure, dynamics, and energy conversion efficiency in photosystem II. In: ORT, D. R.; YOCUM, C. F. (Ed.). **Oxygenic photosynthesis: the light reactions**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996.

EGNER, U.; HOYER, G.A.; SAENGER, W. The binding of triazine herbicides to the photosynthetic reaction center of *Rhodospseudomonas viridis*. **European Journal Biochemistry, Berlin**, v. 206, p. 685-690, 1992.

FOOTITT, S.; COHN, M. A. Seed dormancy in red rice (*Oryza sativa*). IX. Embryo fructose 2,6-bisphosphate during dormancy breaking and subsequent germination. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 107, n. 4, p. 1365-1370, 1995.

FREITAS, R.R.; CARVALHO, D.A.; ALVARENGA, A.A. Quebra de dormência e germinação de sementes de capim-marmelada [*Brachiaria Plantaginea* (Link) Hitch]. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 2, n. 2, p. 31-35, 1990.

FUERST, E.P.; NORMAN, M.A. Interactions of herbicides with photosynthetic electron transport. **Weed Science**, Champaign, v. 39, p. 458-464, 1991.

GAZZIERO, D. L. P. Resistência de biótipos de *Brachiaria plantaginea* aos herbicidas inibidores da ACCase aplicados em soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIENCIA DAS PLANTAS DANINHAS, Caxambu. **Resumos...** Caxambu: SBCPD, 1997. p. 88.

GAZZIERO, D. L. P. Resistência de amendoim-bravo aos herbicidas inibidores da enzima ALS. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 16, p. 118-125, 1998.

GAZZIERO, D. L. P.; BRIGHENTI, A. M.; VOLL, E.; PRETE, C. E. C., SUMIYA, M. ; KAJIHARA, L. Variabilidade no grau de resistência de capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*) aos herbicidas clethodim, tepraloxymid e sethoxydim. **Revista Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 22, n. 3, p. 397-402, 2004.

GENTY, B.; BRIANTAIS, J. M.; BAKER, N. R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron-transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 990, p. 87-92, 1989.

GIOMO, B. G.; RAZERA, L. F.; GALLO, P. B. Beneficiamento e qualidade de sementes de café arábica. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 2, p. 291-297, 2004.

GRAVENA, R. Controle de plantas daninhas através da palha de cana-de-açúcar associada a mistura dos herbicidas trifloxysulfuron sodium + ametrina. **Planta Daninha**. Rio de Janeiro, v. 22, n. 3, p. 419-427, 2004.

GRONWALD, J. W. Resistance to photosystem II inhibiting herbicides. In: POWLES, S.; HOLTUM, J. (Ed.). **Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry**. Boca Raton: CRC, 1994. p. 27-60.

HAVAUX, M.; NIYOGI, K. K. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States Of America**, Washington, v. 96, p. 8762-8767, 1999.

HEAP, I. M. Multiple resistance to dinitroaniline and ACCase inhibiting herbicides in green foxtail (*Setaria viridis* (L.) Beauv.). **WSSA Abstracts**, St. Louis, v. 56, p. 168, 1994.

HOLT, J. Plant responses to light: a potential tool for weed management. **Weed Science**, Champaign, v. 43, n. 3, p. 464-482, 1995.

HUANG, W. Z.; HSIAO, A. I. Factors affecting seed dormancy and germination of Johnsongrass, *Sorghum halepense* (L.). **Pers. Weed Research**, Oxford, v. 27, p. 1-12, 1987.

IRELAND, C. R.; PERCIVAL, M. P.; BAKER, N. R. Modifications of the induction of photosynthesis in wheat by glyphosate, an inhibitor of amino acid metabolism. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 37, p. 299-308, 1986.

KHAN, A. A.; KARSSSEN, C. M. Induction of secondary dormancy in *Chenopodium bonus henricus* L. seeds by osmotic and high temperature treatments and its prevention by light and growth regulators. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 66, n. 1, p. 175-181, 1980.

KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. Sao Paulo: BASF, 1997, 824 p.

KISSMANN, K. G. Resistência a herbicidas: visão da indústria. Associação brasileira de ação a resistência de plantas aos herbicidas, 2009. Disponível em: <http://www.hracbr.com.br/textos.htm>. Acesso em: 10 ago. 2009.

KLEIN, J.; ZUCARELI, V.; KESTRING, D.; RODRIGUES, J. D. Influência da massa das sementes na emergência e desenvolvimento inicial de mudas de pitangueira. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 837-839, 2007.

KRAMER, P. J.; BOYER, M. **Water relations of plants and soils**. New York. Ed. MacGraw-Hill, 1995. 482 p.

KRAUSE, G.H.; WINTER, K. Photoinhibition of photosynthesis in plants growing in natural tropical forest gaps: a chlorophyll fluorescence study. **Botanica Acta**, Stuttgart, v. 109, p. 456-462, 1996.

LANCASTER, C. R.; ERMLER, U.; MICHEL, H. The structures of photosynthetic. In: BLANKENSHIP, R. E.; MADIGAN, M. T.; BAUER, C. E. (Ed.). **Anoxygenic photosyn reaction centers from purple bacteria as revealed by X-ray crystallography. Athletic bacteria**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers., 1995. p. 503-526.

LARCHER, W. **Physiological plant ecology**. Berlin: Springer, 1995. 506 p.

LAZAROTO, C. A. Interferência de papuã (*Brachiaria plantaginea*) em soja e seu manejo através da interação dos métodos cultural e químico. 2007. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

LEITE, R. **Transporte em plantas**. 1998. Disponível em: <http://campus.fortunecity.com/yale/757/transport.htm>. Acesso em: 22 out. 2010.

LI, B.; FOLEY, M. E. Transcriptional and posttranscriptional regulation of dormancy associated gene expression by afterripening in wild oat. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 110, n. 4, p. 1267-1273, 1996.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. São Paulo: Nova Odessa, 2000. 288 p.

LORENZI, H. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional**. 6. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2006. 339 p.

MACEDO, M. C. M. Pastagens no ecossistema dos cerrados: pesquisa para o desenvolvimento sustentável. In: SIMPOSIO SOBRE PASTAGENS NOS ECOSSISTEMAS BRASILEIROS, v.1, 1995, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1995. p. 28-62.

MACEDO, R. L. G. **Princípios básicos para o manejo sustentável de sistemas agroflorestais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 157 p.

MACKAY, S. P.; O'MALLEY, P. J. Molecular modeling of interactions between optically active triazine herbicide and photosystem II. **Z Naturforsch**, v.48, p. 474-481, 1993.

MAHMOUD, T.; POUL, L. Effect of abscisic acid on the transpiration of *Zea mays*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 33, n. 1, p. 66-70, 2006.

MATTO, A. K.; HOFFMAN-FALK, H.; MARDER, J. B.; EDELMAN, M. Regulation of protein metabolism: coupling of photosynthetic electron transport to in vivo degradation of the rapidly-metabolized 32kDa protein of the chloroplast membranes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 81, p. 1380-1384, 1984.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 659-668, 2000.

MAZLIAK, P. **Physiologie végétale: nutrition et métabolisme**. Paris: Ed. Hermann, 1975. 349 p.

MAZZA, C. A.; BOCCALANDRO, H. E.; GIORDANO, C. V.; BATTISTA, D.; SCOPEL, A. L.; BALLARE, C. L. Functional significance and induction by solar radiation of ultraviolet absorbing sunscreens in field-grown soybean crops. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 122, n. 1, p. 117-126, 2000.

MELO, M. S. C.; TAROZZO FILHO, H.; DIAS, A. C. R.; MARCOLINI, L. W.; CARVALHO, S. J. P.; NICOLAI, M., CHRISTOFFOLETI, P. J. Competição de capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*) com a cultura da soja (*Glycine max*). In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE INICIACAO CIENTIFICA – SIICUSP, 16, 2008, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: USP/ESALQ, 2008. p. 1342-1343, 2008.

METS, L.; THIEL, A. Biochemistry and genetic control of the photosystem II herbicide target site. In: BOGER, P.; SANDMANN, G. (Ed.). **Target sites of herbicide action**. Boca Raton: CRC Press, 1989. p. 1-24.

NOVEMBRE, A. D. L. C.; CHAMMA, H. M. C. P.; GOMES, R. B. R. Viabilidade das sementes de braquiária pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.28, n.2, p.147-151, 2006.

OETTMEIER, W. Herbicides of photosystem II. In: BARBER, J. (Ed.). **The photosystems: Structure, function and molecular biology**. Amsterdam: Elsevier, 1992. p. 349-408.

OHAD, I.; KYLE, D. J.; ARNTZEN, C. J. Membrane protein damage and repair: removal and replacement of inactivated 32-kilodalton polypeptides in chloroplast membranes. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 99, p. 481-485, 1984.

OLIVEIRA, J. G.; ALVES, P. L. C. A.; MAGALHAES, A. C. The effect of chilling on the photosynthetic activity in coffee (*Coffea Arabica* L.) seedlings. The protective action of chloroplastid pigments. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 14, p. 95-104, 2002.

OSMOND, C.B. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of sun and shade plants. In: BAKER, N. R.; BOWYER, J. R. **Photoinhibition and photosynthesis: from molecular mechanisms to the field**. Oxford: Bios scientific Publisher, 1994. p. 1-24.

PAIVA, R. **Fisiologia de plantas ornamentais**. Lavras. Ed. UFLA, 2000. 88 p. (Textos acadêmicos).

PAIVA, R.; OLIVEIRA, L. M. **Fisiologia e produção vegetal**. Lavras. Ed. UFLA, 2006. 104 p.

PEREIRA, A. R. **Como selecionar plantas para áreas degradadas e controle de erosão**. Belo Horizonte: Deflor, 2007, 88 f.. Disponível em: <[www.deflor.com.br/portugues/pdf/Livro SEAD.pdf](http://www.deflor.com.br/portugues/pdf/Livro_SEAD.pdf)>. Acesso em: 10 nov. 2007. 58

PEREWOSKA, I.; ETIENNE, A.L.; MIRANDA, T.; KIRILOVSKY, D.S. Destabilization and Higher Sensitivity to Light in Metribuzin-Resistant Mutants. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 104, p. 235-245, 1994.

PETERSON, R.B.; AYLOR, D.E. Chlorophyll fluorescence induction in leaves of *Phaseolus vulgaris* infected with bean rust (*Uromyces appendiculatus*). **Plant Physiology**, Minneapolis, v.108, p.163-171, 1995.

PFISTER, K.; STEINBACK, K. K.; GARDNER, G.; ARNTZEN, C. J. Photoaffinity labeling of a herbicide receptor in chloroplast membranes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 78, p. 981-985, 1981.

PONCHIO, J. A. R. ALS enzyme assay from *Bidens pilosa* biotypes of the Brazilian soybean areas to determine the sensitive to imidazolinone and sulfonilurea herbicides. In: MEETING OF THE WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, 36., 1996, Norfolk. **Abstracts...** Champaign: WSSA, 1996. p. 79.

RENGER, G. Water cleavage by solar radiation-Na inspiring challenge of photosynthesis research. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 38, p. 229-247, 1993.

RICHARD JR, E. P.; GOSS, J. R.; ARNTZEN, C. J.; SLIFE, F. W. Determination of herbicide inhibition of photosynthetic electron transport by fluorescence. **Weed Science**, Champaign, v. 31, p. 361-367, 1983.

RINTAMAKI, E.; KETTUNEN, R.; ARO, E. M. Differential D1 dephosphorylation in functional and photodamaged Photosystem II centres. Dephosphorylation is a prerequisite for

degradation of damaged D1. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 271, p. 14870-14875, 1996.

RODEN, J. S.; BALL, M. C. The effect of elevated [CO₂] on growth and photosynthesis of two eucalyptus species exposed to high temperatures and water deficits. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 111, p. 909-919, 1996.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. de **Guia de herbicidas**: 5.ed. Londrina: RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. (Eds), 2005. 592 p.

SALISBURY, F.B.; C.W. ROSS. **Plant physiology**. 4. ed. California: Wadsworth publishing, 1992. 682 p.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. **Plant physiology**. California: W. Publishing Company, 1992.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Fisiologia vegetal**. Mexico: Iberoamerica, 1994. 758 p.

SCHIMITT, J.; WULFF, R. D. Light spectral quality, phytochrome and plant competition. **Tree**, v. 8, n. 2, p. 47-51, 1993.

SEBANEK, J. **Plant physiology**. Amsterdam: Elsevier Science & Technology, 1992. 454 p.

SILVA, L. B.; FREITAS, H. M. B. Os vegetais e a água. Salvador: UFBA, 1998. (UFBA/Projeto Qualibio, Texto acadêmico).

SILVEIRA, A. L. L. Ciclo hidrológico e bacia hidrográfica, In: TUCCI, C. E. M. **Hidrologia: ciência e aplicação**. 2. ed. Porto Alegre: ABRH, 1993. 943 p.

SOCIEDADE BRADILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina: SBCPD, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2. ed. Massachussets: Sinauer Associates, 1998. 792 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 820 p.

THEISEN, G.; VIDAL, R. A.; Viabilidade de sementes de papuã (*Brachiaria plantaginea*) e a cobertura do solo com palha. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 3, p. 603-608, 1999.

TISCHER, W.; STROTMANN, H. Relationship between inhibitor binding by chloroplasts and inhibition of photosynthetic electron transport. **Biochim. Biophys. Acta**, v.460, p.113-125, 1977.

WEED SCIENCE. **International survey of herbicide resistant weeds**. Disponível em: <<http://www.weedscience.org/in.asp>>. Acesso em: 28 mar. 2010.

VAN OORSCHOT, J. L. P.; VAN LEEUWEN, P. H. Use of fluorescence induction to diagnose resistance of *Alopecurus myosuroides* Huds. (black-grass) to chlortoluron. **Weed Research**, Oxford, v. 32, p. 473-482, 1992.

VIDAL, R. A. **Herbicidas**: mecanismos de ação e resistência de plantas. Porto Alegre: Palloti, 1997. 165 p.

VIDAL, R. A.; FLECK, N. G. Análise do risco da ocorrência de biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 12, p. 152-161, 1997.

VIRGIN, I.; GHANOTAKIS, D. F.; ANDERSSON, B. Light-induced D1-protein degradation in isolated photosystem II core complexes. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 269, p. 45-48, 1990.

VICTORIA FILHO, R.; LIMA, J. F. Controle do capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf) na implantação de algumas gramíneas forrageiras. In: CONGRESSO ANUAL COMALFI, 29., 1999, Cartagena. **Resúmenes...** Cartagena: COMALFI, 1999. p. 91.

VOLL, E.; GAZZIERO, D.L.P.; QUINA, E.; KRZYZANOWSKI, F.C. Embebição e germinação de sementes de capim-marmelada [*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc]. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 19, n. 1, p. 58-61, 1997.

YAMAMOTO, Y. Quality control of photosystem II. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v. 42, p. 121-128, 2001.

YOUNG, A. L.; FRANK, H. A. Energy transfer reactions involving carotenoids: quenching of chlorophyll fluorescence. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B, Biology**, Lausanne, v. 36, p. 3-15, 1996.

ZAGONEL, J.; VENANCIO, W. S.; KUNZ, R. P. Efeito de métodos e épocas de controle das plantas daninhas na cultura do milho. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 1, p. 143-150, 2000.